

## ارزیابی ابعاد مختلف تولید بیوگاز در هاضم‌های بی‌هوازی

مرسده ظاهری<sup>۱</sup>

نیما کریمی<sup>۲</sup>

مصطفی بیگدلی<sup>۳\*</sup>

[mostafabigdeli@ymail.com](mailto:mostafabigdeli@ymail.com)

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۸/۰۷

### چکیده

راهبردهای کلیدی به منظور توسعه یافتن یک منبع انرژی جایگزین با سوخت‌های فسیلی برای جبران نیاز کنونی به انرژی و علاوه به منظور کاهش نگرانی‌های زیست‌محیطی (اعم از آلودگی حجم زیاد پسماند و گرم شدن جهانی) مطرح می‌شوند. از این رو اقتصاد و فن‌آوری‌ها تا حد زیادی بستگی به منابع انرژی تجدیدپذیر سازگار با معیارهای زیست‌محیطی از قبیل بیوگاز دارند. فناوری بیوگاز علاوه بر مزیت‌های فراوانی که دارد با محدودیت‌های خاصی نیز همراه است. به طوری که تولید انرژی بدون حضور عوامل متوقف‌کننده یک کار دشوار است و برای اطمینان از توسعه پایدار، می‌بایست فناوری‌های در دسترس جاگزین شوند. پیشرفت‌های بیشتر باعث توجه مجدد و عمیق‌تری در فن‌آوری تولید بیوگاز شده است. در حالی که این موضوع اثرات بزرگی در کاهش مسائل عمده اقتصادی مطرح در جهان دارد. مرور کنونی به عوامل محدودکننده و ارزیابی پیشرفت‌های تکنولوژیکی اخیر همراه با جنبه‌های مختلف تولید بیوگاز مانند استفاده از مواد خام پایدار، میکروبی و پویایی‌های آنزیم، پارامتر بهینه‌سازی و فرایند تفکیک برای افزایش این تکنولوژی می‌پردازد. آماده‌سازی زیستی آنزیمی و شناخت میکروبی‌های کارآمد، امکان تقویت انرژی هضم بی‌هوازی را به طور قابل ملاحظه‌ای فراهم می‌کند. لذا بهینه‌سازی پارامترهای مختلف برای سرعت بخشیدن به تولید بیوگاز در طول هضم بی‌هوازی نسبت به قبل و بعد آن ترجیح داده شده است. همچنین علی‌رغم توسعه طرح‌های هاضم چند مرحله‌ای به قصد دستیابی به موفقیت در فرایند تفکیک، تحقیقات بیشتر برای رسیدن به عملکرد بهتر سیستم نیاز است.

**کلمات کلیدی:** منبع تجدید پذیر، بیوگاز، مواد خام پایدار، جنبه‌های میکروبی و آنزیمی، طرح‌های هاضم چندمرحله‌ای

۱ - کارشناس ارشد مهندسی عمران - گرایش محیط‌زیست، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی شریف

۲ - کارشناس ارشد مهندسی عمران - گرایش محیط‌زیست، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی شریف

۳ - کارشناس ارشد مهندسی عمران - گرایش محیط‌زیست، دانشکده مهندسی عمران، دانشگاه صنعتی شریف \* (مسئول مکاتبات)

## Evaluating Different Aspects of Biogas Production in Anaerobic Digesters

Mercedeh Taheri<sup>1</sup>

Nima Karimi<sup>2</sup>

Mostafa Bigdeli<sup>3\*</sup>

[mostafabigdeli@ymail.com](mailto:mostafabigdeli@ymail.com)

### Abstract

The key strategies to develop an alternative energy source instead of fossil fuels are outlined to compensate for current energy needs and to decrease environmental concerns such as high volume of waste pollution and global warming. So the economy and technologies largely depends on consistent renewable source with environmental criteria of biomass and actually biogas. Biogas technology is associated with certain limitations in addition to the many advantages. So that energy production is a difficult task without having stopping elements in which the alternative concepts is necessary to ensure sustainable development with accessible technologies. Further advances in technology led to renewed and deeper interest in biogas production, while it has great effects in reducing major economic problems in the world. The current review addresses the limiting factors and evaluation of recent technological advances associated with various aspects of biogas production such as the use of sustainable feedstocks, microbial and enzyme dynamics, optimization parameter and dissociation process to enhance this technology. Enzymatic bioassay and efficient microbial identification enables the energy of anaerobic digestion to be significantly enhanced. Therefore, optimization of different parameters to accelerate biogas production during anaerobic digestion has been preferred to pre- and post-anaerobic digestion. In spite of the development of multi-step digestion schemes in order to succeed in the separation process, further research is needed to achieve better system performance.

**Keywords:** Renewable Source, Biogas, Sustainable raw materials, Microbial and Enzymatic Aspects, Multi-stage digester projects

---

1- MS Graduate, Environmental Engineering, Department of Civil Engineering, Sharif University of Technology

2- MS Graduate, Environmental Engineering, Department of Civil Engineering, Sharif University of Technology

3- MS Graduate , Environmental Engineering, Department of Civil Engineering, Sharif University of Technology\* (Corresponding author)

## مقدمه

محدودیت سوخت‌های فسیلی، تجدیدناپذیری و انتشارات ناشی از آن‌ها، تقاضای جهانی انرژی و مواردی از این قبیل همگی از عواملی هستند که باعث شده سیاست‌مداران طی بررسی‌های ساختاری، به تغییر حامل‌های انرژی و حرکت آن‌ها به سمت سوخت‌های پاک بپردازند. یکی از بهترین گزینه‌ها، استفاده از منابع زیست توده به صورت بیوگاز است.

هضم بی‌هوازی<sup>۱</sup> پسماندهای آلی برای تولید بیوگاز در جهت فراهم کردن سوخت از منابع تجدیدپذیر، بسیار سودمند است (۱). برخی از مزایای متعدد فناوری بیوگاز می‌تواند به صورت تامین انرژی الکتریسیته و گرما (۲)، کاهش انتشارات گازهای گلخانه‌ای و پدیده گرمایش جهانی<sup>۲</sup>، تولید کود با کیفیت بالا، جایگزینی مناسب در بخش حمل و نقل، توسعه اقتصادی و اجتماعی مناطق روستایی و استقلال دولت‌ها مطرح باشد (۳). در سال‌های باستان، سیستم هضم بی‌هوازی محدود به تصفیه پسماند گیاهی و حیوانی می‌شد، به‌طوریکه در حال حاضر این عمل به طور گسترده برای تصفیه پسماند کشاورزی، صنعتی و مواد زائد جامد شهری<sup>۳</sup> جهت به دست آوردن بیوگاز و در کنار آن، تضمین کاهش زباله و حفاظت از محیط زیست انجام می‌پذیرد (۴).

هضم بی‌هوازی، مجموعه‌ای از فرآیندهایی است که مواد آلی قابل تجزیه توسط میکروارگانیسم‌های مربوطه و تحت شرایط بی‌هوازی می‌شکنند. این فرایند شامل چهار مرحله هیدرولیز (Hydrolysis)، اسیدسازی (Acidogenesis)، استوژنسیس (Acetogenesis) و متان‌زایی (Methanogenesis) می‌باشد. مرحله اول عبارتست از تجزیه مواد با وزن مولکولی بالا از قبیل سلولز (Cellulose)، نشاسته، پروتئین‌ها و چربی‌ها و تبدیل آن‌ها به ترکیبات با وزن مولکولی پایین مانند اسیدهای چرب، آمینواسیدها، دی‌اکسیدکربن و هیدروژن که این گروه توسط باکتری‌های گروه هیدرولیتیک

(Hydrolytic) انجام می‌شود. در مرحله دوم محصولات نهایی مرحله اول توسط باکتری‌های استوژن (Acetogen) به استات (Acetate) و هیدروژن تبدیل می‌شوند. در مرحله سوم به منظور تولید استات بیشتر، ارگانیسم‌های معروف به همواستوژن‌ها (Hemoacetogen)، هیدروژن و ترکیبات ساده کربنی تولید شده در مراحل اول و دوم را به استات تبدیل می‌کنند. مرحله چهارم عبارتست از تبدیل استات و ترکیبات ساده دیگر مانند فورمات (Formate)، دی‌اکسید کربن و هیدروژن به گاز متان (Methane) (۵). این مرحله را ارگانیسم‌های متانوژن (Methanogen) انجام می‌دهند. فرایند هضم بی‌هوازی و تولید بیوگاز مانند سایر واکنش‌های بیوشیمیایی، تحت تاثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی متنوعی است. عوامل مختلف مانند ماهیت سوبستره (Substrate: مواد مغذی برای تغذیه آنزیم‌ها)، رطوبت، مواد جامد فرار، ساختار مواد مغذی، اندازه ذرات و زیست‌تخریب‌پذیری آن‌ها (۶)، طراحی هاضم، تلقیح، قلیابیت، دما، نرخ بارگذاری، زمان ماند هیدرولیکی<sup>۴</sup> (مدت زمانی که میکروارگانیسم‌ها برای شکستن مواد آلی و تبدیل آن به فرآورده‌های زیست توده فرصت دارند، این زمان در کیفیت بیومس خروجی تأثیر بسزایی دارد) و مواردی از این قبیل، ثبات فرایند و تولید بیوگاز را تحت تاثیر قرار می‌دهند. به‌طور کلی، جنبه‌های برجسته مختلف در این مرور برای کنترل فرایند و افزایش تکنولوژی تولید بیوگاز به صورت موارد زیر مطرح و در ادامه بیشتر مورد بررسی قرار گرفته است.

۱- مصرف بیومس (Biomass burning): گزینش طبیعی (در دسترس بودن، نسبت C/N<sup>۵</sup>)، هضم ترکیبی (سوبستره‌های مختلف)، پیش‌تصفیه (فیزیکی، شیمیایی، فیزیکی شیمیایی، بیولوژیکی)

۲- اضافه کردن آنزیم (فعالیت و پایداری آنزیم، سوبستره‌های

4-Hydraulic Retention Time (HRT)

5-Carbon to Nitrogen ratio- در (نسبت کربن به نیتروژن، در

تولید زیست‌توده و روند هضم نقش بسزایی دارد)

1-Anaerobic Digestion

2-Global Warming

3-Municipal Solid Waste

مختص مخلوط آنزیم، بهینه‌سازی آنزیم، کاهش هزینه)

۳- طراحی هاضم، بهینه‌سازی فرایند که عمدتاً شامل موارد (سیستم پیوسته، سیستم‌های هضم تک‌مرحله‌ای<sup>۱</sup>، سیستم‌های هضم چندمرحله‌ای<sup>۲</sup>، پارامترهای موثر مانند قلیائیت، دما، نسبت C/N، نرخ بارگذاری، کل جامدات و زمان ماند هیدرولیکی) می‌شود.

۴- تصفیه میکروبی (اجتماع میکروبی میکروارگانسیم‌های بالقوه، بهبود ژنتیکی باکتری‌ها، نرخ رشد میکروبی)

### بیومس و معیارهای انتخاب آن

#### -نوع ماده خام ورودی

انواع زیست‌توده می‌تواند به عنوان خوراک برای تولید بیوگاز استفاده شود در حالی که خاصیت بیوانرژی هرکدام متفاوت از یکدیگر است. معیارهای اساسی انتخاب سوبستره برای تولید بیوگاز شامل ماهیت سوبستره، در دسترس بودن (۷)، نسبت C/N، پتانسیل تولید و تاثیر زیست محیطی آن می‌باشد.

منظور از ماهیت سوبستره، ترکیب مواد و میزان پروتئین، چربی و کربوهیدرات آن است. در سال ۲۰۱۴ میلادی طی گزارشی اعلام شد که پروتئین‌ها دارای بیشترین حجم متان (۷۰ درصد) و کمترین بازده تولید بیوگاز هستند. درحالی که چربی‌ها دارای بیشترین تولید بیوگاز و دارای حجم متان در حدود ۶۸ درصد می‌باشند. کربوهیدرات‌ها نیز دارای کمترین بازده تولید گاز متان و حجم متان (حدود ۵۰ درصد) و بازده بیوگاز آن‌ها متوسط (بین چربی‌ها و پروتئین‌ها) می‌باشد. به همین دلیل استفاده از گوشت پخته و روغن پخت‌وپز در هاضم بی‌هوازی موجب تولید بیوگاز بیشتر می‌شود (۸، ۹).

مواد مورد استفاده در فرایند باید بدون پوشش سلولی یا پروتوپلاسم (Protoplasm) باشند چون این پوشش برای فعالیت باکتری‌ها مناسب نمی‌باشد. مخلوط مواد سلولزی و لیگنینی (Lignin: فیبرها) عمل تجزیه را سخت‌تر می‌کنند و به زمان بیشتری برای تجزیه شدن نیاز دارند.

سوبستره‌ها با بخش‌های آلی همراه با زیست تخریب پذیری بالا

یا مواد جامد فرار، تولید بیوگاز قابل ملاحظه‌تری نسبت به سایر سوبستره‌ها دارند (۱۰). بطوری که مطالعات انجام شده نشان داده که مواد گیاهی جوان دارای یک ماهیت نسبتاً محلول هستند، از این رو می‌توانند بیوگاز بیشتری نسبت به مواد گیاهی چوبی که دارای اجزای غیر محلول بیشتری در آب مانند لیگنین، سلولز، همی‌سلولز (Hemicellulose) و پلی‌آمید (Polyamide) هستند، تولید کنند (۱۱، ۱۲).

همچنین در ارتباط با پتانسیل تولید بیوگاز پسماندهای آلی مختلف، بررسی‌هایی انجام گرفته است که نتایج نشان داده بهره‌برداری از کود حیوانی در مقایسه با پسماند کشاورزی صنعتی<sup>۳</sup> و مواد زائد جامد شهری، بیشتر است. بطوری که سهم بیوگاز تولیدی از کود حیوانی ۳۶ درصد، از پسماند کشاورزی صنعتی ۳۰ درصد و از پسماند جامد شهری ۲۴ درصد می‌باشد (۱۳). در این میان برای ورودی هاضم، از پسماند کشاورزی و میوه‌جات هم استفاده می‌شود که پسماند میوه‌جات برای تولید بیوگاز مناسب‌تر می‌باشد. بررسی صورت گرفته در سال ۲۰۰۹ میلادی نشان داد که پسماند میوه‌هایی مانند آناناس و پرتقال نسبت به سبزیجاتی مانند اسفناج و کدو، گاز متان بهتری تولید می‌کنند (۱۴).

از سایر موارد انتخاب سوبستره برای تولید بیوگاز، انتخاب سوبستره‌ای است که محیط زیست را بسیار آلوده می‌کند تا علاوه بر تولید سوخت زیستی بسیار با ارزش بیوگاز، حفاظت محیط زیست را نیز سبب شود. مانند استفاده از زباله‌های صنعتی کیک دانه روغنی (Oil seed cake)، پوشش میوه‌ای جاتروفا (Jatropha) که موجب تولید قابل توجه بیوگاز شده است (۱۵-۱۷).

#### -نسبت C/N

خصوصیات بیوگاز عمدتاً توسط نسبت C/N خوراک تعیین می‌شود. باکتری‌های بی‌هوازی برای زنده ماندن و فعالیت‌های متابولیسمی نیازمند کربن و نیتروژن هستند که کربن را به عنوان منبع انرژی و ازت را برای ساختن دیواره سلولی خود

بیشتر نباتی و گیاهی بودند مخلوط شد و در هاضم بسته مورد آزمایش قرار گرفت. نتیجه حاصل شده نشان داد که اضافه کردن مواد نیتروژنی مانند پروتئین شیر و اوره (Urea) باعث افزایش تجزیه کود شده و لذا باعث افزایش تولید بیوگاز خواهد شد (۲۳). در دیگر بررسی که در سال ۱۹۷۵ میلادی انجام گرفت، تاثیر تولید متان با افزودن پسماند سیب‌زمینی و خاک اره به کود مرغی بررسی شد. نتایج نشان داد هنگامی که خاک اره ۲ تا ۴ درصد باشد باعث افزایش ۲۰ درصدی در متان پس از ۱۱۰ روز خواهد شد. از طرفی وقتی میزان خاک اره ۸ درصد باشد، متان کل تولیدی تقریباً مساوی با زمانی می‌شود که کود به تنهایی هضم می‌شود. در نهایت بررسی انجام گرفته حاکی از آن بود که برای بهبود نسبت کربن به نیتروژن کود مرغی و افزایش تولید بیوگاز می‌توان از منابع حاوی کربن استفاده کرد (۲۴). آنالیز دیگری بر روی کود خوک به همراه اوره و گلوکز در سال ۱۹۷۸ میلادی انجام یافت. نتایج نشان داد که نسبت C/N بهینه برای ماکزیمم تولید بیوگاز، ۱۵/۵ تا ۱۹ است و بیشتر از این مقدار موجب ناپایداری هاضم به لحاظ اکولوژیکی می‌شود (۲۵).

به‌طور خلاصه نسبت‌های کربن به نیتروژن برای سوبستره‌های در دسترس در جدول ۱ آورده شده است (۲۶، ۲۷) که نشان می‌دهد سوبستره‌های دارای نسبت کربن به نیتروژن در محدوده ۱۰ تا ۳۵ برای جواب‌گویی به نیازهای قابل پیش‌بینی انرژی، کافی هستند (۲۸). همچنین در بررسی دیگری، گزارش شده که نسبت C/N مساوی با ۳۰ بهترین حالت ساختار مغذی سوبستره است (۲۹).

مصرف می‌کنند. نسبت این مواد در کنترل فعل و انفعالات شیمیایی درون هاضم بسیار مهم است (۱۸). میزان مصرف کربن نسبت به ازت ۳۰ تا ۳۵ برابر سریع‌تر است (۱۹). وقتی این نسبت زیاد می‌شود جذب نیتروژن توسط متانوژن‌ها برای برطرف‌سازی نیاز پروتئینی خود، افزایش می‌یابد و با محتوای کربنی واکنش نمی‌دهند در نتیجه تولید گاز کاهش می‌یابد (۲۰) و بالعکس زمانی که این نسبت کم می‌شود نیتروژن آزاد شده، انباشته شده و متعاقباً منجر به تجمع آمونیاک می‌شود که این امر موجب بالارفتن قلیابیت می‌شود و اثر سمی بر روی جمعیت متانوژن‌ها دارد و از تبعات آن، کاهش تولید گاز می‌باشد. گفتنی است در ضایعات با درصد بالای کربن زیست-تخریب‌پذیر مانند لیگنین، نسبت کربن به نیتروژن نمی‌تواند تاثیر مهمی در روند تخریب بگذارد (۲۱). تحقیقات گسترده‌ای در زمینه تعیین نسبت مناسب کربن به نیتروژن و بهبود آن صورت گرفته که در زیر به برخی از آن‌ها اشاره خواهد شد.

در سال ۱۹۶۵ میلادی، تاثیر C/N روی هضم بی‌هوازی بررسی شد. مواد ورودی به هاضم در بررسی صورت گرفته، کود خوک به همراه مالتوز (Maltose)، گلوکز (Glucose)، لوسین (Leucine) و کاپروئیک اسید (Caprylic acid) بود. نتیجه حاکی از آن بود که نسبت کربن به نیتروژن برابر ۱۶، یک تجزیه موفق را منجر می‌شود و بیشتر از ۲۱/۱ موجب انهدام و توقف هضم می‌شود (۲۲).

البته به جهت بررسی تاثیر مواد گیاهی در تجزیه، بررسی‌هایی نیز صورت گرفته است. در طی اولین آنالیز صورت گرفته در این زمینه در سال ۱۹۷۱ میلادی، کود گاوی با سایر مواد که

جدول ۱- نسبت کربن به نیتروژن در سوبستره‌های مختلف\*

نسبت C/N	مواد زیست تجدیدپذیر	نسبت C/N	مواد زیست تجدیدپذیر	نسبت C/N	مواد زیست تجدیدپذیر
	سایر		باقیمانده محصولات زراعی		کود حیوانی
۵۰ تا ۵۳	پسماند برگ	۵۱ تا ۶۷	کاه برنج	۶ تا ۲۵	کود گاو
۱۰ تا ۲۵	علوفه و متعلقات آن	۵۰ تا ۱۵۰	کاه گندم	۳ تا ۱۵	کود ماکیان
۷۰ تا ۷۹	علف هرزه دریایی	۱۴۰ تا ۱۵۰	تفاله نیشکر	۳ تا ۱۴	کود خوک
۷۵ تا ۱۰۰	جلبک	۵۰ تا ۵۶	ساقه/کاه ذرت	۳۰ تا ۳۳	کود گوسفند
۱۲ تا ۱۷	یونجه	۴۸ تا ۵۰	کاه جو	۲۰ تا ۲۵	کود اسب
۲۲ تا ۳۷	پسماند کشتارگاه	۲۰ تا ۳۱	پوست/جوانه بادام زمینی		پسماندهای خانگی
۲۰۰ تا ۵۰۰	خاک اره	۳۵ تا ۴۶	شاخ و برگ چغندر قند	۲۵ تا ۲۹	پسماند آشپزخانه
۳ تا ۵	محتوا معده/ روده داخلی	۱۶ تا ۴۰	ضایعات غلات	۷ تا ۳۵	پسماند میوه‌ها و سبزیجات
۴ تا ۱۰	گنداب مخمر	۱۰۰ تا ۱۵۰	پسماند باغی	۳ تا ۱۷	پسماندهای غذایی

(۲۶، ۲۷)

سال ۱۹۷۷ میلادی، با توجه به نتایج بدست آمده، پیشنهاد شد که برای بهبود نسبت‌های کم C/N در کود حیوانی برای افزایش بیوگاز می‌توان از پسماندهای سلولزی مانند علف و پوشال‌های غله و گندم استفاده کرد (۳۱).

در یک بررسی دیگر در سال ۲۰۱۲ میلادی در شهر یانگ لینگ (Yang ling) چین مقداری کود مرغی و کود لبنی از یک دامپروری و مقداری پوشال گندم از یک روستای محلی جمع آوری و به مدت سی روز وارد هاضم با دمای ۳۵ درجه سانتی-گراد شد. نتایج نشان داد با نسبت C/N متعادل شده، پتانسیل متان تولیدی در حالت مخلوط سوبسترات بهتر از حالت انفرادی است. با افزایش نسبت C/N، ابتدا پتانسیل تولید متان افزایش و پس از مدتی کاهش یافت. در نهایت بازه بهینه C/N در قلیابیت پایدار و غلظت پایین آمونیوم نیتروژن، برابر ۲۵ تا ۳۰ اعلام شد (۳۲).

در سال ۱۹۷۹ میلادی برای افزایش تولید بیوگاز، کود با پسماندهای کربن‌دار<sup>۱</sup> مخلوط شد. هدف از این آزمایش یافتن مقدار مواد کربن‌دار بهینه بود، لذا پارامتر نسبت کربن در دسترس به نیتروژن برای بررسی میزان اختلاط معرفی شد (منظور از کربن در دسترس، همه کربن آلی منهای کربن لیگنین است). در این آزمایش ۶ عدد هاضم ۴ لیتری آزمایشگاهی برای ۱۱ ماه مورد آزمایش قرار گرفت. کود گاو شیری که دارای نسبت کربن در دسترس به نیتروژن مساوی ۰/۸ بود با گلوکز و سپس با سلولز مخلوط شد تا نسبت‌های C/N متفاوتی را شامل شود (این نسبت از ۸ تا ۵۱/۷ متغیر بود). نتایج نشان داد هرچه نسبت C/N افزایش یابد غلظت متان در گاز هاضم نیز کاهش یافته و به این ترتیب بیشترین متان در نسبت C/N مساوی ۲۵ حاصل می‌شود (۳۰). در

**-اندازه ذرات مواد ورودی**

یکی دیگر از موارد عملیاتی تولید بیوگاز، اندازه ذرات می‌باشد که باید به اندازه کافی کوچک باشد تا سطح تماس مناسبی برای حمله و تغذیه میکروارگانیسم‌ها فراهم شود. در غیر این صورت، موجب ایجاد لخته شده و به علت وجود رطوبت، یک سطح غیرقابل نفوذ ایجاد کرده و باعث عدم فعالیت تغذیه‌ای برای میکروارگانیسم‌ها می‌شود. در حالتی که سوبسترات تجزیه‌پذیری کمی دارد، کاهش اندازه ذرات و در ادامه افزایش سطح ویژه موجب بهبود تولید متان می‌شود. تحقیقات اندکی در زمینه ارزیابی تاثیر اندازه ذره سوبسترات بر تولید متان صورت گرفته است (۳۳، ۳۴). موضوع اصلی که از اکثر آن‌ها استنباط می‌شود این است که رابطه‌ای معکوس بین اندازه ذره و پتانسیل تولید بیوگاز وجود دارد. البته برخی نیز ادعان داشته‌اند که رابطه محسوسی بین آن‌ها وجود ندارد. لازم به ذکر است که در همه موارد بیان‌شده اندازه ذره با اندازه ذره معیار، که کمتر از ۱۰ میلی‌متر اعلام شده است، بایستی قابل مقایسه باشد.

**-آزمایشات هضم**

هضم مواد زائد مختلف زیست تخریب پذیر ثابت کرده که پتانسیل تولید متان از طریق آزمایشات هضم ترکیبی نسبت به هضم انفرادی بالاتر است. اکثر پسماندهای کشاورزی دارای مواد مغذی زیادی (نیترژن بالا) هستند در حالی که طبیعت لیگنوسلولوزیک (Lignocellulosic)، آن‌ها را به مقاومت در برابر حمله آنزیم میکروبی وا می‌دارد. با وجود این واقعیت بیوگاز ناکافی، از طریق هضم بی‌هوازی این نوع سوبسترها بدست می‌آید. برای بهبود هضم باقی‌مانده‌های کشاورزی، آن‌ها را با کود دامی که دارای مقدار کربن زیادی است مخلوط می‌کنند تا تولید بیوگاز حاوی مقدار مناسب متان، تسهیل یابد و موجب افزایش قابلیت اشتعال‌پذیری بیوگاز شود. به عنوان مثال، هضم ترکیبی پسماند کاغذ با کود گاو منجر به تولید بیوگاز دارای مقدار و کیفیت بالاتر نسبت به زمانی که هضم آن‌ها بصورت جداگانه انجام می‌شود، می‌گردد (۳۵). بهترین نسبت ترکیب پسماندهای کشاورزی و کود دامی، نسبت یک به یک است (۳۶، ۳۷). در جدول ۲ برای برخی از سوبسترها، هضم انفرادی و ترکیبی با هم مقایسه شده است.

**جدول ۲- مقایسه برخی از سوبسترها، هضم انفرادی و ترکیبی و میزان تجزیه‌پذیری آن‌ها**

هضم انفرادی		هضم ترکیبی	
خوراک	تجزیه‌پذیری مترمکعب بر هر کیلوگرم	ترکیب همراه با خوراک اصلی	تجزیه‌پذیری مترمکعب بر هر کیلوگرم
کود خوک	۰/۲۳ <sup>g</sup> تا ۰/۶۲	پسماند ماهی با دیزل زیستی	۰/۶۲ <sup>a</sup>
کود گاوی	۰/۳ <sup>h</sup> تا ۰/۵	پسماند تفاله زیتون	۰/۱۷۹ <sup>b</sup>
پسماند میوه و سبزی	۰/۱۵ <sup>i</sup> تا ۰/۴۷	پسماند کشاورزی و محصولات زراعی انرژی‌زا	۰/۶۲ <sup>c</sup>
پسماند جامد شهری	-	پسماند جامد شهری	۰/۵۳۲ <sup>d</sup>
پسماند سیب‌زمینی	۰/۲۷ <sup>j</sup> تا ۰/۳۹	خاکستر بادی	۰/۲۲۲ <sup>e</sup>
		پسماند روغن و چربی از کارخانه تصفیه فاضلاب	۰/۳۵ <sup>a</sup>
		پسماند چغندرقد	۰/۶۸ <sup>f</sup>

a:(۳۸) b:(۳۹) c:(۴۰) d:(۴۱) e:(۴۲) f:(۴۳) g:(۴۴) h:(۴۵) i:(۴۶) j:(۴۷)

در این زمینه تحقیقات گسترده‌ای صورت گرفته است که در زیر به برخی اشاره می‌شود.

در سال ۲۰۱۲ میلادی، تخمیر بی‌هوازی ضایعات مواد غذایی به همراه عناصر مکمل کمیاب (کبالت، آهن، نیکل و مولیبدن) مورد بررسی قرار گرفت. تخمیر بی‌هوازی ضایعات مواد غذایی به تنهایی دچار شکست شد ولی به همراه عناصر مکمل به مدت ۳۶۸ روز به طور مداوم صورت گرفت و بالاترین بازده متان (۳۵۲-۴۵۰ میلی لیتر بر گرم ماده خشک فرار) در طی ۲۰ تا ۳۰ روز از زمان ماند بدست آمد (۴۸).

آزمایش هضم ترکیبی کود گاو و زباله جامد آلی در سال ۲۰۰۵ میلادی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در حالت ترکیبی، تولید بیوگاز بیشتر بوده و روند با ثبات‌تری دارد (۴۹). در مورد بررسی روند ترکیبی بودن ضایعات، در همین سال، آزمایشات هضم ترکیبی ضایعات غذایی و لجن هوازی از ضایعات صنعتی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که هضم ترکیبی دو زباله می‌تواند مهار متانوژن را کاهش و عملکرد متان را افزایش دهد (۵۰).

در سال ۲۰۰۸ میلادی نیز آزمایشی بر روی تولید بیوگاز بوسیله کنجاله خردل و کود گاوی انجام گرفت که نشان داد مخلوط ۳۰ درصد کنجاله خردل با کود، بیوگاز بیشتری نسبت به حالت انفرادی تولید خواهد کرد (۵۱).

#### -پیش تصفیه و تبدیل لیگنوسلولوزیک

مواد خام را نمی‌توان به همان صورت وارد دستگاه بیوگاز کرد بلکه باید قبل از بارگیری، آن‌ها را از نظر غلظت، قابلیت جذب باکتری، نسبت C/N، درجه حرارت و عدم وجود مواد سمی و عناصر بازدارنده مورد بررسی قرار داد (۱۹). با توجه به پیشرفت‌های اخیر تکنولوژی، تبدیل لیگنوسلولوزیک از طریق پیش تصفیه قبل از شروع هضم می‌تواند برای حفظ تعادل صنعتی به کار گرفته شود. پیش تصفیه موجب عدم تجمع لیگنوسلولوز در لیگنین، سلولز و همی سلولز می‌شود و تخریب آنزیمی بیشتر توسط باکتری انجام می‌گیرد، در نتیجه بیوگاز به اندازه کافی تولید می‌شود. شواهد نشان داده که این روش موجب افزایش امکان دسترسی آنزیم‌های هیدرولیتیک توسط لیگنوسلولوزها می‌شود و همچنین بهبود در روش پیش تصفیه

باعث دسترسی بیشتر به خوراک ارزان‌تر می‌گردد، بنابراین تولید بیوگاز افزایش چشم‌گیری خواهد داشت (۴۸).

#### -عناصر سمی باز دارنده

برای تولید بیوگاز بایستی مقدار ترکیبات و ساختار شیمیایی آن‌ها بررسی شود تا عامل بازدارنده‌ای برای میکروارگانیسم‌ها وجود نداشته باشد. به عنوان مثال آنتی‌بیوتیک‌ها، موادی که قابلیت تولید نیتروژن دارند، روی، آمونیاک، اسیدهای چرب، سولفید هیدروژن موجب توقف فرایند هضم می‌شوند (۵۲). سولفات‌ها نیز باعث کاهش تولید متان شده و بایستی مقدار آن‌ها کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و مقادیر آمونیاک کمتر از ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باشد (۵۳). عناصری مانند Ca, Na, Fe, K, Mg، اگر با غلظت کم وارد هاضم شوند موجب رشد باکتری‌ها و افزایش تولید بیوگاز می‌شوند ولی اگر غلظت آن‌ها افزایش یابد باعث مرگ باکتری‌های متان‌زا و توقف تولید بیوگاز می‌شوند (۵۰).

#### -وجود مواد تسریع کننده واکنش

با افزودن موادی مانند مواد پروتئینی به خونابه کشتارگاهی، جگر سفید یا گوشت‌های فاسد شده و مواد آلی غنی از چربی و کربوهیدرات، کشت میکروبی که در واقع نقش کاتالیزور را داشته فعال شده و موجب می‌شود هضم فاز اسیدی، سریع‌تر انجام شود و به فاز متان‌زایی و فساد برسد، با این کار سرعت تولید گاز بهبود داده می‌شود (۵۴).

#### -پارامترهای موثر در بهینه سازی فرایند

##### دما

در تولید بیوگاز، سرعت واکنش تحت تاثیر دما قرار می‌گیرد. به علاوه دما بر روی قابلیت حل فلزات سنگین، دی‌اکسیدکربن و در نتیجه بر روی ترکیب گاز اثر دارد. نوسانات دمایی بر رشد میکروبی تاثیر می‌گذارد و کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در تولید بیوگاز را در پی دارد. دما لازم برای انواع هضم بی‌هوازی به صورت زیر است (۵۵).

هضم پسیکروفیلی (Psychrophilic) (زمان ماند بیش از ۱۰۰ روز و دمای واکنش ۱۰ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد)  
هضم مزوفیلی (Mesophilic) (زمان ماند بین ۳۰ تا ۶۰ روز و دمای واکنش ۲۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد)



بیوگاز مناسب است. هرگونه نوسانی در قلیابیت، مشکلاتی در تولید بیوگاز و عمل تخمیر ایجاد می‌کند. قلیابیت پایین موجب اختلال در زندگی باکتری‌های متان‌زا می‌شود و چنانچه برای مدت زیادی بدون تغییر باقی بماند موجب عدم فعالیت باکتری‌های متان‌زا و شکست هاضم می‌شود (۵۸). در این حالت بایستی با اضافه کردن مواد قلیایی یا با افزایش درجه حرارت به بهبود وضعیت کمک کرد. هنگامی که pH محیط قلیایی است و به حالت تعادل می‌رسد، می‌توان سوبستره را به سیستم اضافه کرد و البته بایستی در نظر داشت که مواد اسیدی به سیستم اضافه نشود (۵۹).

#### - غلظت مواد جامد و آب

برای اینکه باکتری‌ها بتوانند مواد آلی را جذب کنند لازم است که مواد به صورت محلول در آیند زیرا آب یکی از عناصر اصلی جهت تغذیه میکروارگانیسم‌ها است که موجب حرکت باکتری‌ها، فعالیت آنزیم‌های سلولی، هیدراسیون بیوپلیمرها و همچنین تسهیل شکست سلول‌ها می‌شود. ولی بایستی مد نظر داشت که مقدار بهینه آن مورد نظر است، زیرا مقدار کم رطوبت و متعاقباً افزایش غلظت مواد جامد موجب افزایش چسبندگی و انباشتگی اسیدهای فعال شده و فرایند تخمیر را به تاخیر می‌اندازد. از طرفی اگر مقدار رطوبت زیاد باشد موجب لایه شدن محلول و در صورت هم نزدن مداوم محلول باعث کاهش تولید بیوگاز می‌شود (۶۰).

اگر انتقال جرم مناسب مد نظر است، محتوای فاز جامد نباید از ۱۰ درصد بیشتر شود (۶۱). تحقیقات نشان داده که بهترین غلظت محلول برای تخمیر غیر هوازی در مخازن بیوگاز بایستی دارای ۷ تا ۹ درصد ماده جامد باشد. لذا برای رسیدن به نسبت مطلوب قبل از اینکه خوراک وارد هاضم گردد بایستی رقیق و یا هضم گردد. اگر ورودی هاضم به اندازه کافی رقیق نباشد، مسمومیت‌های آمونیاکی خاصی به وجود می‌آورد (۲). در نتیجه سیستم‌های تولید بیوگاز با مواد جامد کل کمتر دارای اهمیت هستند و نرخ بارگذاری کم (حدود ۷-۸ درصد)، افزایش قابل توجهی در تولید گاز نشان می‌دهد (۳۶).

هضم ترموفیلی (Thermophilic) (زمان ماند بین ۱۰ تا ۱۵ روز و دمای واکنش ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد) واکنش‌های غیر هوازی در دستگاه‌های بیوگاز عموماً در گرمای ۱۰ الی ۶۰ درجه سانتی‌گراد صورت می‌گیرد. باکتری‌های فعال در حرارت ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مزوفیلیک و آن‌هایی که در ۴۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد فعالیت حیاتی دارند به باکتری‌های ترموفیلیک شهرت دارند. هضم ترموفیلیک، سرعت خروج گاز متان و تولید آن را بهبود می‌بخشد، لذا زمان ماند کمتری نیاز دارد. هم‌چنین این نوع هضم به دلیل دمای بالا موجب از بین رفتن پاتوژن‌ها (Pathogen) شده (۱۹) و برای سیستم‌هایی با درصد جامدات بالا، نسبت به هضم مزوفیلیک بهتر عمل می‌کند. این نوع هضم در کنار مزایا، مشکلاتی هم دارد که می‌توان به پایداری کمتر و حساسیت بیشتری نسبت به خوراک ورودی اشاره کرد (۵۶). دمای بالای این نوع هضم باعث می‌شود که فرایند و هاضم به کنترل و نگهداری بیشتری نیاز پیدا کند، به همین دلیل برای دماهای بالاتر از ۴۵ درجه سانتی‌گراد پیشنهاد نمی‌شود. برای بهبود دمای تخمیر و جلوگیری از هدررفت آن، ساختمان واحدهای بیوگاز را با توجه به شرایط اقلیمی منطقه می‌سازند. به عنوان مثال دستگاه‌های چینی را در عمق خاک قرار می‌دهند تا موجب ازدیاد درجه حرارت شوند و واحدهای هندی را با استفاده از کود و عایق کاری می‌کنند تا بدین ترتیب مانع هدر رفتن گرما شوند و تولید بیوگاز را افزایش دهند (۵۲). هم‌چنین استفاده از انرژی خورشیدی و تعبیه لوله‌های آب‌گرم و مبدل‌های حرارتی یا کویل‌ها در دستگاه‌های صنعتی یکی از روش‌های معمول گرم نگه داشتن واحد بیوگاز است. در مجموع هردو محدوده دمایی مزوفیلیک و ترموفیلیک محدوده مناسبی هستند به شرط این‌که دمای پیشنهادی مطابق با مشخصات عملکردی میکروبی باشد (۵۷).

#### - میزان قلیابیت (pH)

بررسی‌ها نشان داده است که دلیل حساس بودن باکتری‌های متان‌زا، قلیابیت در حدود ۶/۸ تا ۷/۲ (خنثی) برای تولید

**اثر اختلاط**

یکی دیگر از عوامل موثر در میزان تولید گاز، هم‌زدن کامل مواد داخل مخزن است. اختلاط موجب موارد زیر می‌شود.

- ۱- یکنواختی در ترکیب مواد، دما، غلظت و سایر عوامل محیطی
- ۲- به حداقل رساندن تشکیل لایه سفت سطحی و جلوگیری از تصاعد گاز
- ۳- جلوگیری از ته نشینی مواد سنگین در کف راکتور و شناور شدن مواد سبک در سطح راکتور
- ۴- دسترسی بیشتر و مساوی میکروارگانیسم‌ها به مواد غذایی در کلیه سطوح فوقانی، میانی، تحتانی هاضم
- ۵- افزایش سرعت تکثیر میکروارگانیسم‌ها و تحریک آن‌ها و لذا تولید بیشتر گاز و افزایش راندمان هاضم بی‌هوازی (۵۳).

هم‌زدن و اختلاط با اضافه کردن روزانه مواد انجام می‌شود تا حرکتی در توده مواد به وجود آمده و مواد تجزیه نشده در مجاورت باکتری‌های بی‌هوازی قرار گیرند. این عمل می‌تواند به صورت دستی، مکانیکی و نهایتاً هیدرولیکی با پمپ و با فشار گاز انجام شود (در مقیاس کوچک به صورت دستی انجام می‌گیرد) (۶۲). در مقیاس بزرگ و در تصفیه‌خانه‌ها علاوه بر استفاده از همزن‌های مکانیکی، می‌توان قسمتی از گاز بدست آمده را دوباره با فشار به قسمت پایین انبار تزریق کرد (۵۳). بهتر است عمل هم‌زدن، روزانه انجام گیرد و در طول روز دو یا سه مرتبه برای مدت چند دقیقه تمام حجم مخزن هم‌زده شود. در مواردی که درجه حرارت بالاست (به ندرت از ۳۰ درجه

کمتر می‌شود) می‌توان عمل مخلوط کردن را قبل از ریختن مواد به داخل هاضم انجام داد و از هم‌زدن روزانه مخلوط صرف‌نظر کرد. البته در این شیوه راندمان دستگاه پایین می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده که گاز تولیدی در هاضم باعث حرکت مواد می‌شود اما این مقدار معمولاً برای مخلوط کردن مواد داخل هاضم کافی نیست (۶۲).

**-شرایط بی‌هوازی**

از آنجا که فرایند هضم درون دستگاه تولید بیوگاز، فرایندی بی‌هوازیست لذا باید از ورود هوا به داخل سیستم جلوگیری کرد تا بهترین شرایط برای تخمیر ایجاد شود. یکی از روش‌ها، عایق‌بندی سیستم است که باعث عدم تبادل هوایی بین مواد درون هاضم با هوای بیرون می‌شود. اگر مقداری هوا در حین فرایند وارد سیستم شود باعث وارد کردن دستگاه به فاز اسیدی طولانی و توقف فرایند می‌شود (۶۳).

**-مدت زمان ماند هیدرولیکی**

مدت زمان ماند مواد داخل هاضم بستگی به نوع مواد، سرعت تجزیه مواد ورودی، میزان گاز تولیدی، درجه حرارت تخمیر و سایر عوامل محیطی دارد. تولید گاز با افزایش زمان ماند، روند افزایشی دارد. چنانچه مواد ورودی به اندازه کافی درون هاضم باقی نماند روند هضم و تخمیر کامل نشده و بیوگاز تولید نمی‌شود (۶۴). در جدول ۳ حداقل زمان ماند مورد نیاز فرایند در دماهای مختلف آورده شده است (۶۵).

**جدول ۳- حداقل زمان ماند مورد نیاز برای مراحل حرارتی مختلف\***

مرحله حرارتی	دمای فرایند (درجه سانتی‌گراد)	حداقل زمان ماند (روز)
پسیکروفیلیک	کمتر از ۲۰ درجه	۷۰ تا ۸۰
مزوفیلیک	بین ۳۰ تا ۴۲ درجه	۳۰ تا ۴۰
ترموفیلیک	بین ۴۳ تا ۵۵ درجه	۱۵ تا ۲۰

\*(۶۵)

## طراحی دستگاه بیوگاز

می‌دهد (۶۷). مطالعات بیشتر نشان داد که تفکیک اسیدسازی و هیدرولیز در هضم بی‌هوازی می‌تواند کاهش زمان ماند همراه با افزایش تولید بیوگاز و گاز متان را در پی داشته باشد. در جدول ۴ انواع هاضم تک‌مرحله‌ای و دومرحله‌ای با هم مقایسه شده که نشان می‌دهد تولید بیوگاز سیستم‌های چندمرحله‌ای بسیار بیشتر از تک‌مرحله‌ای است (۶۶). تحقیقی در جهت مقایسه این دو نوع هاضم صورت گرفته که نشان داده هاضم دو مرحله‌ای ۱۸/۵ درصد افزایش تولید انرژی نسبت به تک‌مرحله‌ای دارد (۶۸).

به طور معمول هاضم‌های تک‌مرحله‌ای بصورت گسترده برای تولید بیوگاز در گذشته مورد استفاده قرار می‌گرفت در حالی که استفاده از آن‌ها شامل محدودیت‌هایی از جمله امکان بی-ثباتی بیشتر به دلیل عوامل مختلف می‌باشد (۶۶). سیستم‌های دومرحله‌ای پیوسته بیوگاز، با تضمین تولید مستمر بیوگاز و دوغاب، مورد استفاده برای اهداف تجاری و صنعتی هستند. سیستم هضم دومرحله با تفکیک کردن مراحل هیدرولیز-اسیدسازی و متان‌زایی برای هضم بی‌هوازی میوه‌ها و سبزیجات، ثبات بیشتر فرایند و افزایش تولید بیوگاز را نتیجه

## جدول ۴- مقایسه انواع هاضم\*

معایب	مزایا	نوع هاضم
تولید متان کم	کاهش هزینه	سیستم‌های تک‌مرحله‌ای
نرخ بارگذاری آلی پایین		
زمان ماند هیدرولیکی بالا		

## جدول ۵- مقایسه انواع هاضم\*

پایین بودن پایداری فرایند		
احتمال انفجار و بیرون‌ریزی بالا		
نگهداری و بهره‌برداری پیچیده	تولید متان زیاد	سیستم‌های چندمرحله‌ای
نسبتاً گران	پایداری بیشتر فرایند	
	زمان ماند کم	
	نرخ بارگذاری آلی بالا	
نیاز به نیروی ماهر	انعطاف طراحی	
	احتمال انفجار و بیرون‌ریزی پایین	
	بهینه‌سازی فرایند	

\*(۶۶)

جدول ۶- اهم روش‌های انجام شده در جهت بهینه‌سازی فرایند هضم

سال مورد بررسی	درصد افزایش تولید بیوگاز	روش
۲۰۱۲ میلادی	-	جدا کردن دی‌اکسید کربن در راکتور ساباتیئر (Sabatier) (که باعث استفاده از کربن به عنوان یک حامل هیدروژن می‌شود) <sup>a</sup>
	۲۴	استفاده از فرایند سونولیز (Sonolysis) <sup>b</sup>
	۸/۶۴	استفاده از شبکه عصبی مصنوعی به همراه الگوریتم ژنتیک <sup>c</sup>
۲۰۱۲ میلادی	بیش از ۳۰	استفاده از پیش‌تصفیه، فیلتراسیون غشایی و شبکه عصبی <sup>d</sup>
	۱۲/۳	استفاده از ساقه ذرت و کود گاوی در هضم ترکیبی و بهینه‌سازی شرایط تخمیر <sup>e</sup>

a:(۶۹) b:(۷۰) c:(۷۱) d:(۷۲) e:(۷۳)

#### جنبه‌های میکروبی و آنزیم‌شناسی مربوط به پتانسیل تولید

جنبه‌های میکروبی مربوط به پتانسیل تولید باکتری‌ها نقش اساسی در هضم بی‌هوازی ایفا می‌کنند و برای فرآیند هضم کارآمد، ضروری هستند. ارتباط میکروب‌های بالقوه در مراحل هضم بی‌هوازی، علاوه بر کاهش طول مدت فرایند هضم، تولید بیوگاز را افزایش می‌دهد. تعداد گونه‌های جهش یافته باکتری‌های متانوزن با ویژگی مهارکننده-مقاوم می‌تواند تولید بیوگاز را بالا ببرد. گونه‌های جهش یافته متانوزن‌ها مانند متانوکوکوسولتا (PS) (Methanococcus voltae PS)، ماریپلودیس متانوکوکوسولتا (Maripaludis) (Methanococcus)، متانوسارسینا (Methanosarcina) و گونه‌های تبدیل شده کلستریدیوم SP (Clostridium SP)، کلبسیلا (Klebsiella)، اشریشیاکلی (E-coli)، لاکتوباسیلوس (Lactobacillus) و غیره، بیشترین فعالیت تخریب را نسبت به گونه‌های معمولی از خود نشان داده‌اند (۷۴). جدول ۷ بهبود فرایند هضم در مراحل مختلف آن را به تفکیک نشان می‌دهد

#### مروری بر تحقیقات انجام گرفته در جهت بهبود فرایند هضم بی‌هوازی

در این قسمت به برخی تحقیقات با هدف افزایش تولید بیوگاز اشاره شده است. در این روش‌ها، تلاش‌هایی جهت تغییر در فرایند بیوگاز به صورت صنعتی کردن آن در قبل و بعد این فرایند انجام شده است. تغییرات قابل انجام قبل از فرایند شامل نگهداری و محافظت از دما، رطوبت، قلیابیت و میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. در حالی که تغییرات پس از فرایند شامل تصفیه (که منجر به حذف شدن بخار آب، کربن‌دی‌اکسید و  $H_2S$  از طریق کربن‌فعال<sup>۱</sup> و آب‌پاشی می‌شود) می‌باشد. مهمترین نکات در این زمینه در جدول ۶ آورده شده است. بیشتر تمرکز در این قسمت، روی بهینه‌سازی پارامترهای محیطی و سوبستراتی فرآیند بوده و کمتر به جنبه‌های میکروبی توجه شده است. به‌طور کلی، روش‌های مورد استفاده جهت بهبود فرایند هضم با تکیه بر بهینه‌سازی پارامترهای محیطی و سوبستراتی، در انواع روش‌های پیش‌تصفیه، شبکه عصبی مصنوعی، فرایندهایی که موجب افزایش حلالیت پسماند جامد آلی می‌شوند (مانند سونولیز)، تفکیک کربن‌دی‌اکسید و بهینه‌سازی شرایط تخمیر با استفاده از ترکیب مناسب سوبستره، دسته‌بندی می‌شوند.

**-ازدیاد میکروبی عامل افزایش تولید بیوگاز**

ازدیاد بعضی از باکتری‌ها و قارچ‌ها جهت افزایش تولید بیوگاز، بوسیله برانگیختن فعالیت آنزیم‌های مخصوص، شناخته شده است. ازدحام سلولوزیکی مانند اکتینومیسیتس (Actinomycetes) جهت بهبود تولید بیوگاز از دام در محدوده ۸/۴ تا ۴۴ درصد، شناخته شده است (۸۰). طی مطالعه‌ای، سه باکتری فیبرولیتیک (fibrolytic) از روده بزرگ دام که از سلولز، زیلان (Xylan) و لیگنین به عنوان سوبستره انتخابی استفاده می‌کنند، جدا شده‌اند. این ترکیب بعنوان تلقیح برای تخمیر مصنوعی مدفوع، موجب افزایش تولید کلی گاز به میزان ۵۶/۳۶ درصد و ۱۸/۰۹ درصد گاز متان در مقایسه با تخمیر طبیعی توسط باکتری‌های مدفوعی شده است (۸۱).

**-توانایی آنزیمی در تخریب سوبستره**

آماده سازی زیستی آنزیمی، به تغییر تولید بیوگاز از مقیاس

پابلوتی به مقیاس بزرگ کمک می‌کند و در نتیجه نیازهای انرژی در چشم‌انداز را تحقق می‌بخشد. استفاده از آنزیم‌های خام و تجاری در پیش تصفیه مواد آلی پیچیده، منجر به بهبود قابل توجه در تولید بیوگاز می‌شود، به عنوان مثال تولید بیوگاز از مواد لیگنوسلولوزیک، پس از پیش تصفیه با سلولازها (Cellulase) و میکروارگانسیم‌های تولیدکننده سلولاز، افزایش می‌یابد، همچنین عملکرد متان هنگامی که فاضلاب غنی از چربی، با لیپاز (Lipase) و میکروارگانسیم‌های تولیدکننده لیپاز، پیش تصفیه می‌شوند، بهبود می‌یابد. آنزیم اضافه‌شده به مخلوط لجن قبل از هضم بی‌هوازی، موجب بهبود هضم لجن و افزایش تولید گاز متان شده است (۲۶). مطالعه انجام شده توسط پلیچ نیز نشان داد که استفاده از آنزیم‌های هیدرولیتیک، افزایش سیالیت مواد آلی پیچیده را که به افزایش تولید بیوگاز با کاهش مصرف برق می‌انجامد، موجب خواهد شد (۸۲).

**جدول ۷- تحقیقات انجام شده در مراحل مختلف هضم بی‌هوازی**

مراحل هضم	روش	افزایش بیوگاز (در صد)	سال
مرحله هیدرولیز	فرایند پلاگ‌فلو (Plug flow) هیدرولیز جهت پیش تصفیه لجن قبل از هضم که موجب شکست ساختار لیپوپروتئین (Lipoprotein) و افزایش تولید گاز می‌شود <sup>a</sup>	-	۲۰۰۳ میلادی
	هیدرولیز ترموشیمیایی که موجب کاهش حدود ۹۰ درصد ThOD <sup>۱</sup> و ۸۰ درصد مواد فرار می‌شود <sup>b</sup>	۷۹/۵	۲۰۰۵ میلادی
	افزودن باکتری همی سلولوزیک در ژئولیت فعال <sup>c</sup>	۵۳	۲۰۱۰ میلادی
مرحله متان‌زایی	بهبود متان‌زایی از طریق استفاده از مخلوط آزاد شده (سلولوزیک با متانوژن) <sup>d</sup>	-	۱۹۸۵ میلادی
	فرایند عدم انتقال کووالانسی (Covalent) متانوژن‌ها بر روی بستر پلیمری گرانولی (که منجر به کاهش انتقال اکسیژن جهت تولید بیوگاز می‌شود) <sup>e</sup>		۲۰۰۱ میلادی

a:(۷۹) b:(۷۸) c:(۷۷) d:(۷۶) e:(۷۵)

زیاد می‌باشد. استفاده از زیست توده پایدار برای تولید بیوگاز، از طریق هاضم‌های چندمرحله‌ای و فرایند پیش‌تصفیه توسط میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های کارآمد بالقوه و یا اصلاح‌شده ژنتیکی، منجر به تبدیل انواع پسماند آلی پیچیده به ساختارهای قابل تجزیه و سازگار با محیط‌زیست می‌شود. طراحی هاضم‌های چندمرحله‌ای، به نظارت مستمر فرایند، نمونه‌برداری و کنترل عوامل محدودکننده‌ای چون pH، دما، نرخ بارگذاری و غلظت مواد، کمک شایانی می‌کند. به طور موازی انتخاب سوبستره به لحاظ ماهیت، میزان دسترسی، نسبت C/N، پتانسیل تولید بیوگاز و عملکرد ترکیب‌های متفاوت آن، در روند هضم و تولید بیوگاز، تاثیر به‌سزایی دارد. در مجموع تکنولوژی تولید بیوگاز برای بهبود فرایند در جنبه های مختلف آن، نیازمند توجه و بررسی بیشتری می‌باشد تا زمانی که این تکنولوژی به یک گزینه برجسته برای توسعه پایدار در آینده تبدیل شود.

#### مراجع

- 1- Gupta P, Singh RS, Sachan A, Vidyarthi AS, Gupta A. A re-appraisal on intensification of biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2012;16(7):4908-16.
- 2- Tarbaghia TM. Design of biogas plant to product energy with special application to Benghazi, Libya. *Renewable energy*. 1993;3(2):207-9.
- 3- Holm-Nielsen JB, Al Seadi T, Oleskovicz-Popiel P. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource technology*. 2009;100(22):5478-84.
- 4- Ward AJ, Hobbs PJ, Holliman PJ, Jones DL. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource technology*. 2008;99(17):7928-40.

#### -مهندسی ژنتیک میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها برای

#### افزایش تولید بیوگاز

مهندسی ژنتیک نقش عمده‌ای در تمام جنبه‌های بیوتکنولوژی و همچنین در تولید سوخت‌های زیستی ایفا می‌کند. بهبود تولید سوخت بیوگاز با تکیه بر این علم از طریق دستکاری ژن با روش‌های خاصی و یا ترکیب کردن قسمت‌هایی از DNA برای رسیدن به اهداف گوناگون، تحقق می‌یابد.

#### -چالش‌های پیش‌روی

تولید بیوگاز تا حد زیادی توسط تکنولوژی‌های جدید بهبود یافته اما هنوز چالش‌هایی وجود دارد که بایستی در آینده بررسی شود. این چالش‌ها عبارتند از:

- در فرایند هیدرولیز، مواد آلی نامحلول پیچیده توسط آنزیم‌های خارج سلولی که عامل محدودکننده سرعت فرایند هستند، هیدرولیز می‌شوند.
- لیگنوسلولوزیک به عنوان منبع زیست توده برای تولید بیوگاز آن‌طور که باید قابل استفاده نیست.

- هزینه‌های بالای تولید آنزیم‌های تجاری، کاربرد هیدرولیز آنزیمی در تولید بیوگاز در مقیاس بزرگ را محدود می‌کند (۸۳).

امروزه تحقیقات گسترده‌ای برای بهبود تولید بیوگاز، در حال انجام است. به عنوان مثال، استفاده از نانوذرات اکسید آهن در هاضم بی‌هوازی، افزایش تولید بیوگاز را در پی دارد (۸۴). پیش‌بینی می‌شود مواد نانو از پسماند بیولوژیکی تجدیدپذیر، تمرکز اصلی تحقیقات آینده خواهد بود. گسترش تکنولوژی نو ترکیب DNA برای توسعه پتانسیل باکتری‌های بی‌هوازی، موجب کاهش زمان ماند هیدرولیکی می‌شود، که به نوبه خود باعث اطمینان از افزایش تولید بیوگاز در آینده خواهد شد.

#### نتیجه‌گیری

بیوانرژی به این دلیل که جایگزینی مناسب و اقتصادی برای سوخت‌های فسیلی ارائه می‌دهد، یکی از مهم‌ترین منابع انرژی تجدیدپذیر به‌شمار می‌آید. از طرفی امید به پیشرفت بهبود تولید بیوگاز با توجه به اینکه منبعی ارزان و در دسترس است،

- production potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014;32:713-28.
- 13- Chaiprasert P. Biogas production from agricultural wastes in Thailand. *J Sustainable Energ Environ Spec Issue*. 2011:63-5.
- 14- Sagagi B, Garba B, Usman N. Studies on biogas production from fruits and vegetable waste. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. 2009;2(1):115-8.
- 15- Chandra R, Vijay VK, Subbarao PM, editors. A study on biogas generation from non-edible oil seed cakes: potential and prospects in India. *The 2nd Joint International Conference on Sustainable Energy and Environment*; 2006.
- 16- Dhanya M, Gupta N, Joshi H. Biogas potentiality of agro-wastes *Jatropha* fruit coat. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Environmental, Chemical, Ecological, Geological and Geophysical Engineering*. 2009;3(3):70-4.
- 17- Chellapandi P, Prabakaran D, Uma L. A preliminary study on co-digestion of ossein industry waste for methane production. 2010.
- 18- Jash T, Ghosh D. Studies on the solubilization kinetics of solid organic residues during anaerobic biomethanation. *Energy*. 1996;21(7):725-30.
- 19- Ten Brummeler, E., M. Aarnink, and I. Koster, Dry anaerobic digestion of solid organic waste in a biocel reactor at pilot-plant scale. *Water Science and Technology*, 1992. **25**(7): p. 301-310.
- 20- Chandra R, Takeuchi H, Hasegawa T. Methane production from
- 5- Curry N. *Modeling and Design of a Food Waste to Energy System for an Urban Building*: Concordia University Montréal, Québec, Canada; 2010.
- 6- Kiran EU, Trzcinski AP, Ng WJ, Liu Y. Bioconversion of food waste to energy: a review. *Fuel*. 2014;134:389-99.
- 7- Okonko IO, Adeola O, Aloysius F, Damilola A, Adewale O. Utilization of food wastes for sustainable development. *EJEAFChE*. 2009;8(4):120-44.
- 8- Hahn H, Krautkremer B, Hartmann K, Wachendorf M. Review of concepts for a demand-driven biogas supply for flexible power generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014;29:383-93.
- 9- Silva M, Naik T. Review of composting and anaerobic digestion of municipal solid waste and a methodological proposal for a mid-size city. *Sustainable Construction Materials and Technologies*. 2007;63.
- 10- Schlegel M, Kanswohl N, Rossel D, Sakalauskas A, editors. *Essential technical parameters for effective biogas production*. Agronomy Research; 2008: Estonian University of Life Sciences, Jõgeva Plant Breeding Institute, Estonian Research Institute of Agriculture.
- 11- Zhu JY, Pan X, Zalesny Jr RS. Pretreatment of woody biomass for biofuel production: energy efficiency, technologies, and recalcitrance. *Applied microbiology and biotechnology*. 2010;87(3):847-57.
- 12- Singh R, Shukla A, Tiwari S, Srivastava M. A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol

- 28- Naik L, Gebreegziabher Z, Tumwesige V, Balana BB, Mwirigi J, Austin G. Factors determining the stability and productivity of small scale anaerobic digesters. *biomass and bioenergy*. 2014;70:51-7.
- 29- Anand V, Chanakya H, Rajan M. Solid phase fermentation of leaf biomass to biogas. *Resources, conservation and recycling*. 1991;6(1):23-33.
- 30- Hills DJ. Effects of carbon: nitrogen ratio on anaerobic digestion of dairy manure. *Agricultural wastes*. 1979;1(4):267-78.
- 31- Fraser MD, editor *The economics of SNG production by anaerobic digestion of specially grown plant matter. Clean Fuels from Biomass and Wastes*; 1977.
- 32- Wang X, Yang G, Feng Y, Ren G, Han X. Optimizing feeding composition and carbon–nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw. *Bioresource Technology*. 2012;120:78-83.
- 33- Nopharatana A, Pullammanappallil PC, Clarke WP. Kinetics and dynamic modelling of batch anaerobic digestion of municipal solid waste in a stirred reactor. *Waste management*. 2007;27(5):595-603.
- 34- Rubindamayugi MS, Mshandete AM, Björnsson L, Kivaisi AK, Mattiasson B. Effect of Particle Size on Biogas Yield from Sisal Fibre Waste. 2006.
- 35- Ofoefule AU, Nwankwo JI, Ibeto CN. Biogas Production from Paper Waste and its blend with Cow dung. *Adv Appl Sci Res*. 2010;1(2):1-8.
- lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2012;16(3):1462-76.
- 21- Puyuelo B, Ponsá S, Gea T, Sánchez A. Determining C/N ratios for typical organic wastes using biodegradable fractions. *Chemosphere*. 2011;85(4):653-9.
- 22- Sanders F, Bloodgood DE. The effect of nitrogen-to-carbon ratio on anaerobic decomposition. *Journal (Water Pollution Control Federation)*. 1965:1741-52.
- 23- Laura R, Idnani M. Increased production of biogas from cowdung by adding other agricultural waste materials. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1971;22(4):164-7.
- 24- Hassan HM, Belyea DA, El-Domiaty Hassan A, editors. *Characterization of methane production from poultry manure. International Symposium on Livestock*, 3; 1975: ASAE.
- 25- Mitchell M, Hartenstein R, Swift B, Neuhauser E, Abrams B, Mulligan R, et al. Effects of different sewage sludges on some chemical and biological characteristics of soil. *Journal of Environmental Quality*. 1978;7(4):551-9.
- 26- Parawira W, Read JS, Mattiasson B, Björnsson L. Energy production from agricultural residues: high methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion. *Biomass and Bioenergy*. 2008;32(1):44-50.
- 27- Schnurer A, Jarvis A. *Microbiological handbook for biogas plants. Swedish Waste Management U*. 2010;2009:1-74.



- 43- Parawira W, Murto M, Zvauya R, Mattiasson B. Anaerobic batch digestion of solid potato waste alone and in combination with sugar beet leaves. *Renewable Energy*. 2004;29(11):1811-23.
- 44- Hejnfelt A, Angelidaki I. Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products. *Biomass and bioenergy*. 2009;33(8):1046-54.
- 45- Avcioglu, A.O. and U. Türker, Status and potential of biogas energy from animal wastes in Turkey. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2012. 16(3): p. 1557-1561.
- 46- Scaglione D, Caffaz S, Ficara E, Malpei F, Lubello C. A simple method to evaluate the short-term biogas yield in anaerobic codigestion of WAS and organic wastes. *Water Science and Technology*. 2008;58(8):1615-22.
- 47- Kang H, Weiland P. Ultimate anaerobic biodegradability of some agro-industrial residues. *Bioresource technology*. 1993;43(2):107-11.
- 48- Song Z, Yang G, Guo Y, Zhang T. Comparison of two chemical pretreatments of rice straw for biogas production by anaerobic digestion. *BioResources*. 2012;7(3):3223-36.
- 49- Hartmann H, Ahring BK. Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: influence of co-digestion with manure. *Water research*. 2005;39(8):1543-52.
- 50- Carucci G, Carrasco F, Trifoni K, Majone M, Beccari M. Anaerobic digestion of food industry wastes: effect of codigestion on methane yield. *Journal of Environmental Engineering*. 2005;131(7):1037-45.
- 51- Satyanarayan S, Murkute P. Biogas
- 36- Iyagba ET, Mangibo IA, Mohammad YS. The study of cow dung as co-substrate with rice husk in biogas production. *Scientific Research and Essays*. 2009;4(9):861-6.
- 37- Vivekanandan S, Kamaraj G. The study of biogas production from rice chaff (karukka) as co-substrate with cow dung. *Indian Journal of Science and Technology*. 2011;4(6):657-9.
- 38- Álvarez J, Otero L, Lema J. A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. *Bioresource technology*. 2010;101(4):1153-8.
- 39- Goberna M, Schoen M, Sperl D, Wett B, Insam H. Mesophilic and thermophilic co-fermentation of cattle excreta and olive mill wastes in pilot anaerobic digesters. *biomass and bioenergy*. 2010;34(3):340-6.
- 40- Cavinato C, Fatone F, Bolzonella D, Pavan P. Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: comparison of pilot and full scale experiences. *Bioresource technology*. 2010;101(2):545-50.
- 41- Sosnowski P, Wieczorek A, Ledakowicz S. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. *Advances in Environmental Research*. 2003;7(3):609-16.
- 42- Lo H, Kurniawan T, Sillanpää M, Pai T, Chiang C, Chao K, et al. Modeling biogas production from organic fraction of MSW co-digested with MSWI ashes in anaerobic bioreactors. *Bioresource Technology*. 2010;101(16):6329-35.

- 60- Suryawanshi P, Chaudhari A, Kothari R. Thermophilic anaerobic digestion: the best option for waste treatment. *Critical reviews in biotechnology*. 2010;30(1):31-40.
- 61- Udelhoven T, Delfosse P, Bossung C, Ronellenfitch F, Mayer F, Schlerf M, et al. Retrieving the bioenergy potential from maize crops using hyperspectral remote sensing. *Remote Sensing*. 2013;5(1):254-73.
- 62- Hobson PN, Wheatley A. *Anaerobic digestion: modern theory and practice*: Kluwer Academic Pub; 1993.
- 63- Omrani A, Ghiasseddin M. A PILOT PLANT FOR THE BIOGAS PRODUCTION. *Iranian Journal of Public Health*. 1988;17(1-4):19-28.
- 64- Fedailaine M, Moussi K, Khitous M, Abada S, Saber M, Tirichine N. Modeling of the Anaerobic Digestion of Organic Waste for Biogas Production. *Procedia Computer Science*. 2015;52:730-7.
- 65- Al Seadi T. *Biogas handbook*. 2008.
- 66- Kizilaslan H, Onurlubas HE. Potential of Production of Biogas from Animal Origin Waste in Turkey (Tokat Provincial Example). *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010;9(6):1083-7.
- 67- Schulz H, Eder B. *Biogas-Praxis: Grundlagen. Planung, Anlagenbau, Beispiele*. 2001.
- 68- Nasr, N., et al., Comparative assessment of single-stage and two-stage anaerobic digestion for the treatment of thin stillage. *Bioresource technology*, 2012. 111: p. 122-126.
- 69- Mohseni F, Magnusson M, Görling M, Alvfors P. Biogas from renewable electricity—Increasing a climate neutral production enhancement by Brassica compostries amendment in cattle dung digesters. *Biomass and Bioenergy*. 2008;32(3):210-5.
- 52- Clark SE. Method for anaerobic sludge digestion. Google Patents; 1995.
- 53- Bardiya N, Somayaji D, Khanna S. Biomethanation of banana peel and pineapple waste. *Bioresource technology*. 1996;58(1):73-6.
- 54- Tedjani F, Khouider A, Ghoualem H, editors. *Characterisation and anaerobic treatment of a dairy effluent*. The 2nd Maghreb Conference on desalination and water treatment, CMTDE, Hammamet, Tunisia; 2010.
- 55- Safley L, Westerman P. Performance of a low temperature lagoon digester. *Bioresource Technology*. 1992;41(2):167-75.
- 56- Gray D, Suto P, Peck C. *Anaerobic digestion of food waste*. East Bay Municipal Utility District Report. 2008.
- 57- Kwietniewska E, Tys J. Process characteristics, inhibition factors and methane yields of anaerobic digestion process, with particular focus on microalgal biomass fermentation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014;34:491-500.
- 58- Liu C-f, Yuan X-z, Zeng G-m, Li W-w, Li J. Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology*. 2008;99(4):882-8.
- 59- Haga R, Ishida M, Odawara Y. *Anaerobic digestion process of wastes containing cellulose*. Google Patents; 1985.

- digester. *Journal of Biosciences*, 1985. **9**(3-4): p. 137-144.
- 77- Weiß S, Tauber M, Somitsch W, Meincke R, Müller H, Berg G, et al. Enhancement of biogas production by addition of hemicellulolytic bacteria immobilised on activated zeolite. *Water research*. 2010;44(6):1970-80.
- 78- Park C, Lee C, Kim S, Chen Y, Chase HA. Upgrading of anaerobic digestion by incorporating two different hydrolysis processes. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2005;100(2):164-7.
- 79- Christy PM, Gopinath L, Divya D. A review on anaerobic decomposition and enhancement of biogas production through enzymes and microorganisms. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2014;34:167-73.
- 80- Attar Y, Mhetre S, Shawale M, editors. *Biogas production enhancement by cellulytic strains of Actinomycetes*. *Biogas Forum I*; 1998.
- 81- Wahyudi, A., L. Hendraningsih, and A. Malik, Potency of fibrolytic bacteria isolated from Indonesian sheep's colon as inoculum for biogas and methane production. *African Journal of Biotechnology*, 2010. **9**(20).
- 82- Plochl M, Hilse A, Heiermann M, Surez Quinones T, Budde J, Prochnow A. Hydrolytic enzymes improve fluidity of biogas feedstock. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal Manuscript*. 2009;1529.
- 83- Berlin A, Gilkes N, Kurabi A, Bura R, Tu M, Kilburn D, et al., editors. *Weak lignin-binding enzymes*. *Twenty-Sixth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*; 2005: Springer.
- fuel supply. *Applied Energy*. 2012;90(1):11-6.
- 70- Cesaro A, Naddeo V, Amodio V, Belgiorno V. Enhanced biogas production from anaerobic codigestion of solid waste by sonolysis. *Ultrasonics sonochemistry*. 2012;19(3):596-600.
- 71- Kana EG, Oloke J, Lateef A, Adesiyan M. Modeling and optimization of biogas production on saw dust and other co-substrates using artificial neural network and genetic algorithm. *Renewable Energy*. 2012;46:276-81.
- 72- Thorin E, Lindmark J, Nordlander E, Odlare M, Dahlquist E, Kastensson J, et al. Performance optimization of the Växtkraft biogas production plant. *Applied energy*. 2012;97:503-8.
- 73- Zheng Y, Wei J, Li J, Feng S, Li Z, Jiang G, et al. Anaerobic fermentation technology increases biomass energy use efficiency in crop residue utilization and biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2012;16(7):4588-96.
- 74- Senthilkumar V, Gunasekaran P. Bioethanol production from cellulosic substrates: Engineered bacteria and process integration challenges. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 2005;64(11):845.
- 75- Lalov IG, Krysteva MA, Phelouzat J-L. Improvement of biogas production from vinasse via covalently immobilized methanogens. *Bioresource Technology*. 2001;79(1):83-5.
- 76- Kalle, G., K.K. Nayak, and C. De Sa, An approach to improve methanogenesis through the use of mixed cultures isolated from biogas

- 
- 84- Luna-delRisco M, Orupõld K, Dubourguier H-C. Particle-size effect of CuO and ZnO on biogas and methane production during anaerobic digestion. *Journal of hazardous materials*. 2011;189(1):603-8.