

МОДЕЛЮВАННЯ ПОЧАТКОВОЇ СТАДІЇ МЕТАНОВОЇ ФЕРМЕНТАЦІЇ ЗЕРНОВОЇ БАРДИ В ЛАБОРАТОРНОМУ РЕАКТОРІ

Отримано 11 груд. 2025 р.; рекомендовано до публікації 23 бер. 2026 р.
Доступно онлайн 31 бер. 2026 р.

Кулічкова Г. І.¹, Іванова Т. С.², Самарін В. О.³,
Вовк Є. А.⁴, Циганков С. П.⁵

Автор для кореспонденції: Кулічкова Ганна
e-mail: newmilk@ukr.net

¹ д-р. філос. з біології
<https://orcid.org/0000-0001-6909-391X>

² канд. біол. наук
<https://orcid.org/0000-0002-5219-8034>

³ аспірант
<https://orcid.org/0009-0009-7984-038X>

⁴ аспірант
<https://orcid.org/0009-0000-4776-206X>

⁵ д-р. техн. наук, професор
<https://orcid.org/0000-0002-4166-4124>

^{1, 2, 3, 4, 5} Держ. установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ, Україна

Анотація. На біоетанольних заводах існує проблема з утилізацією такого відходу виробництва, як барда. На кожний 1 л біоетанолу утворюється 10–5 л барди. Її можна використовувати як сировину для виробництва концентрованих кормів або піддавати метановій ферментації для отримання газоподібного енергоносія – біогазу. У такий спосіб відбувається валоризація цього відходу виробництва, і є можливість заміщення викопних енергоносіїв для виробництва біоетанолу. Введення в дію промислових біогазових реакторів пов'язане з певними складностями. Нашою задачею було моделювання введення в дію реактора для біогазової ферментації барди, що виходить з діючого заводу потужністю 170 м³ біоетанолу на добу. Для проведення процесу біогазової ферментації використовували лабораторний реактор, робочим об'ємом 300 л, обладнаний системою стабілізації температури (електричний підігрів), мішалкою з електроприводом, пристосуваннями для періодичного завантаження субстрату й виводу збродженої рідини, системою виведення й обліку газу за допомогою лічильника. Контроль метанової ферментації здійснювали за показниками FOS/TAC. Субстрат (барда) відбирався безпосередньо з заводу за стабільного технологічного режиму виробництва біоетанолу протягом періоду виконання експериментів. Як інокулят слугував дигестат (побічна речовина після отримання біогазу), який був відібраний з діючої промислової біогазової установки. У процесі роботи досліджувався склад сировини та інокуляту, контролювалися рН та температура біогазового процесу. Процес метаногенезу відбувався у термофільних умовах, при 45–50 °С, навантаження субстратом за сухою речовиною 4 ± 0,4 кг/м³ на добу. Питомий вихід біогазу під час експерименту становив 48,5 ± 1,0 м³ на кожен кубічний метр барди. Вміст метану в біогазі в період стабільної ферментації (13...25 діб) становив 60,7 ± 0,8 % об'єму. Виходячи з результатів експериментів, можна зробити висновок, що додавання лігноцелюлозного субстрату підвищить вихід біогазу. З огляду на рівень FOS/TAC під час введення в дію і експлуатації промислового реактора для ферментації барди навантаження органічною речовиною можна рекомендувати до 5...6 кг/м³ на добу. Отримані дані будуть використані при введенні в експлуатацію реакторів промислової біогазової установки для перероблення барди в кількості 45...55 м³ на добу.

Ключові слова: біогаз, метанова ферментація, барда, утилізація відходів, біоетанол, мікроорганізми, біотехнологія.

Огляд, проблематика

Біоетанол в значній кількості виробляється з крохмалевмісної сировини – зерна кукурудзи, ячменю, жита, пшениці [1, 2]. Насамперед це некондиційне і дефектне зерно кукурудзи й інших злаків, відходи зернопереробки, які непридатні для харчових або кормових цілей. Сировина піддається термоферментативній обробці, і отриманий розчин цукрів ферментується дріжджами в етанол [3].

Побічний продукт після відокремлення етанолу від культуральної рідини має назву «післяспиртова зернова

барда», далі «барда». Барда містить усі складові компоненти вихідної сировини, за винятком крохмалю й невеликої частки інших вуглеводів, що перетворились дріжджами на етанол. Якщо якість крохмалевмісної сировини задовільна, барда може слугувати сировиною для виробництва продуктів кормового призначення [4, 5].

Існує ще один шлях утилізації барди – її анаеробна ферментація з метою отримання біогазу [6–8]. Останнім часом дедалі більше біоетанольних підприємств використовує дешеві відходи й дефектну крохмалевмісну сировину, які не відповідають ветеринарним вимогам і

можуть містити токсини, що унеможливають використання барди для виробництва кормів [9]. У цьому разі післяспиртову барду доцільно піддавати метановій ферментації для отримання газоподібного енергоносія – біогазу або біометану [10]. У такий спосіб відбувається валоризація небезпечного відходу виробництва і часткове заміщення викопних енергоносіїв для виробництва біоетанолу [11].

1. Постановка задачі

Як субстрат для біогазової ферментації (Anaerobic Digestion – AD) барда має свої особливості, що треба брати до уваги під час проектування і введення в експлуатацію промислових біогазових установок. Загалом барда відрізняється від традиційних субстратів для AD, як-от відходи тваринництва і лігноцелюозна біомаса, відносно низьким співвідношенням вуглецю та азоту (C/N) і більш низьким значенням pH. Вона може бути піддана AD при досить високому навантаженні за органічною речовиною (Organic Loading – OL) – до 10 кг на 1 м³ реактора за добу і гідравлічному часі перебування в реакторі (Hydraulic Retention Time – HRT) від 6 до 40 діб без вимивання метаноутворювальної мікрофлори. Але за високих навантажень знижується питома кількість біогазу (Specific Biogas Production – SBP), що утворюється від органічної речовини, здатної до біоконверсії (Volatile Solids – VS), – з 650 до 550 L kg⁻¹ [12].

Крім того, в барді порівняно мало природних полімерних сполук (наприклад, целюлози). Ці особливості, очевидно, мають вплив на протікання мікробіологічних процесів AD барди, що приводять до утворення біогазу. Через те що співвідношення карбону до нітрогену (C/N) є заниженим для біогазової ферментації, та з огляду на високий вміст калію, сульфатів та фенольних сполук, до барди часто треба додавати косубстрати. Проблема може вирішуватись додаванням лігноцелюозної біомаси. Для цього придатні різноманітні відходи агропромислового комплексу, які містять целюлозу та інші вуглеводи [13, 14].

Відомо, що введення в дію біогазових реакторів пов'язане з певними ризиками. Початок процесу AD може бути досить тривалим через несприятливі зміни pH внаслідок неконтрольованого зростання концентрації летких кислот жирного ряду (ЛЖК), сполук амонію або негативний вплив сполук сірки тощо. Надмірне накопичення ЛЖК може спричинити «закисання» середовища, тобто неприпустиме зниження pH. Навпаки, відносно високий вміст амонійних сполук у реакторі може привести до перевищення оптимальних для метаногенезу значень pH, особливо при термофільному режимі.

Підприємство, що виробляє 170 м³ біоетанолу на добу з крохмалевмісної сировини, використовує технологію Very High Gravity (VHG) ферментації [15]. Ще одною особливістю технології, яка дає нетиповий склад зернової барди, є використання для етанольної ферментації

комбінованої сировини – зернового сорго, крохмалевмісних понад 17 % v/v [16]. При цьому барда теж має підвищену концентрацію сухих речовин (CP >12 % w/v) і ЛЖК (переважно оцтової кислоти – до 0,5 % v/v.). Планується будівництво біогазової установки для утилізації барди з отриманням біогазу.

Метою роботи було визначення умов, за яких можна здійснити початкову стадію процесу і виходу анаеробного реактора на робочий термофільний режим при використанні моносубстрату – зернової барди підвищеної щільності.

Поставлена задача. Змодельовати введення в дію реактора для AD барди в термофільних умовах. Визначити період виходу реактора на стабільний режим роботи при навантаженні субстратом за сухою речовиною $4 \pm 0,4$ кг/м³ на добу. Отримати показники й межі їх змін, за якими буде здійснюватися контроль процесу, оцінити питомий вихід і якість біогазу. Оцінити перспективу підвищення навантаження реактора за сухою речовиною. Визначити зміну співвідношення Карбон / Нітроген у процесі AD і можливість підвищення продуктивності реактора за рахунок використання додаткових субстратів з високим співвідношенням C/N.

2. Матеріали і методи

Для проведення процесу біогазової ферментації використовували лабораторний CSTR-реактор з об'ємом робочої частини 300 л, обладнаний системою стабілізації температури (електричний підігрів, контрольований за показником температури середовища), мішалкою з електроприводом, пристосуваннями для періодичного завантаження субстрату й виводу збродженої рідини, системою виведення й обліку газу за допомогою лічильника ГБР400 (схема і фото реактора зображені на рис. 1).

Склад газу (CH₄; CO₂; H₂S) визначали автоматичним портативним цифровим газоаналізатором марки Landtec GEM-500 при лабораторному дослідженні та за допомогою газового хроматографа Aglient 7890B GC System (США). Аналізи субстрату й культуральної рідини виконували в лабораторії заводу за відповідними стандартизованими методиками.

Контроль метанової ферментації здійснювали за показниками FOS/TAC. Показник FOS (нім. Flüchtigen Organischen Säuren) є кількісною мірою летких органічних кислот, а TAC (англ. Total Anorganic Carbon) є мірою лужної буферної ємності [17, 18].

Крім того, для стабільного процесу біогазової ферментації дуже важливо було фіксувати також температуру в реакторі, температуру вхідної сировини, вміст сухих речовин (CP), особливо органічних сухих речовин (ОСР), і pH середовища в реакторі протягом всього процесу анаеробної ферментації.

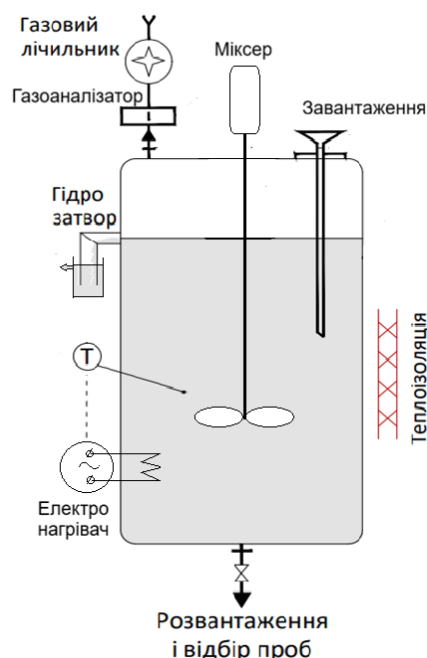


Рис. 1. Реактор для біогазової ферментації

Субстрат для біогазової ферментації (барда) відбирався безпосередньо з заводу при стабільному технологічному режимі виробництва біоетанолу протягом періоду виконання експериментів. У технологічному процесі виробництва біоетанолу для стабілізації рН ферментаційного середовища традиційно використовується сірчана кислота. Для запобігання можливому надмірному утворенню сірководню при метановій ферментації в технологічному процесі виробництва біоетанолу протягом одного тижня замінили сірчану кислоту молочною кислотою. У табл. 1 наведені результати аналізу складу барди при використанні сірчаної та

молочної кислоти. Для аналізу відібрані середньодобові проби при використанні сірчаної й молочної кислот за умов, що унеможлилювали змішування зразків з різними кислотами.

Методики вимірювань – відповідно до Державних стандартів України (ДСТУ) та Методик виконання вимірювань (МВВ 18/01-2019).

3. Аналіз сировини

Найважливіші показники барди, яка використовувалась у експериментах, наведені у табл. 1.

Таблиця 1. Склад барди

Назва показника, од. вимірювання	Результат вимірювань	Розширена невизначеність
Барда (молочна кислота)		
Азот амонійний, %	0,007	± 0,001
Азот загальний, %	0,39	± 0,04
Зола, %	4,5 (а)	± 0,3
Органічна речовина (перерахунок на карбон), %	47,7(а)	± 1,4
рН	4,2	± 0,1
Співвідношення С:N	15,8:1	-
Сухий залишок, %	12,9	± 0,7
Калій загальний (K ₂ O), %	0,14	± 0,02
Сірка загальна (S), %	0,027	± 0,004
Фосфор загальний (P ₂ O ₅), %	0,17	± 0,02
Барда (сірчана кислота)		
Азот амонійний, %	0,006	± 0,001
Азот загальний, %	0,43	± 0,04
Зола, %	4,1 (а)	± 0,3
Органічна речовина (перерахунок на карбон), %	47,9 (а)	± 1,4

Назва показника, од. вимірювання	Результат вимірювань	Розширена невизначеність
Барда (сірчана кислота)		
pH	4,3	± 0,1
Співвідношення C:N	13,9:1	-
Сухий залишок, %	12,3	± 0,7
Калій загальний (K ₂ O), %	0,15	± 0,02
Сірка загальна (S), %	0,031	± 0,004
Фосфор загальний (P ₂ O ₅), %	0,18	± 0,02

Примітка: (а) – результати на абсолютно сухий стан зразка.

Судячи з отриманих даних, вміст сірки та інших компонентів у зразках барди з використанням різних кислот відрізняється незначно, близько до розширеної невизначеності. Тому під час експериментів з анаеробної ферментації було прийняте рішення не брати зазначені зміни складу субстрату до уваги. Експерименти виконували з субстратом (бардою), який надходив з діючого

підприємства, незважаючи на те, яка кислота використовувалась у технологічному процесі.

Перед початком експериментів лабораторний реактор завантажили інокулятом, яким слугував дигестат (побічна речовина після отримання біогазу), що був відібраний з діючої промислової біогазової установки. Фізико-хімічні показники інокуляту наведені в табл. 2.

Таблиця 2. Фізико-хімічні показники інокуляту

Температура дигестату, °C	pH	Сухі речовини СР, %	FOSmg/L HAc	TACmg/L CaCO ₃	FOS/TAC
23,5	7,99	1,3	2250	7710	0,29

4. Опис експерименту

Інокулят для початку ферментації був відібраний з діючої промислової біогазової установки, в якій у мезофільному режимі (32...36 °C) перероблявся комплексний субстрат з нестабільним співвідношенням компонентів – відходи лігноцелюлозної біомаси, гній ВРХ, буряковий жом тощо. Дигестат з цієї установки планується використати як інокулят для введення в дію установки з переробки зернової барди. Тому лабораторне моделювання процесу було виконане саме з використанням зазначеного інокуляту. Щоб запобігти тепловому стресу мезофільної мікрофлори інокуляту, процес AD в лабораторному реакторі починали з мезофільного режиму.

Дигестат з вищезгаданої діючої промислової установки (інокулят), доставлений для виконання експерименту, мав температуру близько 24 °C. Лабораторний реактор заповнили інокулятом у кількості 300 л і довели температуру рідини в реакторі до 27,3 °C. Після цього

завантажили 10 л барди і включили стабілізацію температури на рівні 35 ± 0,5 °C. Подальше завантаження здійснювали також по 10 л барди один раз на добу з приблизного розрахунку навантаження 4 г органічної сухої речовини на 1 дм³ об'єму реактора і часу перебування рідини 30 діб. При завантаженні відбирали відповідний об'єм дигестату для підтримання сталого об'єму рідини в реакторі.

Температуру в лабораторному реакторі підіймали приблизно на 2 °C кожної доби до досягнення 40 °C, а далі – на 1 °C кожної доби до досягнення 45 °C, і на 0,5 °C до досягнення ≈50 °C. У такий спосіб моделювали процес введення в дію промислової біогазової установки при виведенні її на термофільний режим.

Результати та обговорення

Дані аналізів та вимірювань протягом всього періоду експерименту зведені в табл. 3.

Таблиця 3. Зведені дані з метанової ферментації

Час, діб	СР, %	pH	Температура, °C	FOS mg/L HAc	TAC mg/L CaCO ₃	FOS/TAC
0	1,71	7,99	27,3	2000	7750	0,26
1	1,90	7,86	35,5	1917	7375	0,26
2	1,97	7,40	37,2	2996	7250	0,41
3	1,90	7,44	38,7	-	-	-
4	2,12	7,50	39,2	2747	7250	0,38
5	2,11	7,44	40,7	2913	7300	0,40

Час, діб	CP, %	pH	Температура, °C	FOS mg/L HAc	TAC mg/L CaCO ₃	FOS/TAC
6	2,09	7,47	41,6	2830	7250	0,39
7	1,79	7,50	42,4	3245	7400	0,44
8	1,91	7,46	43,4	3162	7175	0,44
9	-	7,55	44,4	-	-	-
10	-	7,61	45,4	-	-	-
11	1,88	7,53	45,8	3411	6950	0,49
12	1,67	7,60	46,1	3079	7150	0,43
13	1,94	7,62	46,9	3328	7125	0,47
14	1,87	7,63	50,0	3411	7075	0,48
15	1,96	7,71	49,5	3328	7225	0,46
16	1,74	7,72	49,5	3079	7400	0,42
17	1,84	7,75	49,7	2996	7550	0,40
18	1,78	7,77	49,8	2747	7650	0,36
19	2,14	7,79	49,6	2498	7825	0,32
20	2,22	7,75	49,7	2830	8250	0,34
21	1,85	7,86	49,7	2415	7875	0,31
22	2,14	7,84	49,5	2581	7875	0,33
23	1,69	7,78	49,6	2415	7975	0,30
24	1,92	7,83	49,4	2332	7975	0,29
25	2,28	7,79	49,4	2415	7975	0,30
26	1,62	7,78	49,4	2332	8050	0,29
27	1,74	7,74	49,3	2415	8000	0,30

Вихід на запланований рівень температури в реакторі здійснювали протягом 14 діб (див. табл. 1). У цей період проходила адаптація мікроорганізмів до підвищення температури й до навантаження субстратом. При цьому вміст летких кислот (FOS) зростав, і міг відбутися вихід середовища за межі оптимального діапазону pH 7...8. У цьому разі потрібно було б знизити швидкість підйому температури та/або завантаження субстрату через перевищення адаптивної спроможності мікрофлори в реакторі.

У цей період особливу увагу приділяли зміні показника FOS/TAC у реакторі, слідкуючи за тим, щоб вміст летких кислот (FOS) відносно лужності (TAC) середовища не перевищував допустимого значення – 0,5. Тому періодичність завантаження субстратом і його кількість не змінювали.

З 15-ї по 27-му добу процес метагенезу вийшов на стабільний режим. Лужність (TAC) інокуляту і субстрату була стабільною протягом усього експерименту завдяки сталому вмісту карбонатів у барді. Порівняно низький вміст амонійного азоту в барді не спричиняв надмірного підняття pH у реакторі як це відбувається, наприклад, у разі перероблення субстратів з вмістом курячого посліду [19].

Показник FOS/TAC після закінчення періоду адаптації був у межах стабільного процесу – 0,3...0,4.

Інокулят мав початкову концентрацію 1,3 % CP, тому в період адаптації цей показник зростав до встановлення балансу між надходженням речовини в реактор і виходом її з біогазом. Коливання вмісту CP у реакторі після стабілізації процесу пояснюється наявністю осаду й потраплянням його в проби рідини. Вихід біогазу протягом експерименту показаний на рис. 3. Загалом динаміка утворення біогазу і зміна його складу (рис. 4) була в очікуваних межах, зважаючи на стабільний склад субстрату – зернової барди.

Вміст сірководню в біогазі (рис. 5) мав значні коливання, що спостерігається в багатьох біогазових установках [20], як промислових, так і експериментальних. Це пояснюється, найімовірніше, високою чутливістю сульфат-редукуючих мікроорганізмів до коливань температури, складу субстрату та інших умов процесу ферментації, включно з гідродинамічними. Загалом, зважаючи на вимоги до якості біогазу для використання в когенераційних установках (до 100 ppmv), у промисловій установці потрібно передбачити заходи та обладнання для до очищення біогазу від сірководню.

Змішану пробу дигестату за останніх п'ять діб експерименту піддали детальному аналізу, результати якого наведені в табл. 4.

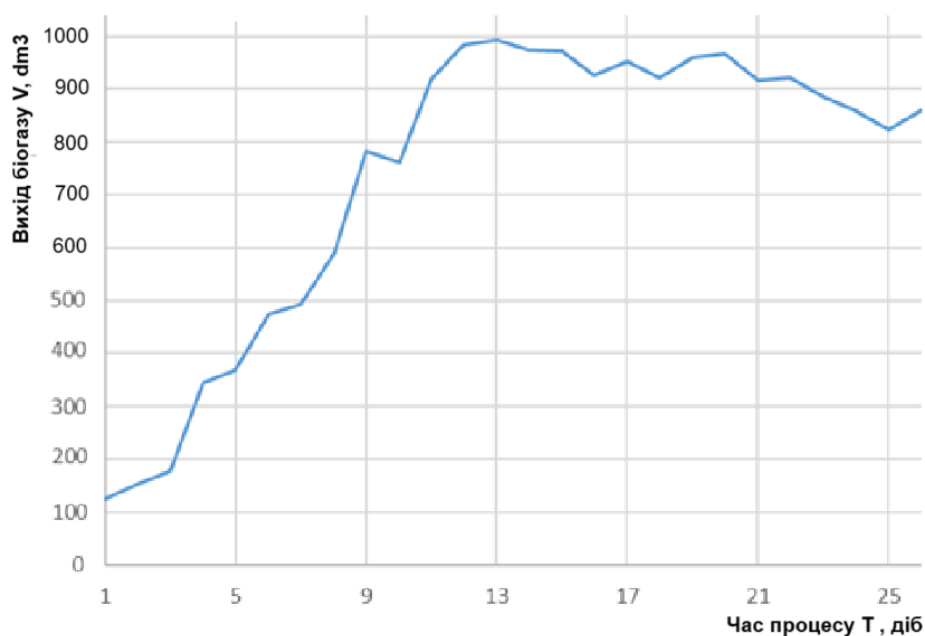


Рис. 3. Вихід біогазу в процесі виведення реактора на робочий режим

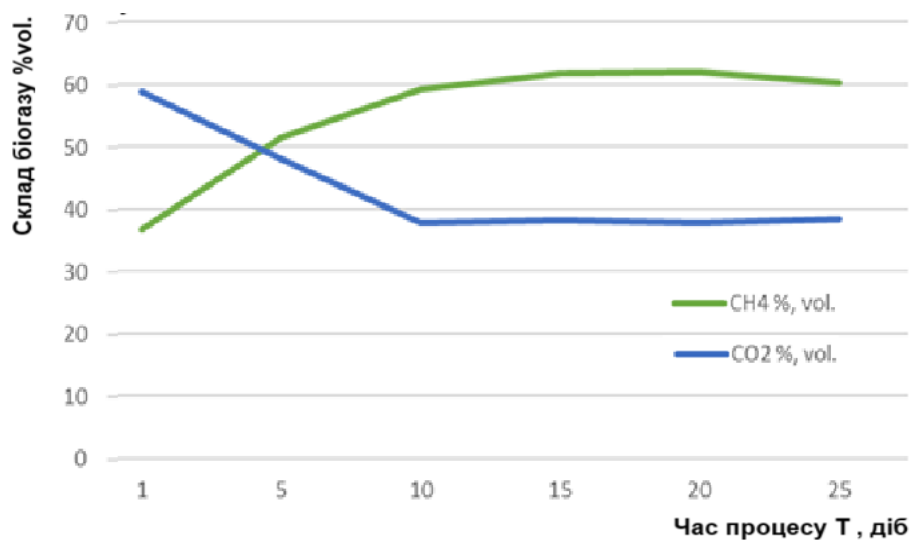


Рис. 4. Зміна складу біогазу в процесі експерименту

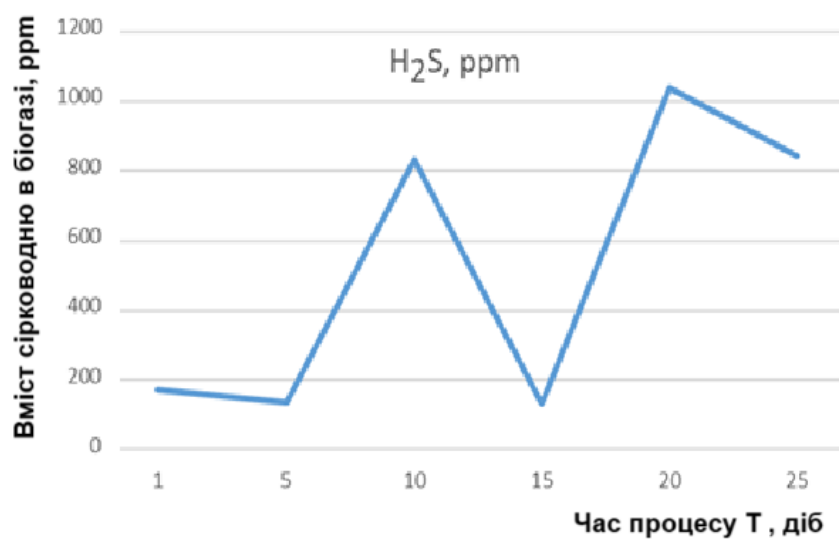


Рис. 5. Вміст сірководню в біогазі в процесі експерименту

Таблиця 4. Аналіз складу дигестату

Назва показника, одиниця вимірювання	Результат вимірювань	Розширена невизначеність
Дигестат		
Азот амонійний, %	0,24	± 0,02
Азот загальний, %	0,33	± 0,03
Органічна речовина (перерахунок на карбон), %	38,3 (а)	± 1,2
pH	8,3	± 0,1
Співвідношення C:N	2,0:1	-
Сухий залишок, %	1,85	± 0,1
Калій загальний (K ₂ O), %	0,14	± 0,02
Сірка загальна (S), %	0,015	± 0,002
Фосфор загальний (P ₂ O ₅), %	0,093	± 0,012

Примітка: (а) – результати на абсолютно сухий стан зразка.

Дигестат за складом і концентрацією компонентів (табл. 4) не може бути використаний для скиду у відкриті водойми, він має підлягати аеробному очищенню в біофільтрах та/або біологічних ставках. Промислова біогазова установка має відповідне обладнання і споруди для безпечної утилізації дигестату.

Висновки

За результатами експериментальної ферментації можна зробити такі висновки.

Вихід біогазу. У табл. 5 наведений питомий вихід біогазу з барди, розрахований за період 13...25 діб ферментації.

Таблиця 5. Експериментальний питомий вихід біогазу

Питомий вихід біогазу, м ³		
На м ³ барди	на тонну СР	на тонну ОСР
48,5±1,0	606,5±14.6	634,0±14.9

Вміст метану в біогазі в період стабільної ферментації (13...25 діб) становив 60,7 ± 0,8 % об'єму. Це дає змогу використовувати отримані дані для розрахунків економічних аспектів роботи промислової біогазової установки.

Вміст сірководню занадто високий для використання біогазу в когенераційних установках без попереднього очищення.

Склад дигестату. Співвідношення C/N у дигестаті становить 2:1 порівняно з таким у барді (~14:1). Використання для промислової біогазової ферментації додаткового субстрату, лігноцелюлозної біомаси, для оптимального співвідношення C/N, дасть змогу підвищити вихід біогазу.

Навантаження органічною речовиною (OL). Для експерименту було прийняте навантаження реактора органічною речовиною ≈4 кг/м³ на добу. Судячи зі співвідношення FOS/TAC, таке навантаження є низьким. Під час введення в дію та експлуатації промислового реак-

тора для ферментації барди навантаження органічною речовиною може бути збільшене до 5...6 кг/м³ на добу. У подальшому в разі використання лігноцелюлозного ко субстрату **OL можна буде піднімати до прийнятної величини.**

Отримані дані будуть використані під час введення в експлуатацію реакторів промислової біогазової установки для перероблення барди в кількості 1000...1100 м³ на добу.

ПОСИЛАННЯ

1. Маринченко В. О., Домарецький В. А., Шиян П. Л., Швець В. М., Циганков П. С., Жолнер І. Д. / За ред. проф. О. Маринченка. Технологія спирту. Вінниця: «Поділля — 2000», 2003. 496 с. ISBN 966-8213-01-7
2. Барда зернова суха ТУ У 15.7–30219014–002–2003. Технічні умови. ДКПП 15.96.20.000. УКНД 65.120.; затверд. 30.07.2003; зареєстр. Укрметртестстандарт ідент. код 02568182. [Чинний з 23.01.2004]. Київ: Держспоживстандарт України, 2004. 4 с. (Національний стандарт України).
3. Li J., Zhao R., Xu Y., Wu X., Bean S. R. Fuel ethanol production from starchy grain and other crops: An overview on feedstocks, affecting factors, and technical advances. Renewable Energy. Vol. 188, 2022, P. 223–239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2022.02.038>
4. Дяченко Л. С. Основи технології комбікормового виробництва: навч. посібник / Л. С. Дяченко, В. С. Бомко, Т. Л. Сивик. Біла Церква, 2015.
5. Клименко Т. Є. Рослинні білкові корми: порівняльний аналіз, перспективи використання при вирощуванні ремонтного молодняку яєчних курей / Т. Є. Клименко. Птахівництво. 62 (2008). С. 22.
6. Moraes B. S., Petersen S. O., Zaiat M., Sommer S. G., Triolo J. M. Reduction in greenhouse gas emissions

- from vinasse through anaerobic digestion. *Applied Energy*. 2017. № 189. P. 21–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.009>
7. Polishchuk V., Valiev T. Study of the anaerobic destruction of post-alcohol distillery waste by mateen. *Machinery & Energetics*. 2023. 14(2), 60–69. DOI: <https://doi.org/10.31548/machinery/2.2023.60>
8. Цыганков С. П., Новак А. Г., Куличкова А. И. Использование побочных продуктов производства биоэтанола для получения энергии. *Відновлювана енергетика*. 2009. № 2 (17). С. 74–77.
9. Danilova K., Oliynichuk S., Verbytskyi S. Bioutilization of the distillery stillage of different grain species from bioethanol production. *Ecological Questions*. 2023. 34(4), p. 1–12. DOI: <https://doi.org/10.12775/EQ.2023.050>
10. Голуб Н. Б., Потапова М. В. Технологія одержання біогазу з післяспиртової барди. *Відновлювана енергетика*. 2018. № 1. С. 88–95.
11. Zielińska M., Bułkowska K., Mikucka W. Valorization of Distillery Stillage for Bioenergy Production: A Review. *Energies*. 2021, 14(21), 7235. DOI: <https://doi.org/10.3390/en14217235>
12. Schmidt T., Pröter J., Scholwin F., Nelles M. Anaerobic digestion of grain stillage at high organic loading rates in three different reactor systems. *Biomass and Bioenergy*. Vol. 55, 2013, P. 285–290.
13. Przybył J., Wojcieszak D., Garbowski T. Effect of Corn Stover Ensiling on Methane Production and Carbon Dioxide Emissions. *Energies*. 2024, 17(23), 6179. DOI: <https://doi.org/10.3390/en17236179>
14. Roubinek O. K., Wilinska-Lisowska A., Jasinska M., Chmielewski A. G., Czerwionka K. Production of Biogas from Distillation Residue as a Waste Material from the Distillery Industry in Poland. *Energies*. 2023, 16(7), 3063. DOI: <https://doi.org/10.3390/en16073063>
15. Daniel Gomes, Mariana Cruz, Miriam de Resende, Eloízio Ribeiro, José Teixeira, Lucília Domingues. Very High Gravity Bioethanol Revisited: Main Challenges and Advances. *Fermentation* 2021, 7(1), 38. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation7010038>
16. Samarin V., Ivanova T., Vovk Ye., Blume Ya., Tsygankov S. Comparative Analysis of Grain Sorghum and Corn as Raw Materials for Bioethanol Production. *Open Agric J*. 2026; 20. In press.
17. Park S., Kim G.-B., Pandey A. K., Park J.-H., Kim S.-H. Prediction of total organic acids concentration based on FOS/TAC titration in continuous anaerobic digester fed with food waste using a deep neural network model. *Biomass and Bioenergy*. Vol. 190, 2024, 107411. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2024.107411>
18. Lili M., Biró G., Sulyok E., Petis M., Borbély J., Tamás J. Novel approach on the basis of FOS/TAC method. In: *Proceedings of the Analele Universității din Oradea, Fascicula Protecția Mediului, Oradea, Romania, 4–5 November 2011*; Vol. 17, pp. 713–718.
19. Tawfik A., Eraky M., Osman A. I., Ai P, Zhou Zh., Meng F., Rooney D. W. Bioenergy production from chicken manure: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 21, 2707–2727 (2023). DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01618-x>
20. Vu H. P., Nguyen L. N., Wang Q., Ngo H. H., Liu Q., Zhang X., Nghiem L. D. Hydrogen sulphide management in anaerobic digestion: A critical review on input control, process regulation, and post-treatment. *Bioresource Technology*. Vol. 346, 2022, 126634. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126634>

MODELING THE INITIAL STAGE OF GRAIN STILLAGE BIOGAS FERMENTATION IN A LABORATORY REACTOR

Received Dec. 11, 2025; accepted Mar. 23, 2026
Available online Mar. 31, 2026

Kulichkova H.¹, Ivanova T.², Samarin V.³,
Vovk E.⁴, Tsygankov S.⁵

Author for correspondence: Kulichkova Hanna
e-mail: newmilk@ukr.net

¹ Dr. of Philosophy (Biology)
<https://orcid.org/0000-0001-6909-391X>

² Ph.D. (Biology)
<https://orcid.org/0000-0002-5219-8034>

³ Postgraduate Student
<https://orcid.org/0009-0009-7984-038X>

⁴ Postgraduate Student
<https://orcid.org/0009-0000-4776-206X>

⁵ Dr. of Sciences (Tech.), Professor
<https://orcid.org/0000-0002-4166-4124>

^{1, 2, 3, 4, 5} Institute of Food Biotechnology and
Genomics of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Abstract. *Bioethanol plants face challenges in the maintenance of using production waste, such as stillage. For every 1 liter of bioethanol, 10-15 liters of stillage are generated. It can be used as a raw material for the production of concentrated feed, or stillage, which is subjected to methane fermentation to obtain a gaseous energy carrier - biogas. In this way, this Thus, the production waste is valorized, and there is a the possibility of replacing fossil fuels in the production of bioethanol appears. The commissioning of industrial biogas reactors is associated with certain difficulties. Our task was to generate a model simulate the commissioning of a reactor start-up for biogas fermentation of stillage, which comes from an operating plant with a capacity of 170 m³ of bioethanol per day. To carry out the biogas fermentation process, a laboratory reactor with a working volume of 300 l was used, equipped with a temperature stabilization system (electric heating), an electric mixer, devices for periodic loading of the substrate and removal of the fermented liquid, a gas removal and accounting system using a meter. Methane fermentation was controlled by FOS/TAC indicators. The substrate (stillage) was taken directly from the plant, with a stable technological mode of bioethanol production throughout the experiments. The inoculum was digestate (a by-product of biogas production) collected from an operating industrial biogas plant. During the work, the composition of the raw material and inoculum was studied, and the pH and temperature of the biogas process were controlled. The methanogenesis process took place under thermophilic conditions, at 45-50 °C, the substrate load on dry matter was 4 ± 0.4 kg/m³ per day. The specific biogas yield during the experiment was 48.5 ± 1.0 m³ per m³ of bard. The methane content in biogas during the period of stable fermentation (13...25 days) was $60.7 \pm 0.8\%$ by volume. Based on the results of the experiments, it can be concluded that the addition of lignocellulosic substrate will increase the biogas yield. Given the level of FOS/TAC, when commissioning and operating an industrial reactor for wort fermentation, the organic matter loading can be recommended to 5...6 kg/m³ per day. The data obtained will be used when commissioning reactors of an industrial biogas plant for stillage processing in an amount of 1000...1100 m³ per day.*

Key words: *biogas, methane fermentation, stillage, waste utilization, bioethanol, microorganisms, biotechnology.*

Overview, issues

Bioethanol is produced in significant quantities from starch-containing feedstocks—corn, barley, rye, and wheat [1, 2]. First of all, these are substandard and defective corn and other cereal grains, grain processing waste that is unsuitable for food or feed purposes. The raw materials undergo thermoenzymatic treatment, and the resulting sugar solution is fermented by yeast into ethanol [3].

The by-product after separating ethanol from the culture fluid is called “post-alcohol distiller's grains,” hereinafter referred to as “stillage.” Stillage contains all feedstock components, except for starch and a small proportion of other carbohydrates that have been converted into ethanol by yeast. If the quality of the starchy feedstock is satisfactory, the stillage can be used as a raw material for the production of feed products [4, 5].

There is another way to utilize stillage—its anaerobic fermentation to produce biogas [6-8]. Recently, more and more bioethanol enterprises have been using cheap waste and defective starch-containing raw materials that do not meet veterinary requirements and may contain toxins, which makes it impossible to use stillage for feed production [9]. In this case, it is advisable to subject stillage to methane fermentation to obtain a gaseous energy source – biogas or biomethane [10]. This allows for the valorization of hazardous production waste and the partial replacement of fossil fuels in bioethanol production [11].

1. Problem statement

As a substrate for anaerobic digestion (AD), stillage has certain characteristics that must be considered when designing and commissioning industrial biogas plants. The main differences from traditional substrates for AD, such as

livestock waste and lignocellulosic biomass, are the relatively low carbon-to-nitrogen (C/N) ratio and lower pH value of stillage. It can be subjected to AD at a fairly high organic loading (OL) - up to 10 kg per cubic meter of reactor per day- and hydraulic retention time (HRT) of 6 to 40 days without washing out the methane-producing microflora. However, at high loads, the specific amount of biogas produced (Specific Biogas Production - SBP) decreases from 650 to 550 L kg⁻¹ of organic matter capable of bioconversion (Volatile Solids - VS) [12].

In addition, there are relatively few natural polymer compounds (e.g., cellulose) in stillage. These characteristics obviously influence the microbiological processes in stillage AD, leading to the formation of biogas. Due to the fact that the carbon-to-nitrogen (C/N) ratio is too low for biogas fermentation, and the high content of potassium, sulphates, and phenolic compounds, co-substrates often need to be added to distiller's grains. The problem can be solved by adding lignocellulosic biomass. Various agro-industrial wastes containing cellulose and other carbohydrates are suitable for this purpose [13, 14].

It is known that the commissioning of biogas reactors is associated with certain risks. The start of the AD process can be quite lengthy due to unfavourable changes in pH as a result of uncontrolled growth of volatile fatty acids (VFAs) or ammonium compounds concentration, or the negative influence of sulphur compounds, etc. Excessive accumulation of VFA can cause an unacceptable pH decrease. Conversely, a relatively high content of ammonium compounds in the reactor can lead to exceeding the optimal pH values for methanogenesis, especially in thermophilic mode.

The enterprise, which produces 170 m³ of bioethanol per day from starchy feedstocks, uses Very High Gravity (VHG) fermentation technology [15]. Another feature of the technology, which results in an atypical stillage composition, is

the use of combined feedstocks—grain sorghum and starch-containing grain processing waste—which allows for the production of ethanol mash with a higher concentration of more than 17% v/v [16]. At the same time, the stillage also has an increased concentration of dry matter (DM) >12% w/v and VFA (mainly acetic acid – up to 0.5% v/v). There are plans to build a biogas plant for the utilization of distiller's grains with the production of biogas.

The aim of the work was to determine the conditions under which it is possible to carry out the initial stage of the process and bring the anaerobic reactor into the operating thermophilic mode when using a monosubstrate – high-density stillage.

The tasks were as follows: (1) to generate a model of an AD reactor start-up for stillage under thermophilic conditions; (2) to determine the period of the reactor's transition to a stable operating mode at a substrate load of 4 ± 0.4 kg of DM/m³ per day; (3) to obtain indicators and limits of their changes, according to which the process will be controlled; (4) to evaluate the specific yield and quality of biogas; (5) to assess the prospect of increasing the reactor load in terms of DM; (6) to determine the change in the carbon/nitrogen ratio in the AD process and the possibility of increasing reactor productivity by using additional substrates with a high C/N ratio.

2. Materials and methods

For the biogas fermentation process, a laboratory Continuous Stirred Tank Reactor (CSTR) with a working volume of 300 liters was used, equipped with a temperature stabilization system (electric heating controlled by the ambient temperature), an electric stirrer, devices for periodic loading of the substrate and removal of the fermented liquid, and a gas removal and metering system using a GBR400 meter (the diagram and photo of the reactor are shown in Fig. 1).

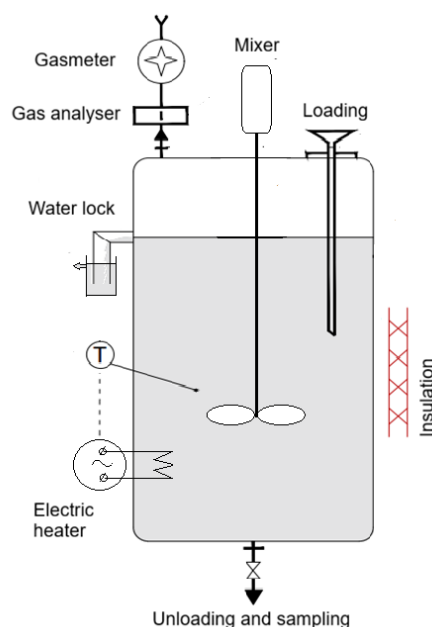


Fig. 1. Reactor for biogas fermentation

The gas composition (CH₄; CO₂; H₂S) was determined using a Landtec GEM-500 automatic portable digital gas analyzer in laboratory tests and using an Agilent 7890B GC System gas chromatograph (USA). Substrate and culture fluids analyses were performed in the bioethanol plant laboratory using appropriate standardized methods.

Methane fermentation was monitored using FOS/TAC indicators. The FOS (German: Flüchtigen Organischen Säuren) indicator is a quantitative measure of volatile organic acids, and TAC (English: Total Anorganic Carbon) is a measure of alkaline buffer capacity [17, 18].

In addition, for a stable biogas fermentation process, it was very important to record the temperature in both the reactor and the input raw materials, the DM content, especially organic dry matter (ODM), and the pH of the reactor media throughout the anaerobic fermentation process.

The substrate for biogas fermentation (stillage) was taken directly from the plant during stable bioethanol production

throughout the experiment period. In the technological process of bioethanol production, sulfuric acid is traditionally used to stabilize the pH of the fermentation medium. To prevent possible excessive hydrogen sulfide formation during methane fermentation, sulfuric acid was replaced with lactic acid in the technological process of bioethanol production for one week. The table shows the results of the analysis of the composition of distiller's grains when using sulfuric and lactic acids. For the analysis, average daily samples were taken using sulfuric and lactic acids under conditions that prevented mixing samples with different acids.

Measurement methods – in accordance with the State Standards of Ukraine (DSTU) and Measurement Methods (MBB 18/01-2019).

2. Analysis of raw materials

The most important indicators of the stillage used in the experiments are shown in Table 1.

Table 1. Composition of distiller's grains

Name of indicator, unit of measurement	Measurement result	Expanded uncertainty
Stillage (lactic acid)		
Ammonium nitrogen, %	0.007	± 0.001
Total nitrogen, %	0.39	± 0.04
Ash, %	4.5(a)	± 0.3
Organic matter (carbon equivalent), %	47.7(a)	± 1.4
pH	4.2	± 0.1
C:N ratio	15.8:1	-
Dry residue, %	12.9	± 0.7
Total potassium (K ₂ O), %	0.14	± 0.02
Total sulfur (S), %	0.027	± 0.004
Total phosphorus (P ₂ O ₅), %	0.17	± 0.02
Stillage (sulfuric acid)		
Ammonium nitrogen, %	0.006	± 0.001
Total nitrogen, %	0.43	± 0.04
Ash, %	4.1(a)	± 0.3
Organic matter (carbon equivalent), %	47.9(a)	± 1.4
pH	4.3	± 0.1
C:N ratio	13.9:1	-
Dry residue, %	12.3	± 0.7
Total potassium (K ₂ O), %	0.15	± 0.02
Total sulphur (S), %	0.031	± 0.004
Total phosphorus (P ₂ O ₅), %	0.18	± 0.02

Note. (a) - results for a completely dry sample

Based on the data, the sulphur and other components in the stillage samples treated with different acids didn't change much, remaining close to the expanded uncertainty. So, in the AD experiments, we decided not to worry about these changes in the substrate composition. The experiments were carried out with substrate (stillage) supplied by an operating enterprise, regardless of the acid used

in the technological process.

Before starting the experiments, the laboratory reactor was loaded with an inoculum, namely digestate (a by-product of biogas production) selected from an operating industrial biogas plant. The physicochemical parameters of the inoculum are shown in Table 2.

Table 2. Physical and chemical parameters of the inoculum

Digestate temperature, °C	pH	Dry matter DM, %	FOS mg/L HAc	TAC mg/L CaCO ₃	FOS/TAC
23.5	7.99	1.3	2250	7710	0.29

4. Description of the experiment

The inoculum for starting fermentation was selected from an industrial biogas plant, in which a complex substrate with an unstable ratio of components—lignocellulosic biomass waste, cattle manure, beet pulp, etc.—was processed in mesophilic mode (32–36 °C). To prevent thermal stress on the mesophilic microflora of the inoculum, the AD process in the laboratory reactor was started in mesophilic mode.

The digestate from the above-mentioned operating biogas plant (inoculum), delivered for the experiment, had a temperature of about 24 °C. The laboratory reactor was filled with 300 liters of inoculum and the temperature of the liquid in the reactor was brought to 27.3 °C. After that, 10 liters of stillage were loaded, and the temperature was stabilized at 35±0.5 °C. Further loading was also carried out at

a rate of 10 liters of distiller's grains once a day, based on an estimated 4 g of organic dry matter per dm³ of reactor volume and a liquid residence time of 30 days. During loading, the appropriate volume of digestate was withdrawn to maintain a constant volume of liquid in the reactor.

The temperature in the laboratory reactor was raised by approximately 2 °C every 24 hours until it reached 40 °C, then by 1 °C every 24 hours until it reached 45 °C, and by 0.5 °C until it reached ≈50 °C. Such model displays the process of an industrial biogas plant start-up when bringing it into thermophilic mode.

Results and discussion

The data from analyses and measurements throughout the entire experiment are summarized in Table 3.

Table 3. Summary data on methane fermentation

Time, days	DM, %	pH	Temperature, °C	FOS mg/L HAc	TAC mg/L CaCO ₃	FOS/TAC
0	1.71	7.99	27.3	2,000	7,750	0.26
1	1.90	7.86	35.5	1,917	7,375	0.26
2	1.97	7.40	37.2	2,996	7,250	0.41
3	1.90	7.44	38.7	-	-	-
4	2.12	7.50	39.2	2,747	7,250	0.38
5	2.11	7.44	40.7	2,913	7,300	0.40
6	2.09	7.47	41.6	2,830	7,250	0.39
7	1.79	7.50	42.4	3,245	7,400	0.44
8	1.91	7.46	43.4	3,162	7,175	0.44
9	-	7.55	44.4	-	-	-
10	-	7.61	45.4	-	-	-
11	1.88	7.53	45.8	3,411	6,950	0.49
12	1.67	7.60	46.1	3,079	7,150	0.43
13	1.94	7.62	46.9	3,328	7,125	0.47
14	1.87	7.63	50.0	3,411	7,075	0.48
15	1.96	7.71	49.5	3,328	7,225	0.46
16	1.74	7.72	49.5	3,079	7,400	0.42
17	1.84	7.75	49.7	2,996	7,550	0.40
18	1.78	7.77	49.8	2,747	7,650	0.36
19	2.14	7.79	49.6	2,498	7,825	0.32
20	2.22	7.75	49.7	2,830	8,250	0.34
21	1.85	7.86	49.7	2,415	7,875	0.31
22	2.14	7.84	49.5	2,581	7,875	0.33
23	1.69	7.78	49.6	2,415	7,975	0.30
24	1.92	7.83	49.4	2,332	7,975	0.29
25	2.28	7.79	49.4	2,415	7,975	0.30
26	1.62	7.78	49.4	2,332	8,050	0.29
27	1.74	7.74	49.3	2,415	8,000	0.30

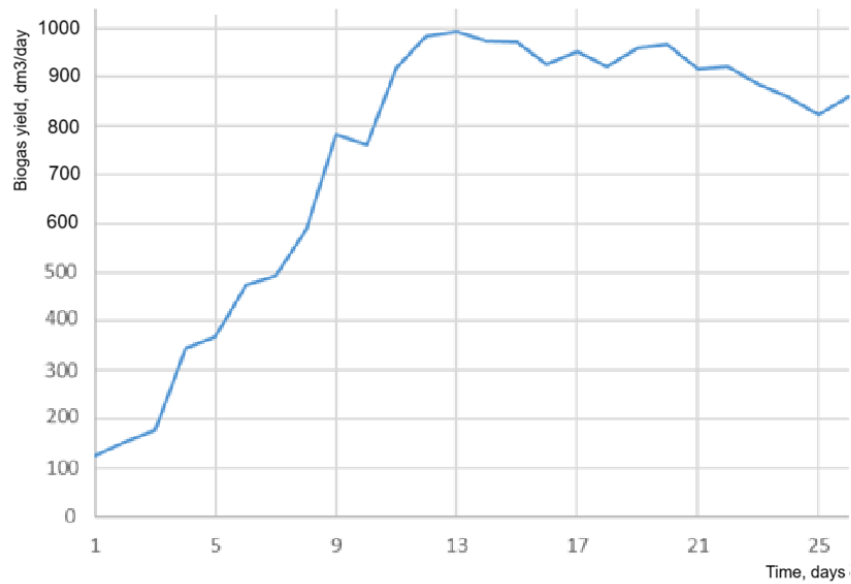


Fig. 3. Biogas output during the process of bringing the reactor to operating mode

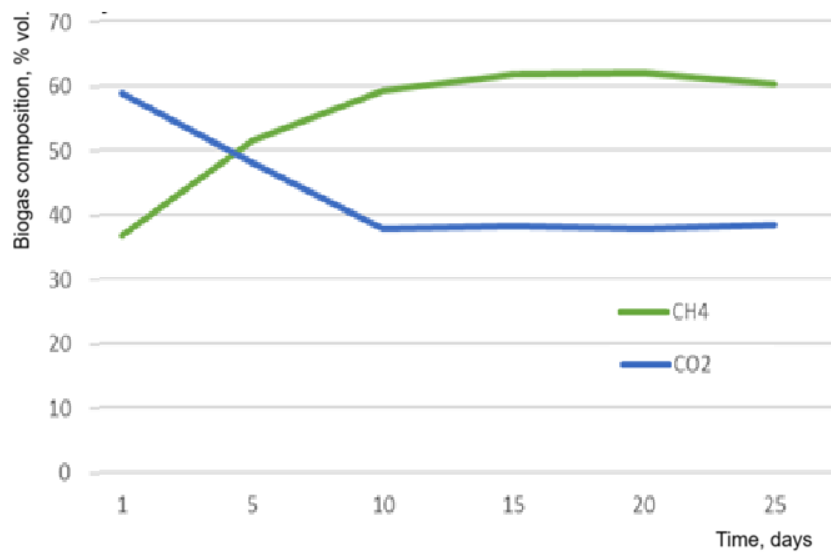


Fig. 4. Changes in biogas composition during the experiment

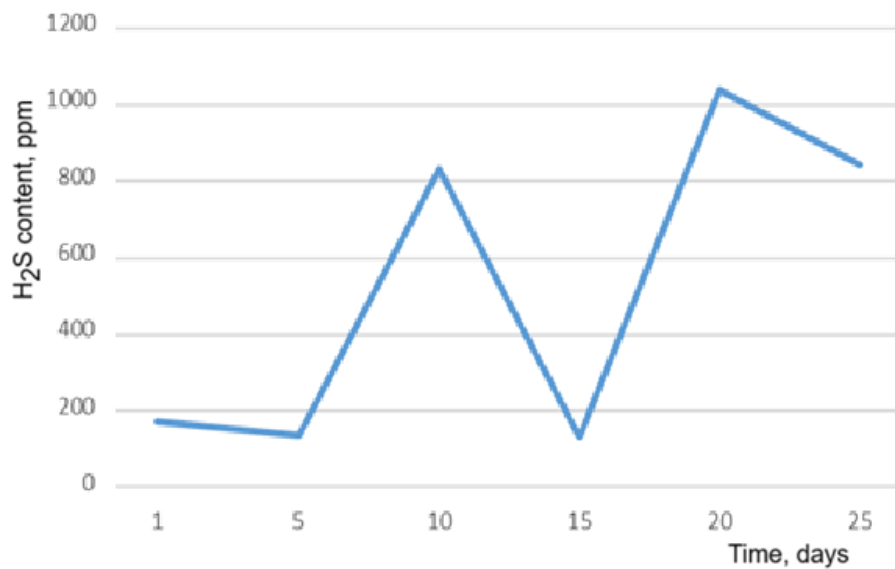


Fig. 5. Hydrogen sulphide content in biogas during the experiment

The reactor was brought to the planned temperature level during a period of 14 days (Table 1). Throughout this period, the microorganisms adapted to the increase in temperature and substrate load. At the same time, the content of volatile acids (FOS) increased, and the medium could have exceeded the optimal pH range of 7–8. In this case, it would have been necessary to reduce the rate of temperature rise and/or substrate loading due to exceeding the adaptive capacity of the microflora in the reactor.

At the period of microorganisms' adaptation, special attention was paid to changes in the FOS/TAC ratio in the reactor, ensuring that the content of volatile acids (FOS) relative to the alkalinity (TAC) of the medium did not exceed the permissible value of 0.5. Therefore, the frequency of substrate loading and the quantity of substrate was not changed.

From the 15th to the 27th day, the metagenesis process reached a stable state. The alkalinity (TAC) of the inoculum and substrate remained stable throughout the experiment due to the constant carbonate content in the distiller's grains. The relatively low content of ammonium nitrogen in the distiller's grains did not cause an excessive increase of pH in the reactor, comparing to processing substrates containing chicken manure [19].

After the adaptation period, the FOS/TAC indicator remained stable at 0.3–0.4.

The inoculum had an initial concentration of 1.3% DM, so during the adaptation period, this indicator increased until a balance was established between the substance entering the reactor and its output with biogas. Fluctuations in the DM content in the reactor after the process stabilized are explained by the presence of sediment and its entry into the liquid samples. The biogas yield during the experiment is shown in Fig. 3. In general, the dynamics of biogas formation and changes in its composition (Fig. 4) were within the expected limits, given the stable composition of the substrate – stillage.

The hydrogen sulphide content in biogas (Fig. 5) fluctuated significantly, which is also observed in many biogas plants [20], both industrial and experimental. This is most likely due to the high sensitivity of sulphate-reducing microorganisms to fluctuations in temperature, substrate composition, and other fermentation conditions, including hydrodynamic ones. In general, given the quality requirements for biogas for use in cogeneration units (up to 100 ppm), industrial plants need to provide measures and equipment for the purification of biogas from hydrogen sulphide.

A mixed sample of digestate from the last five days of the experiment was subjected to detailed analysis, the results of which are shown in Table 4:

Table 4. Analysis of digestate composition

Name of indicator, unit of measurement	Measurement result	Expanded uncertainty
digestate		
Ammonium nitrogen, %	0.24	± 0.02
Total nitrogen, %		
Organic matter (carbon equivalent), %	0.33	± 0.03
pH	38.3(a)	± 1.2
C:N ratio	8.3	± 0.1
Dry residue, %	2.0:1	-
Total potassium (K ₂ O), %	1.85	± 0.1
Total sulfur (S), %	0.14	± 0.02
Total phosphorus (P ₂ O ₅), %	0.015	± 0.002
Ammonium nitrogen, %	0.093	± 0.012

Note: (a) - results for a completely dry sample

Due to its composition and concentration of components (Table 4), digestate cannot be discharged into open water bodies, but should undergo aerobic treatment in biofilters and/or biological ponds. An industrial biogas plant has the appropriate equipment and facilities for the safe disposal of digestate.

Conclusions

Based on the results of experimental fermentation, the following conclusions can be made:

Biogas yield. Table 5 shows the specific biogas yield from distiller's grains, calculated for a fermentation period of 13–25 days.

Table 5. Experimental specific biogas yield

Specific biogas yield, m ³		
per m ³ of stillage	per ton DM	per ton ODM
48.5±1.0	606.5±14.6	634.0±14.9

The methane content in biogas during stable fermentation (13–25 days) was $60.7 \pm 0.8\%$ by volume. This allows the data obtained to be used for calculating the economic aspects of industrial biogas plant operation.

The hydrogen sulphide content is too high for the use of biogas in cogeneration units without prior purification.

Digestate composition. The C/N ratio in the digestate is 2:1 compared to that in distiller's grains ($\approx 14:1$). The use of an additional substrate, lignocellulosic biomass, for industrial biogas fermentation to achieve an optimal C/N ratio will increase biogas yield.

Organic load (OL). For the experiment, a reactor load of organic matter of $\approx 4 \text{ kg/m}^3$ per day was adopted. Judging by the FOS/TAC ratio, this loading is low. When commissioning and operating an industrial reactor for distiller's grains fermentation, the organic matter loading can be increased to $5\text{--}6 \text{ kg/m}^3$ per day. In the future, when using lignocellulosic co-substrate, **OL can be increased to an acceptable value.**

The data obtained will be used when commissioning reactors of an industrial biogas plant for processing of stillage at a rate of $1000\text{--}1100 \text{ m}^3$ per day.

REFERENCES

- Marynchenko, V.O., Domaretskyi, V.A., Shyian, P.L., Shvets, V.M., Tsyhankov, P.S., Zholner, I.D.; ed. by Prof. O. Marynchenko. *Technology of Alcohol Production*. Vinnytsia: Podillia–2000 Publishing House, 2003. 496 p. ISBN 966-8213-01-7.
- Dried Distillers' Grain. TU U 15.7–30219014–002–2003. Technical Specifications. DKPP 15.96.20.000. UKND 65.120. Approved 30 July 2003; registered by Ukrmetrteststandart, identification code 02568182. Effective from 23 January 2004. Kyiv: State Committee of Ukraine for Technical Regulation and Consumer Policy, 2004. 4 p. (National Standard of Ukraine).
- Li J., Zhao R., Xu Y., Wu X., Bean S. R. Fuel ethanol production from starchy grain and other crops: An overview on feedstocks, affecting factors, and technical advances. *Renewable Energy*. Vol. 188, 2022, P. 223–239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2022.02.038>
- Diachenko L.S., Bomko V.S., Syvyk T.L. *Fundamentals of Compound Feed Production Technology: Study Guide*. Bila Tserkva, 2015.
- Klymenko T.Y. *Plant Protein Feeds: Comparative Analysis and Prospects for Use in Rearing Replacement Pullets of Laying Hens*. Ptakhivnytstvo. 62 (2008). P. 22.
- Moraes B. S., Petersen S. O., Zaiat M., Sommer S. G., Triolo J. M. Reduction in greenhouse gas emissions from vinasse through anaerobic digestion. *Applied Energy*. 2017. № 189. P. 21–30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.009>
- Polishchuk V., Valiev T. Study of the anaerobic destruction of post-alcohol distillery waste by mateen. *Machinery & Energetics*. 2023. 14(2), 60–69. DOI: <https://doi.org/10.31548/machinery/2.2023.60>
- Tsygankov S.P., Novak A.H., Kulichkova H.I. Use of by-products of bioethanol production for energy generation. *Vidnovliuvalna Enerhetyka*. 2009. No. 2 (17). P. 74–77.
- Danilova K., Oliynichuk S., Verbytskyi S. Bioutilization of the distillery stillage of different grain species from bioethanol production. *Ecological Questions*. 2023. 34(4), p. 1–12. DOI: <https://doi.org/10.12775/EQ.2023.050>
- Golub N.B., Potapova M.V. Technology for biogas production from post-alcohol stillage. *Vidnovliuvalna Enerhetyka*. 2018, 1: 88–95.
- Zielińska M., Bułkowska K., Mikucka W. Valorization of Distillery Stillage for Bioenergy Production: A Review. *Energies*. 2021, 14(21), 7235. DOI: <https://doi.org/10.3390/en14217235>
- Schmidt T., Pröter J., Scholwin F., Nelles M. Anaerobic digestion of grain stillage at high organic loading rates in three different reactor systems. *Biomass and Bioenergy*. Vol. 55, 2013, P. 285–290.
- Przybył J., Wojcieszak D., Garbowski T. Effect of Corn Stover Ensiling on Methane Production and Carbon Dioxide Emissions. *Energies*. 2024, 17(23), 6179. DOI: <https://doi.org/10.3390/en17236179>
- Roubinek O. K., Wilinska-Lisowska A., Jasinska M., Chmielewski A. G., Czerwionka K. Production of Biogas from Distillation Residue as a Waste Material from the Distillery Industry in Poland. *Energies*. 2023, 16(7), 3063. DOI: <https://doi.org/10.3390/en16073063>
- Daniel Gomes, Mariana Cruz, Miriam de Resende, Eloízo Ribeiro, José Teixeira, Lucília Domingues. Very High Gravity Bioethanol Revisited: Main Challenges and Advances. *Fermentation* 2021, 7(1), 38. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation7010038>
- Samarin V., Ivanova T., Vovk Y., Blume Y., Tsygankov S. Comparative Analysis of Grain Sorghum and Corn as Raw Materials for Bioethanol Production. *Open Agric J*. 2026; 20. In press.
- Park S., Kim G.-B., Pandey A. K., Park J.-H., Kim S.-H. Prediction of total organic acids concentration based on FOS/TAC titration in continuous anaerobic digester fed with food waste using a deep neural network model. *Biomass and Bioenergy*. Vol. 190, 2024, 107411. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2024.107411>
- Lili M., Biró G., Sulyok E., Petis M., Borbély J., Tamás J. Novel approach on the basis of FOS/TAC method. In: *Proceedings of the Analele Universității din Oradea, Fascicula Protecția Mediului, Oradea, Romania, 4–5 November 2011*; Vol. 17, pp. 713–718.
- Tawfik A., Eraky M., Osman A. I., Ai P, Zhou Zh., Meng F., Rooney D. W. Bioenergy production from chicken manure: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 21, 2707–2727 (2023). DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01618-x>
- Vu H. P., Nguyen L. N., Wang Q., Ngo H. H., Liu Q., Zhang X., Nghiem L. D. Hydrogen sulphide management in anaerobic digestion: A critical review on input control, process regulation, and post-treatment. *Bioresource Technology*. Vol. 346, 2022, 126634. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126634>