

УДК 621.472 УДК 579.851:646.221

А.І.Салюк¹, канд.техн.наук, С.О.Жадан², Є.Б.Шаповалов³, Р.А.Тарасенко⁴ (Національний університет харчових технологій, Київ)

Інгібування виробництва метану з курячого посліду сульфідами

Розглянуто інгібування сульфідами виробництва метану, а саме: механізм інгібування, чутливість різних груп метаногенів, фактори, що його контролюють, адаптацію до негативного впливу, джерела утворення сульфідів при метаногенезі курячого посліду та можливий ступінь інгібування. Бібл. 25, рис. 1.

Ключові слова: курячий послід, метаногенез, біогаз, інгібування, сульфіди, сірководень.

ORCID: ¹0000-0003-3949-1962, ²0000-0002-7493-2180, ³0000-0003-3732-9486, ⁴0000-0001-5834-5069

Вступ. Відомо, що при метановій ферментації відходів із високим вмістом сульфур утворюються сульфіди, що можуть пригнічувати процес. Для курячого посліду характерний високий вміст даного хімічного елементу. Згідно з [18] вміст сульфур у відходах птахівництва вищий, ніж у відходах життєдіяльності інших тварин. Відповідно ризик пригнічення виробництва метану з курячого посліду є високим. Незважаючи на це, у роботах, присвячених метановій ферментації курячого посліду, цьому питанню не приділяється належної уваги. Концентрацію сульфідів, навіть не використовують у якості показника при проведенні досліджень. Основна увага приділяється пригніченню процесу амонійним азотом. Разом з тим, автори дослідження [15] називають високий вміст сульфур, поряд з нітрогеном, перешкодою для використання курячого посліду в якості моносубстрату.

Постановка завдання. Метою роботи був розгляд механізму, за яким відбувається інгібування метаногенезу сульфідами, факторів, що його контролюють, джерел їх утворення при метановій ферментації курячого посліду, а також можливого ступеня пригнічення, що є важливим для уникнення негативного впливу і підвищення ефективності роботи біогазової установки.

Результати. В анаеробному середовищі сірководень є кінцевим продуктом метаболізму органічних та неорганічних речовин, що містять

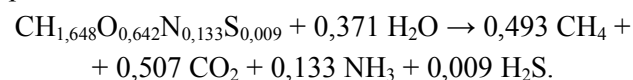
сульфур [4].

Сульфіди є основним джерелом сульфур для метаногенних бактерій. Його вміст у метаногенах незвично високий у порівнянні з аеробними мікроорганізмами [21]. Оптимальний рівень сульфур, повідомлений у літературі, варіюється від 1 до 25 мг S/дм³ [17].

При концентраціях, що перевищують діапазон, у якому сульфіди стимулюють метаногенез, вони мають інгібуючий вплив і можуть бути оцінені як одні з найважливіших інгібіторів процесу [21].

Автори дослідження [13] повідомили, що масова частка хімічних елементів у сухих органічних речовинах (COP) посліду становить для С – 35,16%; Н – 4,83%; О – 30,12%; N – 5,44%; S – 0,84%. Використовуючи ці дані, отримуємо брутто формулу COP курячого посліду: CH_{1,648}O_{0,642}N_{0,133}S_{0,009}.

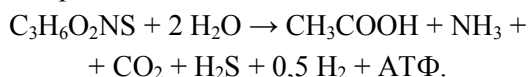
Підставляючи отриману формулу в рівняння Басвелла-Мюллера, отримуємо наступне рівняння:



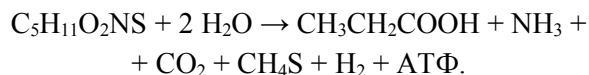
Таким чином, при повному розкладі 1 г COP курячого посліду утворюється 0,012 г H₂S (0,011 г S).

Джерела сульфідів. При метановій ферментації курячого посліду сульфіди утворюються з неперетравлених білків, до складу яких входять сірковмісні амінокислоти.

Утворення сірководню із цистеїну відбувається за рівнянням:



З іншої сірковмісної амінокислоти метіоніну при анаеробному бродінні здебільшого утворюється метилмеркаптан:



Курачий послід, що утворюється на птахофабриці, знаходиться у суміші з пір'ям, яке на 90-95% складається з білків [1, 6]. Основний його білковий компонент – це кератин – фібрилярний білок, що виділяється серед інших структурних білків високим вмістом цистеїну. Згідно з [11] пір'я містить цистеїну 65,8 г/кг, а відповідно до [2] – 57,8 г/кг. Пір'я нерозчинне у воді, слабких кислотах і основах. Воно дуже стійке до дії більшості протеолітичних ферментів як результат великої кількості дисульфідних зв'язків цистеїну, водневих зв'язків і гідрофобних взаємодій [10]. Однак, автори [25] спостерігали зникнення пір'я, змішаного з курачим послідом, при його переробці у біогазовій установці. В подальшому вони виділили культуру бактерій, відповідальну за його руйнування. Її успішно культивували в аеробних умовах. Вони передбачали наявність інших строгих анаеробних кератинолітичних мікроорганізмів [25].

Виходячи зі стехіометрії реакції, при розкладі 1 г пір'я утворюється 0,016-0,019 г H_2S (0,015-0,018 г S).

Механізм інгібування. Автори [22] повідомили, що токсичною формою сульфідів є H_2S , оскільки він здатен дифундувати у клітинні мембрани. В середині цитоплазми інгібуючий вплив H_2S може бути пов'язаний із формуванням сульфідних і дисульфідних зв'язків між поліпептидними ланцюгами, а також порушенням асиміляції сульфору [24]. Ця теорія підтверджується у роботі [19].

Чутливість мікроорганізмів. Автори [5] досліджували чутливість росту метаногенів до сульфідів у чистій культурі та анаеробному мулі. Метаногени в анаеробному мулі були менш чутливими до інгібування сульфідами, ніж метаногени в чистих культурах. Отже, цілком імовірно, що більш високі рівні сульфиду, необхідні для

інгібування, в анаеробному мулі обумовлені існуванням градієнту концентрації сульфідів у гранулах і пластівцях. Досліди, проведені з чистими культурами таких метаногенів, як *M. barkery*, *M. hungatei*, *M. mazei*, *M. Soekngeni*, показали, що вони мають різну чутливість до інгібування сульфідами [5].

Вміст сухих речовин (СР). Збільшення вмісту сухих речовин обумовлює збільшення концентрації сульфідів, які утворюються в результаті їх деструкції.

Час обороту реактора. Збільшення тривалості процесу веде до збільшення ступеня деструкції білків. Відповідно можна передбачити вищий вміст сульфідів.

pH. Токсичність сульфідів дуже залежить від pH [21]. У багатьох дослідженнях значення pH не наводиться, що робить складним формулювання достовірних висновків щодо інгібування, спричиненого сульфідами [3].

Значення pH визначає хімічну рівновагу між сірководнем H_2S , гідросульфідом HS^- і сульфідом S^{2-} . При pH 6 сульфідів в основному знаходяться у формі H_2S , в той час як при pH 8 – у формі HS^- [12]. При значенні pH вище 9 всі іонізовані сульфідів будуть присутні у вигляді S^{2-} [14].

Кислий pH інтенсифікує інгібуючий вплив сульфідів на ацетокластичний метаногенез у порівнянні з нейтральним та лужним pH [21].

Автори дослідження [21] повідомили, що при pH 7,8-8,0, де частка вільного сірководню лише приблизно 10%, максимальна специфічна активність ацетокластичного метаногенезу знижувалась набагато швидше зі збільшенням концентрації вільного сірководню, ніж при інших значеннях pH, при яких проводилось дослідження.

Температурний режим. Збільшення температури веде до зниження частки вільного сірководню. Відповідно можна передбачити менший інгібуючий вплив сульфідів на процес у термофільному режимі, ніж у мезофільному. Однак, у дослідженні [7] інгібування метаногенезу попередньо ферментативно оброблених морських макроводоростей сульфідами у термофільному режимі відбулось при концентрації вільного сірководню 22 мг/дм³, а в мезофільному – при 50 мг/дм³.

Частка вільного сірководню в залежності від pH і температури середовища зображена на рис. 1.

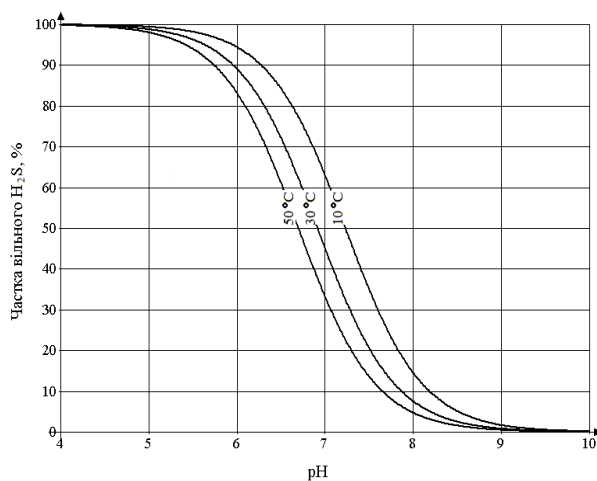


Рис. 1. Частка вільного сірководню в залежності від pH і температури середовища.

Амонійний азот. Сульфіді діють синергічно з амонійним азотом, пригнічуючи процес метанової ферментації [8]. При анаеробному бродінні курячого посліду утворюється значна його кількість. Виходячи з рівняння Басвелла-Мюллера, при повному розкладі з 1 г СОР курячого посліду утворюється 0,087 г NH_3 (0,072 г $N-NH_4^+$). Джерелом амонійного азоту при цьому слугують сечова кислота і неперетравлені білки.

Ступінь інгібування. Автор [23] повідомив про 50% інгібування ацетокластичного метаногенезу при 184 мг $H_2S/дм^3$ і 38 мг $H_2S/дм^3$ при pH 7,2-7,4 і pH 8,1-8,3, відповідно. У дослідженні [21] концентрації неіонізованого сірководню, що вели до 50% зниження максимальної специфічної активності ацетокластичного метаногенезу, були знайдені на рівні 250 мг S/дм³ у діапазоні pH 6,4-7,2 і 90 мг S/дм³ при pH 7,8-8,0.

Оскільки існує зв'язок між максимальною специфічною активністю ацетокластичного метаногенезу і концентрацією вільного сірководню при різних значеннях pH, то концентрація вільного сірководню не може бути використана як єдиний параметр для опису інгібування сульфідів в анаеробному бродінні [21].

У лужному діапазоні pH інгібування, вірогідно, визначає загальна концентрація сульфідів. Згідно [21] вільний сірководень призводив до інгібування ацетокластичного метаногенезу в

діапазоні pH 6,4-7,2, у той час як при вищому pH (7,8-8,0) спостерігався зв'язок між ступенем інгібування та концентрацією сульфідів [21]. Аналогічна закономірність була повідомлена авторами дослідження [5]. Це явище може бути викликане або інгібуючим впливом гідросульфід-іонів, який проявляється при підвищених концентраціях, або підвищеною чутливістю до вільного сірководню ацетокластичними метаногенами поблизу меж їх фізіологічного діапазону значень pH [21].

Автори [3] пропонують вважати верхньою допустимою межею концентрацію сульфідів на рівні 200 мг S/дм³. Такий висновок ґрунтується на дослідженні, в якому реактори, що переробляли осад комунальних стічних вод, повністю припинили роботу, коли концентрація загального сульфідів була збільшена з 200 до 390 мг S/дм³ [3]. У дослідженні [21] концентрації загального сульфідів, що ведуть до 50% зниження максимальної специфічної активності ацетокластичного метаногенезу, були знайдені на рівні 354 мг S/дм³ при pH 6,4-6,6, 810 мг S/дм³ при pH 7,0-7,2 і 841 мг S/дм³ при pH 7,8-8,0. У роботі [20] зі збільшенням концентрації сульфідів до 800 мг/дм³ виробництво метану зменшилось до незначної кількості в порівнянні з контролем, що вказувало на повний збій процесу та механізму адаптації.

Автори дослідження [20] повідомили, що при збільшенні концентрації сульфідів загальна кількість виробленого метану зменшувалася значно повільніше у порівнянні з максимальною швидкістю метаногенезу. Так, при концентрації сульфідів 500 мг/дм³ загальне виробництво метану було більше 80% від контролю, у той час як максимальна швидкість метаногенезу становила 52% від контролю.

Також автори [20] повідомили, що інгібування прямо пропорційне концентрації H_2S у біогазі. При 5% H_2S у виробленому газі спостерігалось 50% пригнічення процесу. Простота визначення H_2S у біогазі робить його практичним індикатором інгібування метаногенезу.

Адаптація. Автори [16] повідомили, що сульфіді є токсичними для неадаптованих метаногенів при концентрації 50 мг/дм³. Є повідомлення про адаптацію метаногенів до

вільного сірководню, зокрема в реакторах із фіксованою біомасою [7]. Так, згідно [9] адаптовані ацетотрофні та гідрогентрофні метаногени були інгібовані при концентраціях H_2S вище 1000 мг $\text{H}_2\text{S}/\text{дм}^3$.

Висновки. 1. Основними джерелами сульфідів при метаногенезі курячого посліду є неперетравлені білки, до складу яких входять сірковмісні амінокислоти, а також пташине пір'я, яке містить кератин, що виділяється серед інших структурних білків високим вмістом цистеїну.

2. Інгібуючий вплив сульфідів може бути пов'язаний із проникненням H_2S крізь клітинні мембрани у цитоплазму і формуванням сульфідних та дисульфідних зв'язків між поліпептидними ланцюгами, а також порушенням асиміляції сульфору.

3. Факторами, що контролюють інгібування процесу, є вміст сухих речовин у субстраті, час обороту реактора, рН, температурний режим і концентрація амонійного азоту.

4. Враховуючи високий вміст сульфору у відходах птахівництва і значні економічні втрати, які можуть бути спричинені сульфідами в результаті інгібування метаногенезу, необхідним є контроль їх концентрації як при роботі лабораторних, так і промислових установок, що виробляють біогаз із курячого посліду.

5. Адаптація метаногенних мікроорганізмів до високого вмісту сульфідів є ефективним методом поліпшення процесу анаеробного бродіння.

1. A review: Potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources / A. Onifade, N. Al-Sane, A. Al-Musallam, S. Al-Zarban. // *Bioresource Technology*. – 1998. – Vol. 66. – P. 1–11. doi:10.1016/S0960-8524(98)00033-9

2. Bertsch A. A biotechnological process for treatment and recycling poultry feathers as a feed ingredient / A. Bertsch, N. Coello. // *Bioresource Technology*. – 2005. – №96. – P. 1703–1708. doi:10.1016/j.biortech.2004.12.026

3. Chen Y. Inhibition of anaerobic digestion process: a review / Y. Chen, J.J. Cheng, K.S. Creamer // *Bioresource Technology*. – 2008. – № 99. – P. 4044–4064. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.057

4. Dunnette D.A. The source of hydrogen sulfide in anoxic sediment / D.A. Dunnette, D.P. Chynoweth, K.H. Mancy // *Wat. Res.* – 1985. – № 19. – P. 875–884. doi:10.1016/0043-1354(85)90146-0

5. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria / V. O'Flaherty, T. Mahony, R. O'Kennedy, E. Colleran // *Process Biochem.* – 1998. – № 33 (5). – P. 555–569. doi:10.1016/S0032-9592(98)00018-1

6. Haddar H. Biodegradation of native feather keratin by *Bacillus subtilis* recombinant strains / H. Haddar, T. Zaghloul, H. Saeed. // *Biodegradation*. – 2009. – №20. – P. 687–694. doi:10.1007/s10532-009-9256-0

7. Haghighatafshar S. Management of hydrogen sulfide in anaerobic digestion enzyme pretreated marine macro-algae: master's thesis [E-resource] / S. Haghighatafshar. – June, 2012, Water and Environmental Engineering, Department of Chemical Engineering, Lund University, Sweden. – Access mode: <http://www.chemeng.lth.se/exjobb/E654.pdf>

8. Hansen K.H. Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure / K.H. Hansen, I. Angelidaki, B.K. Ahring // *Water Res.* – 1999. – Vol. 33 (8). – P. 1805–1810. doi:10.1016/S0043-1354(98)00410-2

9. Isa Z. Sulphate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: technical aspects / Z. Isa, S. Grusenmeyer, W. Verstraete // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1986. – Vol. 51 (3). – P. 572–579.

10. Kornilowicz-Kowalska T. Biodegradation of keratin waste: Theory and practical aspects / T. Kornilowicz-Kowalska, J. Bohacz. // *Waste Management*. – 2011. – Vol. 31. – P. 1689–1701. doi:10.1016/j.wasman.2011.03.024

11. Latshaw J. Processing of feather meal to maximize its nutritional value for poultry / J. Latshaw, N. Musharaf, R. Retrum. // *Animal Feed Science and Technology*. – 1994. – №47. – P. 179–188. doi:10.1016/0377-8401(94)90122-8

12. McCartney D.M. Sulfide inhibition of anaerobic degradation of lactate and acetate / D.M. McCartney, J.A. Oleszkiewicz // *Water Res.* – 1991. – Vol. 25 (2). – P. 203–209. doi:10.1016/0043-1354(91)90030-T

13. 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. doi:10.1016/j.biortech.2013.03.080

14. Mosey F. The determination of dissolved sulphide using a sulphide-selective electrode: technical report TR 53 / F. Mosey, D.A. Jago // *Water Research Centre*, 1977, Stevenage, U.K.

15. Poultry manure as a substrate for methane fermentation: problems and solutions / R. Mazur, J. Mazurkiewicz, A. Lewicki, S. Kujawiak; Poznan University of Life Sciences // *Biogas World: Internationale Fachmesse für Biogastechnologien und dezentrale Energieversorgung*, 01–03 April 2014, Berlin. – 60 p.

16. Response of methane fermentation systems to industrial toxicants / G.F. Parkin, R.E. Speece, C.H.J. Yang, W.M. Kocher // *J. Wat. Pollut. Control Fed.* – 1983. – Vol. 55 (1). – P. 44–53.

17. Scherer P. Influence of sulfur-containing-compounds on the growth of *Methanosarcina barkeri* in a defined medium / P. Scherer, H. Sahm // *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 1981. – № 12. – P. 28–35. doi: 10.1007/BF00508115

18. Schulte E. Soil and Applied Sulfur [E-resource] / E. Schulte, K. Kelling – Access mode: <http://corn.agronomy.wisc.edu/Management/pdfs/a2525.pdf>.
19. Speece R.E. Anaerobic biotechnology for industrial waste treatment / R.E. Speece // Environ. Sci. Technol. - 1983. – Vol. 17 (9). – P. 416–427. doi: 10.1021/es00115a001
20. Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis / P.P. Karhadkar, J.-M. Audic, G.M. Faup, P. Khanna // Water Res. – 1987. – Vol. 21 (9). – P. 1061–1066. doi:10.1016/0043-1354(87)90027-3
21. Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH levels / I.W. Koster, A. Rinzema, A.L. De Vegt, G. Lettinga // Water Res. – 1986. – Vol. 20 (12). – P. 1561–1567. doi:10.1016/0043-1354(86)90121-1
22. Tursman J.F. Influence of sulfate and sulfate-reducing bacteria on anaerobic digestion technology / J.F. Tursman, D.J. Cork // Biological Waste Treatment. - NY: Alan R. Liss, Inc., 1989. - P. 273-281.
23. Visser A. Sulphide inhibition of methanogenic activity at various pH levels at 55 C. / A. Visser, A.N. Nozhevnikova, G. Lettinga // J. Chem. Tech. Biotechnol. – 1993. – № 57. – P. 9–14. doi: 10.1002/jctb.280570103
24. Vogels G.D. Biochemistry of methane production / G.D. Vogels, J.T. Keijts, C. van der Drift // A.J.B. Zehnder (eds) Biology of Anaerobic Microorganisms. – NY: John Wiley and Sons, 1988. – P. 988.
25. Williams C. Enumeration of some microbial groups in thermophilic poultry waste digesters and enrichment of a feather-degrading culture / C. Williams, J. Shih. // Journal of Applied Bacteriology. – 1989. – №67. – P. 25–35. doi: 10.1111/j.1365-2672.1989.tb04951.x

А.И.Салюк, канд.техн.наук, **С.О.Жадан**, **Е.Б.Шаповалов**, **Р.А.Тарасенко** (Национальный университет пищевых технологий, Киев)

Ингибирование производства метана из куриного помета сульфидами

Рассмотрено ингибирование сульфидами производства метана, а именно: механизм ингибирования, чувствительность различных групп метаногенов, факторы, которые его контролируют, адаптацию к негативному воздействию, источники образования сульфидов при метаногенезе куриного помета и возможную степень ингибирования. Библ. 25, рис. 1.

Ключевые слова: куриный помет, метаногенез, биогаз, ингибирование, сульфиды, сероводород.

Salyuk A., Zhadan S., Shapovalov E., Tarasenko R. (National University of Food Technologies, Kyiv)

Sulfide-induced inhibition of methane production from chicken manure

Reviewed sulfides inhibiting of the production of methane, namely the mechanism of inhibition, the sensitivity of different groups

of methanogens, the factors that control it, the adaptation to the negative impact, the sources of the sulfides during chicken manure methanogenesis and the possible degree of inhibition. References 25, figures 1.

Keywords: chicken manure, methanogenesis, biogas, inhibition, sulfides, hydrogen sulfide.

SYNOPSIS

During methane fermentation of waste with high content of sulfur sulfides which may inhibit the process are formed. Poultry manure is characterized by high content of this chemical element. Accordingly, the risk of inhibition of methane production is high. Nevertheless, in works devoted to the methane fermentation of chicken manure this issue has been neglected and concentration of sulfides has not even been used as indicator during the researches. The focus has always been made on the inhibition of the process by ammonia nitrogen.

The aim of this work was to consider the mechanism of sulfide-induced inhibition of methanogenesis, factors that control it, sources of sulfides' formation during methane fermentation of chicken manure as well as possible inhibition degree that is important to avoid negative effects and to improve the efficiency of the biogas plant.

The main sources of sulfides during methanogenesis of chicken manure are undigested proteins which include sulfur-containing amino acids and feathers, containing keratin which stands out among the other structural proteins by high content of cysteine. Although feathers are very resistant to physical and chemical factors as a result of large amounts of disulfide bonds of cysteine, hydrogen bonds and hydrophobic interactions, they can be decomposed in a biogas plant.

Inhibitory effect of sulfides is associated with free hydrogen sulfide. Inhibition of methanogenesis may be associated with H₂S penetration through the cell membrane into the cytoplasm and formation of sulfide and disulfide bonds between polypeptide chains as well as violation of sulfur assimilation. However, the concentration of free hydrogen sulfide can't be used as the only parameter to describe sulfide-induced inhibition in anaerobic fermentation without considering pH environment.

Factors which control inhibition of the process include total solids content in the substrate, hydraulic retention time of the reactor, pH, temperature mode and concentration of ammonia nitrogen.

Adaptation of methanogenic microorganisms to high sulfide content is an effective method to improve the process of anaerobic digestion.

Because of the high content of sulfur in the poultry waste and significant economic losses that can be caused by sulfides, resulting from inhibition of methanogenesis, it is necessary to control their concentration during laboratory studies and operation of industrial plants that produce biogas from chicken manure.

Стаття надійшла до редакції 16.05.16

Остаточна версія 02.06.16