

Peningkatan Pencuraian Efluen Kilang Kelapa Sawit (POME) Berasid dan Penghasilan Biogas melalui Pengayaan Kultur Pemula

(Improved Acidified Palm Oil Mill Effluent (POME) Digestion and Biogas Production through Starter Culture Enrichment)

NAQIBAH BALQIS BADRULZAMAN¹, NAZLINA HAIZA MOHD YASIN^{1,*}, NUR HAZLIN HAZRIN-CHONG¹
& PEER MOHAMED ABDUL²

¹*Jabatan Sains Biologi dan Bioteknologi, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

²*Jabatan Kejuruteraan Kimia dan Proses, Fakulti Kejuruteraan dan Alam Bina, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

Diserahkan: 11 Jun 2025/Diterima: 24 Ogos 2026

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: nazlinayasin@ukm.edu.my

ABSTRAK

Efluen kilang kelapa sawit (POME) adalah antara penyumbang terbesar kepada pencemaran alam sekitar kerana Malaysia merupakan antara pengeksport minyak sawit terbesar di dunia. Sistem kolam terbuka untuk rawatan POME merupakan sistem konvensional yang menyumbang kepada pelepasan gas rumah hijau yang tidak terkawal, selain memerlukan masa rawatan yang panjang. Oleh itu, kajian ini bertujuan untuk membangunkan kultur pemula melalui proses pencernaan anaerobik (AD) dengan menggunakan POME berasid bagi memendekkan masa rawatan dan meningkatkan penghasilan biogas dan gas metana. Dalam kajian ini, pengayaan kultur dengan sistem suapan berkala POME berasid dilakukan dengan masa penempatan hidraulik (HRT) selama 30 hari sehingga mencapai kestabilan penghasilan biogas dan gas metana. Hasil kajian menunjukkan berlakunya peningkatan dalam penghasilan biogas dan gas metana antara hari ke-28 hingga 72 semasa proses pengayaan kultur pemula bagi penyediaan kultur metanogenik. Peningkatan gas metana berkait dengan pengurangan kepekatan asid asetik yang menandakan terdapatnya peningkatan aktiviti metanogen dan kestabilan sistem AD. Kesimpulannya, melalui pengayaan kultur metanogen, kandungan biogas dan gas metana meningkat dalam tempoh HRT yang singkat sekali gus mengurangkan pengumpulan asid lemak meruap yang membawa kepada perencatan proses AD.

Kata kunci: Kultur pemula; metanogen; pencernaan anaerobik; POME

ABSTRACT

Palm oil mill effluent (POME) is one of the largest contributors to environmental pollution, as Malaysia is one of the world's largest exporters of palm oil. Open pond systems for POME treatment are conventional systems that contribute to uncontrolled greenhouse gas emissions with longer retention times. Therefore, this study aims to develop starter cultures through anaerobic digestion (AD) using acidified POME to shorten the treatment time and enhance biogas and methane yield. In this study, the enriched culture was fed with the acidic POME with a hydraulic retention time (HRT) of 30 days until the production of biogas and methane gas stabilised. The results indicate that biogas and methane production increased from day 28 to day 72 during the starter culture enrichment process for the preparation of a methanogenic culture. The increase in methane gas is corresponded to the decrease of acetic acid concentration, indicating the methanogens activity and AD system stabilisation. In conclusion, enriching the methanogen culture led to increased biogas and methane production under a short HRT period while reducing the accumulation of volatile fatty acids, which can otherwise inhibit the AD process.

Keywords: Anaerobic digestion; methanogen; POME; start-up culture

PENGENALAN

Strategi pengayaan mikrob melibatkan pengubahsuaian komposisi media dan faktor persekitaran supaya sesuai dengan keperluan pertumbuhan mikroorganisma yang

diingini dalam keadaan terkawal. Kaedah ini membantu memperbanyakkan mikroorganisma sasaran kerana keadaan persekitaran hanya sesuai untuk pertumbuhan organisma tertentu sahaja (Asano & Kaul 2012; Madhuri

et al. 2019). Matlamat utama pengayaan mikrob adalah untuk mendapatkan populasi mikrob yang mampu menjalankan tindak balas metabolik tertentu agar dapat meningkatkan produktiviti sesuatu proses. Melalui strategi ini, jumlah mikroorganisma sasaran yang cukup banyak dapat meningkatkan kelancaran proses dan membolehkan komuniti mikrob menyesuaikan diri dengan penambahan substrat baharu (Gu 2021; Leandro et al. 2018).

Efluen kilang kelapa sawit (POME) merupakan salah satu sisa yang paling banyak dihasilkan dari ladang kelapa sawit yang terdiri daripada pelbagai bahan terampai. POME yang terhasil melalui proses rawatan minyak sawit mentah dan isirong sawit di ladang kelapa sawit adalah membimbangkan kerana ia berpotensi mencemarkan alam sekitar serta mengancam ekosistem kehidupan (Mohammad et al. 2021). Sebanyak 147.78 juta liter sisa POME dihasilkan setiap tahun oleh kilang kelapa sawit di Malaysia (Ahmad et al. 2024). POME dilaporkan mengandungi 100 kali lebih tinggi bahan organik berbanding sisa kumbahan perbandaran (Erhons, Odegwa & Beckley 2024; Kamyab et al. 2018). Sisa organik dalam POME mengandungi bahan berasid dengan julat pH antara 4-5, menghasilkan bau yang tidak menyenangkan dengan nilai permintaan oksigen kimia (COD) dan permintaan oksigen biologi (BOD) yang tinggi, menyebabkannya menjadi toksik kepada alam sekitar sekiranya tidak dirawat dengan berkesan.

POME berupa cecair likat berwarna perang yang mengandungi 95-96% air dan 0.6-0.7% minyak serta 2-4% pepejal terampai daripada sumber sisa buah dan dikenali sebagai bahan tidak beracun (Mohammad et al. 2021). POME juga mengandungi nitrogen (200-500 mg/L), fosforus (100-300 mg/L) dan unsur surih pada tahap sederhana yang boleh dimanfaatkan untuk penghasilan biogas, sekali gus menukar sisa kepada sumber tenaga yang berharga (Akuma, Yazdi & Eze 2026). Selain itu, penggunaan kaedah konvensional iaitu melalui sistem kolam terbuka boleh menyebabkan gas metana dilepaskan ke atmosfera, seterusnya menyumbang kepada pelepasan gas rumah hijau. Walaupun kaedah kolam terbuka ini memerlukan tenaga operasi yang rendah dan kos efektif, namun proses ini melibatkan masa retensi yang lebih panjang (20-60 hari) dan kawasan yang besar (Zainal et al. 2020).

Oleh kerana kandungan bahan organik adalah tinggi di dalam POME, kaedah pencernaan anaerobik (AD) adalah kaedah yang paling sesuai digunakan. AD merupakan proses penguraian bahan organik menggunakan mikroorganisma tanpa kehadiran oksigen untuk menghasilkan biogas. Komponen utama biogas iaitu gas metana boleh digunakan sebagai bahan api untuk pembakaran enjin bagi menghasilkan tenaga elektrik (Zainal et al. 2020). Dalam proses AD, bakteria metanogenik bertanggungjawab untuk mengurai asid organik di dalam POME kepada gas metana. Sebanyak 20 hingga 28 m³ gas metana boleh dihasilkan daripada pencernaan 1 m³ POME. Selain itu, sebanyak 1.8-2

kW/jam tenaga elektrik boleh dihasilkan daripada 1 m³ biogas, yang menyamai kecekapan 25% penjaan kuasa daripada nilai haba. Kecekapan ini merujuk kepada bahagian tenaga kimia dalam 1 m³ biogas yang berjaya ditukar menjadi tenaga elektrik (Ohimain & Izah 2017). Namun begitu, keberkesanan AD bergantung kepada kestabilan dan kecekapan konsortium mikroorganisma yang terlibat untuk menguraikan bahan organik ini dengan berkesan (Zoebashia et al. 2025).

Kultur pemula adalah kunci utama dalam memastikan proses pencernaan anaerobik yang berjaya (Sulaiman et al. 2010). Ia membantu menyediakan komuniti mikroorganisma yang stabil bagi memastikan kecekapan dalam proses AD yang seterusnya. Ini kerana mikroorganisma anaerobik yang diberi suapan beban organik yang tinggi seperti POME perlu cekap dalam menukar sisa tersebut kepada produk. Oleh itu, semasa penyediaan kultur pemula, komuniti mikroorganisma ini akan melalui fasa penyesuaian supaya penghasilan gas metana dapat dipertingkatkan (Yan et al. 2023). POME berasid mentah yang terhasil daripada kilang mengandungi campuran komuniti bakteria metanogenik dan bakteria bukan metanogenik. Oleh itu, masa yang panjang diperlukan bagi mengaktifkan bakteria metanogenik. Proses pencernaan anaerobik tidak boleh bermula dengan kadar pemuatan organik (OLR) yang tinggi di peringkat awal kerana pertumbuhan bakteria metanogenik akan terganggu seterusnya menjejaskan prestasi AD. Proses AD menggunakan POME lazimnya memerlukan kira-kira 90 hari untuk mencapai penghasilan biogas yang tinggi dan penyingkiran COD yang cekap (Hamzah et al. 2019).

Antara kajian terkini yang telah menjalankan proses pengayaan kultur bakteria metanogenik dalam proses AD adalah dengan menggunakan kaedah bioaugmentasi dan integrasi sel elektrolisis mikroorganisma (MEC). Kaedah bioaugmentasi yang telah dilakukan dengan memperkaya bakteria proteolitik dan menggabungkannya dengan arkea berdaya tahan terhadap ammonia iaitu *Methanoculleus bourgensis* untuk meningkatkan produktiviti biogas (Agostini et al. 2024). Selain itu, bakteria elektroaktif yang diperkaya dalam sistem MEC menjadikan proses pemindahan elektron lebih berkesan dan meningkatkan penghasilan biogas (Ao et al. 2024). Namun begitu, kajian lepas tidak memfokuskan terhadap kestabilan sistem AD dan komuniti bakteria metanogenik untuk jangka masa panjang. Tambahan pula, keberkesanan pengayaan di bawah substrat campuran atau kompleks, seperti sisa makanan yang digabungkan dengan sisa pertanian, masih belum dinilai secara sistematik.

Dalam kajian ini, pengayaan kultur pemula telah dilakukan menggunakan sampel POME untuk meningkatkan penghasilan biogas dan gas metana dalam proses AD. Kemudian, peningkatan jumlah biogas dan gas metana dinilai berdasarkan korelasi dengan jumlah asid organik dan pelarut yang terhasil di dalam kultur serta pengurangan jumlah karbon berdasarkan COD.

BAHAN DAN KAEDAH

PERSAMPELAN POME

Sampel POME berasid dan enapcemar POME (daripada tangki pencerna anaerobik) diambil dari kilang kelapa sawit di Syarikat Cenergi SEA, Tennamaram, Selangor (3° 13' 34" U, 101° 22' 8" T). Seterusnya, sampel tersebut telah disimpan di dalam bilik sejuk pada suhu malar 4 °C sebelum uji kaji dijalankan.

PENYEDIAAN KULTUR PEMULA

Proses penyediaan kultur pemula dijalankan di dalam botol Duran 2 L dengan isi padu kerja sebanyak 1400 mL. Sebanyak 840 mL POME berasid sebagai substrat dan 560 mL enap cemar anaerobik POME sebagai inokulum digunakan. Kemudian, kultur dialirkan dengan gas nitrogen selama 20 minit untuk menyingkirkan oksigen terlarut dan membolehkan semua proses beroperasi dalam keadaan anaerobik. pH dilaraskan pada julat antara 7.5 hingga 8.0 dengan menggunakan 2 M natrium hidroksida (Chen, Du & Xie 2021). Kemudian, botol Duran diletakkan di dalam rendaman air pada suhu 37 °C tanpa pengadukan. Biogas yang terhasil dikumpul di dalam silinder penyukat menggunakan kaedah sesaran air seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 1(a).

Proses pencernaan anaerobik dijalankan pada masa penahanan hidraulik (HRT) selama 30 hari seperti yang dilakukan oleh Badiei et al. (2011). Proses ini dikendalikan dalam mod fermentasi selanjat yang mana sebanyak 94 mL medium di permukaan atas botol dikeluarkan dan disuap dengan substrat (POME berasid) baharu setiap dua hari. Sebelum setiap suapan baharu dilakukan, kultur dibiarkan selama 30 minit untuk enap cemar mendap seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 1(b). Ini adalah untuk mengelakkan benih

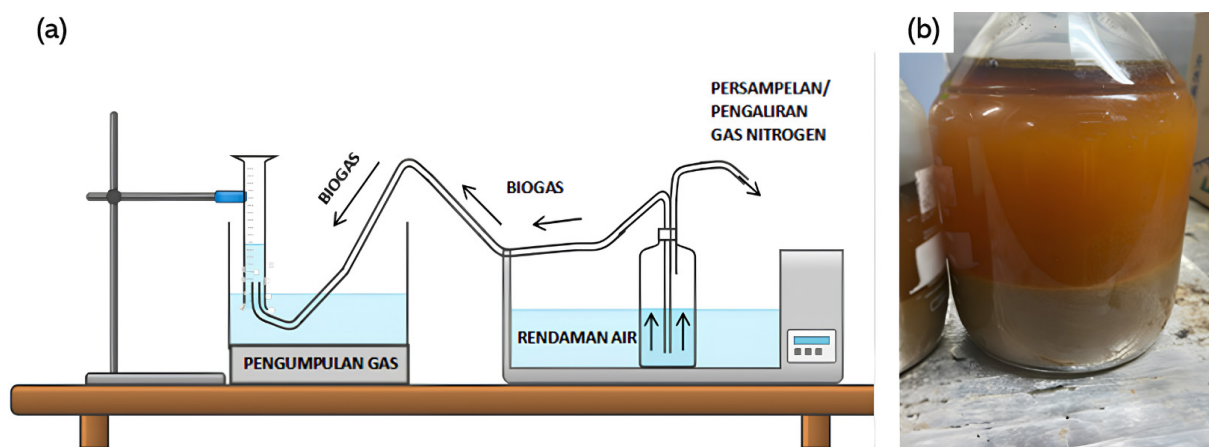
mikroorganisma tersingkir semasa persampelan. Penghasilan biogas dipantau setiap hari menggunakan kaedah sesaran air (Rajah 1(a)) seperti yang telah dijelaskan oleh Hamzah et al. (2020). Jumlah biogas dibaca melalui gas yang terkumpul di dalam silinder penyukat. Biogas terkumpul dalam silinder penyukat telah disimpan di dalam botol serum yang mengandungi air berasid (pH = 2.50 ± 0.5) untuk mengelakkan pelarutan biogas ke dalam air (Erguè et al. 2001).

ANALISIS KOMPOSISI BIOGAS

Sampel gas yang telah dikumpul dianalisis menggunakan gas kromatografi (Shimadzu GC-2014, Kyoto, Jepun) yang dilengkapi dengan pengesan kekonduksian terma (TCD). Gas helium digunakan sebagai gas pembawa pada kadar aliran 25 mL/min. Sebelum sampel biogas disuntik ke dalam gas kromatografi, kaedah penentusahan dilakukan dengan menggunakan gas kawalan dengan komposisi gas metana (15%) dan karbon dioksida (20%). Suhu awal kolum ditetapkan pada 43 °C dan dikekalkan selama 6 minit, dan kemudian suhu itu ditingkatkan sehingga 220 °C dengan kadar 20 °C/min dan dikekalkan selama 3 minit (Tiang et al. 2024).

ANALISIS ASID ORGANIK DAN ALKOHOL

Sampel kultur diampar selama 5 minit dengan kelajuan 10,000 rpm. Kemudian, supernatan diambil dan ditapis menggunakan membran penapis mikro dengan saiz liang 0.45 µm. Sebanyak 20 µL sampel yang ditapis disuntik ke dalam mesin HPLC (Hanipa et al. 2024). Asid organik seperti asid asetik, asid butirik dan asid propionik serta alkohol seperti etanol dan metanol dianalisis menggunakan kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC) Agilent 1100 (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Sistem ini dilengkapi dengan kolum Rezex™ ROA-Organic Acid H⁺ (8%) Ion Exclusion



RAJAH 1. (a) Proses pengumpulan biogas menggunakan kaedah sesaraan air dan (b) proses pemendapan kultur sebelum proses suapan, bahagian atas dikeluarkan dan diganti dengan POME berasid baharu

(Phenomenex, Torrance, CA, USA). Asid sulfurik dengan kepekatan 2.5 mM digunakan sebagai fasa gerak pada kadar aliran 0.6 mL/min dengan elusi isokratik pada suhu bilik. Panjang gelombang yang digunakan ialah 210 nm dengan pengesanan tatasusunan diod pada tekanan maksimum 150 psi.

ANALISIS ANALITIK

pH kultur dipantau menggunakan meter pH (Sartorius PB-10) pada setiap dua hari apabila sampel cecair dikeluarkan untuk tujuan persampelan (Vohra et al. 2019). Analisis COD dijalankan berdasarkan manual HACH, Kaedah 8000 dengan menggunakan reagen COD berjulat tinggi (Harnadek, Guilford & Edwards 2015). Penentuan kepekatan jumlah pepejal terampai (MLSS) dan jumlah pepejal terampai meruap (MLVSS) telah dijalankan berdasarkan Kaedah Piawai untuk Air dan Air Sisa (APHA 2017). Sampel ditapis menggunakan kertas penapis gentian kaca (Whatman GF/C) dengan saiz liang 0.2 µm untuk menapis pepejal terampai yang kemudian dikeringkan pada suhu 105 °C. Sisa pepejal terampai yang kering ditimbang untuk penentuan MLSS. Seterusnya, kertas penapis gentian kaca dan sisa yang diperoleh daripada analisis MLSS kemudian dibakar di dalam relau pada suhu 550 °C selama 1 jam. MLSS ditentukan berdasarkan persamaan (1), manakala MLVSS dikira menggunakan persamaan (2).

$$\text{Pepejal terampai campuran cecair (mg/L)} = \frac{(A - B) \times 1000 \text{ mL/L}}{\text{Isipadu sampel (mL)}} \quad (1)$$

dengan A ialah berat kertas penapis gentian kaca dan sisa (mg); dan B ialah berat kertas penapis gentian kaca (mg).

$$\text{Pepejal terampai yang meruap (mg/L)} = \frac{(A - B) \times 1000 \text{ mL/L}}{\text{Isipadu sampel (mL)}} \quad (2)$$

dengan A ialah berat mangkuk pijar, kertas penapis gentian kaca dan sisa sebelum dibakar (mg); dan B ialah berat mangkuk pijar, kertas penapis gentian kaca dan sisa selepas dibakar (mg).

HASIL DAN PERBINCANGAN

PENCIRIAN POME

Pencirian sampel POME berasid, enap cemar anaerobik POME dan gliserol mentah dilakukan bagi menentukan kualiti semasa sampel. Berdasarkan Jadual 1, pencirian POME berasid dan enap cemar POME anaerobik telah dilakukan bagi parameter seperti pH, COD, MLSS, MLVSS, asid organik serta TN. POME berasid adalah cecair berwarna coklat dan berbau masam manakala enap cemar POME anaerobik adalah cecair yang lebih pekat dan berwarna hitam. Selain itu, POME berasid

juga mempunyai pH yang rendah iaitu 4.76 berbanding enap cemar POME anaerobik dengan pH neutral. pH yang neutral pada enap cemar anaerobik menunjukkan bahawa ia adalah pH yang sesuai untuk keadaan anaerobik bagi aktiviti bakteria metanogenik. Kandungan asid organik yang tinggi pada POME berasid juga menjadikannya sesuai untuk dijadikan substrat utama dalam proses pencernaan anaerobik.

Julat pH dan asid organik bagi kedua-dua jenis POME ini juga di dalam julat yang sama seperti dalam kajian oleh beberapa kumpulan penyelidik (Aziz & Hanafiah 2018; Hamzah et al. 2020; Leela et al. 2018). Tambahan lagi, kepekatan COD, VSS, TSS dan TN adalah dalam julat yang sama seperti dalam kajian oleh Hanipa et al. (2024). Kepekatan MLSS dan MLVSS yang lebih tinggi pada enap cemar POME anaerobik berbanding POME berasid menunjukkan terdapat sejumlah bakteria aktif dalam sampel tersebut. Bacteria ini menyumbang kepada MLVSS yang lebih tinggi kerana mereka menggunakan bahan organik yang terdapat dalam enap cemar sebagai substrat untuk penghasilan gas metana (Monge, Certucha Barragn & Almendariz Tapi 2013). Oleh itu, enap cemar POME anaerobik digunakan sebagai sumber mikrob dalam kajian ini.

PENILAIAN KESTABILAN BIOGAS DAN PENGHASILAN ASID ORGANIK

Kajian ini mengkultur enap cemar POME dalam POME berasid pada keadaan anaerobik untuk memperkayakan kultur dengan bakteria metanogenik serta mengekalkan biojisim aktif dalam sistem AD. Penyesuaian bakteria metanogenik dalam persekitaran ini penting untuk kestabilan penghasilan biogas dan gas metana (Steinmetz et al. 2016). Sepanjang fasa ini, penghasilan biogas dipantau dan mula stabil antara hari ke-60 hingga 80 (Rajah 2(a)).

Pada peringkat awal (hari 0 hingga 20), penghasilan biogas yang dapat direkodkan adalah sangat sedikit. Pada hari ke-21, penghasilan biogas meningkat sebelum menurun semula pada hari ke-28, menandakan fasa penyesuaian dan mikrob mula mencerna bahan organik di dalam POME (Wojcieszak et al. 2017). Trend yang tidak stabil dari hari ke-21 hingga 28 menunjukkan mikroorganisma sedang berada dalam fasa aklimatisasi terhadap bahan organik dalam proses AD. Ini disokong oleh peningkatan mendadak asid asetik antara hari ke-22 hingga 25, sebelum menurun pada hari ke-27 (Rajah 2(b)). Pengumpulan asid organik ini berkait rapat dengan dominasi bakteria asidogenik, yang menyebabkan pH menurun kepada julat 6.29-7.45, iaitu bawah julat optimum bakteria metanogenik (Dareioti et al. 2009; Sani et al. 2021).

Nilai pH substrat turut mempengaruhi penghasilan biogas. pH optimum untuk pertumbuhan bakteria metanogenik adalah antara 6.5 dan 8.0 (Carotenuto et al. 2016), manakala perencatan berlaku pada pH melebihi

JADUAL 1. Pencirian sampel POME berasid dan enap cemar POME anaerobik

Parameter	POME berasid	Enap cemar POME anaerobik
pH	4.76	7
Permintaan oksigen kimia (COD) (g/L)	48.6	50.4
Jumlah pepejal terampai (MLSS) (g/L)	25.3	52.4
Pepejal terampai meruap (MLVSS) (g/L)	20.8	44.6
Asid organik (g/L)	653.8	4178.4
Jumlah nitrogen (TN)(g/L)	260	TD

TD: Tidak ditentukan

8.1 (Chan, Chong & Law 2010). Proses asetogenesis dan metanogenesis berlaku secara sinergi, yang mana bakteria asetogenik menghasilkan gas hidrogen dan karbon dioksida daripada asid organik seperti asid asetik serta asid butirik, yang kemudiannya ditukar kepada gas metana oleh bakteria metanogenik (Morris et al. 2013; Woraruthai et al. 2020). Dalam kajian ini, kepekatan asid organik mula berkurangan pada hari ke-41 (47183 mg/L) dari hari ke-36 (122196 mg/L) semasa proses AD (Rajah 2(b)). Kemudian, jumlah asid organik meningkat sedikit pada hari ke-43 (60467 mg/L) dan turun mendadak pada hari ke-48 (1421 mg/L). Penurunan ini menunjukkan bahawa asid organik dalam POME berasid telah dicurahkan, selari dengan peningkatan nilai pH daripada pH6.1 kepada pH7.8 sepanjang proses AD seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 2(a). Populasi bakteria metanogen telah mencurahkan asid organik tersebut dan menukarkannya kepada gas metana.

Dalam keadaan pencernaan anaerobik yang optimum, asid digunakan sebagai substrat oleh bakteria metanogenik. Ketidakseimbangan antara kadar penghasilan dan penggunaan asid organik oleh bakteria metanogenik menunjukkan kadar penyesuaian konsortia metanogenik yang perlahan dalam fasa awal (Basri et al. 2010). Kajian lain turut melaporkan penghasilan biogas dan gas metana yang tidak stabil semasa fasa permulaan. Kestabilan biogas hanya dicapai selepas bakteria metanogenik menyesuaikan diri dan mula menggunakan substrat dengan lebih cekap (Wojcieszak et al. 2017).

Bermula dari hari ke-28 hingga 72, biogas meningkat dari 97.14 mL biogas/L POME ke 1185.71 mL biogas/L POME. Selain itu, gas metana juga telah meningkat dari 28.23 mL metana/L POME ke 989.93 mL metana/L POME. Ini menunjukkan bahawa bakteria metanogenik mula aktif menggunakan asid asetik untuk menghasilkan gas metana (Hamzah et al. 2019). Ini dapat dilihat pada pengurangan kepekatan asid asetik dan asid organik dalam Rajah 2(b). Selaras dengan kajian terdahulu, pengurangan asid organik berlaku selepas tempoh penyesuaian (Alrawi et al. 2011) disebabkan peningkatan populasi bakteria metanogenik yang memacu kadar penukaran asid kepada gas metana. Kepekatan asid propionik

yang rendah adalah berkait rapat dengan pencernaan anaerobik yang stabil. Kajian yang dilakukan oleh Khan et al. (2020) telah mengesyorkan bahawa kepekatan asid propionik yang melebihi 2000 mg/L adalah tidak sesuai untuk pencernaan anaerobik. Rajah 2(b) menunjukkan kepekatan asid propionik tidak menjejaskan sistem kerana ia berada di bawah had perencatan yang dicadangkan iaitu dalam julat 0 hingga 1825.5 mg/L.

Menjelang hari ke-75, penghasilan biogas dan gas metana menurun sedikit kemudian kekal stabil hingga hari ke 81, menandakan sistem telah mencapai kestabilan. Fasa yang stabil ini menunjukkan proses pengayaan bakteria metanogenik dalam kultur semula telah berjaya. Pada fasa ini, tiada pengumpulan asid organik dicatat, menunjukkan aktiviti bakteria metanogenik adalah tekal. Menurut Hamzah et al. (2020), fasa aklimatisasi dianggap selesai apabila penghasilan biogas mencapai keadaan mantap melalui penghasilan isi padu biogas yang stabil. Pada keadaan mantap, kinetik penghasilan biogas mencapai keseimbangan kerana jumlah biogas yang dihasilkan oleh aktiviti bakteria metanogenik adalah tekal dengan kadar pertumbuhan bakteria metanogenik. Ini bermaksud, pertambahan populasi bakteria metanogenik telah mencapai tahap optimum, yang mana mereka dapat menukarkan asid organik kepada gas metana pada kadar maksimum.

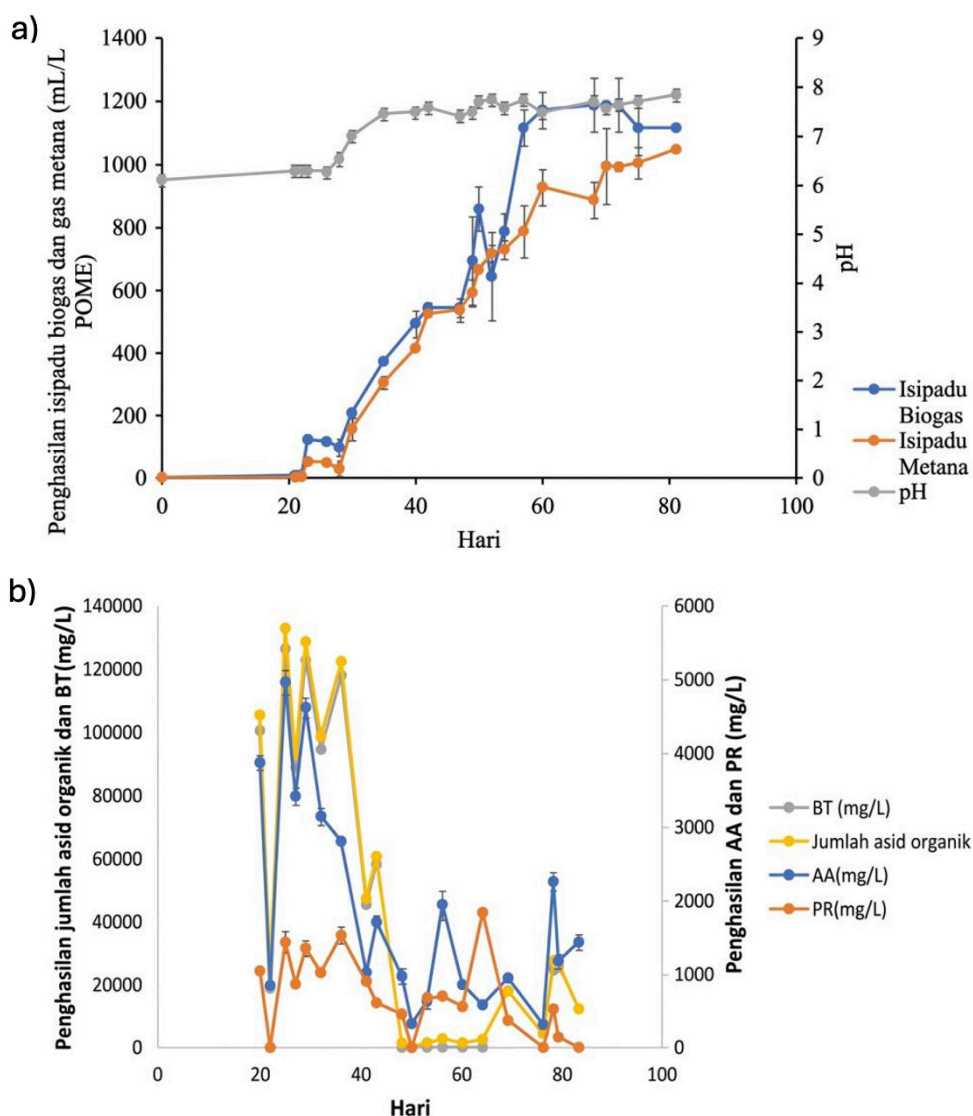
Secara konvensional, sistem AD melibatkan (HRT) yang lebih panjang, iaitu antara 20 hingga 60 hari, serta memerlukan kawasan reaktor yang besar (Zainal et al. 2020). Namun demikian, kajian ini menunjukkan bahawa HRT selama 30 hari adalah mencukupi untuk menghasilkan biogas yang stabil. Tambahan pula, tempoh HRT ini berpotensi untuk dipendekkan lagi sekiranya komuniti bakteria metanogenik berada dalam keadaan benar-benar stabil dan dioptimumkan. Menurut kajian Ayua, Ambrose dan Omake (2026), penghasilan biogas daripada proses pencernaan najis ayam menggunakan AD dalam reaktor tangki teraduk berterusan bermula pada hari ke-29. Berbanding dengan kajian ini yang menggunakan teknik pengayaan kultur bakteria metanogenik, biogas mula terhasil pada hari ke-21. Ini menunjukkan tahap penyesuaian mikroorganisma telah mempercepatkan penghasilan biogas dalam proses AD.

Selain itu, kajian oleh Aili Hamzah et al. (2023) yang menjalankan proses AD menggunakan najis lembu untuk mengkaji penghasilan gas metana menunjukkan penghasilan isi padu biogas tertinggi adalah 433.19 mL, iaitu empat kali lebih rendah berbanding kajian ini. Ini menunjukkan bahawa kajian ini berjaya membuktikan penyediaan kultur pemula dan proses pengayaan kultur boleh meningkatkan aktiviti bakteria metanogenik seterusnya meningkatkan jumlah biogas yang terhasil. Secara keseluruhannya, penambahan POME berasid ke dalam kultur pemula dapat meningkatkan ketersediaan komuniti bakteria metanogenik terhadap bahan organik

seperti asid organik. Keseimbangan antara penggunaan asid organik sepanjang proses pencernaan membantu mengoptimumkan penghasilan gas metana (Darwin & Cord-Ruwisch 2019; Darwin et al. 2021).

ANALISIS ANALITIKAL DALAM POME TERCEMAR ANAEROBIK

Permintaan oksigen kimia terlarut (SCOD) dianalisis sebagai petunjuk prestasi dalam pengayaan kultur pemula kerana ia mewakili jumlah bahan organik terlarut dalam substrat (Saragih et al. 2019). Nilai SCOD



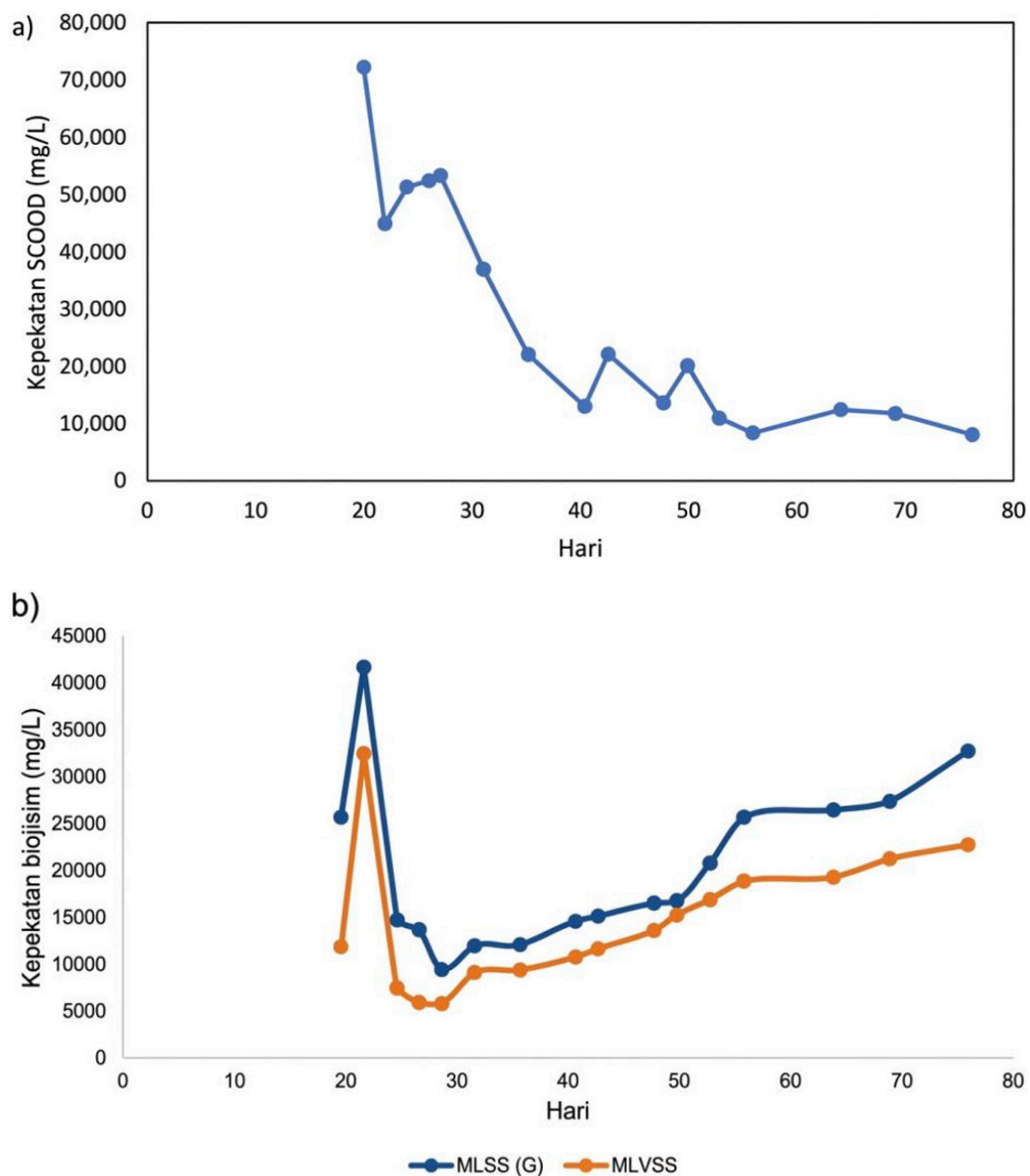
AA: Asid Asetik, BT: Asid Butirik dan PR: Asid Propionik. Data dinyatakan dengan bar ralat berdasarkan sisihan piawaian dari data

RAJAH 2. (a) Penghasilan isi padu biogas (mL biogas/ L POME) dan isi padu gas metana (mL metana/ L POME) pada kultur pengayaan dan (b) Penghasilan asid organik (mg/L) dalam kultur pengayaan

yang tinggi menunjukkan beban organik yang tinggi, manakala penurunan SCOD menunjukkan penguraian bahan organik kepada biogas dan gas metana melalui aktiviti mikrob (Oduor et al. 2022). MLSS dan MLVSS pula digunakan untuk mengukur kepekatan biojisim. MLSS merangkumi pepejal meruap dan tidak meruap, manakala MLVSS mewakili mikroorganisma aktif yang menukarkan bahan organik dalam POME kepada biogas (Mirbagheri et al. 2015).

Rajah 3(a) menunjukkan penurunan ketara SCOD antara hari ke-21 (72000 mg/L) hingga ke-23 (44600 mg/L), diikuti peningkatan semula hingga hari ke-28 (53167 mg/L). Ini menandakan bakteria metanogenik masih dalam fasa penyesuaian dan kurang cekap dalam

menggunakan substrat (Wong et al. 2011). Perubahan ini selari dengan turun naik kepekatan MLSS dan MLVSS (Rajah 3(b)), yang menunjukkan bilangan mikrob belum mencukupi untuk mencernakan lebih bahan organik (Alrawi et al. 2011). Kajian terdahulu turut melaporkan pengumpulan COD pada fasa awal akibat bahan organik kompleks dalam POME yang sukar terurai (Isa et al. 2020; Liew et al. 2015). Fasa ini juga disebabkan oleh dominasi bakteria asidogenik berbanding bakteria metanogenik, menyebabkan pengumpulan asid lemak meruap seperti yang dilaporkan oleh Mustapha et al. (2003). Oleh itu, penambahan substrat perlu dilakukan secara bertahap bagi memberi masa untuk biojisim menyesuaikan diri (Paulo et al. 2024).



RAJAH 3. (a) Kepekatan SCOD dan (b) kepekatan MLSS dan MLVSS dalam kultur pengayaan

SCOD mula menurun secara berterusan selepas hari ke-28 hingga hari ke-41, seiring peningkatan biojisim, menandakan bakteria metanogenik mula aktif dan stabil (Alrawi et al. 2011). Peningkatan biogas dan gas metana pada fasa ini (Rajah 2(a)), serta peningkatan MLVSS dan MLSS (Rajah 3(b)), mengesahkan kejayaan fasa penyesuaian awal. Kajian ini selari dengan keputusan daripada Wong et al. (2011) yang menunjukkan penyingkiran COD sehingga 86% apabila biojisim meningkat dan pertumbuhan mikrob telah stabil. Penurunan SCOD mencerminkan keberkesanan penukaran bahan organik kepada gas metana (Hamzah et al. 2019). Kepekatan MLVSS yang tinggi, seperti dilaporkan Chan, Chong dan Law (2010), turut dikaitkan dengan peningkatan kecekapan sistem.

Pada akhir fasa penyesuaian, SCOD menjadi stabil dari hari ke-53 hingga akhir proses, manakala kepekatan MLSS dan MLVSS terus meningkat, menunjukkan pertumbuhan aktif konsortium mikrob (Alrawi et al. 2011). Ini membuktikan sistem telah stabil, yang mana konsortium bakteria metanogenik telah menyesuaikan diri dengan persekitaran anaerobik. Kestabilan ini penting untuk meningkatkan aktiviti biodegradasi dan seterusnya mengoptimumkan penghasilan gas metana. Chan, Chong dan Law (2010) turut menyatakan bahawa kestabilan effluen COD selepas 28 hari menandakan tamatnya fasa penyesuaian.

KESIMPULAN

Kajian ini memfokuskan pada strategi penyediaan kultur pemula dalam menstabilkan proses pencernaan anaerobik dengan memperkaya populasi bakteria metanogenik, sekali gus meningkatkan penghasilan biogas terutamanya gas metana. Melalui penyediaan kultur pemula, penghasilan gas metana dapat dipertingkatkan, yang mana ia membenarkan bakteria metanogenik untuk menyesuaikan diri dengan sistem dan memperkaya populasi mereka. Berlakunya peningkatan secara berterusan dalam jumlah biogas dan gas metana yang terhasil pada hari ke-20 hingga ke akhir tempoh penyesuaian dengan julat pH yang stabil. Selain itu, tiada pengumpulan asid organik yang berlaku dalam kultur pemula kerana berlakunya penurunan secara beransur-ansur bagi asid organik dalam kultur ini. Kajian ini amat penting bagi menjamin kestabilan kultur bakteria metanogenik sebagai persediaan sebelum sebarang penambahan substrat baharu berlaku di dalam proses ini. Penggunaan tenaga boleh diperbaharui adalah sangat penting demi masa depan yang lebih mampan terutamanya dalam memanfaatkan sisa industri.

PENGHARGAAN

Penghargaan diberikan kepada geran GUP-2019-050 daripada Universiti Kebangsaan Malaysia kerana menyumbang dana kepada penyelidikan yang dijalankan.

Penghargaan juga diberikan kepada Kursi Kelestarian UKM-YSD dan Jabatan Kejuruteraan Kimia dan Proses, Fakulti Kejuruteraan dan Alam Bina kerana sokongan teknikal dan makmal kepada penyelidikan ini.

RUJUKAN

- Agostini, S., Bucci, L., Doni, D., Costantini, P., Gupte, A., Müller, B., Sibilla, F., Basaglia, M., Sergio, C., Kougias, P.G., Campanaro, S., Lorenzo, F. & Treu, L. 2024. Bioaugmentation strategies based on bacterial and methanogenic cultures to relieve stress in anaerobic digestion of protein-rich substrates. *Renewable Energy* 225: 120270. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2024.120270>
- Ahmad, S.M., Ismail, A., Wahab, N.A., Salleh, K.M., Kamil, N.N. & Abdullah, N. 2024. Comparative analysis of current biomass utilisation by palm oil mills in Peninsular Malaysia. *Journal of Sustainability Science and Management* 19: 166-176. <https://doi.org/10.46754/jssm.2024.07.009>
- Aili Hamzah, A.F., Hamzah, M.H., Che Man, H., Jamali, N.S., Siajam, S.I. & Ismail, M.H. 2023. Effect of organic loading on anaerobic digestion of cow dung: Methane production and kinetic study. *Heliyon* 9(6): e16791. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16791>
- Akuma, S.O., Yazdi, S.K. & Eze, U. 2026. A review of resource recovery from palm oil mill effluent (POME): Recent technological innovations and pathways to circular economy. *Next Sustainability* 7: 100261. <https://doi.org/10.1016/j.nxsust.2026.100261>
- Alrawi, R.A., Ahmad, A., Ismail, N. & Kadir, M.O.A. 2011. Anaerobic co-digestion of palm oil mill effluent with rumen fluid as a co-substrate. *Desalination* 269(1-3): 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.10.041>
- Ao, T.-J., Liu, C.-G., Sun, Z.-Y., Zhao, X.-Q., Tang, Y.-Q. & Bai, F.-W. 2024. Anaerobic digestion integrated with microbial electrolysis cell to enhance biogas production and upgrading *in situ*. *Biotechnology Advances* 73: 108372. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108372>
- American Public Health Association (APHA). 2017. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 23rd ed. Washington DC: American Public Health Association.
- Asano, Y. & Kaul, P. 2012. 7.7 Hydrolysis and reverse hydrolysis: Selective nitrile hydrolysis using nitrilase and its related enzymes. *Comprehensive Chirality* 7: 122-142. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095167-6.00708-4>
- Ayua, T.J., Ambrose, I.S. & Omake, D.S. 2026. Anaerobic digestion of poultry droppings for biogas production: A pilot study of renewable energy technology in the agricultural sector. *BMC Environmental Science* 3: 7. <https://doi.org/10.1186/s44329-026-00048-8>

- Aziz, N.I.H. & Hanafiah, M.M. 2018 Anaerobic digestion of palm oil mill effluent (POME) using bio-methane potential (BMP) test. *AIP Conference Proceedings* 1940: 020026. <https://doi.org/10.1063/1.5027941>
- Badiei, M., Jahim, J.M., Anuar, N. & Sheikh Abdullah, S.R. 2011. Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production from palm oil mill effluent in anaerobic sequencing batch reactor. *International Journal of Hydrogen Energy* 36(10): 5912-5919. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2011.02.054>
- Basri, M.F., Yacob, S., Hassan, M.A., Shirai, Y., Wakisaka, M., Zakaria, M.R. & Phang, L.Y. 2010. Improved biogas production from palm oil mill effluent by a scaled-down anaerobic treatment process. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26(3): 505-514. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0197-x>
- Carotenuto, C., Guarino, G., Morrone, B. & Minale, M. 2016. Temperature and pH effect on methane production from buffalo manure anaerobic digestion. *International Journal of Heat and Technology* 34(2): 425-429. <https://doi.org/10.18280/ijht.34S233>
- Chan, Y.J., Chong, M.F. & Law, C.L. 2010. Biological treatment of anaerobically digested palm oil mill effluent (POME) using a lab-scale sequencing batch reactor (SBR). *Journal of Environmental Management* 91(8): 1738-1746. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.03.021>
- Chen, L., Du, S. & Xie, L. 2021. Effects of pH on *ex-situ* biomethanation with hydrogenotrophic methanogens under thermophilic and extreme-thermophilic conditions. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 131(2): 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.09.018>
- Dareioti, M.A., Dokianakis, S.N., Stamatelatos, K., Zafiri, C. & Kornaros, M. 2009. Biogas production from anaerobic co-digestion of agroindustrial wastewaters under mesophilic conditions in a two-stage process. *Desalination* 248(1-3): 891-906. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.10.010>
- Darwin & Cord-Ruwisch, R. 2019. Thermodynamics of anaerobic digestion: Mechanism of suppression on biogas production during acidogenesis. *INMATEH-Agricultural Engineering* 57(1): 287-301.
- Darwin, Novi Diana, Mardhotillah & Atmadian Pratama. 2021. Anaerobic co-digestion of cow manure and palm oil mill effluent (POME): Assessment of methane production and biodegradation efficiency. *International Journal of Design and Nature and Ecodynamics* 16(6): 671-676. <https://doi.org/10.18280/ijdne.160608>
- Erguè, T.H., Tezel, U., Guè, E. & Demirer, G.N. 2001. Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. *Waste Management* 21(7): 643-650. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(00\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(00)00114-8)
- Erhons, E.K., Odegwa, I.F. & Beckley, I. 2024. Improvement in oxygen demand capacities of palm oil mill effluent from Ujiogba Edo State using some selected bacterial and fungal isolates. *Jordan Journal of Earth and Environmental Sciences* 15(1): 14-19.
- Gu, J.D. 2021. On enrichment culturing and transferring technique. *Applied Environmental Biotechnology* 6(1): 1-5. <https://doi.org/10.26789/AEB.2021.01.001>
- Hamzah, M.A.F., Abdul, P.M., Mahmod, S.S., Azahar, A.M. & Jahim, J.M. 2020. Performance of anaerobic digestion of acidified palm oil mill effluent under various organic loading rates and temperatures. *Water* 12(9): 2432. <https://doi.org/10.3390/w12092432>
- Hamzah, M.A.F., Jahim, J.M., Abdul, P.M. & Asis, A.J. 2019. Investigation of temperature effect on start-up operation from anaerobic digestion of acidified palm oil mill effluent. *Energies* 12(13): 2473. <https://doi.org/10.3390/en12132473>
- Hanipa, M.A.F., Tiang, M.F., Luthfi, A.A.I., Sajab, M.S., Abu Bakar, M.H., Reungsang, A., Lay, C.H., Wu, S-Y., Kamarudin, K.F. & Abdul, P.M. 2024. Illumination optimization strategies to enhance hydrogen productivity and light conversion efficiency for photo-fermentation by *Rhodobacter sphaeroides* KKKU-PS1 using a concentrated multi-substrate feedstock. *International Journal of Hydrogen Energy* 88: 418-431. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2024.09.132>
- Harnadek, C.M.W., Guilford, N.G.H. & Edwards, E.A. 2015. Chemical oxygen demand analysis of anaerobic digester contents. *STEM Fellowship Journal* 1: 2-5. <https://doi.org/10.17975/sfj-2015-008>
- Isa, M.H., Wong, L.P., Bashir, M.J.K., Shafiq, N., Kutty, S.R.M., Farooqi, I.H. & Lee, H.C. 2020. Improved anaerobic digestion of palm oil mill effluent and biogas production by ultrasonication pretreatment. *Science of The Total Environment* 722: 137833. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137833>
- Kamyab, H., Chelliapan, S., Din, M.F.M., Rezaei, S., Khademi, T. & Kumar, A. 2018. Palm oil mill effluent as an environmental pollutant. *InTech*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75811>
- Khan, S., Lu, F., Jiang, Q., Jiang, C., Kashif, M. & Shen, P. 2020. Assessment of multiple anaerobic co-digestions and related microbial community of molasses with rice alcohol wastewater. *Energies* 13(18): 4866. <https://doi.org/10.3390/en13184866>
- Leandro, T., Rodriguez, N., Rojas, P., Sanz, J.L., da Costa, M.S. & Amils, R. 2018. Study of methanogenic enrichment cultures of rock cores from the deep subsurface of the Iberian Pyritic Belt. *Heliyon* 4(4): e00605. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00605>

- Leela, D., Nur, S.M., Yandri, E. & Ariati, R. 2018. Performance of palm oil mill effluent (POME) as biodiesel source based on different ponds. *E3S Web of Conferences* 67: 02038. 10.1051/e3sconf/20186702038
- Liew, W.L., Kassim, M.A., Muda, K., Loh, S.K. & Affam, A.C. 2015. Conventional methods and emerging wastewater polishing technologies for palm oil mill effluent treatment: A review. *Journal of Environmental Management* 149: 222-235. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.10.016>
- Madhuri, R.J., Saraswathi, M., Gowthami, K., Bhargavi, M., Divya, Y. & Deepika, V. 2019. Chapter 19 - Recent approaches in the production of novel enzymes from environmental samples by enrichment culture and metagenomic approach. In *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry*, edited by Buddolla, V. Massachusetts: Academic Press. hlm. 251-262. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816328-3.00019-2>
- Mirbagheri, S.A., Bagheri, M., Ehteshami, M., Bagheri, Z. & Pourasghar, M. 2015. Modeling of mixed liquor volatile suspended solids and performance evaluation for a sequencing batch reactor. *Journal of Urban and Environmental Engineering* 9(1): 54-65. <https://doi.org/10.4090/juee.2015.v9n1.054065>
- Mohammad, S., Baidurah, S., Kobayashi, T., Ismail, N. & Leh, C.P. 2021. Palm oil mill effluent treatment processes - A review. *Processes* 9(5): 739. <https://doi.org/10.3390/pr9050739>
- Monge, O., Certucha Barragn, M.T. & Almendariz Tapi, F.J. 2013. Microbial biomass in batch and continuous system. In *Biomass Now - Sustainable Growth and Use*, edited by Matovic, M.D. *InTech*. <https://doi.org/10.5772/55303>
- Morris, B.E.L., Henneberger, R., Huber, H. & Moissl-Eichinger, C. 2013. Microbial syntrophy: Interaction for the common good. *FEMS Microbiology Reviews* 37(3): 384-406. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12019>
- Mustapha, S., Ashhuby, B., Rashid, M. & Azni, I. 2003. Start-up strategy of a thermophilic upflow anaerobic filter for treating palm oil mill effluent. *Process Safety and Environmental Protection* 81(4): 262-266. <https://doi.org/10.1205/09575820322299798>
- Oduor, W.W., Wandera, S.M., Murunga, S.I. & Raude, J.M. 2022. Enhancement of anaerobic digestion by co-digesting food waste and water hyacinth in improving treatment of organic waste and biomethane recovery. *Heliyon* 8(9): e10580. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10580>
- Ohimain, E.I. & Izah, S.C. 2017. A review of biogas production from palm oil mill effluents using different configurations of bioreactors. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 7: 242-253. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.221>
- Paulo, L.M., Liu, Y.C., Castilla-Archilla, J., Ramiro-Garcia, J., Hughes, D., Mahony, T., Conall Holohan, B., Wilmes, P. & O'Flaherty, V. 2024. Full-scale study on high-rate low-temperature anaerobic digestion of agro-food wastewater: Process performances and microbial community. *Water Science and Technology* 90(4): 1239-1249. <https://doi.org/10.2166/wst.2024.272>
- Sani, K., Kongjan, P., Pakhathirathien, C., Cheirsilp, B., O-Thong, S., Raketh, M., Kana, R. & Jariyaboon, R. 2021. Effectiveness of using two-stage anaerobic digestion to recover bio-energy from high strength palm oil mill effluents with simultaneous treatment. *Journal of Water Process Engineering* 39: 101661. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101661>
- Saragih, F.N.A., Priadi, C.R., Adityosulindro, S., Abdillah, A. & Islami, B.B. 2019. The effectiveness of anaerobic digestion process by thermal pre-treatment on food waste as a substrate. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 251: 012014. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/251/1/012014>
- Steinmetz, R.L.R., Mezzari, M.P., da Silva, M.L.B., Kunz, A., do Amaral, A.C., Tápparo, D.C. & Soares, H.M. 2016. Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. *Bioresource Technology* 219: 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.031>
- Sulaiman, A., Tabatabaei, M., Zulkhairi, M., Yusoff, M., Ibrahim, M., Hassan, A. & Shirai, Y. 2010. Accelerated start-up of a semi-commercial digester tank treating palm oil mill effluent with sludge seeding for methane production. *World Applied Sciences Journal* 8(2): 247-258.
- Tiang, M.F., Hanipa, M.A.F., Mahmud, S.S., Zainuddin, M.T., Lutfi, A.A.I., Jahim, J.J., Takriff, M.S., Reungsang, A., Wu, S.Y. & Peer, M.A. 2024. Impact of light spectra on photo-fermentative biohydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides* KKU-PS1. *Bioresource Technology* 394: 130222. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.130222>
- Vohra, B., Fazry, S., Sairi, F. & Othman, B.A. 2019. Effects of medium variation and fermentation time towards the pH level and ethanol content of Kombucha. *AIP Conference Proceedings* 2111: 040008. <https://doi.org/10.1063/1.5111247>
- Wojcieszak, M., Pyzik, A., Poszytek, K., Krawczyk, P.S., Sobczak, A., Lipinski, L., Roubinek, O., Palige, J., Sklodowska, A. & Drewniak, L. 2017. Adaptation of methanogenic inocula to anaerobic digestion of maize silage. *Frontiers in Microbiology* 8: 1881. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01881>
- Wong, Y.S., Wong, Y-S., Ong, S-A., Lim, K-K. & Lee, H-C. 2011. Acclimatization and performance study of acidogenesis anaerobic degradation process for palm oil mill effluent. *2011 International Conference on Environment and Industrial Innovation* 12: 1-5.

- Woraruthai, T., Kunno, J., Pongsopon, M., Yansakon, K., Phoopraintra, P., Chantiwas, R., Leartsakulpanich, U., Chaiyen, P. & Wongnate, T. 2020. Identification and cultivation of hydrogenotrophic methanogens from palm oil mill effluent for high methane production. *International Journal of Energy Research* 44(13): 10058-10070. <https://doi.org/10.1002/er.5618>
- Yan, Y.J., Li, X., Lu, C.S., Kobayashi, T., Zhen, G.Y., & Hu, Y. 2023. A review on start-up phase optimization of kitchen waste anaerobic digestion. *Fermentation* 9(7): 603. <https://doi.org/10.3390/fermentation9070603>
- Zainal, B.S., Ahmad, M.A., Danaee, M., Jamadon, N., Mohd, N.S. & Ibrahim, S.I. 2020. Integrated system technology of POME treatment for biohydrogen and biomethane production in Malaysia. *Applied Sciences* 10(3): 951. <https://doi.org/10.3390/app10030951>
- Zobeashia, S.S.L.T, Abioye, O.P., Ijah, U.J.J., Oyewole, O.A., Aransiola, S.A., Maddela, N.R & Prasad, R. 2025. Design and optimization of anaerobic digestion systems by advanced microbial community dynamics modelling. *Discover Chemistry*. 2: 360. <https://doi.org/10.1007/s44371-025-00457-9>