

UDK/UDC: 628.336.5:66.098.4

Prejeto/Received: 02.02.2016

Izvirni znanstveni članek – Original scientific paper

Sprejeto/Accepted: 29.03.2016

UPORABA HIDROLITSKIH ENCIMOV ZA OPTIMIZACIJO ANAEROBNE PRESNOVE NA ČISTILNI NAPRAVI

USAGE OF HYDROLYTIC ENZYMES FOR ANAEROBIC DIGESTION OPTIMIZATION IN A WASTEWATER TREATMENT PLANT

Sabina Kolbl¹

¹ Fakulteta za gradbeništvo in geodezijo, Univerza v Ljubljani, Jamova cesta 2, 1000 Ljubljana

Izvleček

Raziskovali smo vpliv dodajanja dveh različnih hidrolitskih encimov na proces anaerobne presnove in dinamiko tvorjenja metana v mezofilnem temperaturnem območju 37°C. Metanski potencial blata in čistilne naprave je znašal 319 ± 11 mL CH₄ g⁻¹ OS-1. Z dodajanjem encimov MicropanBiogas smo uspeli metanski potencial povečati za 8 % (339 ± 11 mL CH₄ g⁻¹ OS-1), z dodajanjem encimov Novozymes pa za 45 % (455 ± 28 mL CH₄ g⁻¹ OS-1). Ostali fizikalno kemijski parametri so se gibali znotraj stabilnega območja anaerobne presnove. Koeficienti hidrolize so bili v primeru dodajanja encimov večji kot v kontrolnih reaktorjih. Ocenili smo tudi prileganje modificiranih modelov Gompertz, Logistic in Transfer izmerjenim realnim vrednostim dinamike nastajanja metana v šaržnih anaerobnih reaktorjih. Najbolje se je prilegal model Transfer, sledila sta modela Gompertz in Logistic. Stroški dodajanja encimov bi se povrnili že pri 8 % večji produkciji metana.

Ključne besede: anaerobna presnova, encimi, model, optimizacija.

Abstract

We investigated the effects of adding two types of hydrolytic enzymes to wastewater sludge in the process of anaerobic digestion and the dynamics of methane formation in mesophilic temperature range of 37 °C. Methane potential of wastewater treatment plants sludge was 319 ± 11 mL CH₄ g⁻¹ OS-1. By adding Micropan Biogas enzymes, methane potential increased by 8% (339 ± 11 mL CH₄ g⁻¹ OS-1). After adding Novozymes enzymes, the increase was 45% (455 ± 28 mL CH₄ g⁻¹ OS-1). Other physico-chemical parameters remained within the stable and optimal range of anaerobic digestion. Hydrolysis coefficients in the case of enzymes addition were higher than in the control reactors. Furthermore, we evaluated the fit of modified Gompertz, Logistic and Transfer models to the measured values in anaerobic batch reactors. The best model fit was achieved with the Transfer model followed by Gompertz and Logistic models. The cost of enzyme addition would be reimbursed at 8% higher production of methane.

Keywords: anaerobic digestion, enzymes, model, optimization.

¹ Stik / Correspondence: sabina.kolbl@fgg.uni-lj.si

© Kolbl S.; Vsebina tega članka se sme uporabljati v skladu s pogoji [licence Creative Commons Priznanje avtorstva – Nekomercialno – Deljenje pod enakimi pogoji 4.0.](#)

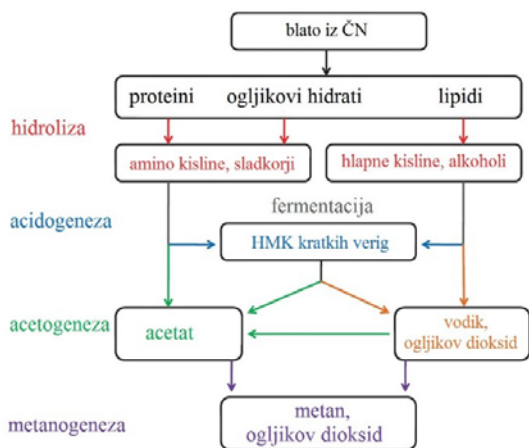
© Kolbl S.; This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution – Non Commercial – Share Alike 4.0 Licence.](#)

1. Uvod

Pri čiščenju odpadne vode na čistilnih napravah nastajajo večje količine primarnega in sekundarnega blata. Primarno blato nastane pri mehanskem čiščenju v primarnih usedalnikih, medtem ko sekundarno blato nastane pri biološkem čiščenju odpadne vode. Primarno blato je v primerjavi s sekundarnim lažje razgradljivo in ima energetsko vrednost med 23.000 in 29.000 kJ kg⁻¹ TSS⁻¹. Sekundarno blato vsebuje predvsem mikrobne celice, ki so sestavljene iz kompleksnih polimernih organskih materialov, kar otežuje njegovo razgradnjo. Energetska vrednost sekundarnega blata se giblje med 19.000 in 23.000 kJ kg⁻¹ TSS⁻¹ (Tezel et al., 2011). Globalni problem večanja količin odvečnega blata na ČN postaja vse bolj aktualen, zato je na odvečno blato iz ČN potrebno gledati tudi kot na vir, ki ga lahko koristno izrabimo (Tezel et al., 2011). Anaerobna presnova je eden izmed načinov stabilizacije blata iz ČN in energetskega izkoriščanja.

Anaerobna presnova je kompleksen večstopenjski proces, pri katerem se kompleksne organske molekule pretvorijo v enostavne, kjer sta končni produkt ogljikov dioksid in metan (Batstone in Viridis, 2014). Pri anaerobni presnovi razgradnja dolgoveržnih molekul iz osnovnih gradnikov (ogljikovi hidrati, lipidi in proteini) poteka s pomočjo zunaj in znotrajceličnih encimov, ki jih izločajo mikroorganizmi. V štirih fazah (hidroliza, acidogeneza, acetogeneza in metanogeneza) (slika 1) anaerobne bakterije razgradijo organske snovi, metanogene arheje pa proizvedejo metan. Encimi so odgovorni za skoraj vse kemijske reakcije v živi celici. Tako lahko npr. med te reakcije štejemo tudi tvorbo novih sestavin, prerazporeditev molekul, dodajanje ali odstranjevanje funkcionalnih skupin, kot tudi oksidacijo in redukcijo ter razpad večjih molekul v manjše (Mudhoo, 2012). Hidroliza je omejujoči korak v procesu anaerobne presnove in je merilo, kako hitro se v procesu anaerobne presnove razgradijo suspendirani delci. Znano je, da lahko različne predobdelave blata izboljšajo anaerobno presnovo blata iz ČN, dinamiko nastajanja metana in metanski donos (Kolbl et al., 2014; Kolbl et al., 2016; Murovec et al., 2015). Enostaven način izboljšanja tvorbe metana na ČN

predstavlja biološka predobdelava z dodajanjem hidrolitskih encimov. Hidrolitski encimi med procesom hidrolize izboljšujejo razgradnjo večjih delcev blata, kar privede do večje razpoložljive površine na kosih blata za pripenjanje mikroorganizmov in posledično boljšo anaerobno razgradnjo (Luo et al., 2012). Zato smo v sklopu raziskave postavili naslednje cilje: (i) preizkusiti vpliv uporabe dveh komercialno dostopnih hidrolitskih encimov na proizvodnjo metana, (ii) oceniti kinetiko nastajanja metana in (iii) oceniti prilaganje treh različnih modelov izmerjenim realnim vrednostim dinamike nastajanja metana.



Slika 1: Reakcijska shema procesa anaerobne presnove blata iz ČN (Tezel et al., 2011).

Figure 1: Reaction scheme of anaerobic digestion of sewage sludge (Tezel et al., 2011).

2. Materiali in metode

2.1 Blato in inokulum

Blato za predobdelavo smo pridobili iz Centralne komunalne čistine naprave (ČN) Šaleške doline, velikosti 50.000 PE. Vzorce smo vzeli iz zgoščevalnika, tik pred vstopom v anaerobno gnilišče. Čiščenje odpadne vode na ČN zajema mehansko in biološko stopnjo čiščenja. Odvečno blato iz primarnega in sekundarnega zgoščevalnika se po aerobni biološki stopnji obdela v gnilišču pri temperaturi med 35 in 37 °C. Za zgoščevanje blata se uporablja zgoščevalnik, preko katerega se doseže vsebnost suhe snovi v blatu med 2 in 4 %. Gnilišče sestavljata dva anaerobna reaktorja

volumna 960 m³. Nastali bioplin se porabi na 150 kW plinskem motorju, toplota, ki se pri tem ustvarja, pa se porabi za ogrevanje gnilišča. Kot inokulum za odvečno aerobno blato iz čistilne naprave smo uporabili anaerobno biomaso iz CČN Šaleške doline iz prvega anaerobnega reaktorja.

2.2 Merjenje metanskega potenciala

Metanski potencial smo merili z nadgrajenim 5 L AMPTS II (slika 2). AMPTS II je analitska naprava, ki je sestavljena iz treh delov. Podrobnejše delovanje AMPTS II je opisano v Kolbl et al. (2014). Za naš eksperiment smo v pilotne anaerobne šaržne reaktorje dozirali 3000 ml biomase iz CČN Šaleške doline in mu dodali blato iz ČN. Organska obremenitev z blatom iz ČN je znašala 2,35 g OS/l, kot na realni čistilni napravi. Za encimsko predobdelavo smo uporabili mešanico testnih encimov proizvajalca Novozymes in encime MicropanBiogas proizvajalca Eurovix. Encime smo dnevno dozirali v anaerobne reaktorje, glede na vsebnost suhe snovi in organske snovi, po navodilih proizvajalca. Dnevna količina vsakega posameznega encima proizvajalca Novozymes je znašala 114 µL, količina MicropanBiogas pa 0,15 g. Za doziranje smo uporabili 50 ml brizgo. Pri doziranju skozi cevko na gumijastem zamašku smo le-to splaknili še z 10 ml destilirane vode. Skupaj je bilo dozirano 15 ml tekočine. Reaktorjem brez dodajanja encimov smo dnevno dozirali 15 ml destilirane vode. Mešanje v reaktorjih je bilo zagotovljeno z mešali, ki so bila vodena računalniško. Skupaj smo tako uporabili 15 reaktorjev. Pred zagonom eksperimenta smo vse anaerobne reaktorje za 1 minuto prepihali z dušikom, da smo zagotovili anaerobne pogoje. Lastnosti vhodnega odvečnega blata in inokuluma so podane v preglednici 1.

2.3 Matematični modeli metanskih potencialov

Za oceno produkcije metana v šaržnih eksperimentih smo uporabili tri modele: modificirani Gompertz model, Logisticfunction model in Transfer function model. Modela Gompertz in Logistic ustrezata sigmoidnim funkcijam, ki se nanašajo na produkcijo metana in

rast metanogenih arhej v anaerobnem reaktorju. Transfer function model upošteva, da je produkcija metana podobna krivulji prvega reda z maksimalno hitrostjo na začetku in nižanjem produkcije proti nič na koncu eksperimenta. Enačbe modelov so naslednje (Huiliñir et al., 2014; Nielfa et al., 2015):

- i) Modificiran Gompertzov model:

$$y = A \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m \cdot e}{A} \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

- ii) Model Logistic function :

$$y = \frac{A}{1 + \exp \left(\frac{A \cdot \mu_m (t - \lambda)}{A} + 2 \right)} \quad (2)$$

- iii) Model Transfer function :

$$y = A \cdot \left(1 - \exp \left(-\frac{\mu_m \cdot (t - \lambda)}{A} \right) \right) \quad (3)$$

Pri tem so: y – napovedana produkcija metana (mL CH₄ g⁻¹ OS⁻¹), μ_m – konstanta maksimalna hitrost produkcije metana (mL CH₄ g⁻¹ VS⁻¹ h⁻¹), λ – čas lag faze (h), A – maksimalni volumen akumuliranega metana ob neskončnem času t (mL CH₄ g⁻¹ OS⁻¹), t – izmerjeni čas (h) in e – matematična konstanta naravnega logaritma (2,718282).

Konstante modelov so bile določene z uporabo Reševalnika v programu Excel 2016 in metodo najmanjših kvadratov. Stopnja prileganja eksperimentalnih podatkov z modelom je bila določena glede na oceno napake variance s^2 , ki je določena z enačbo (4) (Huiliñir et al., 2014):

$$s^2 = \sum_1^i (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (4)$$

kjer sta y_i eksperimentalna vrednost in \hat{y}_i vrednost izračunana z modelom. Za določitev razlik med različno predhodno obdelanimi reaktorji je izračunana analiza variance (single-factor ANOVA) s programom Excel 2016. Iz meritev metanskih potencialov lahko definiramo konstanto hidrolize prvega reda, ki je podana z enačbo (5) (Angelidaki et al., 2009):

$$\ln \left(\frac{B_\infty - B}{B_\infty} \right) = -k_H \cdot t \quad (5)$$

Pri tem so: B_∞ – končna produkcija metana (ml), B – metan proizveden ob določenem času t (ml), k_H – konstanta hidrolize prvega reda, ki je definirana kot naklon linearne krivulje (d⁻¹) in t – čas (d).

Za načrtovanje in oceno anaerobnih sistemov je pomembna tudi kinetika nastajanja metana. Modeli prvega reda omogočajo opis metanskih donosov (Huiliñir et al., 2014).

Razgradnjo organske snovi BD_{OS} določimo z naslednjo enačbo (6) (Nielfa et al., 2015):

$$BD_{OS} (\%) = \frac{OS_{začetek} - OS_{konec}}{OS_{začetek}} \cdot 100 \quad (6)$$

Pri tem so: $OS_{začetek}$ – količina organske snovi inokuluma in dodanega substrata v anaerobnem reaktorju na začetku eksperimenta (g), OS_{konec} – količina organske snovi v anaerobnem reaktorju na koncu eksperimenta (g), *razgradnja OS* – količina organske snovi, ki jo razgradijo mikroorganizmi v procesu anaerobne presnove (%).

Osnovni kemijski formuli za primarno in sekundarno blato sta $C_{10}H_{19}O_3N$ in $C_5H_7O_2N$. Tako lahko teoretično iz 1 kg organske snovi primarnega blata dobimo 733 L CH_4 in iz sekundarnega 544 mL CH_4 g^{-1} VS⁻¹ (Kolbl et al., 2016).

2.4 Kemijske analize

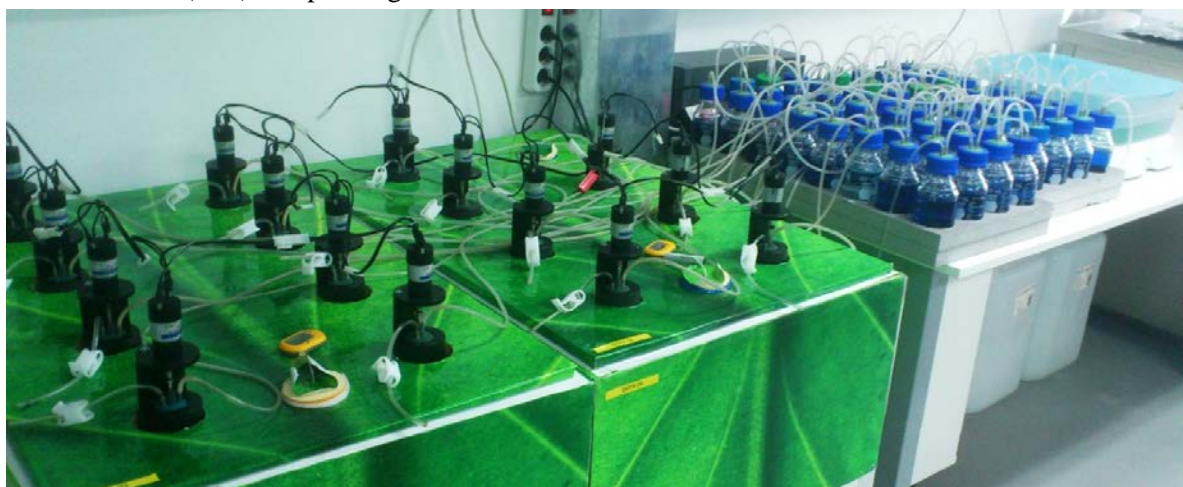
Suha snov (SS) in organska snov (OS) sta bili določeni po navodilih (APHA, 2005). Koncentracija celotnega dušika in amonija je bila izmerjena z aparaturo SANplus Continuous Flow Analyzer (Patrick Analytica IBV, The Netherlands), ki temelji na Berthelovi reakciji, po navodilih proizvajalca. Z Biogas Titration Manager TIM840 (HACH LANGE) smo po navodilih proizvajalca izmerili alkaliteto (TIC), hlapne organske kisline

(HOK) in njuno razmerje. Multimenter HQ40d (Hach Lange) smo uporabili za merjenje pH. Za merjenje topnega KPK (kemijska potreba po kisiku) so bili uporabljeni hitri kivetni testi LCK 514. Vzorce smo pred uporabo filtrirali, da smo izločili suspendirane snovi.

Preglednica 1: Izmerjeni vhodni parametri substratov in inokuluma.

Table 1: Characteristics of input substrates and inocula in batch experiment.

<i>Parameter</i>	<i>Odvečno blato</i>	<i>Inokulum iz CČN Šaleške doline</i>
SS (%)	5,34 ± 0,18	2,18 ± 0,01
OS (%)	79,96 ± 0,18	54,90 ± 0,26
OS (% SM)	4,27 ± 0,01	1,20 ± 0,01
pH	5,80 ± 0,01	7,50 ± 0,01
HOK (mg/L)	2.854 ± 28	6.970 ± 180
CAO (mg/L)	250 ± 14	29380 ± 360
HOK/CAO	11,42 ± 0,08	0,237 ± 0,032
N _{celotni} (mg/L)	3.117 ± 42	2.663 ± 30
NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	127 ± 12	884 ± 122



Slika 2: Naprava AMPTS za določevanje metanskega potenciala.

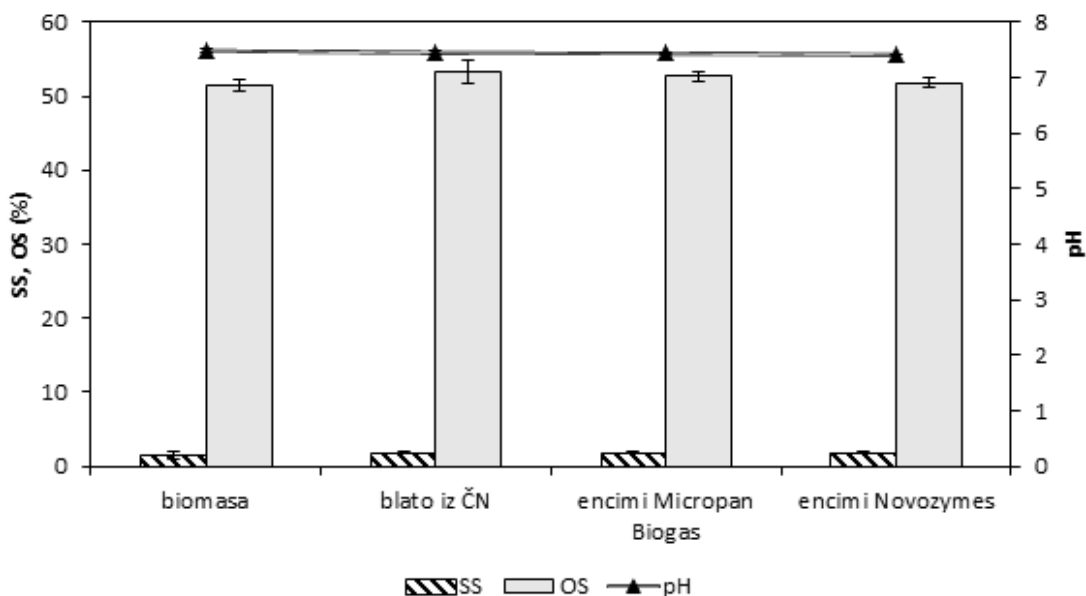
Figure 2: AMPTS for measurement of methane potential.

3. Rezultati in diskusija

Meritve smo izvedli po 34 dnevni anaerobni inkubaciji v reaktorjih. Razgradnja organske snovi neobdelanega blata je znašala 9,6 %. Z dodajanjem encimov Micropan Biogas in Novozymes smo razgradnjo organske snovi povečali na 25 % in 27,2 %. Boljša razgradnja organske snovi pomeni, da se je organska masa pretvorila v bioplin, vendar v različne deleže ogljikovega dioksida in metana. Posledično lahko sklepamo, da se je zmanjšala tudi količina odvečnega blata po anaerobni razgradnji za toliko, kot je nastalo bioplina, del blata pa se je pretvoril v mineralizirano obliko. Vrednost pH po 34 dneh je bila med 7,35 in 7,50, kar je znotraj ugodnih pogojev za proces anaerobne razgradnje (slika 3). Razmerje med HOK/CAO nakazuje, da smo reaktorje ustrezno organsko obremenili (slika 4) in da je proces anaerobne presnove potekal v optimalnih pH razmerah. Znano je tudi, da se alkaliteta v anaerobnih reaktorjih spreminja zaradi razgradnje organskih dušikovih spojin, redukcije sulfata, sproščanja ortofosfata in povečanja koncentracij hlapnih maščobnih kislin (HMK) (Song et al., 2004). Vsak izmed teh parametrov lahko poveča ali zmanjša razmerje HOK/CAO, zato je pomembno, da proces anaerobne presnove

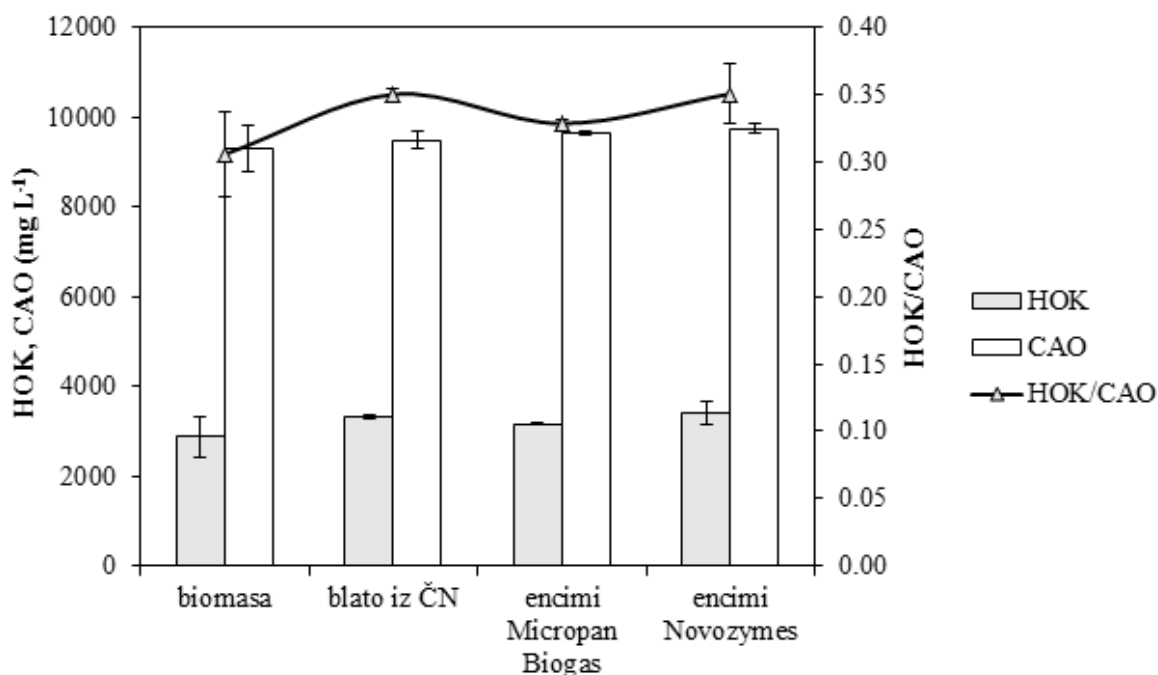
v anaerobnih reaktorjih poteka v optimalnih razmerah. V primeru, da s posameznimi substrati tega razmerja ni možno doseči, optimalne razmere zagotovimo z dodajanjem substratov, ki so bogati z ogljikom, ali s substrati, ki vsebujejo višje koncentracija dušika, odvisno od razmerja HOK/CAO.

Po 34 dneh smo določili tudi koncentracijo celotnega dušika in amonija (slika 5). Koncentracije celotnega dušika med posameznimi reaktorji se med sabo niso bistveno razlikovale. Koncentracija amonija (NH_4N) je bila v vseh primerih pod 3000 mg/L, kar predstavlja popolno toksično mejo normalnega delovanja (Chernicharo, 2007), kjer pride do odmiranja predvsem anaerobnih arhej, ki proizvajajo metan in posledično do zakisanja anaerobnih reaktorjev. Nekateri avtorji mejo inhibicije postavljajo na 1500 mg/L (Rajagopal et al., 2013). Kot posledica temu sledi upad pH v kislo območje in spremenjeno razmerje med HOK/CAO. Vsekakor pa sta inhibicija in toksičnost odvisni tudi od temperature, pH in aklimatizacije mikroorganizmov na tako okolje (Rajagopal et al., 2013).



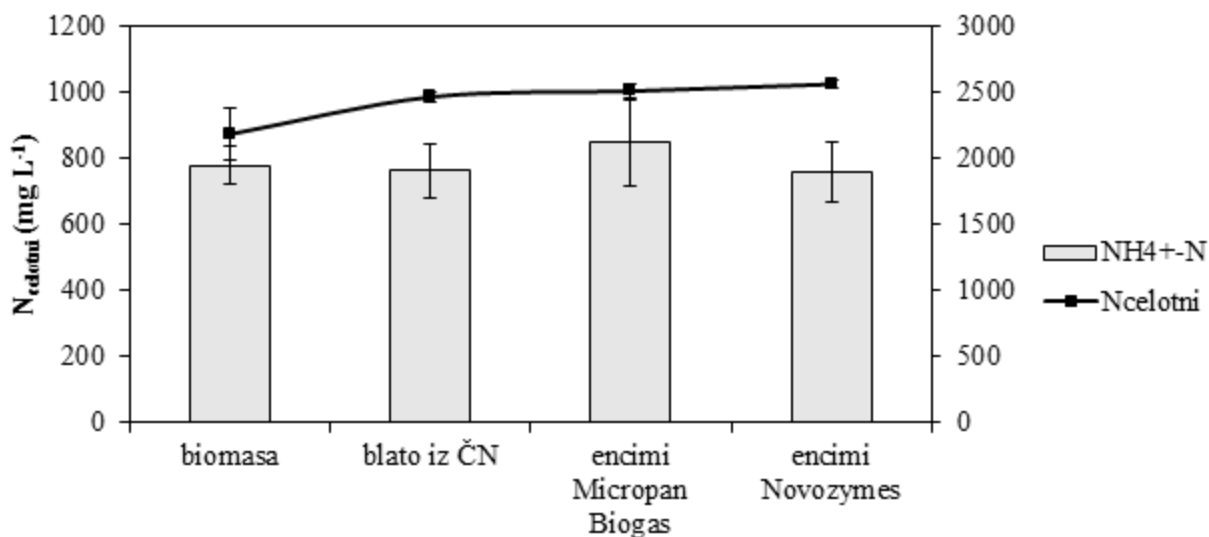
Slika 3: Suha snov (SS), organska snov (OS) in pH v pilotnih reaktorjih po 34 dneh procesa anaerobne presnove. Napake predstavljajo eno standardno deviacijo.

Figure 3: Total solids, volatile solids and pH in anaerobic pilot reactors after 34 days of anaerobic digestion process. Error bars represent one standard deviation.



Slika 4: Vsebnost hlapnih organskih kislin in celotnega anorganskega ogljika po končani anaerobni presnovi blata iz ČN ter dodajanju encimov Micropan Biogas in Novozymes. Napake predstavljajo eno standardno deviacijo.

Figure 4: Volatile organic acids and total inorganic carbon concentrations at the end of experiment of sewage sludge and pre-treatment with Novozymes and Micropan Biogas. Error bars represent one standard deviation.



Slika 5: Koncentracija celotnega in amonijskega dušika po 34 dneh procesa anaerobne presnove v šaržnih pilotnih reaktorjih eksperimenta z blatom iz ČN ter dodajanja encimov Micropan Biogas in Novozymes. Napake predstavljajo eno standardno deviacijo.

Figure 5: Total nitrogen and ammonium nitrogen concentrations after 34 days of anaerobic digestion in batch pilot reactors of sewage sludge, sewage sludge pre-treated with enzymes Novozymes and Micropan Biogas. Error bars represent one standard deviation.

Koncentracija topnega KPK blata iz ČN pred eksperimentom je bila 5,03 g KPK/L, inokuluma pa 7,31 g KPK/L (slika 6). Po 34 dneh med različnimi reaktorji ni bilo zaznani večjih razlik. V primeru blata iz ČN so reaktorji, ki so bili predobdelani z encimi Novozymes, po 34 dneh imeli največji metanski potencial in najmanjšo koncentracijo topnega KPK v primerjavi z neobdelanim blatom, kar sovпада tudi z razgradnjo organske snovi, ki je bila večja pri reaktorjih z encimi Novozymes. Z dodajanjem testnih hidrolitskih encimov Novozymes smo z AMPTS II izmerili 28 % večji izplen metana v primerjavi s kontrolo brez dodajanja encimov (slika 7), kar pomeni, da so se metanski potenciali med sabo statistično značilno razlikovali ($p < 0,05$, $F = 44,86$). Pri dodajanju encimov MicropanBiogas ni prišlo do bistvenega povečanja proizvodnje metana, povprečno povečanje je znašalo med 6 in 8 %. Stopnja povečanja izplena metana v tem eksperimentu je podobna eksperimentom drugih avtorjev (Mudhoo, 2012; Carlsson et al., 2012), ki so dosegli med 8 in 45 % povečanje proizvodnje metana. Za vidnejše učinke s predobdelavami z encimi in živimi kulturami, ki se nahajajo v dodatkih za povečanje proizvodnje metana, je v nekaterih primerih potrebno doziranje in obratovanje daljše časovno obdobje (Kolbl et al., 2014). Razlike, ki smo jih zaznali v eksperimentu, so v okviru že prej opaženih razlik pri drugih avtorjih (Bruni et al., 2010; Kolbl et al., 2016; Quiñones et al., 2012; Ziemiński et al., 2012). Eksperiment v našem primeru je bil izveden z realnimi velikostmi delcev in nemedificiranimi delci, na enak način kot se jih dozira v fermentorje na bioplinarnah, zato lahko sklepamo, da so tudi razlike, ki so nastale med encimsko obdelanimi in neobdelanimi reaktorji v okviru realnega modelnega merila (Kolbl et al., 2014). Kljub temu pa je za daljše časovno obdobje obvezna predhodna proučitev encimov na semi-kontinuurnem modelu, saj prihaja do razlik med šaržnim in kontinuurnim načinom delovanja anaerobnih reaktorjev in posledično tudi do precenjenih ali podcenjenih vplivov predobdelav in metanskih izplenov (Batstone et al., 2009; Kolbl et al., 2014; Kolbl et al., 2016).

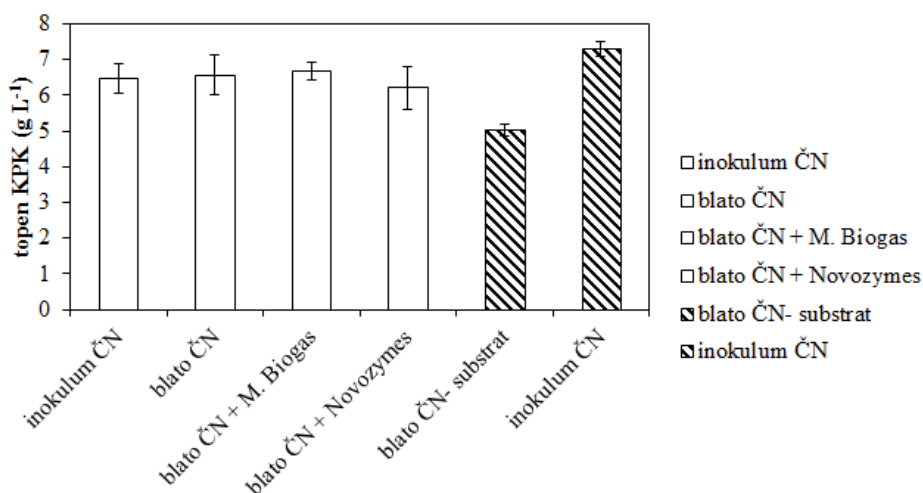
Za modeliranje produkcije metana so bili uporabljeni trije modeli (slika 8). Izračunane vrednosti parametrov so podane v preglednici 2, kjer lahko vidimo, da se izmerjenim vrednostim metana z AMPTS II najbolj približa model Logistic, ki ima najmanjšo vrednost s^2 , najslabše pa se prilega model Transfer. Vrednosti A in μ_m sta se v obeh primerih, ko smo dodali hidrolitske encime, povečali, kar napoveduje pozitiven učinek delovanja encimov na večji metanski donos (Huiliñir et al., 2014; Raposo et al., 2012). Pri dodajanju encimov Micropan Biogas je v modelih Gompertz in Transfer zaznati tudi krajšo zakasnitveno (lag) fazo.

Iz metanskih potencialov smo izračunali tudi koeficiente hidrolize. Hitrost hidrolize je odvisna od encimske kinetike, če koncentracija hidrolitskih encimov preseže število prostih adsorpcijskih mest na trdnih delcih substrata (Vavilin et al., 1996; Vavilin et al., 2008). Koeficient hidrolize se je za reaktorje z dodajanjem encimov blatu iz ČN v primerjavi s kontrolo brez dodajanja encimov, povečal (slika 9). Za encime Micropan je znašal $0,539 \pm 0,1 \text{ d}^{-1}$, za encime Novozymes pa $0,500 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$. To nakazuje, da se je večina metana v obeh primerih proizvedla že drugi dan po zagonu eksperimenta (slika 8). Delovanje dodatka MicropanBiogas ni bilo tako učinkovito, kar je opazno na metanskem potencialu in tudi pri koeficientu hidrolize, saj se le-ta v primerjavi s kontrolo ni bistveno povečal. To lahko pripišemo temu, da so se lažje razgradljive snovi ob dodajanju MicropanBiogas prej in lažje razgradile oziroma, da so encimi MicropanBiogas pospešili razgradnjo lažje razgradljivih in dostopnejših snovi. To je veliko bolj izrazito pri encimih Novozymes, kjer je proizvodnja metana občutno narasla.

Za oceno stroškov in koristi anaerobnega gnilišča na ČN smo uporabili model stroškov in koristi, ki je prikazan na sliki 10. Izbrali smo podoben postopek, kot so ga uporabili drugi (Herrmann et al., 2012a; Herrmann et al., 2012b). Za izračun smo uporabili najmanjšo porast v proizvodnji metana zaradi dodajanja hidrolitskih encimov, pri kateri bi čistilna naprava delovala z izgubo. Povečanje obratovalnih stroškov zaradi nakupa,

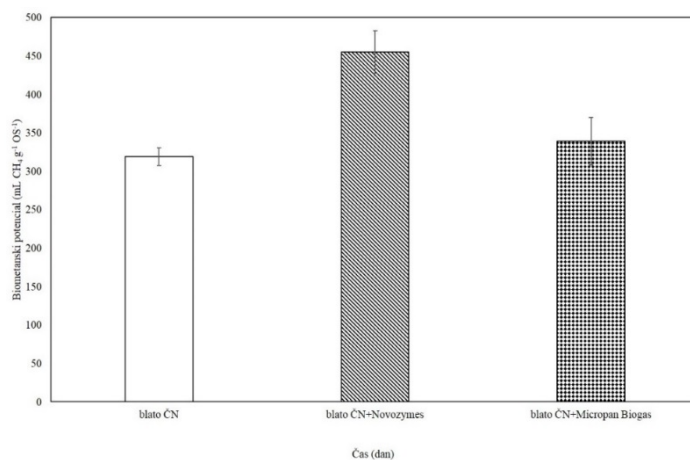
skladiščenja, ravnanja in doziranja se uravnoteži s povečano produkcijo metana in prihranki, ki izhajajo iz zagotovljene odkupne cene električne energije v istem tarifnem razredu (količinsko proizvajamo enako količino električne energije, zaradi manjše zagotovljene cene odkupa glede na velikostni razred bioplinske elektrarne). Zato so prihranki povezani z zmanjšanjem porabe zunanje električne energije. Celotno pokritje stroškov ob dodajanju hidrolitskih encimov na realnem gnilišču

bi dosegli pri 8 % večji produkciji metana, kar je 5 krat manjša produkcija, kot so jo opazili v šaržnih eksperimentih (Kolbl et al., 2016), kar nakazuje na velik potencial za učinkovito izboljšanje pretvorbe substratov čistilni napravi. Dodatni vplivi na zmanjšanje viskoznosti in posledično manjšo porabo električne energije predstavljajo dodatne prihranke, ki bi se jih v prihodnje splačalo raziskati (Kolbl et al., 2014).



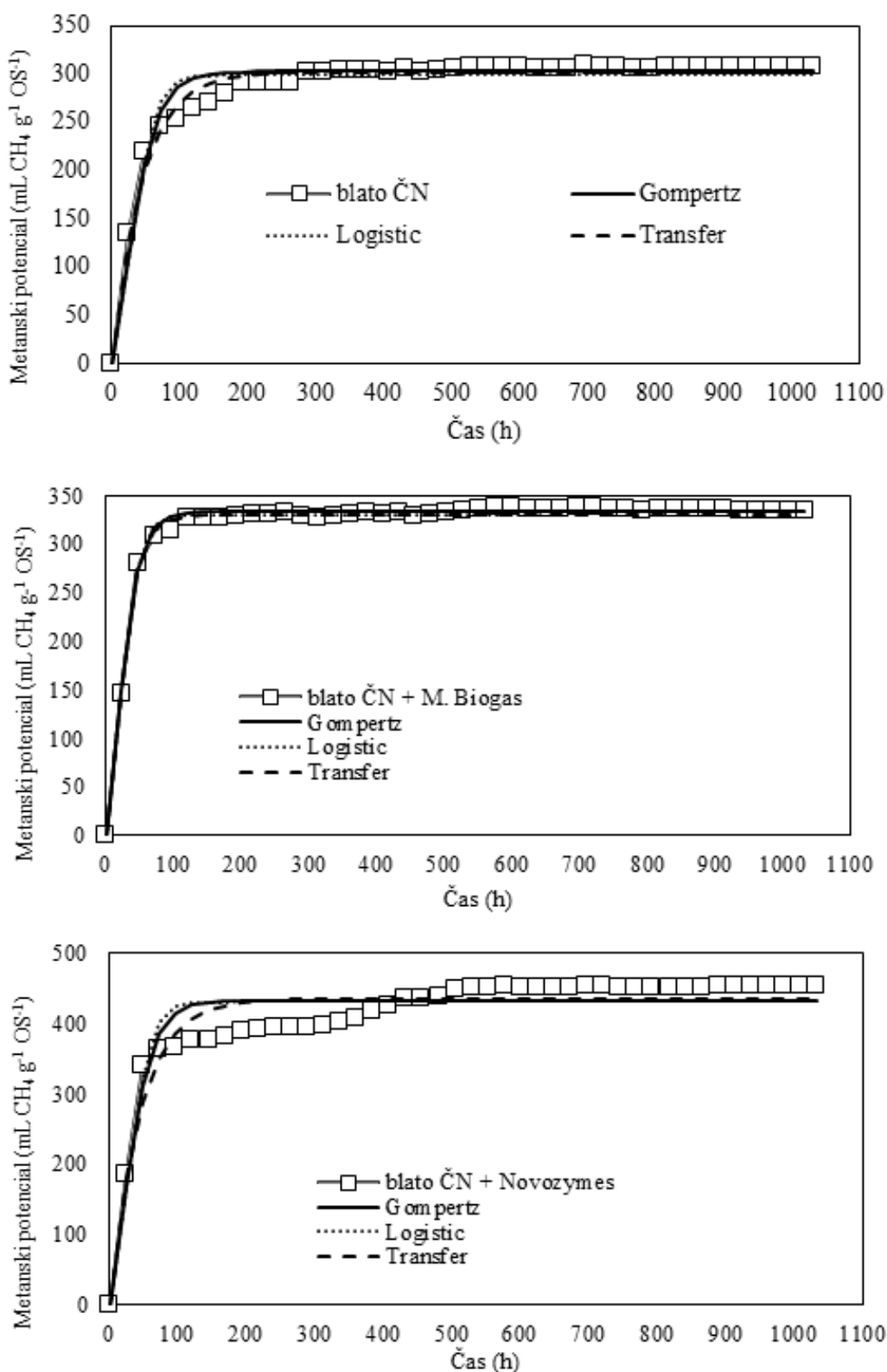
Slika 6: Koncentracija topnega KPK v 5 L pilotnih reaktorjih po 34 dneh v posameznih reaktorjih na začetku in koncu eksperimenta, kjer smo uporabili inokulum in blato iz ČN Šaleške doline in dodali hidrolitske encime *Micropan Biogas* in *Novozymes*. Napake predstavljajo eno standardno deviacijo.

Figure 6: Soluble COD concentrations before the start and at the end of experiment, using inocula from WWTP Šaleška valey amended with sewage sludge and pre-treated with *Novozymes* and *Micropan Biogas*. Error bars represent one standard deviation.



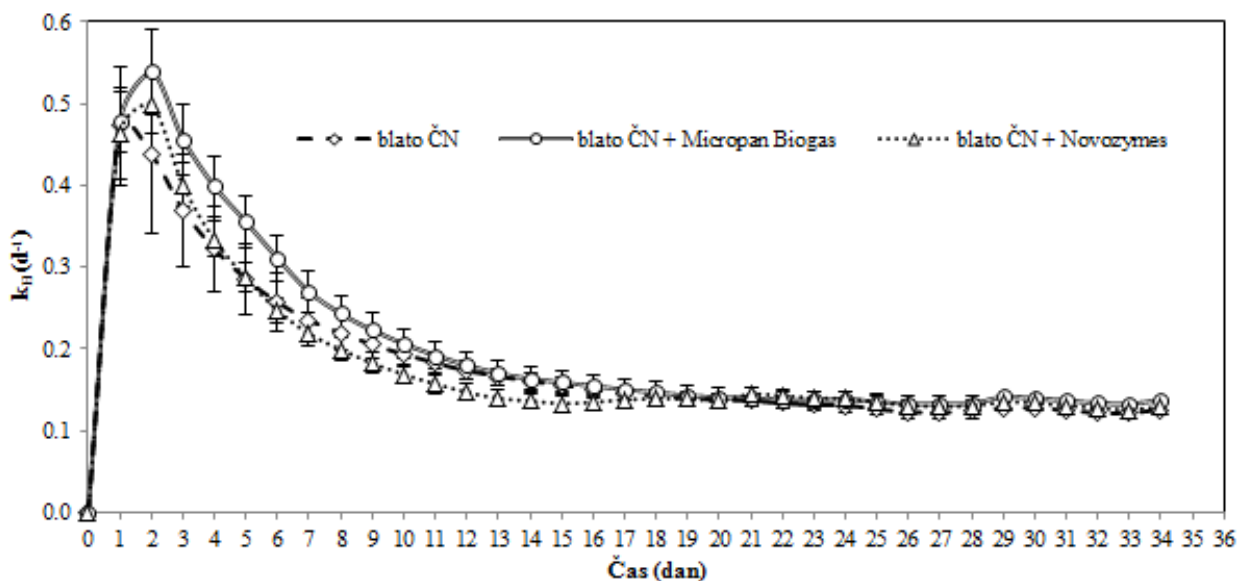
Slika 7: Izmerjeni metanski potencial blata iz ČN in dodajanja hidrolitskih encimov. Napake predstavljajo eno standardno deviacijo.

Figure 7: Measured methane yield of sewage sludge and sludge treated with hydrolytic enzymes. Error bars represent one standard deviation.



Slika 8: Prileganje modelov Gompertz, Logistic in Transfer izmerjenim metanskim potencialom blata iz ČN in encimsko obdelanim blatom z encimi M. Biogas in Novozymes.

Figure 8: Gompertz, Logistic and Transfer model fit with measured methane yield of wastewater sludge and enzymatically pre-treated sludge with M. Biogas and Novozyme enzymes.



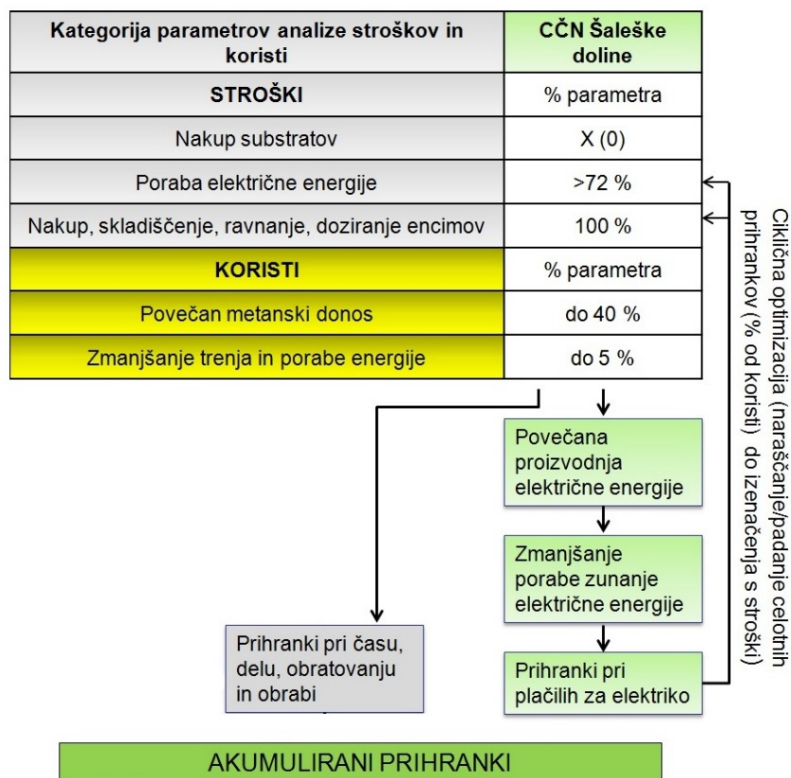
Slika 9: Koeficient hidrolize k_H blata ČN in dodajanja encimov *Micropan Biogas* ter *Novozymes*. Napake predstavljajo eno standardno deviacijo.

Figure 9: Hydrolysis coefficient of sewage and sludge treated with hydrolytic enzymes *Micropan Biogas* and *Novozymes*. Error bars represent one standard deviation.

Preglednica 2: Vrednosti izračunanih parametrov za različne modele.

Table 2: Values calculated with the different models.

Eksperiment	Izmerjeni BMP (mL CH ₄ g ⁻¹ OS ⁻¹)	Model	A (mL CH ₄ g ⁻¹ OS ⁻¹)	μ_m (mL CH ₄ g ⁻¹ OS ⁻¹ h ⁻¹)	λ (h)	s ²
blato ČN	308,4	Gompertz	302,6	4,51	0	5.818
		Logistic	298,8	4,42	0	6.440
		Transfer	302,2	6,81	0	2.274
Blato ČN +Novozymes	454,1	Gompertz	432	7	0	32.182
		Logistic	431,3	6,88	0	34.545
		Transfer	435,9	9,76	0	26.229
blato ČN + M.Biogas	334,5	Gompertz	333	7	3	802
		Logistic	330,1	6,17	0	1.249
		Transfer	333	15	11	667



Slika 10: Shematski prikaz postopka analize stroškov in koristi za določitev najmanjšega donosa metana, ki pokrije stroške za predobdelavo substratov s hidrolitskimi encimi na CČN Šaleške doline (Kolbl et al., 2014).

Figure 10: Schematic outline of cost-benefit analysis used to determine the lowest increase in methane yields needed to cover the expenses of hydrolytic enzyme application MWWTP of Šaleška waley (Kolbl et al., 2014).

4. Zaključek

V eksperimentu v laboratorijskem merilu z uporabo nadgrajenega AMPTS II in šaržnim načinom delovanja smo pokazali, da dodajanje hidrolitskih encimov poveča metanski donos blata iz ČN v šaržem načinu delovanja v različnem obsegu. Z encimi MicropanBiogas smo dosegli 8 % večji metanski donos, z encimi Novozymes pa 45 %. Dinamiko tvorjenja metana najbolj točno opiše logistični model, ki se je najbolj prilegal realnim izmerjenim podatkom. Pri dodajanju encimov Novozymes smo uspeli doseči največjo razgradnjo organske snovi in na ta način zmanjšati količino blata, razgraditi največ topnega KPK in občutno povečati produkcijo metana. Ocene analize stroškov in koristi kažejo, da že 8 % povečanje produkcije metana povrne stroške predobdelave substratov s hidrolitskimi encimi. V bodoče bi bilo potrebno podobne laboratorijske

eksperimente narediti še na kontinuirnem modelu za daljše časovno območje z namenom zmanjšanja razlik med vrednostmi v šaržnem in kontinuirnem delovanju.

Viri

- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., van Lier, J.B. (2009). Defining the methane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays, *Water Science and Technology* **59**(5), 927–934.
- APHA. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. American Public Health Association, Washington, USA.
- Batstone, D.J., Tait, S., Starrenburg, D. (2009). Estimation of hydrolysis parameters in full-scale anaerobic digesters, *Biotechnology and Bioengineering* **102**(5), 1513–1520.

- Batstone, D.J., Viridis, B. (2014). The role of anaerobic digestion in the emerging energy economy, *Current Opinion in Biotechnology* **27**, 142–149.
- Bruni, E., Jensen, A.P., Angelidaki, I. (2010). Comparative study of mechanical, hydrothermal, chemical and enzymatic treatments of digested biofibers to improve biogas production, *Bioresource Technology*, **101(22)**, 8713–8717.
- Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F. (2012). The effects of substrate pre-treatment on anaerobic digestion systems: A review, *Waste Management* **32(9)**, 1634–1650.
- Chernicharo, C.A.D.L. (2007). *Anaerobic Reactors*. IWA Publishing, London.
- Herrmann, C., Heiermann, M., Idler, C., Prochnow, A. (2012a). Particle Size Reduction during Harvesting of Crop Feedstock for Biogas Production I: Effects on Ensiling Process and Methane Yields, *BioEnergy Research*, **5(4)**, 926–936.
- Herrmann, C., Prochnow, A., Heiermann, M., Idler, C. (2012b). Particle Size Reduction During Harvesting of Crop Feedstock for Biogas Production II: Effects on Energy Balance, Greenhouse Gas Emissions and Profitability, *BioEnergy Research*, **5(4)**, 937–948.
- Huiliñir, C., Quintriqueo, A., Antileo, C., Montalvo, S. (2014). Methane production from secondary paper and pulp sludge: Effect of natural zeolite and modeling, *Chemical Engineering Journal* **257**, 131–137.
- Kolbl, S., Paloczi, A., Panjan, J., Stres, B. (2014). Addressing case specific biogas plant tasks: Industry oriented methane yields derived from 5 L Automatic Methane Potential Test Systems in batch or semi-continuous tests using realistic inocula, substrate particle sizes and organic loading, *Bioresource Technology* **153**, 180–188.
- Kolbl, S., Panjan, J., Stres, B. (2016). Mixture of primary and secondary municipal wastewater sludge as a short-term substrate in 2 MW agricultural biogas plant: site-specific sustainability of enzymatic and ultrasound pretreatments, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* doi: 10.1002/jctb.4883.
- Luo, K., Yang, Q., Li, X.-m., Yang, G.-j., Liu, Y., Wang, D.-b., Zheng, W., Zeng, G.-m. (2012). Hydrolysis kinetics in anaerobic digestion of waste activated sludge enhanced by α -amylase, *Biochemical Engineering Journal* **62**, 17–21.
- Mudhoo, A. (2012). *Biogas Production: Pretreatment Methods in Anaerobic Digestion*. Wiley & Sons, New Jersey.
- Murovec, B., Kolbl, S., Stres, B. (2015). Methane Yield Database: Online infrastructure and bioresource for methane yield data and related metadata, *Bioresource Technology* **189**, 217–223.
- Nielfa, A., Cano, R., Fdz-Polanco, M. (2015). Theoretical methane production generated by the co-digestion of organic fraction municipal solid waste and biological sludge, *Biotechnology Reports* **5**, 14–21.
- Quiñones, T.S., Plöchl, M., Pätzolt, K., Budde, J., Kausmann, R., Nettmann, E., Heiermann, M. (2012). Hydrolytic Enzymes Enhancing Anaerobic Digestion. in: *Biogas Production*, John Wiley & Sons, Inc., pp. 157–198.
- Rajagopal, R., Massé, D.I., Singh, G. (2013). A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia, *Bioresource Technology* **143**, 632–641.
- Raposo, F., De la Rubia, M.A., Fernandez-Cegri, V., Borja, R. (2012). Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures, *Renewable & Sustainable Energy Reviews* **16(1)**, 861–877.
- Song, Y.-C., Kwon, S.-J., Woo, J.-H. (2004). Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic- and thermophilic digestion of sewage sludge, *Water Research* **38(7)**, 1653–1662.
- Tezel, U., Tandukar, M., Pavlostathis, S.G. (2011). 6.35 - Anaerobic Biotreatment of Municipal Sewage Sludge. in: *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*, (Ed.) M.-Y. Editor-in-Chief: Murray, Academic Press. Burlington, pp. 447–461.
- Vavilin, V.A., Fernandez, B., Palatsi, J., Flotats, X. (2008). Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview, *Waste Management* **28(6)**, 939–951.
- Vavilin, V.A., Rytov, S.V., Lokshina, L.Y. (1996). A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter, *Bioresource Technology* **56(2-3)**, 229–237.
- Ziemiński, K., Romanowska, I., Kowalska, M. (2012). Enzymatic pretreatment of lignocellulosic wastes to improve biogas production, *Waste Management* **32(6)**, 1131–1137.