

مروری بر هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای

سعید قنبری آزاد پاشاکی^{۱*}، مهدی خجسته پور^۲، محمدعلی ابراهیمی نیک^۳، عباس روحانی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی مکانیزاسیون کشاورزی- بازیافت و مدیریت پسماند، گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم

دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

^۲ دانشیار گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

^۳ استادیار مهندسی مکانیک بیوسیستم دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

* ایمیل نویسنده مسئول: saeedghanbary141@yahoo.com

چکیده

این مقاله، خلاصه‌ای از فرایند هضم بی‌هوازی و مقایسه فعالیت‌های تحقیقاتی فرآیندهای هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای نسبت به تک مرحله‌ای را در بر می‌گیرد. مرحله اسیدزایی و مرحله متان‌زایی نیز به صورت جداگانه از نظر میکروبیولوژیکی، بهینه‌سازی فرآیند، بهره‌برداری و کنترل مورد بررسی قرار گرفته است. در نهایت، پیشنهاد شده است که تجزیه فاضلاب‌های دارای کربوهیدرات و اسید چرب کم در سیستم دو فاز صورت گیرد و در مقابل برای پسماندهای دارای کربوهیدرات کم و اسیدهای چرب بالا صادق نیست، به عبارتی سیستم‌های دو مرحله‌ای برای پردازش ضایعات دارای کربوهیدرات بالا مانند مواد زائد شهری سودمند می‌باشد. به‌طور کلی، برنامه‌های کاربردی سیستم هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای برای پسماندهای غذا به منظور حل و فصل مسائل مربوط به کنترل و مهار pH در سیستم تک مرحله‌ای، مؤثر واقع گشته است.

واژه‌های کلیدی: بیوگاز، فاز اسید، فاز متان، هضم دومرحله‌ای

مقدمه

در حال حاضر با افزایش جمعیت و پیشرفت‌های روزافزون تکنولوژیکی نیاز بشر به مصرف انرژی هر روز افزایش پیدا می‌کند و در این میان دو مشکل اساسی یعنی آلودگی محیط‌زیست و پایان‌پذیری منابع انرژی که عمدتاً سوخت‌های فسیلی است خود را پررنگ‌تر نشان می‌دهند (Noorollahi *et al.*, 2015). سیستم‌هایی که زیست‌توده را به انرژی قابل مصرف تبدیل می‌کنند

می‌توانند در ظرفیت‌های کوچک به صورت ماژول و ظرفیت‌های متوسط و بالا بکار روند (سانا، ۱۳۹۴؛ مدهو، ۲۰۱۲) از سوی دیگر زیست‌توده که قابلیت تولید انرژی در سه شکل برق، گرما و سوخت زیستی دارد (هاشمی پور و همکاران، ۱۳۹۴) را می‌توان در غیاب اکسیژن به وسیله باکتری‌های بی‌هوازی به گاز تبدیل کرد، این گاز قابل اشتعال، بی‌گاز و فرایند را هضم بی‌هوازی گویند که طبق جدول ۱ شامل دو جز عمده متان و دی‌اکسید کربن به همراه مقادیر جزئی ناخالصی نظیر آب، کربن، نیتروژن و غیره می‌باشد (رحیمی سرداری و همکاران، ۱۳۹۱؛ برگلند و بوجسن، ۲۰۰۶؛ کراتکرمر و همکاران، ۲۰۱۰).

جدول ۱. ترکیبات موجود در بیوگاز (Krautkremer et al., 2010)

ترکیب	متان	دی‌اکسید کربن	آب	سولفید هیدروژن	نیتروژن	اکسیژن	هیدروژن
	CH ₄	CO ₂	H ₂ O	H ₂ S	N ₂	O ₂	H ₂
غلظت در حجم، %	۵۰-۷۵	۲۵-۴۵	۲-۷	<۲	<۲	<۲	<۱

فرآیندهای هضم بی‌هوازی مزایای قابل توجهی، مانند تولید لجن کمتر، تولید گازی با ارزش گرمایی بالا، مصرف انرژی پایین‌تر و هزینه‌های کلی پایین‌تر را ارائه می‌دهد (Ghosh and Pohland, 1974; Van Starckenburg, 1997; solera et al., 2002). بدین ترتیب، روند هضم بی‌هوازی در طیف گسترده‌ای از مواد خام مختلف پیچیده از جمله لجن فاضلاب شهری، شیمیایی و صنایع کشاورزی ضایعات آب و حتی در پردازش فاضلاب نیز کاربرد دارد (Van Starckenburg, 1997; Jewell, 1987). هدف از این مقاله ارائه خلاصه‌ای از فرایند هضم بی‌هوازی و مقایسات دقیق تحقیقات قبلی و فعلی در فرآیندهای بی‌هوازی هضم دو مرحله‌ای نسبت به تک مرحله‌ای با تمرکز ویژه بر موضوعاتی از قبیل میکروبی‌شناسی، بهینه‌سازی فرآیند و کنترل برای هر فاز به طور جداگانه می‌باشد.

هضم بی‌هوازی تک و دو مرحله‌ای

فرایند هضم بی‌هوازی از تعدادی واکنش متابولیکی پیچیده تشکیل شده است که به ۴ مرحله اصلی هیدرولیز، اسیدزایی، استات زایی و متان‌زایی تقسیم می‌شوند. میکروارگانیسم‌های مؤثر در این مراحل به ترتیب، هیدرولیزکننده‌ها، اسیدزها (اسیدوژن‌ها)، استات‌زها (استوژن‌ها) و متان‌زها (متانوژن‌ها) می‌باشند. در یک فرآیند بی‌هوازی، تمامی محصولات متابولیک هر مرحله، در مرحله

1. (Mudhoo, 2012)
2. (Berglund and Borjesson, 2006)
3. (Krautkremer et al., 2010)



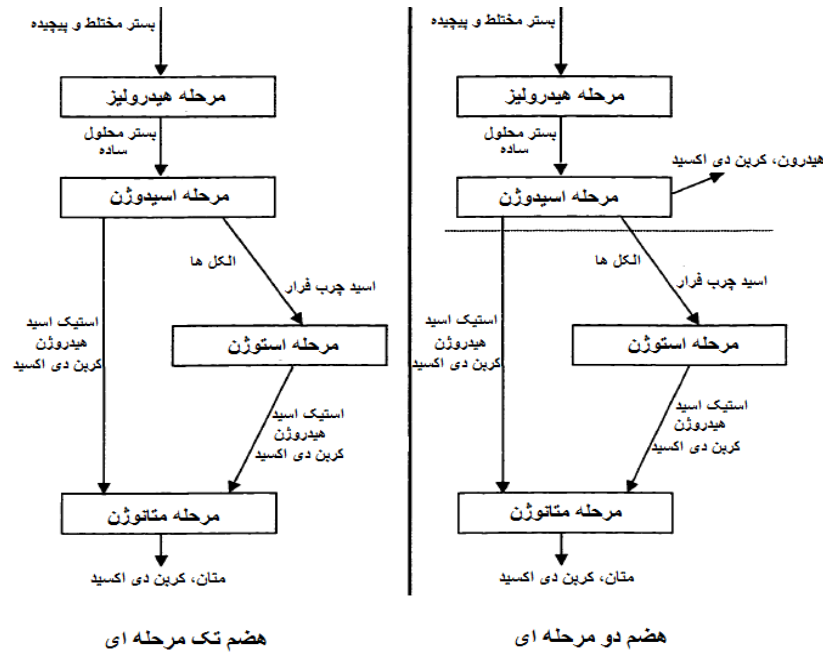
بعد به طور کامل مصرف می‌شوند (Tang *et al.*, 2011; Bouallagui *et al.*, 2005).

در کاربردهای معمولی (هاضم‌های تک مرحله‌ای)، میکروارگانیزم‌های تشکیل دهنده اسید و متان با هم در یک سیستم تک راکتوری نگه داشته می‌شوند و یک تعادل ظریف بین این دو گروه از موجودات زنده وجود دارد، زیرا هر دو گروه به طور گسترده‌ای به شرایط فیزیولوژی، نیازهای تغذیه‌ای، سینتیک متفاوت رشد و pH بهینه و حساسیت نسبت به شرایط محیطی متمایزند (Ghosh and Pohland, 1974; Gerardi, 2003) که این یکی از دلایل شکست راحت‌تر سیستم‌های تک مرحله‌ای در مقایسه با سیستم‌های چند مرحله‌ای است. این نقطه نظر ضعف قابل توجهی است به خصوص در مورد مواردی که تخریب و تجزیه با متان‌زایی سریع‌تر از هیدرولیز، محدود شده است (Gerardi, 2003) و اگر نرخ ورود از مقدار مشخص بالاتر رود تولید متان با مشکل مواجه می‌شود (Alvarez *et al.*, 1992). مهم‌ترین دلیل محدودیت هاضم‌های تک مرحله‌ای این است که در نرخ بارگذاری (OLR) بالاتر باعث توقف فرایند می‌گردد زیرا در این حالت اسیدهای چرب فرار^۱ (VFAs) انباشته می‌شوند (Ahring *et al.*, 1995). در طراحی هاضم‌های تک مرحله‌ای معمولی، مشکلاتی مانند عدم ثبات و کنترل، پژوهشگران را به راه حل‌های جدیدی سوق داده است.

Pohland and Ghosh (1971). ابتدا جدایی فیزیکی مراحل اسیدزایی و متان‌زایی در دو راکتور جداگانه را مطرح ساختند که در آن شرایط بهینه زیست‌محیطی برای هر گروه از موجودات به منظور افزایش ثبات روند کلی و کنترل فراهم گردد (دبیر^۲، ۲۰۰۰؛ حسین زاده، ۱۳۹۳). فرآیند دو مرحله‌ای از یک سوی به‌عنوان جداکننده فاز دمایی عمل می‌کند. به طوری که مرحله اول در درجه حرارت ترموفیلیک و مرحله دوم در دمای مزوفیلیک اداره می‌شود. در مرحله اول، نرخ واکنش بالاتر بوده و در نتیجه به حجم کمتری نیاز می‌باشد (Healy Schmit, 1998) و از سوی دیگر به‌عنوان جداکننده راکتور عمل می‌کنند یعنی مراحل هیدرولیز و اسیدزایی در یک پیکره و مراحل استات و متان‌زایی در یک پیکره دیگر صورت می‌گیرد (Fox and Pohland, 1994). شرایط محیطی برای راکتور اول متمایل به رشد میکروارگانیزم‌هایی است که قادر به شکستن پلیمرهای زیستی و آزادسازی اسیدهای چرب می‌باشند و به عنوان یک بافرمتابولیک از شوک pH و ساخت مواد سمی جلوگیری می‌کند به طوری که محصول راکتور اول به راکتور دوم که در آن متان‌زایی رخ می‌دهد منتقل می‌شود

-
1. Volatile fatty acids
 2. (DeBaere, 2000)

(DeBaere, 2000; solera *et al.*, 2002; Eastman and Ferguson, 1981). همچنین در هاضم‌های دومرحله‌ای وجود باکتری‌های مختلف غنی‌سازی در هاضم باعث افزایش ثبات شده و اجازه می‌دهد تا نرخ بارگذاری آلی^۱ بالاتر (OLR) و زمان ماند هیدرولیکی نسبت به هاضم تک مرحله معمولی کوتاه‌تر باشد (solera *et al.*, 2002). شکل ۱ تفاوت سیستم تک مرحله و دو مرحله‌ای را نشان می‌دهد.



شکل ۱. تفاوت سیستم تک مرحله‌ای و دو مرحله‌ای (Fox and Pohland, 1994)

هدف از پیکربندی به صورت دو فاز، افزایش فعالیت‌های هر یک از میکروارگانیسم‌ها در تخریب بی‌هوازی با بهینه‌سازی محیط برای هر فاز می‌باشد (Fox and Pohland, 1994). اسیدوژن‌ها، تولید کنندگان سریعی تحت شرایط مطلوب هستند. با این حال، فعالیت و رشد متانوژن‌ها در هاضم تک مرحله معمولی به دلیل نبود شرایط محیطی مطلوب عقب نگه‌داشته می‌شود (Ghosh *et al.*, 1975). مرحله‌بندی بیولوژیکی دارای مزایای بسیاری از جمله افزایش ثبات، تولید بالاتر متان، کوچک‌تر بودن اندازه هاضم و افزایش حذف بالقوه پاتوژن در صورت استفاده از دمای ترموفیلیک می‌باشد (Healy Schmit, 1998). با جدا کردن مراحل، شرایط مطلوب برای رشد اسیدوژن‌ها ارائه می‌گردد. (Chyi and Dague (1994)، pH بهینه برای اسیدوژن‌های سلولز ۵/۶ است و از طرفی دیگر هضم بی‌هوازی متعارف در محدوده pH بهینه ۷/۲-۶/۸ رخ می‌دهد که محدوده باکترهای متانوژن است (Chyi and Dague, 1994).

1. Organic loading rate

اولین مطالعات هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای توسط Ghosh *et al* (1975) با استفاده از لجن فاضلاب انجام گرفت. مخزن راکتور سیستم دو مرحله‌ای شامل دو راکتور CSTR^۱ در رده دمایی ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. فاز هیدرولیز/اسیدوژنیک در pH برابر با ۵/۷، زمان ماند هیدرولیکی^۲ HRTs از ۱۰ تا ۲۴ ساعت بود و راکتور مرحله دوم متان در زمان ماند ۵/۶ روز اداره شد. همچنین گزارش شد که هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای به کاهش سمیت اسیدهای چرب متانوژن‌ها کمک می‌کند (Dinopoulou and Lester, 1989). به‌طور کلی می‌توان گفت که برنامه‌های کاربردی سیستم هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای برای پسماندهای غذا به منظور حل و فصل مسائل مربوط به کنترل و مهار pH در سیستم تک مرحله‌ای، مؤثر واقع شده است. (Shen *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2011; Shin *et al.*, 2010; Klocke *et al.*, 2008; Dinsdapple *et al.*, 2000; Cho *et al.*, 1995) بنابراین فرایند و تأسیس هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای کارآمدتر می‌باشد. مزایا و معایب هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای در جدول ۲ نشان داده شده است (Fox and Pohland, 1994).

جدول ۲. مزایا و معایب هضم بی‌هوازی دو فازی (Fox and Pohland, 1994)

مزایا:
<ul style="list-style-type: none"> جداکردن و بهینه‌سازی پتانسیل برای منحصردن مراحل - تقویت هیدرولیز در طول مرحله اول - تقویت متانوژن‌ها در طول مرحله دوم بهبود سینتیک واکنش (سرعت واکنش‌های شیمیایی) و ثبات - کنترل PH در هر مرحله - کمک به ثبات راکتور در هنگام شوک بار - انتخاب و جداسازی برای رشد سریع‌تر میکروب‌ها
معایب:
<ul style="list-style-type: none"> - اختلال در روابط سینتروپی - سختی بیشتر در پیاده‌سازی، طراحی و کار - عدم اطمینان از ارتباط بین نوع بستر و پیکربندی راکتور

تاکنون مطالعات زیادی در مورد هاضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای با استفاده از زباله‌های مواد غذایی در ترکیب با مواد دیگر مانند زباله‌های میوه و سبزی (Lin *et al.*, 2012)، خمیر کاغذ و لجن کاغذ (Lin *et al.*, 2013)، و فضولات انسانی (Lim *et al.*, 2013)، که بهبود در عملکرد کلی هاضم بی‌هوازی را نشان داده‌اند.

1. Completely-Stirred Tank Reactor
2. Hydraulic retention time

اخیراً از لحاظ عملکرد تولید متان نیز مطالعاتی صورت گرفته که در برگیرنده بیشتر بودن مزایای استفاده از هاضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای نسبت به تک مرحله‌ای است نتایج مطالعات نشان داد که افزایش ۷٪ - ۱۵/۸٪ (shen *et al.*, 2013)، و ۱۲/۸ درصد (Nathao *et al.*, 2013) و ۲۳٪ (Lim *et al.*, 2013)، عملکرد متان در هاضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای در مقایسه با تک مرحله به دست آمد.

در آزمایشی، مخلوطی با ضریب ۱:۱ از (لجن فعال پسماند)^۱ PS:WAS (مواد جامد اولیه فاضلاب^۲) و همچنین WAS به تنهایی نیز در یک سیستم هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای مورد بررسی قرار گرفت. این سیستم شامل دو مخزن CSTRs فعال در رده دمایی ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. نتایج با هاضم تک مرحله‌ای CSTRs در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد مقایسه شد. پنج مطالعه با غلظت مواد بین TS ۲/۶-۴/۱٪ و زمان ماند سیستم از ۱۲ تا ۱۲/۷ روز انجام شد. فاز متان در زمان ماند ۱۰ روز و فاز اسیدوژن در محدوده زمان ماند ۲/۰-۲/۷ روز اداره شد. نتایج نشان داد که بازده تخریب^۳ VS در پردازش مخلوط PS و WAS با نسبت ۱:۱ برای فرایندهای دومرحله‌ای، ۱/۹-۶/۰ درصد بالاتر نسبت به فرایندهای تک مرحله‌ای بود. زمانی که WAS به صورت تنها اعمال شد، بهره‌وری تخریب VS تا ۸/۷ درصد بالاتر از هضم معمولی بود. (Bhattacharya *et al.*, 1996).

برنامه‌های کاربردی فرآیند هضم بی‌هوازی دو فاز برای ضایعات جامد شهری^۴ (MSW) و زباله‌های صنعتی بررسی شده است. امکان استفاده از فرآیند هضم بی‌هوازی دو فاز برای بخش آلی از زباله جامد شهری^۵ (OFMSW) و برای ضایعات جنگل و MSW به ترتیب توسط چکی و همکاران (۱۹۹۴) و هوپر و لی (۱۹۹۶)، مورد بررسی قرار گرفت. طی تحقیقی، حفظ پایداری عملیات را در حداکثر OLR، $7/9 \text{ Kg VS m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ، با حدود ۷۰٪ کاهش VS در هضم زباله‌های مواد غذایی زیست‌تخریب‌پذیر در مقیاس پایلوت به دست آمد (Lee *et al.*, 1999). همچنین تولید گاز ویژه به میزان $0/6 \text{ M}^3 \text{ kg}^{-1} \text{ TVS}$ در زمان ماند کلی ۱۲ روز در طول پردازش OFMSW نیز به دست آمد (Pavan *et al.*, 2000). در سیستم هضم دو فاز برای پسماند قهوه، عملکرد گاز $451 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ بود که ۲/۲ درصد کربن پسماند به بیوگاز تبدیل شد (Kida *et al.*, 1994).

1. Waste Activated Sludge (Secondary Solids)
2. Primary Wastewater Solids
3. Volatile Solids
4. Municipal Solid Waste
5. Organic Fraction of Municipal Solid Waste

(1998) Raynal *et al.*, ۸۷٪ حذف مواد آلی را در زمان‌ماند، ۱۷ روز و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از مواد خام گیاهی و سبزیجات به دست آوردند. (Vieitez and Ghosh, 1999)، باعث عدم توقف تخمیر اسیدوژنیک، با استفاده از بازچرخش فاضلاب راکتور متان در pH ۷/۵ راکتور اسیدی شدند. (Banks and Wang, 1999)، سیستم هضم دو فاز را برای پردازش ضایعات مخلوط کشتارگاه توسعه دادند. سیستم تحت بارگذاری کلی $3 \text{ kg TS M}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ، دارای نرخ تولید متان $1 \text{ kg}^{-1} \text{ TS}_{\text{added}}$ 0.27 M^3 متان و با ۶۳ درصد کاهش TS اجرا شد.

(2000) Paixao *et al.*، راکتور اسیدوژنیک CSTR و راکتور ترکیبی متانوژنیک (یک UASB و یک بستر ثابت) را برای پردازش پسماند صنایع غذایی استفاده کردند. این سیستم دو فاز، تولید بیوگازی با محتوای متان ۸۰٪ و کاهش COD به طور متوسط ۹۶٪ را به دست آورد. همچنین (O'Keefe and Chynoweth, 2000)، افزایش نرخ تجزیه و ثبات روند را با استفاده از سیستم هضم دو فاز مشاهده کردند.

با این حال، هضم بی‌هوازی دو فاز تنها برای انواع خاصی از مواد معدنی و آلی (سوبسترا) کارآمد خواهد بود. پیشنهاد شده است که تخریب فاضلاب سرشار از کربوهیدرات و اسیدهای چرب کم در یک سیستم دو فازی کارآمد خواهد بود، در مقابل برای پسماندهای دارای کربوهیدرات کم و اسیدهای چرب بالا صادق نیست. به طور معمول کربوهیدرات‌ها به درجه بالایی از اسیدی می‌رسند که باعث بی‌ثباتی در سیستم‌های تک مرحله‌ای می‌گردد. از این‌رو، استفاده از سیستم دو مرحله‌ای ممکن است برای درمان ضایعات دارای کربوهیدرات بالا، مانند مواد زائد جامد شهری سودمند باشد (Healy Schmit, 1998).

یکی از مزایای استفاده از این نوع پیکربندی، افزایش نرخ هیدرولیز در مرحله اول است. با افزایش هیدرولیز در مرحله اول، بازده کلی فرایند هضم می‌تواند بهبود یابد

(1991) Giraldo-Gomez, and Pavlostathis, 1981; Eastman and Ferguson, 1994; Chyi and Dague). استفاده از مفهوم مرحله‌بندی هضم بی‌هوازی برای اولین بار در تحقیقات پژوهشی هضم بی‌هوازی مواد جامد فاضلاب شهری تمرکز یافت. (Vandenburgh, 1998; Wilson and Dichtl, 1998; Han and Dague, 1997; Vik and Olsen, 1997; Ghosh *et al.*, 1995; Dichtl, 1997)

در زمینه فاضلاب و ضایعات شهری و صنعتی با تمرکز ویژه بر موضوعاتی از قبیل میکروبی‌شناسی، بهینه‌سازی فرآیند و کنترل برای هر فاز فرایند دو مرحله‌ای به صورت جداگانه تحقیقاتی صورت گرفته است که به خلاصه‌ای از آن پرداخته می‌شود.



میکروپوشناسی فاز اسیدزایی

برخی از میکروارگانیسم‌ها، آنزیم‌های مختلفی را ترشح می‌کنند که آن‌ها را به شکستن انواع مختلف مواد آلی قادر می‌سازد. سایر میکروارگانیسم‌ها، تخصصی می‌باشد. برای مثال، آنزیم‌هایی را ترشح می‌کنند که فقط قند یا پروتئین تجزیه شود. میکروارگانیسم‌ها که قادر به شکستن و تجزیه انواع قندهای مختلف هستند، ساکارولیتیک^۱ نامیده می‌شوند در حالی که پروتئولیتیک^۲ به آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین‌ها گفته می‌شود. جدول ۳ شامل برخی از گروه‌های مختلف آنزیم خارج سلولی می‌باشد (Schnurer and Jarvis, 2009).

جدول ۳. برخی از گروه‌های مهم آنزیم‌های هیدرولیتیک و عملکرد آن‌ها (Schnurer and Jarvis, 2009)

آنزیم	بستر	محصولات تجزیه
پروتئیناز	پروتئین	آمینو اسید
سلولاز	سلولز	سلوبیوز و گلوکز
همی سلولاز	همی سلولز	قندها، مانند گلوکز، گزیلوز، مانوز و آرابینوز
آمیلاز	نشاسته	گلوکز
لیپاز	چربی	اسیدهای چرب و گلیسرول
پکتیناز	پکتین	قندها، مانند گالاکتوز، آرابینوز و اسید پلی گالاکتیکورونیک

مورفولوژی لجن راکتور اسیدزا برای اولین بار توسط کوهن و همکاران^۳ (۱۹۷۹) مورد بررسی قرار گرفت. در هضم بی‌هوازی دومرحله‌ای گلوکز، که به عنوان یک بستر محلول ساده بود، باکتری‌های میله‌ای شکل طول متغیر مشاهده گردید که به خوبی از یکدیگر جدا می‌باشند. (Ng *et al.*, 1999)، تسلط باکتری‌های میله‌ای شکل در لجن راکتور اسیدزا با پیش تیمار نیتروبنزن، بی‌فنیل و هیدروکربن حاوی پلی نوکلئیر آروماتیک در فاضلاب را گزارش کردند همچنین لجن به رنگ زرد مایل به قهوه‌ای بود. تغییرات در جمعیت میکروبی راکتور اسیدزا CSTRs در تصفیه فاضلاب لینی مورد بررسی قرار گرفت. تعداد میکروارگانیسم‌های فاز اسیدزا در این عملیات تقریباً ثابت باقی ماند در حالی که تعداد زیادی از متان‌زها به شدت نسبت به پایان دوره راه‌اندازی کاهش یافت (Anderson *et al.*, 1994). (Ince and Ince (2000). به دنبال شناسایی گونه‌های میله‌ای متوسط به عنوان بیشترین گروه غالب، میله‌ای کوتاه و متانو کوکوس بودند در حالی حداقل گروه‌های غالب شناخته شده میکروارگانیسم فلامنتوس و متانو کوکوس مشاهده شدند.

1. saccharolytic
2. proteolytic
3. (Cohen *et al.*, 1979)

Penaud *et al.*, (1997) و Cha and Noike (1997)، اثر تغییرات زمان ماند و درجه حرارت را در تغییرات سطح جمعیت باکتریایی راکتور اسیدزا تأیید کردند. Penaud *et al.*, (1997)، مشاهده کردند که اشکال باکتریایی با توجه به تغییرات زمان ماند و درجه حرارت در طول مرحله اسیدوژن پسماند دارویی تغییر می کنند. Cha and Noike (1997)، نیز باکتری های بلند و باریک شکل را در زمان ماند ۴۸ ساعت مشاهده کردند در حالی که باکتری کوتاه و ضخیم شکل در زمان ماند کوتاه و دمای پایین مشاهده شد.

عمل بازچرخش شیرابه به داخل راکتور اسیدوژن، سطح جمعیت باکتریایی و فعالیت آن ها را تحت تأثیر قرار می دهد. تقریباً با شروع چرخش مایع، افزایش نه برابری در فعالیت های متانوژن ها گزارش شده است (Penaud *et al.*, 1997; Jarvis *et al.*, 1995). Kissalita *et al* (1989)، مشاهده کردند که حضور متانوژن کاهش دهنده هیدروژن^۱، نرخ تبدیل لاکتات و بوتیرات به استات را در تخمیر اسیدوژن لاکتوز تحت تأثیر قرار داده است.

بهینه سازی فرآیند، عملیات و کنترل فاز اسیدزای

در بسیاری از مطالعات اثرات زیست محیطی و عوامل فیزیکی مانند زمان ماند، pH، زمان ماند لجن^۲ (SRT)، درجه حرارت و بازچرخش در کارایی راکتورهای فاز اسیدزا مورد بررسی قرار گرفته است. اثرات HRT عمدتاً با استفاده از بسترهای مختلط و پیچیده ارزیابی شده است. Ghosh *et al* (1975)، عمل هاضم مزوفیلیک را با زمان ماند بین ۱۰ و ۲۴ ساعت برای لجن فاضلاب رضایت بخش دانستند، در حالی که Elefsiniotis and Oldham (1994)، گزارش کردند که حداکثر اسید چرب فرار (VFA)، نیاز به اکسیژن خواهی محلول شیمیایی^۳ (SCOD)، میزان تولید ویژه لجن و هضم مشترک لجن و نشاسته غنی فاضلاب صنعتی در زمان ماند نسبتاً طولانی ۳۰ ساعت می باشد.

Zoetemeyer *et al* (1982)، تأثیر pH بر اسیدوژن های بستر محلول ساده، مانند گلوکز را در محدوده ۴/۵-۷/۹ مورد مطالعه قرار دادند که pH راکتور اسید را در محدوده ۶/۰ ± ۰/۷ به منظور فراهم کردن شرایط پایدار و بیش از همه ایجاد یک بستر مطلوب برای راکتور متان، توصیه کرده اند در حالی که Elefsiniotis and Oldham (1994)، گزارش دادند که تغییر PH بین ۴/۳ و ۵/۲ بر

1. Hydrogen-reducing methanogens
2. Sludge retention time
3. Soluble chemical Oxygen Demand

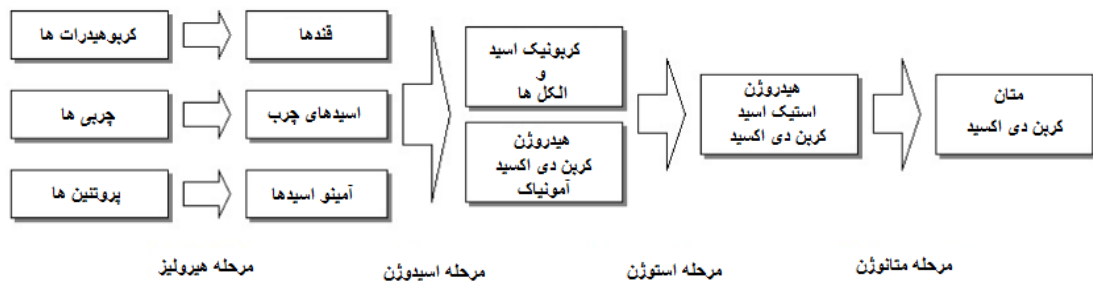
تولید VFA و SCOD تأثیر نمی‌گذارد، اما سطح بالاتر pH (۶/۲ - ۵/۹)، هر دو پارامتر را در اسیدوژن‌های بستر لجن اولیه تحت تأثیر قرار خواهد داد.

تغییرات در سطوح بالاتر ۶/۰-۸/۰ باعث غالب شدن جمعیت میکروبی در راکتور اسید می‌گردد (Horiuchi *et al.*, 1999). دمای ۴۵°C به عنوان درجه حرارت مطلوب برای پیش‌اسیدی شدن پسماند قهوه با تولید اسید استیک و اسید بوتیریک به ترتیب ۶۴٪ و ۳۶٪ آن‌هم به عنوان محصولات عمده مشخص گردید. عملیات مزوفیلیک (در ۳۷ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد) محصولات اسیدی با ثبات‌تری نسبت به ترموفیلیک (در ۵۵ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد) برای این نوع خاص از زباله، ارائه می‌دهد (Kozuchowska and Evison, 1995). Massey and Pohland (1978) پیشنهاد کردند که پروسه عملیات می‌تواند با بازچرخش شیرابه به راکتور فاز اسیدزا بهبود یابد. Jarvis *et al* (1995) گزارش دادند که چرخش شیرابه و مایع باعث افزایش قلیائیت در یک راکتور اسیدوژن محصول سیلوی شبدر و در نهایت باعث افزایش pH بین ۵/۲ - ۶/۰ می‌گردد.

فاز اسیدی لجن اولیه شهری و طیف گسترده‌ای از فاضلاب‌های صنعتی نیز در مطالعات مختلف از نظر بهینه‌سازی فرآیند مورد بررسی قرار گرفتند (Eastman and Ferguson (1981)، تعیین کردند که pH به شدت بر تولید کربن آلی محلول و توزیع VFA در فاز اسیدی مزوفیلیک هاضم CSTRs لجن اولیه اثر می‌گذارد. Banister and Pretorius (1998) نشان دادند که هضم مشترک و غلظت مواد جامد از جمله پارامترهای اضافی قابل توجه حاکم بر تولید VFA می‌باشند که می‌توان برای بهینه‌سازی عملکرد فاز اسیدی سیستم تخمیر لجن اولیه به کار برد. Alexiou *et al* (1994)، معیارهای عملیاتی و دستورالعمل‌های طراحی را برای راکتورهای پیش‌اسیدی ارائه دادند. گفته شد که تنها ۵۰٪ - ۴۰ ماده اسیدی باید به راکتور متان به جای کل ماده اسیدی تغذیه گردد.

فاز متان‌زایی

فاز متانوژن، یک قدم بسیار مهم در تمامی مراحل هضم بی‌هوازی است که به عنوان کندترین واکنش بیوشیمیایی نام برده می‌شود (Al Seadi *et al.*, 2008). شکل ۲ کل فرآیند بیوشیمیایی را نشان می‌دهد.



شکل ۲. مراحل کلیدی فرآیند بیوشیمیایی هضم بی‌هوازی (Al Seadi *et al.*, 2008)

میکروبیولوژی فاز متان‌زایی

مطالعات محدودی به منظور بررسی جنبه‌های میکروبیولوژیکی راکتورهای متان انجام شده است. Cohen *et al.* (1979) مشاهدات میکروسکوپی را بر روی لجن راکتور متان در طول فاز تخمیر متان انجام دادند، تخریب VFAs از لحاظ میکروبیولوژیکی توسط Lin *et al.* (1986) و Aguilar *et al.* (1995) مورد بررسی قرار گرفت. در طول تخمیر متان مخلوطی از VFAs (استیک، اسید پروپیونیک و بوتیریک) و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و به شکل جریان پیوسته، مشاهده گردید که باکتری‌های میله‌ای شکل در محدوده $10^8 - 10^9 \text{ cm}^{-3}$ ، غالب بر کل هاضم متان بودند (Lin *et al.*, 1986).

Yoda *et al.* (1987)، رقابت بین باکتری‌های تولید متان^۱ (MPB) و باکتری‌های کاهش دهنده سولفات^۲ (SRB) را مورد بررسی قرار دادند، در حالی که Gorris *et al.* (1989)، ترکیب بیوفیلم در راکتور بستر سیال^۳ (FBRs) را مورد بررسی قرار دادند. تحت رشد محدود استات‌ها، میکروارگانیسم‌های شبه متانوتریکس متصل به سطح باکتری‌های واسطه‌ای و کوکسی در راکتور FBR با تغذیه استات، در حال رشد بودند، در حالی که در غلظت بالاتر استات، هر دو باکتری میله‌ای و کوکسی در بیوفیلم ظاهر شدند (Yoda *et al.*, 1987). همچنین Gorris *et al.* (1989) گزارش کردند که بیوفیلم متان بیشتر شامل متانوتریکس‌ها در راکتور FBR تحت تغذیه مخلوطی از استات، پروپیونات و بوتیرات بود. علاوه بر حضور متانوتریکس‌ها، به نظر می‌رسد که متانوسارکینا و میکروارگانیسم‌های به شدت فلورسنت نوع متانوباکتریوم نیز در تمام لجن موجود باشند.

Zhang and Noike (1991)، فرآیندهای هضم بی‌هوازی دو فاز و تک فاز معمولی را از نظر سطح جمعیت باکتریایی مقایسه کرده و مشاهده کردند که تعداد متانوژن‌های مصرف کننده استات در فاز متان سیستم‌های هضم بی‌هوازی دو فاز ۱۰-۲ برابر بیشتر از

1. Methane-producing bacteria
2. Sulfate-producing bacteria
3. Fluidized bed reactors

سیستم تک فاز معمولی بود. به گفته Anderson *et al* (1994)، تغییرات جزئی در جمعیت باکتریایی از نظر تعداد و ترکیب در هنگام راه‌اندازی راکتور رخ داد و تعداد متانوژن قابل زیست در پساب فیلتر با توجه به تغییرات OLR متفاوت بوده است. در مطالعه‌ای، برتری متانوتریکس‌ها را در یک راکتور متان ترکیبی (یک UASB با بستر ثابت) در طی هضم بی‌هوازی دو فازی از ضایعات صنایع غذایی گزارش شد (Paixao *et al.*, 2000).

بهینه‌سازی فرآیند، عملیات و کنترل فاز متان‌زا

در مطالعات مختلف، تخریب VFAs در پیکربندی‌های مختلف راکتور متان از نظر عملکرد راکتور رضایت‌بخش بوده است. Lin *et al* (1986)، در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد هضم متان را با مخلوطی از استیک، اسید پروپیونیک و بوتیریک در یک سیستم جریان پیوسته با نسبت ۲:۱:۱ (بر اساس COD) به عنوان سوبسترا مورد بررسی قرار دادند. تغذیه با غلظت بالای سوبسترا mg dm^{-3} COD ۷۰۰۰ و در HRT ۴/۴۳ روز انجام شد که به نظر رسید تولید متان به صورت مستقل نسبت به غلظت بستر و زمان‌ماند بود. در حالت بارگذاری بوتیرات $10 g COD dm^{-3} d^{-1}$ ، یعنی زمانی که راکتور بستر سیال تنها با بوتیرات تغذیه گردید بیش از ۹۷٪ حذف COD در دمای $37^{\circ}C$ به دست آمد (Labib *et al.*, 1992). اثرات استات، پروپیونات و بوتیرات در تبدیل پروپیونات در راکتور UASB ترموفیلیک متان توسط Van Lier *et al* (1993)، شرح داده شد. پارامتر کنترل سطح هیدروژن در راکتور بیوگاز ترموفیلیک برای تخریب پروپیونات مناسب نبود. Van Lier *et al* (1994)، نرخ حذف COD بیش از ۹۰٪ را در زمان‌ماند ۲-۲/۵ ساعت برای پردازش فاضلاب اسیدی در راکتور USSB به دست آورد.

Van Lier *et al* (1996)، همچنین گزارش دادند که اثر دما بر عملکرد راکتور متان UASB ترموفیلیک با توجه به افزایش میزان بارگیری کارا و مفید بوده است.

نتیجه‌گیری

سیستم‌های دو یا چند مرحله‌ای به علت اینکه برای هر مرحله، راکتورهای جداگانه‌ای اختصاص می‌یابد، شرایط هضم بهینه و کنترل و بررسی فاکتورهای فرایند در آن‌ها بهتر انجام می‌گیرد. علاوه بر این نیز هضم بی‌هوازی دو فاز تنها برای انواع خاصی از مواد معدنی و آلی (سوبسترا) کارآمد خواهد بود؛ بنابراین پیشنهاد شده است که تخریب فاضلاب دارای کربوهیدرات و اسید چرب

کم در سیستم دو فاز، کارآمد خواهد بود و در مقابل برای پسماندهای دارای کربوهیدرات کم و اسیدهای چرب بالا صادق نیست، به طور معمول کربوهیدرات‌ها به درجه بالایی از اسیدی می‌رسند که باعث بی‌ثباتی در سیستم‌های تک مرحله‌ای می‌گردد. به عبارتی سیستم‌های دو مرحله‌ای برای پردازش ضایعات دارای کربوهیدرات بالا مانند مواد زائد شهری سودمند می‌باشد. به طور کلی می‌توان گفت که برنامه‌های کاربردی سیستم هضم بی‌هوازی دو مرحله‌ای برای پسماندهای غذا به منظور حل و فصل مسائل مربوط به کنترل و مهار pH در سیستم تک مرحله‌ای، مؤثر واقع شده است.

منابع

- وب سایت سازمان انرژی‌های نو ایران (سانا)، آخرین بازدید بهمن ماه ۱۳۹۴. www.sun.org.ir
- هاشمی پور، ف. بازگیری، ب. موسوی، ح. قنازاده تفتی، ا (۱۳۹۴). «فناوری بیوگاز از جنبه‌های اقتصادی-اجتماعی و زیست‌محیطی». کنفرانس بین‌المللی علوم، مهندسی و فناوری‌های محیط‌زیست، تهران، دانشکده محیط‌زیست دانشگاه تهران.
- رحیمی سرداری، ف. حاجی آقاعلیزاده، ح. احمدی، ا؛ و باریکلو، ح (۱۳۹۱). «ارائه راهکارها و روش‌های مختلف به منظور سرعت بخشیدن فرآیند هضم و افزایش تولید بیوگاز در جاذب‌های بی‌هوازی و بهینه کردن تولید بیوگاز در این سیستم‌ها». اولین همایش ملی توسعه پایدار کشاورزی و محیط‌زیست سالم، همدان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، شرکت هم اندیشان محیط‌زیست.
- Aguilar A, Casas C and Lema JM. 1995. Degradation of volatile fatty acids by differently enriched methanogenic cultures: kinetics and inhibition. *Wat Res* 29:505-509.
- Ahring, B.K., Sandberg, M and Angelidaki, I. 1995. Volatile fattyacids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*43: 559-565.
- Alexiou IE, Anderson GK and Evison LM. 1994. Design of preacidification reactors for the anaerobic treatment of industrial wastewaters. *Wat Sci Tech* 29:199-204.
- Al Sadi, T., Ruiz, D., Prassl, H., Kottner, M., Finsterwaldes, T., Volke, S. and Janssens, R. 2008. *Handbook of Biogas*. University of Southern Denmark, Esbjerg
- Alvarez, M.J., Cecchi, F., Llabres, P and Pavan, P. 1992. Anaerobic digestion of the Barcelona central food market organic waste: experimental study. *Bioresource Technology*.39: 39-48.

- Anderson GK, Kasapgil B and Ince O. 1994. Microbiological study of two-stage anaerobic digestion during start-up. *Wat Res* 28:2383-2392.
- Banks CJ and Wang Z. 1999. Development of two phase anaerobic digester for the treatment of mixed abattoir wastes. *Wat Sci Tech* 40:69-76.
- Banister SS and Pretorius WA. 1998. Optimisation of primary sludge acidogenic fermentation for biological nutrient removal. *Wat SA* 24:35-41
- Berglund, M and Borjesson, P. 2006. Assessment of Energy Performance in the Life-Cycle of Biogas Production, *Biomass and Bioenergy*.254-266.
- Bhattacharya, S.K., R.L. Madura, D.A. Walling and J.B. Farrell. 1996. "Volatile Solids Reduction in Two-Phase and Conventional Anaerobic Sludge Digestion," *Wat. Res.*30(5): 1041-1048.
- Bouallagui, H., Touhami, Y., BenCheikh, R and Hamdi, M. 2005. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *journal of Process Biochemistry*.40: 989-995.
- Cecchi F, Battistoni P, Pavan P, Fava G and Mata-Alvarez J. 1994. Anaerobic digestion of OFMSW (Organic fraction of municipal solid waste) and BNR (Biological nutrient removal processes—a possible integration—preliminary results. *Wat Sci Tech* 30:65-72.
- Cha, G.C and Noike, T. 1997. Effect of rapid temperature change and HRT on anaerobic acidogenesis. *Wat Sci Tech* 36:247-253.
- Cho, J.K., Park, S.C., Chang, H.N. 1995. Biochemical methane potential and solid state anaerobic digestion of Korean food wastes. *Bioresource Technology*.52: 245-253.
- Cohen A, Zoetemeyer RJ, Van Deursen A and Van Andel JG. 1979. Anaerobic digestion of glucose with separated acid production and methane formation. *Wat Res* 13:571-580
- Chyi, Y.T and Dague, R.R. 1994. Effects of Particle Size in Anaerobic Acidogenesis using Cellulose as a Sole Carbon Source, *Wat. Env. Res.* 66(5): 670-678.
- DeBaere, I. 2000. Anaerobic digestion of solid waste: State of the art. *Water science and technology*.47: 283-290.

- Dichtl, N. 1994. Thermophilic and Mesophilic (Two-Stage) Anaerobic Digestion, *Proceedings of the IWEM symposium: Innovative Technologies for Sludge Utilization and Disposal*, Chester, UK.
- DinopoiUou, G. and J.N. Lester. 1989. Optimization of a Two-Phase Anaerobic Digestion System Treating a Complex Wastewater, *Env. Tech. Lett.* 10: 799-814.
- Dinsdapple, R.M., Premier, G.C., Hawkes, F.R and Hawkes, D.L. 2000. Two-stage anaerobic co-digestion of waste activated sludge and fruit/vegetable waste using inclined tubular digesters. *Bioresource Technology*.72: 159-168.
- Eastman, J.A and Ferguson, J.F. 1981. Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *J. Water Pollut. Control. Fed.*53: 352-366.
- Elefsiniotis P and Oldham WK. 1994. Effect of HRT on acidogenic digestion of primary sludge. *J Environ Eng* 120:645-660.
- Fox, P. and F.G. Pohland. 1994. Anaerobic Treatment Applications and Fundamentals: Substrate Specificity During Phase Separation, *Wat. Env. Res.* 66(5): 716-724
- Gerardi, M.H. 2003. The microbiology of anaerobic digesters. Jhon wiley & sons, Inc. Hoboken.
- Ghosh S and Pohland FG. 1974. Kinetics of substrate assimilation and product formation in anaerobic digestion. *Journal WPCF* 46:748-759.
- Ghosh, S.K. Buoy, L. Dressel, T. Miller, G. Wilcox and D. Loos. 1995. Pilot and Full Scale Two Phase Anaerobic Digestion of Municipal Sludge, *Wat. Env. Res.* 67(2): 206-214.
- Ghosh, S., J.R. Conrad and D.L. Klass. 1975. Anaerobic Acidogenesis of Wastewater Sludge, *J. WPCF*47(1): 30-45.
- Gorris LGM, Van Deursen JMA, Van der Drift C and Vogels GD. 1989. Biofilm development in laboratory methanogenic fluidized bed reactors. *Biotechnol Bioeng* 33:687-693.
- Han, Y. and R. R. Dague. 1997. Laboratory Studies on the Temperature-Phased Anaerobic Digestion of Domestic Wastewater Sludge, *Wat. Env. Res.* 69(6): 1139-1143.

- Healy Schmit, K. 1998. Comparison of temperature-phased, two phase, and single stage anaerobic co-digestion of municipal solid waste and primary wastewater solids. Retrospective Theses and Dissertations. Iowa State University
- Hooper RJ and Li J. 1996. Summary of the factors critical to the commercial application of bioenergy technologies. *Biomass Bioenerg* 11:469-474.
- Horiuchi J, Shimizu T, Kanno T and Kobayashi M. 1999. Dynamic behaviour in response to pH shift during anaerobic acidogenesis with a chemostat culture. *Biotechnol Techniques* 13:155-157.
- Ince BK and Ince O. 2000. Changes to bacterial community make-up in a two-phase anaerobic digestion system. *J Chem Technol Biotechnol* 75:500-508.
- Jarvis A, Nordberg A, Mathisen B and Svensson BH. 1995. Stimulation of conversion rates and bacterial activity in a silage-fed two-phase biogas process by initiating liquid recirculation. *Anton Leeuw Int J G* 68:317-327.
- Jewell WJ. 1987. Anaerobic sewage treatment. *Environ Sci Technol* 21:14-21.
- Kida K, Teshima M, Sonoda Y and Tanemura K. 1994. Anaerobic digestion of coffee waste by 2-phase methane fermentation with slurry-state liquefaction. *J Ferment Bioeng* 77:335-338
- Kissalita WS, Lo KV and Pinder KL. 1989. Influence of dilution rate on the acidogenic phase products distribution during two-phase lactose anaerobiosis. *Biotechnol Bioeng* 34:1235-1250.
- Klocke, M., Nettmann, E., Bergmann, I., Mundt, K., Souidi, K., Mumme, J and Bernd L. 2008. Characterization of the methanogenic Archaea within two-phase biogas reactor systems operated with plant biomass. *Syst. Appl. Microbiol.*31: 190-205.
- Kozuchowska J and Evison LM. 1995. VFA production in preacidification systems without pH control. *Environ Technol* 16:667-675.
- Krautkremer, B., Schunemeyer, F., Hoffstede, U and Lensch, D. 2010. Assessment report on testing of packed digester and ultrasonic disintegration. Fraunhofer IWES CO.

- Labib F, Ferguson JF, Benjamin MM, Merigh M and Ricker NL. 1992. Anaerobic butyrate degradation in fluidized bed reactor: effects of increased concentrations of H₂ and acetate. *Environ Sci Technol* 26:369-376.
- Lee JP, Lee JS and Park SC. 1999. Two-phase methanization of food wastes in pilot-scale. *Appl Biochem Biotechnol* 77:585-593.
- Lim, J.W., Chen, C.L., Ho, I.J.R and Wang, J.Y. 2013. Study of microbial community and biodegradation efficiency for single- and two-phase anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Bioresource Technology*.147: 193.
- Lin CY, Sato K, Noike T and Matsumoto J. 1986. Methanogenic digestion using mixed substrate of acetic, propionic and butyric acids. *Wat Res* 20:385-394.
- Li, Y., Park, S.Y and Zhu, J. 2011. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renew. Sustain. Energy Rev.*15: 821-826.
- Lin, J., Zuo, J., Ji, R., Chen, X., Liu, F., Wang, K and Yang, Y. 2012. Methanogenic community dynamics in anaerobic co-digestion of fruit and vegetable waste and food waste. *J. Environ. Sci.*24: 1288-1294.
- Lin, Y.Q., Wu, S.B and Wang, D.H. 2013. Hydrogen-methane production from pulp & paper sludge and food waste by mesophilic/thermophilic anaerobic co-digestion. *Int. J. Hydrogen Energy*.38: 15055-15062.
- Massey ML and Pohland FG. 1978. Phase separation of anaerobic stabilization by kinetic controls. *J WPCF* 50:2204-2222.
- Mudhoo, A. 2012. Biogas production pretreatment methods in anaerobic digestion. University of Mauritius, Réduit, Mauritius: Scrivener Publishing LLC.
- Nathao, C., Sirisukpoka, U and Pisutpaisal, N. 2013. Production of hydrogen and methane by one and two stage fermentation of food waste. *Int. J. Hydrogen Energy*.38: 15764-15769.
- Ng WJ, Hu JY, Ong SL and Aziz MA. 1999. Effect of acidogenic stage on aerobic toxic organic removal. *J Environ Eng* 120:645-660.

- Noorollahi, Y., Kheirrouz, M., Asl, H.F., Yousefi, H and Hajinezhad, A. 2015. Biogas production potential from livestock manure in Iran. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.50: 748-754.
- O'Keefe DM and Chynoweth DP. 2000. Influence of phase separation, leachate recycle and aeration on treatment of municipal solid waste in simulated landfill cells. *Bioresource Technol* 72:55-66.
- Paixao MA, Tavares CRG, Bergamasco R, Bonifacio ALE and Costa RT. 2000. Anaerobic digestion from residue of industrial cassava industrialization with acidogenic and methanogenic physical separation process. *Appl Biochem Biotechnol* 84:809-819.
- Pavan P, Battistoni P, Cecchi F and Mata-Alvarez J. 2000. Two-phase anaerobic digestion of source sorted OFMSW (Organic fraction of municipal solid waste): performance and kinetic study. *Wat Sci Tech* 41:111-118.
- Pavlostathis, S.G. and E. Giraldo-Gomez, 1991. "Kinetics of Anaerobic Treatment: A Critical Review," *Crit. Rev. Env. Cont.* 21(5,6): 411-490.
- Penaud V, Delgenes JP, Torrijos M, Moletta R, Vanhoutte B and Cans P. 1997. Definition of optimal conditions for the hydrolysis and acidogenesis of a pharmaceutical microbial biomass. *Proc Biochem* 125:515-521.
- Pohland FG and Ghosh S. 1971. Developments in anaerobic stabilization of organic wastes the two-phase concept. *Envir Letters* 1:255-266.
- Raynal J, Delgenes JP and Moletta R. 1998. Two-phase anaerobic digestion of solid wastes by a multiple liquefaction reactors process. *Bioresource Technol* 65:97-103.
- Schnurer, A. and Jarvis, A. 2009. *Microbiological Handbook for Biogas Plant*. Swedish Waste Management, Swedish Gas Centre, Malmö, 1-74.
- Shen, F., Yuan, H., Pang, Y., Chen, S., Zhu, B., Zou, D., Liu, W., Ma, J., Yu, L and Li, X. 2013. Performances of anaerobic co-digestion of fruit & vegetable waste (FVW) and food waste (FW): Single-phase vs. two-phase. *Bioresource Technology*.144: 80-85.

Shin, S.G., Han, G., Lim, J., Lee, C and Hwang, S.A. 2010. Comprehensive microbial insight into two-stage anaerobic digestion of food waste-recycling wastewater. *Water Res.*44: 4838-4849.

Solera, R., Romero, L and Sales, D. 2002. The evolution of biomass in a two-phase anaerobic treatment process during start-up. *Chem. Biochem. Eng. Q.*16: 25-30.

Tang, Y.Q., Ji, P., Hayashi, J., Koike, Y., Wu, X.L and Kida, K. 2011. Characteristic microbial community of a dry thermophilic methanogenic digester: its long-term stability and change with feeding. *Appl Microbiol Biotechnol* 2011.91: 1447-61.

Vandenburgh, S.R. 1998. *Temperature Phased Anaerobic Digestion (TPAD) of thickened wastewater biosolids*. M.S. thesis, Iowa State University, Ames, IA.

Van Lier JB, Grolle KCF, Frijters CTMJ, Stams AJM and Lettinga G. 1993. Effects of acetate, propionate, and butyrate on the thermophilic anaerobic degradation of propionate by methanogenic sludge and defined cultures. *Appl Environ Microbiol* 59:1003-1011.

Van Lier JB, Boersma F, Debets MMWH and Lettinga G. 1994. High rate thermophilic anaerobic wastewater treatment in compartmentalized upflow reactors. *Wat Sci Tech* 30:251-261.

Van Lier JB, Martin JLS and Lettinga G. 1996. Effect of temperature on the anaerobic thermophilic conversion of volatile fatty acids by dispersed and granular sludge. *Wat Res* 30:199-207.

Van Starckenburg W. 1997. Anaerobic treatment of wastewater: state of the art. *Microbiology* 66:589-596.

. Vieitez ER and Ghosh S. 1999. Biogasification of solid wastes by two-phase anaerobic fermentation. *Biomass Bioenerg* 16:299-309.

Vik, T.E. and C.T. Olsen. 1997. Full scale operation of temperature-phased anaerobic digestion, *WEFTEC'97 70th Annual Conference*, Water Environment Federation, Chicago, IL.



Wilson, T.E. and N.A. Dichtl. 1998. Two phase anaerobic digestion: an assessment, *Proceedings of the WEF Biosolids Specialty Conference*, Bellevue, WA.

Yoda M, Kitagawa M and Miyaji Y. 1987. Long term competition between sulfate-reducing and methane producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm. *Wat Res* 12:1547-1556.

Zhang TC and Noike T. 1991. Comparison of one-phase and two-phase anaerobic digestion processes in characteristics of substrate degradation and bacterial population levels. *Wat Sci Tech* 23:1157-1166.

Zoetemeyer RJ, Van Den Heuvel JC and Cohen A. 1982. pH influence on acidogenic dissimilation of glucose in an anaerobic digester. *Wat Res* 16:303-313.