

Research Article

Agricultural Engin., 44(1) (2021) 41-57  
DOI: 10.22055/AGEN.2021.32852.1562

ISSN (E): 2588-526X  
ISSN (P): 2588-5944

## Effect of temperature and pH variation on biogas production in anaerobic digestion process of sugarcane vinasse

M. Soleymani<sup>1\*</sup>, V. Jahangiri Boltaghi<sup>2</sup>, M.J. Sheikhdavoodi<sup>3</sup> and Z. Mahdavifar<sup>4</sup>

1. Assistant Professor, Department of Biosystems Engineering, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2. MSc, Student Department of Biosystems Engineering, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3. Professor, Department of Biosystems Engineering, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
4. Associated Professor, Department of Chemistry, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 11 March 2020

Accepted: 28 October 2020

### Abstract

**Introduction:** Biogas, a product of anaerobic digestion of biomass resources, is one of the major renewable energies with the potential to replace fossil fuels. Anaerobic digestion is performed under specific conditions and according to a specific chemical process. Sugar cane is one of the most common sources of sugar and bioethanol production in the world. In the ethanol distillation process, large quantities of vinasse are produced. The direct consumption of vinasse as fertilizer has many environmental problems. Anaerobic digestion of vinasse is a potential solution to such environmental problems. Factors affecting the performance of an anaerobic digester can be classified into three main categories: (1) raw material characteristics, (2) reactor design, and (3) operating conditions. Among the operating conditions, temperature and pH are the most important parameters, so in this study, these two parameters were investigated.

**Materials and Methods:** The main raw material was vinasse. Some other additives were used to alter its chemical properties. To have a proper substrate composition, the ingredients before loading into the digesters were evaluated for their chemical and physical properties, including pH, concentration and C/N ratio. The bovine rumen contents of 10% of the final volume of input material were added to supply methanogenesis bacteria as well as to modulate the (C/N) ratio.

The Total Solid Content (TS), Volatile Solid (VS) and Chemical Oxygen Demand (COD), were evaluated before and after digestion.

A series of batch reactor were used to perform the experiment. The experiment was carried out in a split plot design in a completely randomized design. The main and sub-factor was respectively temperature (at four levels of 30, 35, 40 and 45 ° C) and pH (at four levels of 6.8, 7, 7.2 and 7.4), and the experiment was performed in three replication.

To measure the volume of gas produced, a 50 ml water tank connected to the digester outlet as a U-tube was used. The amount of water movement in the U-shaped tube is an indicator of the volume of biogas produced. For better detection of water displacement, some color was dissolved in water. Passing the gas produced from the three-molar NaOH solution, its impurities (mainly carbon dioxide) were absorbed, and the resulting pure gas was re-measured using a U-shaped tube. Using the law of complete gases, the biogas volumetric index was converted to the standard



gas volume and finally converted to values based on (ml/gVS) and the new values were analyzed by analysis of variance and mean comparison.

**Results and Discussion:** Almost all main and interaction effects on all the factors studied were significant at the 1% probability level. The amount of gas produced increased with increasing temperature but with increasing pH, it first increased and then decreased. The amount of gas produced at 35, 40 and 45 °C was not significantly different. So because of economic and energy constraints, an operating temperature of 35 °C is recommended for anaerobic digestion of vinasse. The graph of the interaction of temperature and pH shows that at higher temperatures the rate of gas production increases with increasing pH. Although the highest gas volume was obtained at pH of 6.8 and 7.4, but the gas produced in the pH range of 7–7.2 was more pure. Therefore, the best combination of pH and temperature to produce the highest and purest gas is 7 and 35 °C, respectively. But since the vinasse produced in the alcohol factories has high temperature and therefore higher temperatures are possible, so 40 °C is also recommended.

It was also clearly observed that the smaller the volume of gas produced, the greater its purity.

The VS-R factor is also more sensitive to temperature changes than to pH changes. Thus, in anaerobic digestion of vinasse, pH control is more important than temperature control. VS-R performs best at pH 7. This factor was not significantly different at 35, 40 and 45 °C. Therefore, considering the cost of providing more heat at temperatures of 40 and 45 °C compared to 35 °C, 35 °C is the best temperature for manure production with the highest volatile organic matter removal.

The COD-R process was similar at all pHs. COD-R at pH 7 was higher at all temperatures than at other pHs. It was also significantly higher at 40 and 45 °C, compared to other temperatures. So like other factors, the best pH and temperature based on this factor are 7 and 40 °C, respectively.

**Conclusion:** According to all factors studied, the best pH and operating temperature of anaerobic digestion of sugar cane vinasse is 7 and 35 °C, respectively. Another important conclusion to be drawn from this study is that changes in all parameters studied are affected by pH changes rather than temperature changes. Therefore, sufficient care must be taken to ensure that pH variations in the anaerobic digestion medium be very low and around the range proposed (about 7).

**Key words:** *Renewable energy, biomass, waste, anaerobic digestion*

## بررسی تاثیر تغییرات دما و pH بر میزان تولید زیست گاز در فرآیند هضم بی هوازی پسماند تقطیر نیشکر (ویناس)

محسن سلیمانی<sup>۱</sup>، وحید جهانگیری بلطاقی<sup>۱</sup>، محمدجواد شیخ داوودی<sup>۲</sup> و ذبیح الله مهدوی فر<sup>۳</sup>

۱- استادیار، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

### چکیده

استفاده از انرژی‌های تجدیدپذیر به خصوص فناوری زیست گاز، یک الزام برای تامین انرژی پایدار است. از این رو توجه ویژه به پسماندهای با پتانسیل آلاینده‌گی زیاد از جمله ویناس، جهت تامین خوراک زیست توده‌ای مورد نیاز هضم و تولید زیست گاز لازم است. با توجه با محتوای غنی مواد آلی ساده ویناس، می توان از آن جهت تولید زیست گاز و کود دارای آلودگی کمتر استفاده کرد. از بین شرایط عملیاتی مؤثر بر عملکرد یک هاضم بی هوازی، دما و pH مهمترین پارامترها هستند، بنابراین در این مطالعه، به بررسی این دو پارامتر در هضم بی هوازی ویناس پرداخته شده است. متغیرهای وابسته عبارت بودند از: مقدار تولید زیست گاز به ازای VS اولیه، مقدار حذف مواد جامد فرار (VS-R)، مقدار حذف اکسیژن خواهی شیمیایی (COD-R) و درصد زیست گاز تصفیه شده. با توجه به نتایج، مقدار بهینه دما برای تولید حداکثر حجم زیست گاز و همچنین حداکثر حذف COD، حداکثر درصد گاز تصفیه شده و حداکثر حذف VS، ۳۵ درجه سلسیوس و در صورت عدم محدودیت انرژی و اقتصادی، ۴۰ درجه سلسیوس به دست آمد. همچنین مقدار pH بهینه برای تولید حداکثر حجم زیست گاز، حداکثر حذف COD و حداکثر حذف VS، برابر با ۷ و برای حداکثر درصد گاز تصفیه شده برابر با ۷ یا ۷/۲، به دست آمد. همچنین، حساسیت تغییرات شاخص‌های مورد مطالعه نسبت به تغییرات pH بیش از تغییرات دمایی بود.

### تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۱

پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۸/۰۷

### کلمات کلیدی:

انرژی تجدیدپذیر،

زیست توده،

پسماند،

هضم بی هوازی

\* عهده دار مکاتبات

Email: M.soleymani@gmail.com

### مقدمه

در سال‌های اخیر با توجه به مشکلات زیست‌محیطی ناشی از سوخت‌های فسیلی و همچنین نوسانات قیمت نفت، توجه جهانی به منابع تجدیدپذیر انرژی افزایش یافته است (5). یکی از منابع عمده انرژی‌های تجدیدپذیر که پتانسیل تحقیقاتی و عملیاتی بالایی دارد زیست‌گاز<sup>۱</sup> است. زیست‌گاز، محصول هضم بی‌هوازی منابع زیست‌توده است. این عمل در شرایط مشخص و طبق روند شیمیایی خاصی انجام می‌شود. مسیر استخراج زیست‌گاز که یک مسیر جذاب و مطمئن برای استفاده از زیست‌توده به عنوان منبع تجدیدپذیر سوخت است، طیف گسترده‌ای از تحقیقات را به خود معطوف کرده است.

نیشکر یکی از رایج‌ترین منابع تولید قند و اتانول زیستی در دنیا می‌باشد (9). در طول تقطیر اتانول، مقادیر زیادی ویناس تولید می‌گردد. در کشورهای همانند برزیل، ویناس به طور مستقیم به عنوان کود در مزارع به کار برده می‌شود. این عمل مشکلات زیست‌محیطی فراوانی همانند شستشوی فلزات به آب زیرزمینی، افزایش سموم زیستی<sup>۲</sup>، بوی نامطبوع، تغییر کیفیت خاک و همچنین انتشار قابل توجه متان در طول حمل و نقل ذخیره و انتشار اکسید نیتروژن، پس از اعمال آن در مزرعه را به دنبال دارد (11). از آنجا که هضم بی‌هوازی، محتوی مواد آلی ویناس را به متان تبدیل می‌کند، یک راه حل بالقوه برای حل چنین مشکلات زیست‌محیطی می‌باشد (6). با تجمع این فرآیندها با مجموعه تولید قند و اتانول کنونی، می‌توان تنوع تولید کارخانجات نیشکر را افزایش داده و مقاومت و استحکام آن را در مقابل نوسانات بازار محصول اصلی بهبود می‌بخشد (3).

فرآیند هضم بی‌هوازی و تولید زیست‌گاز، مانند سایر واکنش‌های بیوشیمیایی تحت تأثیر عوامل شیمیایی و فیزیکی متنوعی است که مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از: غلظت، زمان ماند هیدرولیکی، نسبت اتمی کربن به

نیتروژن (C/N)، دما، pH و سرعت هم زدن مواد درون راکتور (13). جدول (۱)، دامنه مناسب این متغیرهای اصلی اثرگذار را نشان می‌دهد.

تحقیقات گسترده‌ای بر روی تولید زیست‌گاز از ویناس انجام شده است. نتایج نشان می‌دهند که ترکیبات تشکیل دهنده ویناس در مناطق مختلف، متفاوت هستند. به عنوان مثال در مطالعه ای مشخص شد که مقدار pH و میزان عناصر موجود در ویناس، همانند پتاسیم و سدیم و املاح، در ویناس جمع‌آوری شده از کشورهای برزیل، استرالیا و هند، با یکدیگر تفاوت قابل توجهی دارند (7). با توجه به همین مسأله لزوم انجام تحقیقات مشابه در کشورهای مختلف که طیف وسیعی از پژوهش‌ها را به خود معطوف کرده است، مشخص می‌شود.

عوامل مؤثر بر عملکرد یک هاضم بی‌هوازی را می‌توان در سه دسته اصلی تقسیم کرد: (۱) ویژگی‌های مواد اولیه، (۲) طراحی راکتور و (۳) شرایط عملیاتی. از بین شرایط عملیاتی، دما و pH مهمترین پارامترها هستند (14)، بنابراین در این مطالعه، به بررسی این دو پارامتر پرداخته شده است.

### مرور منابع

مطالعات زیادی بر روی تولید گاز از پسماندهای زیستی انجام شده است که در این جا به چند مورد اشاره می‌شود. شرایط دمایی فرآیند هضم بی‌هوازی بر روی میزان زیست‌گاز تولیدی اثر چشم‌گیری دارد. مدل‌سازی و بررسی سینتیکی فرایند تولید زیست‌گاز از ضایعات گلاب‌گیری نشان داد که بیشترین درصد متان قابل استخراج از هضم ضایعات، ۷۲ درصد است و بیشترین کاهش آلودگی در دمای ۴۵ درجه سلسیوس اتفاق می‌افتد (۸). در مطالعه دیگر، میزان عملکرد تولید زیست‌گاز از پسماندهای تقطیر گیاهی در یک مدل راکتور بستر ثابت، در شرایط دمایی کمتر از ۳۰ درجه سلسیوس، طی ۹۹ روز، با مقدار تولید زیست‌گاز تحت شرایط مشابه و در دمای ۹۷ درجه سلسیوس طی ۹ روز

برابر بود (12)

1- Biogas

2- Phytotoxicity

جدول (۱) دامنه مناسب متغیرهای اصلی موثر بر تولید زیست‌گاز

Table (1) The proper range of major variables affecting the production of biogas

دامنه مناسب	واحد	متغیر
Proper Range	Unit	Variable
قابل انجام در دمای °C ۷۰-۱۰، بهترین دما °C ۳۵-۴۵	درجه سلسیوس	دما
Can be performed at temperatures of 10-70 °C, but the best temperature is 35-45 °C	(°C)	Temperature
با دما رابطه عکس دارد و در شرایط میان دمایی برای مواد مختلف ۳۰-۶۰ روز	روز	زمان ماند
It is inversely related to temperature, 30-60 days in mesophilic conditions	Day	Retention Time
۵/۸-۷/۲	-	pH
5.7-7.2	-	-
۷-۹ %	درصد	غلظت
7-9 %	(%)	Density
۳۰-۳۵	درصد	نسبت کربن به نیتروژن
30-35	(%)	C/N Ratio
با افزایش ابعاد، میزان و زمان هم زنی نیز باید زیاد شود.	شدت و مدت	هم زنی
It increases by increasing the dimensions of reactor	Intensity and duration	Agitating

هزینه‌های مکمل قلیایی می‌گردد (۱۱). افزودن اوره با غلظت بالاتر می‌تواند اثرات بافری آن را افزایش دهد اما به دلیل نسبت نسبتاً کم کربن به نیتروژن در ویناس که کمتر یا نزدیک به میزان توصیه شده برای هضم بی‌هوازی (۱۳-۲۴ به یک) است (۱۰)، ممکن است با افزایش مقدار آمونیاک مانع از تولید متان گردد (۲۲).

اولین بار در سال ۱۹۹۲ برای رفع مشکلات زیست محیطی ویناس از قبیل تولید گاز گلخانه‌ای، تخریب خاک و سمی کردن آب‌های زیرزمینی، روش هضم بی‌هوازی پیشنهاد و آزمون شد (۲۲). در سال ۲۰۰۷، پس از تخمیر بی‌هوازی ویناس، از لجن باقیمانده، به عنوان کود برای درختان اکالیپتوس استفاده شد که بهبود عملکرد گیاه را به دنبال داشت (۵۵). در سال ۲۰۱۳ از یک سامانه هضم دسته‌ای برای هضم بی‌هوازی ویناس استفاده شد که در ابعاد آزمایشگاهی قابلیت کنترل ساده‌تر شرایط را نسبت به هاضم مداوم نشان می‌داد. همچنین در ابعاد کوچک که نیاز به هم زنی وجود ندارد، در زمان ماند مشابه، هاضم دسته‌ای عملکرد بهتری داشت (۳). در سال ۲۰۱۴، مشخص شد که بهترین بازه عملکرد گاز در اسیدیته ۷/۲-۶/۸ می‌باشد (۴۴).

خوراک هضم و ترکیب آن نیز در میزان تولید زیست‌گاز تاثیر می‌گذارد. مطالعه تولید زیست‌گاز از بقایای کلزا که در قالب یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در یک هاضم آزمایشگاهی ۱۰ واحدی انجام شد، نشان داد که تیمار ترکیبی بقایای کلزا، کود گاوی و محتویات شکمبه، بیشترین تولید زیست‌گاز را دارد. از طرفی، پتانسیل تولید زیست‌گاز محتویات شکمبه بسیار کم بود (۷).

قلیائیت پایین و محتوای بالای اسیدهای آلی ویناس، منجر به pH نامطلوب (بین ۳ و ۵) برای باکتری‌های متان‌ساز می‌شود، که به نوبه خود نیازمند افزودن ترکیبات قلیایی جهت مقابله با چنین وضعیت اسیدی و افزایش pH به میزان مطلوب هضم بی‌هوازی می‌گردد (۶۶). در نتیجه، هزینه‌های مکمل قلیایی می‌تواند هزینه اصلی تیمار بی‌هوازی برخی فاضلاب‌های صنعتی باشد، که احتمالاً بیش از ارزش تولید متان است (۸۸). در چنین مواردی، اضافه کردن اوره به محیط هضم ویناس و پس از آن به کارگیری لجن حاصل از هضم به عنوان کود در مزرعه نیشکر، راهبرد امیدوارکننده‌ای برای افزایش میزان قلیائیت سامانه هضم (از طریق تبدیل اوره به  $\text{OH}^-$  و  $\text{NH}_4^+$ ) است و از آنجا که اوره به عنوان منبع نیتروژن در طول کشت نیشکر استفاده می‌شود، منجر به کاهش

$$TS = \frac{W_1}{W_0} * 100 \quad (1)$$

$W_0$  و  $W_1$ ، به ترتیب وزن مواد قبل و بعد از خروج از آون در نهایت، به منظور اطمینان از درستی محاسبه ترکیب مواد، TS مخلوط نهایی نیز بررسی شد (از طریق قرارگیری در آون و تعیین درصد رطوبت) که به مقدار مورد نظر یعنی ۷/۵ درصد (4) رسیده بود. پس از تنظیم غلظت مواد، تنظیم اسید و باز نیز بر روی ۱۰۰ میلی لیتر از مواد (زیست توده نهایی) انجام گرفت. سپس، از نسبت به دست آمده برای تعیین حجم محلول قلیایی مورد نیاز برای تنظیم pH مواد در مقادیر مورد نظر استفاده شد. برای تنظیم از محلول یک مولار سود (سدیم هیدروکسید) (NaOH) با نسبت ۴ گرم سود در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر استفاده شد.

### محاسبه COD

برای محاسبه اکسیژن خواهی شیمیایی COD، در ابتدا پنج میلی لیتر اسید سولفوریک در درون ۱۰۰ میلی لیتر از زیست توده آماده حل شد. سپس محلول جدید به مدت پنج دقیقه جوشانده شد و در حین جوشیدن، ۲۰ میلی لیتر پتاسیم پرمنگنات به آن اضافه شد. بعد از ۱۰ دقیقه خنک شدن، ۲۰ میلی لیتر محلول اکسالیک اسید نیز اضافه شد و مخلوط مجدداً تا رسیدن به حالت بی رنگ، حرارت داده شد. پس از کاهش دما، محلول نهایی با محلول پتاسیم پرمنگنات تیتراژ شد تا به حالت خنثی برسد (رنگ صورتی ظاهر شود). مقدار محلول پتاسیم پرمنگنات استفاده شده، اندازه گیری و ثبت شد. همین عملیات تیتراسیون، بر روی ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به عنوان محلول شاهد نیز انجام گرفت و مقدار محلول پتاسیم پرمنگنات استفاده شده ثبت شد. مقدار COD، از رابطه (۲) به دست آمد.

$$COD = \frac{(a - b) * f * 316}{V} \quad (2)$$

COD: اکسیژن خواهی شیمیایی (میلی گرم بر لیتر)  
 a و b، به ترتیب حجم محلول پتاسیم پرمنگنات استفاده شده برای زیست توده و شاهد (میلی لیتر)  
 V: حجم نمونه زیست توده (لیتر)

### مواد و روش ها

#### مواد خام و خوراک هاضم

جهت شروع کار، باید مواد اولیه برای تغذیه هاضم آماده می شد. ماده اولیه اصلی این مطالعه ویناس نیشکر است. بخش دیگری از مواد اولیه، افزودنی هایی هستند که برای تغییر خواص شیمیایی ویناس، مانند تغییر pH و تامین باکتری های هاضم به کار می روند.

مخلوط مجموع این مواد با آب، به عنوان خوراک هضم، در فرآیند هضم قرار گرفت. جهت تغذیه دستگاه هاضم، باید مواد ورودی از نظر خواص شیمیایی و فیزیکی، از قبیل دما، pH، غلظت و نسبت اتمی کربن به نیتروژن (C/N)، مناسب باشند. میزان pH و دما در محیط هاضم و در طول فرآیند تولید زیست گاز کنترل شد تا در صورت لزوم، برای رسیدن به شرایط دلخواه، شرایط هضم تغییر داده شوند.

#### مواد اولیه

ویناس ماده ای اسیدی و دارای محتوای کربن بالاست. کربن موجود در ویناس، نه به صورت معدنی، بلکه به صورت آلی می باشد. اما ویناس از لحاظ باکتری های هضم، ماده ای فقیر است. به همین جهت از محتویات شکمبه گاوی جهت تامین باکتری های متان ساز استفاده شد. به منظور تامین نسبت کربن به نیتروژن (C/N) مناسب، محتویات شکمبه، ۱۰٪ از حجم نهایی مواد ورودی را تشکیل داد (۴۴). برای این کار ابتدا درصد مواد جامد (TS) و ویناس و محتویات شکمبه طبق رابطه (۱) به دست آمد. سپس میزان آب مورد نیاز برای به دست آمدن غلظت مناسب (۷/۵ درصد) تعیین شد. طبق مطالعات پیشین، نسبت محتویات شکمبه از کل زیست توده و نسبت ویناس به آب (دو به یک) انتخاب شد (۴۴)، که برای یک لیتر زیست توده، مقادیر ویناس، محتویات شکمبه و آب، به ترتیب ۶۰۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی لیتر تعیین شد. سپس همین نسبت برای پر کردن ۶۵ درصد حجمی واحدهای هضم، به کار گرفته شد. برای محاسبه TS، مواد به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس درون آون قرار گرفت و درصد مواد جامد (TS) طبق رابطه (۱) به دست آمد.

### طراحی و ساخت هاضم‌های بی‌هوازی

با توجه به مزایا و معایب انواع هاضم‌ها، عوامل موثر بر تولید زیست‌گاز و در نظر گرفتن هزینه ساخت، هاضم‌های این مطالعه طراحی و ساخته شدند. با ملاحظات ذکر شده، می‌توان گفت که بهترین حالت استفاده از یک هاضم یک مرحله‌ای دسته‌ای و مرطوب (تر) می‌باشد. استفاده از هاضم دسته‌ای کارایی مناسبی را در عین سادگی فراهم می‌کند (۱۱۱۱). به علاوه پیچیده‌ترین مساله در طراحی هاضم‌ها، جریان ورود و خروج مواد است (۱۲۱۲) که هاضم دسته‌ای این مساله را حذف می‌کند. همچنین در صورت طراحی و ساخت با دقت کافی، یک مرحله هضم، اثر ترکیب مواد و متغیرها را به خوبی مشخص می‌کند (۱۲). با یافتن شرایط بهینه تولید زیست‌گاز، می‌توان انتظار داشت تولید زیست‌گاز در ابعاد تجاری با بیشترین مقدار و کیفیت انجام شود. از این رو می‌توان گفت بهترین حالت، وجود یک هاضم با قابلیت پیاده سازی طرح‌های آزمایشی است (۹۹). بر همین اساس هاضم بر اساس طرح کرت‌های خرد شده با چهار کرت اصلی و چهار کرت فرعی طراحی شد (۱۶ واحد). این آزمایش در ۳ تکرار انجام گرفت. دما به عنوان عامل اصلی در نظر گرفته شد. در کرت‌های خرد شده، دقت اثر عامل اصلی (کرت اصلی) کاهش می‌یابد. اثر دما تقریباً از قبل هم مشخص است و شرایط تولید زیست‌گاز با افزایش دما بهبود می‌یابد. به همین دلیل، دما به عنوان عامل اصلی انتخاب شد. در واقع هر کرت اصلی یک حمام آب گرم است که دمای آن با ترموستات و المنت حرارتی کنترل می‌شود و هر واحد یک مخزن یک لیتری است که چهار واحد از آن در درون یک تشت آب گرم، چهار سطح عامل فرعی (pH) را تشکیل می‌دهند. بنابراین، در مجموع ۱۲ عدد تشت آب گرم (چهار سطح عامل اصلی در سه تکرار) طراحی و ساخته شد که درون هر تشت، چهار سطح عامل فرعی (چهار واحد یا مخزن یک لیتری که همان راکتورها بودند) قرار داشت. با توجه به این که عامل کرت فرعی، pH می‌باشد، پس از تخصیص تصادفی این عامل به واحدهای هاضم (مخازن)، شماتیک کلی قرارگیری هاضم‌ها در طرح کرت‌های خرد شده همانند جدول (۱) می‌باشد. چهار

f: شاخص تیتراسیون محلول پتاسیم پرمنگنات (1/ml)، که طبق رابطه ۳ به دست آمد.

و ۳۱۶ نیز ثابت وزنی آزمایش (میلی گرم) می‌باشد.

برای محاسبه شاخص تیتراسیون محلول پتاسیم پرمنگنات، ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر جوشانده شد و پنج میلی لیتر محلول اسید سولفوریک به آن اضافه گردید. محلول به دست آمده با محلول پتاسیم پرمنگنات تیترا شد. سپس ۲۰ میلی لیتر محلول اکسالیک اسید به محلول اضافه شد و مجدداً عمل تیتراسیون با محلول پتاسیم پرمنگنات انجام شد. اگر مجموع حجم محلول پتاسیم پرمنگنات استفاده شده را n در نظر بگیریم، شاخص تیتراسیون محلول پتاسیم پرمنگنات از رابطه (۳) به دست می‌آید.

$$f = \frac{20}{n} \quad (3)$$

### محاسبه VS<sup>۱</sup> و VS-R<sup>۲</sup> (VS حذف شده)

برای محاسبه درصد مواد جامد فرار (VS)، در ابتدا درصد مواد جامد (TS)، از رابطه (۱) به دست آمد. سپس مواد خشک به مدت ۲ ساعت درون کوره الکتریکی و در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از خروج مواد و وزن مجدد، مقدار VS با استفاده از رابطه (۴) به دست آمد.

$$VS = \left(1 - \frac{W_2}{W_1}\right) * 100 \quad (4)$$

که  $W_1$  و  $W_2$ ، به ترتیب وزن مواد قبل و بعد از قرارگیری در کوره

در انتهای زمان هضم، مجدداً مقدار VS مواد درون راکتورها (برای همه واحدهای هضم) محاسبه شد. به تفاوت VS، در ابتدا و انتهای آزمایش، VS-R (VS حذف شده) گویند. VS-R، مقدار کم شدن مواد جامد فرار را نشان می‌دهد که به معنای مصرف شدن بافت آلی زیست‌توده توسط باکتری‌های متان ساز است. به همین دلیل هر چه مقدار VS حذف شده بیشتر باشد، هضم کامل‌تری انجام شده است.

1- Volatile Solid

2- Volatile Solid-Removed

سلیمانی و همکاران: بررسی تاثیر تغییرات دما و pH بر...

در نظر گرفته شد. مقادیر گاز تصفیه شده، هر سه روز یک بار اندازه گیری و ثبت گردید.

در نهایت مقادیر شاخص حجمی زیست گاز، به حالت اصلاح شده و بر حسب (ml/gVS) تبدیل شد و مقادیر جدید، از طریق تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تحلیل شدند.

### سطوح تیمارها

طبق مطالعات انجام شده، با در نظر گرفتن همه جوانب کار، زیست گاز تولید شده در محدوده دمایی ۳۰-۴۵ درجه سلسیوس (1) و pH در محدوده ۶/۸-۷/۴، بهینه است (۴۴). از همین رو تیمارها به نحوی انتخاب شدند که محدوده بهینه را پوشش دهند. بنابراین برای تیمارهای دمایی (کرت اصلی) ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس و برای تیمارهای pH (کرت فرعی)، pHهای ۶/۸، ۷، ۷/۲ و ۷/۴ انتخاب شدند.

### شکل کلی آزمایش

نحوه قرارگیری واحدهای هضم، همانند جدول (۱) و در سه تکرار می باشد. از این رو شماره گذاری کرت های اصلی، با شماره های ۱، ۲، ۳ و ۴، به ترتیب نشان دهنده دمای ۳۰، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس است. همچنین شماره گذاری کرت های فرعی، با شماره های ۱، ۲، ۳ و ۴، به ترتیب نشان دهنده pH برابر با ۶/۸، ۷، ۷/۲ و ۷/۴ می باشد. شکل آزمایش در قالب طرح کرت های خرد شده با طرح پایه کاملاً تصادفی است.

### نتایج و بحث

جدول (۲) نتایج تجزیه واریانس شاخص های مورد مطالعه را در طرح کرت های خرد شده نشان می دهد. با توجه به این جدول، تقریباً اثرات اصلی و متقابل بر روی همه شاخص های مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی دار می باشند. در ادامه میانگین شاخص های مختلف در دما، pH و یا در هر دو متغیر باهم مقایسه می شوند.

جدول (۱) آرایش واحدهای هاضم مورد نظر و نمونه ای از نحوه تخصیص تیمارها

Figure (1) Arrangement of units in a split plot design

دمای ۴	دمای ۳	دمای ۲	دمای ۱
pH <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	pH <sub>3</sub>	pH <sub>4</sub>
pH <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	pH <sub>3</sub>	pH <sub>4</sub>
pH <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	pH <sub>3</sub>	pH <sub>4</sub>
pH <sub>1</sub>	pH <sub>2</sub>	pH <sub>3</sub>	pH <sub>4</sub>

کرت اصلی به صورت مجزا از یکدیگر ساخته شدند. در نهایت هر واحد هضم، به صورت شکل (۲-ب) در آمد. شکل (۲-الف) نیز یک کرت اصلی را نشان می دهد که چهار واحد درون آن قرار دارد.

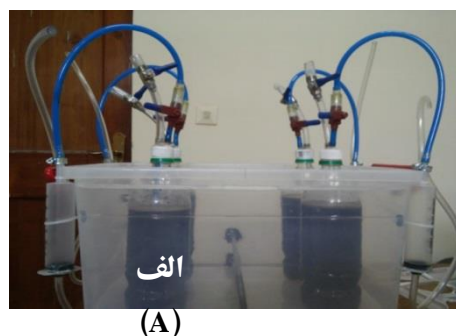
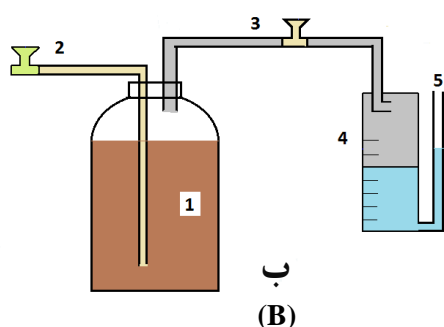
### اندازه گیری مقدار زیست گاز

در هاضم مورد بحث، جهت ایجاد سامانه اندازه گیری حجم، از یک مخزن آب با ظرفیت ۵۰ میلی لیتر، که به صورت یک لوله U شکل به خروجی هاضم متصل بود، استفاده شد. با افزایش فشار ناشی از تولید گاز، آب از مخزن مدرج شکل (۲-ب)، شماره ۴ به لوله خروجی شکل (۲-ب)، شماره ۵ رانده می شود. مقدار حجم آب جابه جا شده، به عنوان شاخص حجم زیست گاز تولید شده در نظر گرفته می شود. به منظور تشخیص بهتر جابجایی آب، مقداری رنگ درون آب حل شد. مقدار جابجایی آب از روی ستون مدرج، به عنوان داده ثبت شد و با توجه به فشار ستون آب و با استفاده از قانون گازها به مقدار حجم در شرایط استاندارد تبدیل شد.

### اندازه گیری کیفیت زیست گاز

به دلیل عدم دسترسی به سنسورهای تجزیه گاز و دستگاه گاز کروماتوگراف، از روش تصفیه گاز برای مقایسه کیفیت زیست گاز تولید شده از واحدهای هضم، استفاده شد. برای این منظور، مقدار ناخالصی اندازه گیری شده، به عنوان شاخص مقایسه در نظر گرفته شد. به منظور تصفیه گاز، محلول سود سه مولار، از ترکیب ۱۲۰ گرم سود به ازای یک لیتر از محلول سود و آب مقطر، ایجاد گردید و به دلیل خوردندگی پلاستیک در بطری شیشه ای ریخته شد. هر بار مقدار ۵۰۰ میلی لیتر محلول ساخته شد و گاز تولیدی از درون آن عبور داده شد. گاز نمونه برداری شده، از طریق لوله منتهی به انتهای بطری، وارد محلول شده و حجم آب جابجا شده (همانند روش اندازه گیری حجم زیست گاز تولید شده) به عنوان مقدار گاز خالص





شکل (۲) الف: یک کورت اصلی (حمام آب گرم). ب: شماتیک یک واحد هضم (۱: مخزن هاضم، ۲: شیر نمونه برداری مواد، ۳: شیر نمونه برداری گاز، ۴: مخزن مدرج آب، ۵: لوله خروج آب).

Figure (2) (A): A main plot (hot water bath). (B): Schematic of a reactor (1: Tank, 2: Inlet valve, 3: Gas exhausting valve, 4: U-shaped tube, 5: Water outflow pipe).

مقایسه میانگین اثرات اصلی به تنهایی فاقد اعتبار است و باید رفتار تیمار فرعی را در سطوح مختلف تیمار اصلی نیز مطالعه کرد. بنابراین روند تولید گاز و خلوص آن در pH و دماهای مختلف در شکل (۴) نشان داده شده است. نمودار اثرات متقابل دما و pH شکل (۴) نشان می‌دهد که به طور نسبی، در دماها و pH بالاتر میزان گاز تولیدی نیز افزایش می‌یابد. دامنه بهینه pH در هضم بی‌هوازی ۶/۸ تا ۷/۲ است. با این حال، دامنه ۶/۵ تا ۸ قابل تحمل است (۱۴۱۴).

اما آنچه مهم است میزان خلوص گاز است که روند آن در همه دماها، با افزایش pH، در ابتدا افزایش یافته و سپس کاهش داشته است (شکل (۴)). با توجه به شکل (۴)، بهترین محدوده pH برای تولید زیست‌گاز با خلوص بالاتر (حاوی متان بیشتر) محدوده ۷ است. این قضیه در شکل (۵) نیز به وضوح تایید می‌شود. بنابراین بهترین ترکیب pH و دما، به هدف تولید بیشترین و مرغوبترین گاز، به ترتیب ۷ و ۳۵ درجه سلسیوس می‌باشد (شکل (۴) و شکل (۵)). درصد خلوص گاز در دو دمای ۳۵ و ۴۰ درجه سلسیوس با همدیگر تفاوت معنی‌داری ندارد، اما با توجه به مقدار حجم گاز تولیدی بیشتر در دمای ۴۰ درجه سلسیوس (شکل (۴)) مقدار گاز خالص تولیدی در این دما (حتی با درصد خلوص تقریباً برابر با دمای ۳۵ درجه سلسیوس) بیشتر است. معمولاً ویناس تولیدی در کارخانجات تولید الکل دمای بالایی دارند و در این شرایط، مشکلی از لحاظ تامین گرمای مورد نیاز هضم بی‌هوازی

### حجم گاز تولیدی و مقدار خلوص آن

شکل (۳)، به مقایسه میانگین مقادیر گاز تولیدی به ازای VS اولیه در سطوح دما و pH می‌پردازد. با توجه به این دو شکل، بیشترین مقدار حجم گاز به ترتیب در دماهای ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه و pH برابر با ۷/۴ به دست آمده است. با توجه به شکل (۳)، مقدار گاز تولیدی با افزایش دما افزایش داشته است اما با افزایش pH، در ابتدا کاهش و سپس افزایش داشته است. نتایج حاصله با مطالعه سیویالا و همکاران (۲۰۱۲) (۱۴۱۴) مطابقت دارد. با توجه به این مطالعه، درجه حرارت مطلوب هضم مزوفیلیک برای تولید گاز، ۳۵ درجه سلسیوس است. در دامنه مزوفیلی میزبان فعالیت و سرعت رشد باکتری‌ها به ازای هر افت ۱۰ درجه‌ای، ۵۰٪ کاهش می‌یابد. افزایش سطح دما تا ۳۷ درجه سلسیوس منجر به کاهش زمان لازم برای فرآیند هضم می‌شود. افزایش بیشتر دما باعث کاهش سرعت تولید گاز می‌شود (۱۴۱۴). با توجه به شکل (۳) میزان تولید گاز در دماهای ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس با این مقدار در دمای ۳۵ درجه تفاوت معنی‌داری ندارد. بنابراین به دلایل اقتصادی و انرژی، دمای عملیاتی ۳۵ درجه سلسیوس برای هضم بی‌هوازی ویناس و تولید زیست‌گاز توصیه می‌شود. روند تولید گاز با افزایش دما، افزایش یافته است ولی با افزایش pH، در ابتدا کاهشی و سپس افزایشی شده است. از آنجا که در جدول (۲)، اثر متقابل دما و pH در شاخص درصد خلوص زیست‌گاز معنی‌دار است، بنابراین

۳۰ درجه سلسیوس، روند VS-R در دماهای دیگر تا حد زیادی منطبق بر یکدیگر هستند. مقدار VS-R در این سه دما در pHهای مشابه اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند. مقدار شاخص VS-R در pH برابر با ۷ اختلاف معنی داری با سطوح دیگر pH دارد و بهتر از بقیه سطوح است. کاهش VS، ناشی از مصرف مواد آلی توسط میکروارگانیسم‌ها است. در واقع اسیدهای چرب آلی تولید شده در مرحله اسید سازی، مورد مصرف باکتری‌ها قرار می‌گیرند. تولید این اسیدهای چرب و همچنین مصرف آن‌ها توسط باکتری‌های متان‌ساز، به دما وابسته است. در مورد کاهش VS، تولید هر چه بیشتر اسیدهای چرب آلی مورد نظر است. اما عدم مصرف اسیدهای چرب توسط باکتری‌ها، موجب اشباع شدن زیست توده از اسیدهای چرب آلی و در نهایت توقف اسید سازی می‌شود (1). در سطح pH برابر با ۷، اختلاف شاخص VS-R بین دماهای ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس معنی دار نیست. بنابراین بیشترین مقدار تولید و مصرف اسیدهای چرب آلی، در این تیمارها بوده است. از لحاظ شاخص VS-R هر سه دمای ۳۵، ۴۰ و ۴۵ در pH برابر با ۷ قابل توصیه است اما از آنجا که بهترین وضعیت شاخص‌های قبلی (شاخص حجمی و درصد خلوص) در دمای ۴۰ درجه سلسیوس بود بهتر است دمای عملیاتی هضم بی‌هوازی ویناس بر روی این مقدار تنظیم گردد و اگر محدودیت برای تامین گرمای مورد نیاز وجود دارد، دمای ۳۵ درجه سلسیوس نیز از نظر شاخص VS-R اختلاف معنی داری با دمای ۴۰ درجه سلسیوس ندارد.

وجود ندارد. بنابراین بهترین دما برای تولید گاز در شرایطی که محدودیتی از لحاظ تامین حرارت وجود نداشته باشد، دمای ۴۰ درجه سلسیوس و در غیر این صورت (هزینه بر بودن و انرژی بر بودن)، دمای ۳۵ درجه سلسیوس می‌باشد.

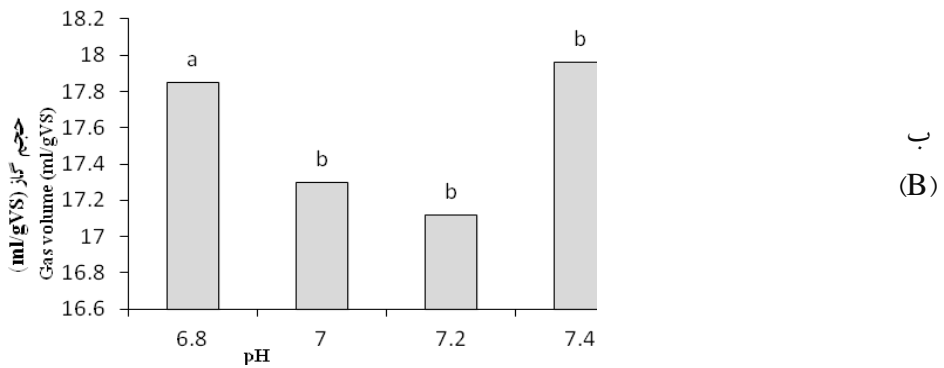
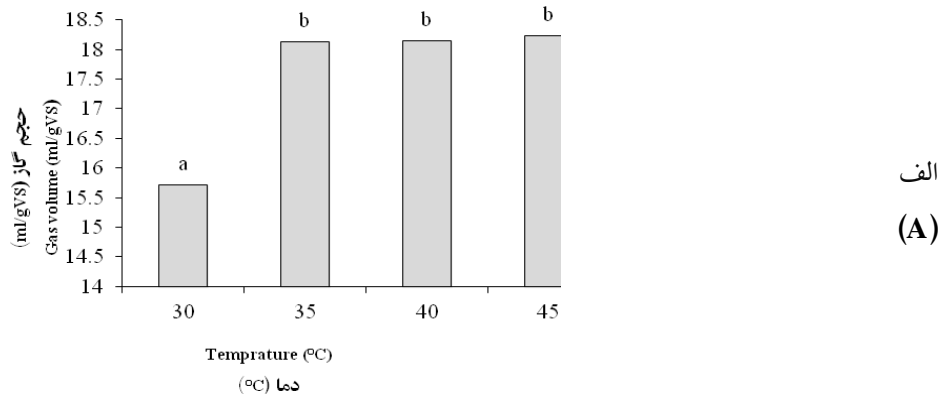
### شاخص بازدهی (کیفیت کودی لجن)

شکل (۶) نتایج مقایسه میانگین مقادیر VS-R را در سطوح مختلف دما و pH نشان می‌دهد. آنچه از این شکل می‌توان دریافت، این است که همانند شاخص حجم گاز تولیدی شکل (۴)، در اینجا نیز شاخص VS-R نسبت به تغییرات pH بسیار بیشتر از تغییرات دما حساس است. بنابراین در طول عملیات هضم بی‌هوازی کنترل pH بیش از کنترل دما ضروری می‌گردد. VS-R در pH برابر با ۷ بهترین عملکرد را داشته است. با این حال این شاخص در دماهای ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه اختلاف معنی داری نداشته است. بنابراین با توجه به هزینه تامین گرمای بیشتر برای دماهای ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس در مقایسه با دمای ۳۵ درجه سلسیوس، می‌توان دمای ۳۵ درجه را بهترین دما برای تولید کود با بیشترین حذف مواد آلی فرار دانست. همانند شاخص درصد خلوص زیست گاز، به دلیل معنی داری اثر متقابل دما و pH، روند شاخص VS-R در pHهای مختلف و در دماهای مختلف در شکل (۷) به نمایش درآمده است. در اینجا نیز برای جلوگیری از شلوعی شکل حروف نشان دهنده تفاوت‌های معنی دار در شکل نیامده‌اند. روند VS-R در کلیه دماها مشابه یکدیگر است، بنابراین می‌توان گفت مقایسه میانگین اثرات اصلی (شکل (۶) نیز از اعتبار کافی برخوردار می‌باشند. به جز دمای

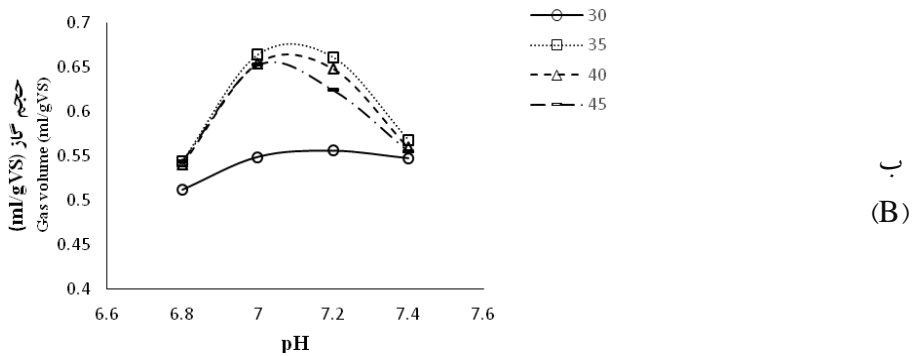
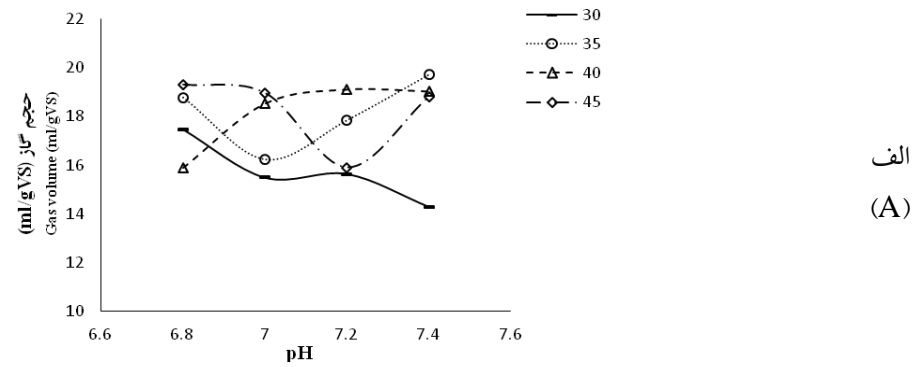
### جدول (۲) معنی داری شاخص F در متغیرهای مورد مطالعه

Table (2) The significancy of F index in studied variables

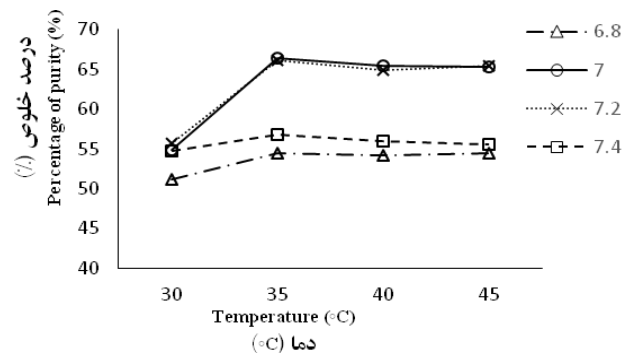
COD-R	VS-R	خلوص گاز Purity	مقدار گاز تولیدی The amount of gas produced	منبع تغییر Source of difference
4806**	483.04**	135**	28.35**	فاکتور اصلی Temperature
5957**	34.11**	255.7**	5.36**	فاکتور فرعی pH
242**	94.87**	15.92**	8	اثر متقابل (دما*pH) Temperature*pH



شکل (۳) مقایسه میانگین مقادیر گاز تولیدی به ازای VS اولیه در سطوح دما (الف) و pH (ب)  
 Figure (3) Comparison of mean values of the amount of produced gas at different levels of temperature (A) and pH (B)



شکل (۴) روند تولید گاز (الف) و خلوص آن (ب) در pH و دماهای مختلف  
 Figure (4) The rate of gas production (A) and its purity (B) at different pH and temperatures



شکل (۵) روند خلوص گاز در pH و دماهای مختلف  
Figure (5) Gas purity at different pH and temperatures

مصرف کننده اکسیژن در هضم هوازی است و مصرف این مواد در هضم بی هوازی، آلاینده‌گی کود به دست آمده از هضم را کاهش می‌دهد. با توجه به این که مصرف کننده COD، باکتری‌های موجود در زیست توده هستند؛ می‌توان گفت که در pH خنثی (۷) و دمای ۴۰ و ۱۴۵ درجه سلسیوس، عملکرد این باکتری‌ها در بالاترین سطح خود نسبت به سایر تیمارها قرار دارد.

بیشترین مقدار حذف COD، با مقدار ۲۱۴۸۸ میلی‌گرم بر لیتر، مربوط به دمای ۴۵ درجه و pH برابر با ۷ بود که کاهش ۴۱ درصدی مقدار COD را نشان می‌دهد. این نتیجه با نتیجه مطالعه بودیونو و همکاران<sup>۱</sup> (۳)، تفاوت زیادی دارد. در آن مطالعه حداکثر حذف اکسیژن خواهی شیمیایی ۲۳ درصد به دست آمده بود. دلیل این تفاوت احتمالاً مربوط به تفاوت درصد مواد تشکیل دهنده زیست توده ویناس مورد آزمایش بوده است. حداکثر مقدار کاهش COD در مطالعه سایچرزوی و همکاران<sup>۲</sup> (۱۰)، ۳۸ درصد به دست آمده است.

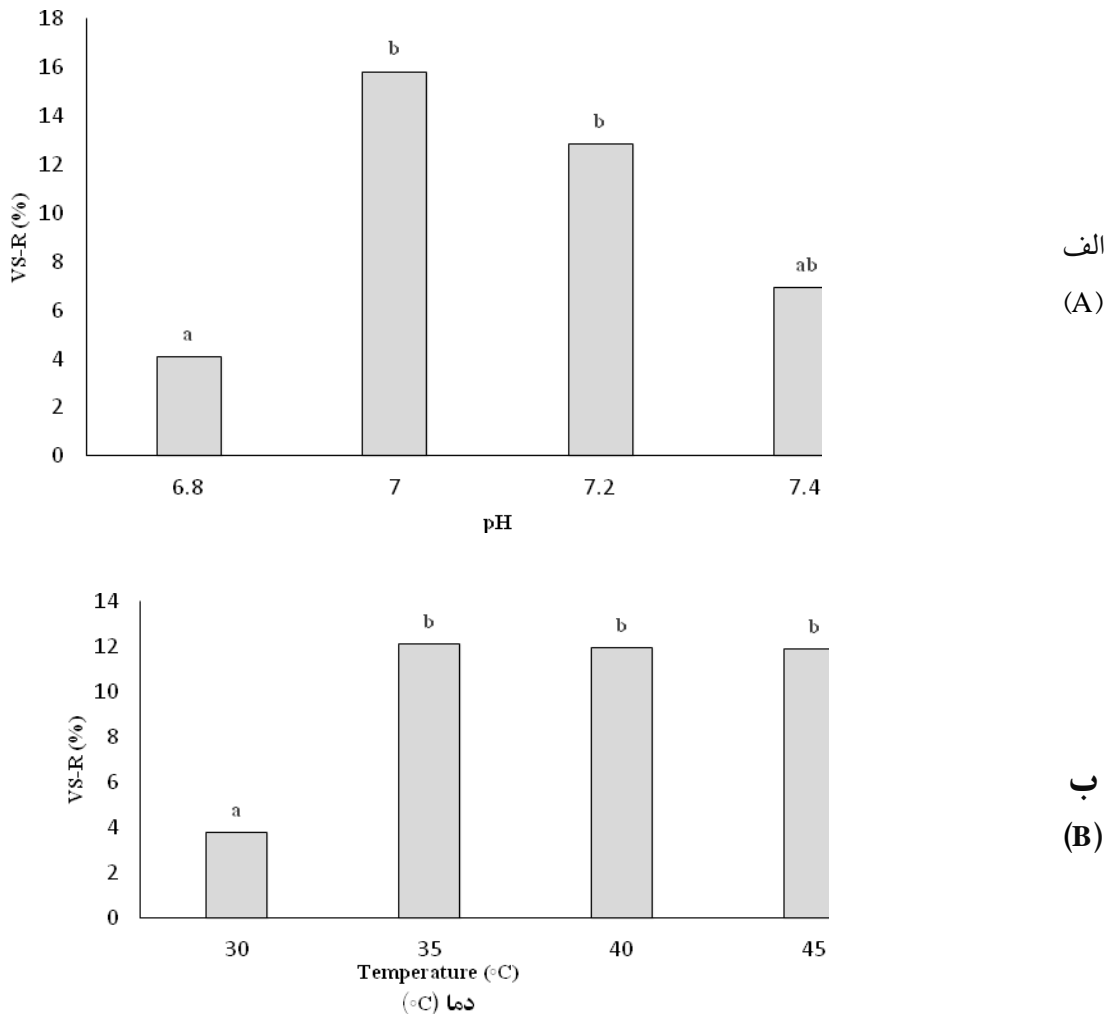
### شاخص COD-R (میزان آلاینده‌گی کود حاصله)

COD-R (COD حذف شده)، نشان دهنده میزان تجزیه مواد تجزیه پذیر در فرآیند هضم بی هوازی است. هر چقدر مقدار COD حذف شده بیشتر باشد، هضم کامل تری انجام شده و مقدار آلوده کنندگی کود به دست آمده کمتر است. اثرات اصلی و متقابل این شاخص در جدول (۲)، در سطح یک درصد معنی دار هستند. شکل (۸)، به مقایسه میانگین شاخص COD-R در سطوح مختلف دما و pH می‌پردازد. همانند شاخص‌های قبلی، در این جا نیز pH برابر با ۷ و دمای ۴۰ درجه سلسیوس با بقیه سطوح pH و دما اختلاف معنی دار دارند. با توجه به معناداری اثر متقابل جدول (۲)، مقایسه میانگین سطوح عامل فرعی در هر سطح از عامل اصلی نیز انجام شد (شکل ۹).

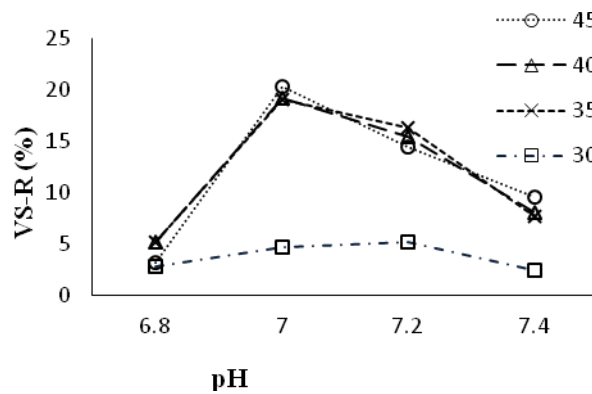
روند COD-R در کلیه pHها تقریباً مشابه یکدیگر است و یا حداقل روند برعکس هم ندارند. COD-R مربوط به pH برابر با ۷ در کلیه دماها بالاتر از این شاخص در pHهای دیگر است و در دمای ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس با بقیه مقادیر اختلاف معنی داری دارند. در مجموع می‌توان گفت در همه سطوح دمایی، pH برابر با ۷، دارای بیشترین حذف COD ناشی از تولید زیست گاز از ویناس است. بنابراین همانند شاخص‌های دیگر برای این شاخص نیز بهترین pH و دما به ترتیب ۷ و ۴۰ درجه سلسیوس می‌باشد. مقدار COD، نشان دهنده مقدار مواد

1- Budiyono *et al.*

2 - Syaichurrozi *et al.*

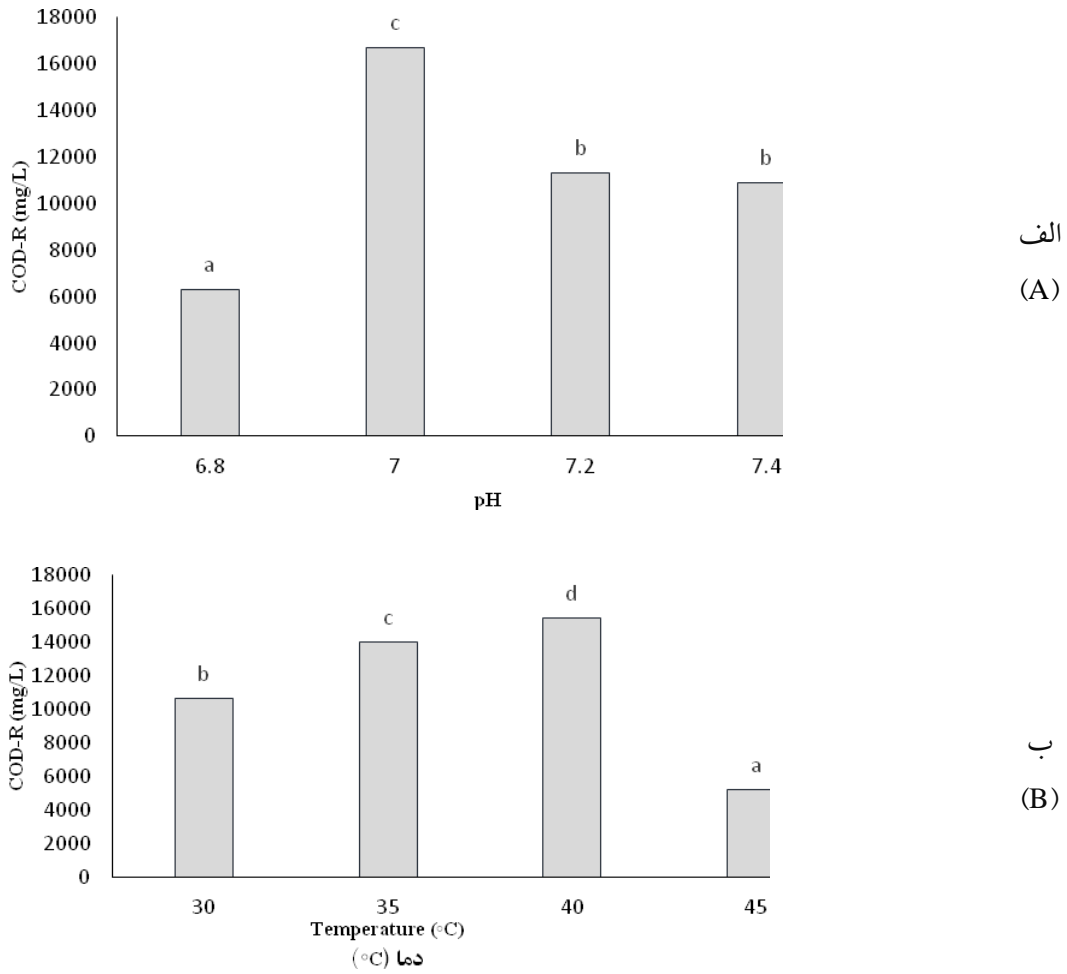


شکل (۶) مقایسه میانگین مقادیر VS-R در سطوح مختلف pH (الف) و دما (ب)  
 Figure(6) Comparison of mean values of VS-R at different levels of pH (A) and temperature (B)

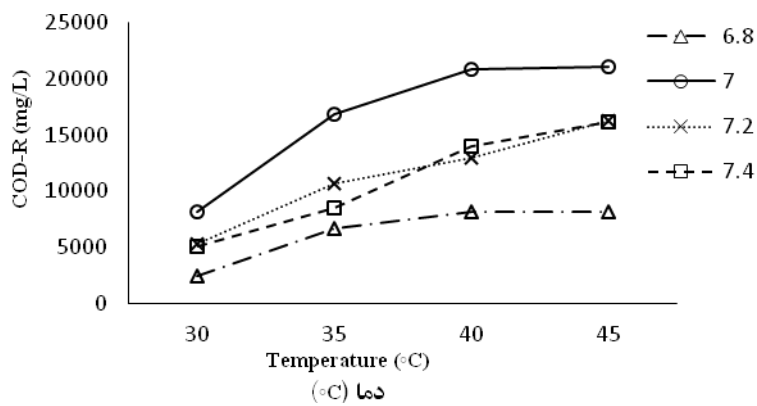


شکل (۷) مقایسه میانگین مقادیر VS-R در سطوح مختلف pH، در دماهای مختلف  
 Figure (7) Comparison of mean values of VS-R in different pH levels, in different studied temperatures

سلیمانی و همکاران: بررسی تاثیر تغییرات دما و pH بر...



شکل (۸) مقایسه میانگین مقادیر COD-R در سطوح مختلف pH (الف) و دما (ب)  
 Figure (8) Comparison of mean values of COD-R at different levels of pH (A) and temperature (B)



شکل (۹) مقایسه میانگین مقادیر COD-R در سطوح دما، در pH های مختلف  
 Figure (9) Comparison of mean values of COD-R in different pH levels, in different studied temperatures

### نتیجه‌گیری

نتایج حجم زیست‌گاز تولید شده بر اساس شاخص حجمی نشان داد، دماهای ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس و pH برابر با ۷، بیشترین حجم زیست‌گاز را تولید کرده‌اند. همچنین بیشترین بازدهی تولید با توجه به مقدار COD نهایی، مربوط به دمای ۴۰ درجه و pH برابر ۷ است.

طبق نتایج به دست آمده، حداقل ناخالصی موجود در زیست‌گاز، مربوط به واحدهای دارای دمای ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سلسیوس و pH برابر با ۷ یا ۷/۲ می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که حداکثر متان، در دمای ۳۵ الی ۳۷ درجه سلسیوس و pH در بازه ۶/۸ الی ۷/۲، به دست می‌آید.

نتایج مقدار COD حذف شده و VS حذف شده، که شاخصهای کاهش آلانیدگی کود حاصل از هضم هستند؛ نشان داد که بهترین سطح pH برای کاهش آلانیدگی زیست‌توده، برابر با ۷ می‌باشد. همچنین بهترین سطح دما

برای COD-R، ۴۰ درجه سلسیوس و برای VS-R، ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجه سلسیوس می‌باشد. با توجه به شرایط آب و هوایی استان خوزستان و همچنین دمای بالای ویناس خروجی به عنوان پسماند کارخانجات تولید الکل نیشکری فرآهم‌آوری دمای ۴۰ درجه سلسیوس دور از ذهن نیست.

بنابراین با توجه به همه شاخص‌های مورد مطالعه، بهترین pH و دمای عملیاتی هضم بی‌هوازی ویناس نیشکر به ترتیب محدوده ۷ و ۳۵ درجه سلسیوس می‌باشد.

نتیجه مهم دیگری که از این مطالعه می‌توان دریافت کرد این است که تغییرات همه شاخص‌های مورد مطالعه ناشی از تغییرات pH بسیار حساس‌تر از تغییرات دمایی بودند. بنابراین باید دقت کافی صورت گیرد تا تغییرات pH در محیط هضم بی‌هوازی بسیار کم و در محدوده پیشنهاد شده (حدود ۷) باشد.

### References

1. Baier, U. and Schmidheiny, P. 1997. Enhanced anaerobic degradation of mechanically disintegrated sludge. *Water Science and Technology*, 36 (11): 137-143.
2. Balaguer, M.D., Vicent, M.T. and Paris J.M. 1992. Anaerobic fluidized bed reactor with sepiolite a support for anaerobic treatment of vinasse. *Biotechnology Letters*, 14 (5): 433-438.
3. Budiyo, Syaichurrozi, I. and Sumardiono, S. 2013. Biogas Production Kinetic from Vinasse Waste in Batch Mode Anaerobic Digestion. *World Applied Sciences Journal*, 26(11): 1464-1472.
4. Budiyo., Syaichurrozi, I. and Sumardiono, S. 2014. Kinetic model of biogas yield production from vinasse at various initial pH: comparison between modified Gompertz model and first order kinetic model. *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*, 7(13): 2798-2805.
5. Chamy, R., Pizzaro, C., Vivanko, E., Schiappacasse, M.C., Jeison, D., Poirrier, P. and RuizFilippi, G. 2007. Selected experiences in Chile for the application of UASB technology for vinasse treatment. *Water Science and Technology*, 56(2): 39-48.
6. Christofolletti, C.A., Escher, J.P., Correia, J.E., Marinho, J.F.U., Fontanetti, C.S., 2013. Sugarcane vinasse: environmental implications of its use. *Waste Management*, 33: 2752-2761.
7. Cortez, L., Freire, W.J. and Rosillo-Calle, F. 1998. Biodigestion of vinasse in Brazil. *International Sugar Journal*, 100(1196): 403-404, 409-413.
8. Dooagooii, A., GhazanfariMoghaddam, A. and Fooladi, M. 2011. Investigation of kinetics and modeling of biogas production from the waste of rose water extraction of Damask rose. *Iranian journal of Biosystems Engineering*, 42 (1): 95-102. (In Farsi)

9. Elbehri, A., Segerstedt, A., and Liu, P. 2013. Biofuels and the sustainability challenge: a global assessment of sustainability issues, trends and policies for biofuels and related feedstocks. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
  10. Espinosa, A., Rosas, L., Ilangovan, K. and Noyola A. 1995. Effect of trace metals on the anaerobic degradation of volatile fatty acids in molasses stillage. *Water Science and Technology*, 32(12): 121-129.
  11. Janke, L., Leite, A. F., Batista, K., Silva, W., Nikolausz, M., Nelles, M., & Stinner, W. 2016. Enhancing biogas production from vinasse in sugarcane biorefineries: Effects of urea and trace elements supplementation on process performance and stability. *Bioresource Technology*, 217: 10-20.
  12. Kafle, G.K., Kim, S.H., Sung, K.I., 2012. Ensiling of fish industry waste for biogas production: A lab scale evaluation of Biochemical Methane Potential (BMP) and kinetics. *Bioresour. Technology*, 127: 326-336.
- Leite, A., Janke, L., Lv, Z., Harms, H., Richnow, H.-H., Nikolausz, M., 2015. Improved monitoring of semi-continuous anaerobic digestion of sugarcane waste: effects of increasing organic loading rate on methanogenic community dynamics. *International Journal of Molecular Science*, 16: 23210–23226.
1. Lio, C., Wachemo, A.C., Tong, H., Shi, S., Zhang, L., Yuan, H. and Li, X. 2018. Biogas production and microbial community properties during anaerobic digestion of corn stover at different temperatures. *Bioresource Technology*, 261(1): 93-103.
  2. Lv, Z., Hu, M., Harms, H., Richnow, H.H., Liebetrau, J., Nikolausz, M., 2014. Stable isotope composition of biogas allows early warning of complete process failure as a result of ammonia inhibition in anaerobic digesters. *Bioresource Technology*: 167, 251–259.
  3. Mariano, A.P., Dias, M.O.S., Junqueira, T.L., Cunha, M.P., Bonomi, A., Filho, R.M., 2013. Butanol production in a first-generation Brazilian sugarcane biorefinery: technical aspects and economics of greenfield projects. *Bioresource Technology*, 135: 316–323.
  4. Moosavi, Gh., Mahdavianpoor, M., Aghayani, A. and Poorakbar, M. 2017. Principles, design, construction and operation of biogas systems. First edition, Yarres Publishing House, Tehran, 9-15. (In Farsi)
  5. Moraes, B.S., Junqueira, T.L., Pavanello, L.G., Cavalett, O., Mantelatto, P.E., Bonomi, A. and Zaiat, M. 2014. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense. *Applied Energy*, 113(1): 825–835.
  6. Mota, V.T., Santos, F.S., Amaral, M.C.S., 2013. Two-stage anaerobic membrane bioreactor for the treatment of sugarcane vinasse: assessment on biological activity and filtration performance. *Bioresource Technology*, 146: 494–503.
  7. Safari, M., Abdi, R. and Adl, M. 2015. Investigating the extraction of biogas from rapeseed stem residues, rumen content and cow manure. *Research in agricultural Mechanization and Systems (Agricultural Engineering Research)*, 16(65): 825-835.
  8. Speece, R. E. 1983. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental Science and Technology*, 17(9): 416A-427A.
  9. Suanon, F., Sun, Q., Mingyue, L., Xiang, C., Youchi, Z., Yijun, Y. and Chang-Ping, Y. 2017. Application of nanoscale zero valent iron and iron powder during sludge anaerobic digestion: Impact on methane yield and pharmaceutical and personal care products degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 231(1): 47-53.
  10. Syaichurrozi, I., Budiyo and Sumardiono, S. 2013. Predicting Kinetic Model of Biogas Production and Biodegradability Organic Materials: Biogas production from Vinasse at Variation of COD/N. *Bioresource Technology*, 149(1): 390-397.



11. Xie, S., Lawlor, P.G., Frost, J.P., Hu, Z. and Jhan, X. 2011. Effect of pig manure to grass silage ratio on methane production in batch anaerobic co-digestion of concentrated pig manure and grass silage. *Bioresource Technology*, 102(10): 5728- 5733.
12. Yang, Y., Tsukahara, K., Yagishita, T., Sawayama, S. 2004. Performance of a fixed-bed reactor packed with carbon felt during anaerobic digestion of cellulose. *Bioresource technology*, 94(2): 197-201.
13. Yilmaz, A., Sinan, U., Kocer, A. and Aygun, B. 2018. Factors affecting the production of biogas. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 9(5): 59-62.
14. Cioabla, A. E., Ionel, I., Dumitrel, G. A., and Popescu, F. 2012. Comparative study on factors affecting anaerobic digestion of agricultural vegetal residues. *Biotechnology for Biofuels*, 5(1): 39.