



**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

**РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ -**

**МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА
(ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева)**

Факультет почвоведения, агрохимии и экологии
Кафедра экологии

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(бакалаврская работа)

«Оценка применения кондуктивных материалов в биотехнологии
анаэробной переработки органических отходов»

по направлению 05.03.06 Экология и природопользование

Профиль подготовки: Экология

Зав. выпускающей
кафедрой

подпись

дата

Васенев И.И.

ФИО

Допустить к защите

«__» _____ 2019 г.

Руководитель

подпись

дата

Сластя И.В.

ФИО

Консультант

подпись

дата

Ножевникова
А.Н.

ФИО

Студент

подпись

дата

Чернова Н.А.

ФИО

Рецензент

подпись

дата

Ковалёв Д.А.

ФИО

Нормоконтроль

подпись

дата

Ермаков
С.Ю.

ФИО

Содержани**е**

Введение.....	3
Глава 1. Обзор литературы.....	5
1.1 Масштабы образования органических отходов в РФ.....	5
1.2 Сравнительный анализ методов переработки органических отходов.....	8
1.3 Анаэробное сбраживание в метантенках.....	14
1.4 Интенсификация метаногенеза внесением кондуктивных (электропроводящих) материалов.....	20
Глава 2 Объекты и методы исследования.....	27
2.1 Объекты исследования.....	27
2.2 Методы исследования.....	29
Глава 3 Результаты исследования.....	35
3.1 Оценка использования разных видов и доз кондуктивных материалов в анаэробной деградации смеси летучих жирных кислот термофильным метаногенным микробным сообществом.....	35
3.2 Влияние кондуктивных материалов на процессы анаэробной биоконверсии жидких органических отходов в биогазовой установке при возрастающей нагрузке по органическому веществу.....	41

3.3 Влияние экспозиции активного ила к угольной ткани на процесс метаногенеза.....	45
Выводы.....	48
Библиографический список.....	49

Введение

В России за год образуется около 4.5 млрд т отходов, из которых около 1.5 млрд т. составляют органические отходы. Одним из наиболее эффективных способов их переработки служит анаэробное сбраживание в метантенках. Его главными преимуществами являются: невысокие относительно аэробной переработкой эксплуатационные затраты, уничтожение патогенов, получение ценного биотоплива и снижение затрат на утилизацию избыточной биомассы.

Деградация органических отходов в метантенках происходит под влиянием четырёх основных групп микроорганизмов метаногенного сообщества: гидролитических бактерий, бактерий бродильщиков, ацетогенных бактерий и метаногенных архей. При этом микроорганизмы каждой последующей стадии разложения органических веществ потребляют продукты жизнедеятельности предыдущих стадий. Происходящее на стадии ацидогенеза накопление летучих жирных кислот может вызвать закисление реактора и ингибировать метаногенез. Поэтому актуальными являются исследования направленные на поиск способов и методов, повышающих продуктивность процесса метаногенеза, его сбалансированность, когда с одной стороны необходимо увеличивать нагрузку по субстрату, а с другой стороны избегать эффекта закисания сбраживаемых масс в условиях перегрузки по органическому веществу.

В последние годы активно изучается перспектива использования недавно открытого процесса DIET (англ. «Direct Interspecies Electrons Transfer» - прямой межвидовой перенос электронов), при котором в анаэробном сообществе

микроорганизмов электроны переносятся напрямую от одной клетки к другой благодаря клеточным структурам, таким как е-пили или межклеточный матрикс или через материалы, способные проводить электричество (кондуктивные) с целью улучшения скорости метаногенеза при анаэробной переработке органических отходов.

Цель работы: изучение влияния различных видов и доз кондуктивных (электропроводящих) материалов на скорость разложения органических отходов и выход биогаза при проточном и периодическом культивировании микроорганизмов анаэробного активного ила.

Задачи исследования:

- 1) изучить влияние разных видов и доз кондуктивных материалов на метаногенез в условиях лабораторного опыта;
- 2) изучить влияние кондуктивных материалов при разных режимах нагрузки по органическому веществу в условиях высокопродуктивных биогазовых установок;
- 3) изучить влияние экспозиции активного ила к угольной ткани на процесс метаногенеза в модельном лабораторном опыте.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Масштабы образования органических отходов в РФ

В России за год образуется около 4.5 млрд т отходов, включая 3 млрд тонн отходов промышленности, 700 млн т жидких отходов скотоводства, около 40 млн т твердых коммунальных отходов, 80—100 млн т осадков сточных вод (рис.1.1) (Павлова, 2014).

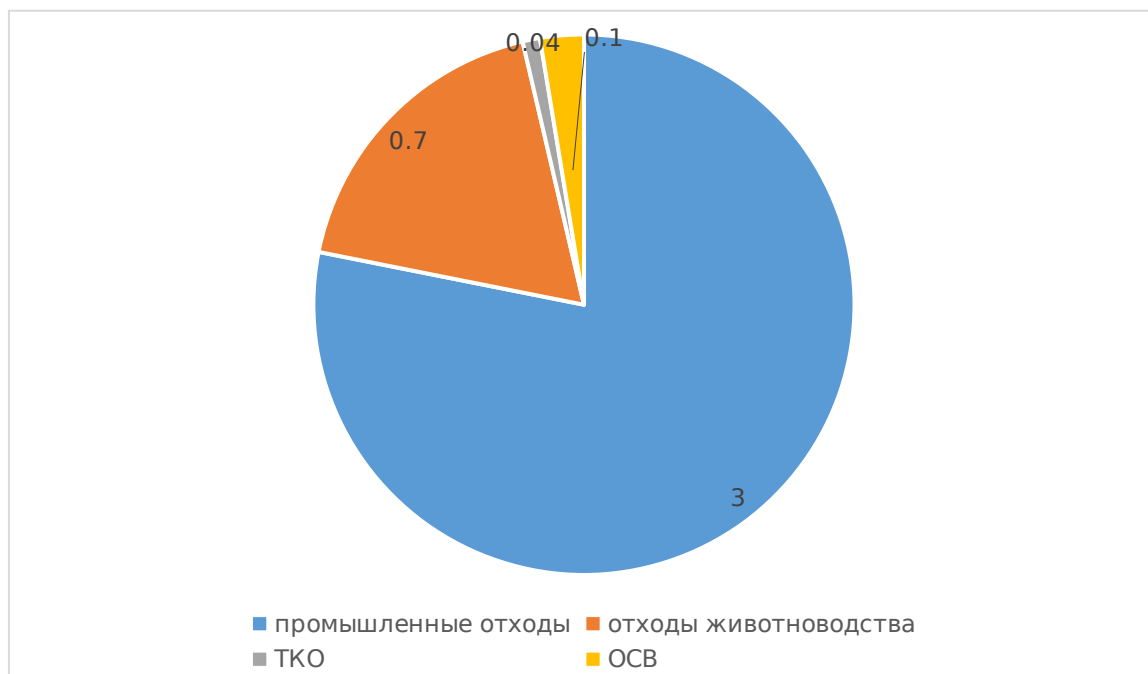


Рисунок 1.1 - Структура образующихся в РФ отходов (млрд. т.)

Согласно ГОСТ Р 54098-2010 «Ресурсосбережение. Вторичные материальные ресурсы. Термины и определения»: «Органические отходы - биологически разлагаемые садовые и парковые отходы, пищевые и кулинарные отходы, образующиеся в домовладениях, на предприятиях общественного питания и на предприятиях розничной торговли, а также сходные с ними по

составу отходы, образующиеся на предприятиях по переработке пищевых продуктов...» (ГОСТ Р 54098-2010).

В РФ нет единой классификации органических отходов, но условно их можно разделить на:

- углеводосодержащие отходы, такие как побочные продукты предприятий пищевой и легкой промышленности, перерабатывающих растительное сырье, очистки овощей и фруктов;

- навоз мелкого и крупного рогатого скота, птицы и иных животных;

- продукты биологической очистки сточных вод;

- целлюлозосодержащие отходы (например, продукция текстильной промышленности, зерноперерабатывающих предприятий, целлюлозно-бумажной и лесозаготовительной промышленности) (Уланова, 2016).

Рассмотрим наиболее распространённые в РФ органические отходы более подробно.

Осадок сточных вод – главный органических отходов человеческой жизнедеятельности, образующийся при очистке стоков. Он состоит из первичного и вторичного осадка. Первичный осадок образуется в процессе отстаивания стоков в первичных отстойниках. Он состоит из воды на 97-99% и на 1-3% из легкоразлагаемых органических соединений (Ножевникова 2016).

Вторичный осадок представляет собой избыточную биомассу микроорганизмов, задействованных при биологической очистке сточных вод. Он образуется при следующей за первичным отстаиванием сточных вод очистке в аэротенках (Ножевникова 2016).

Как показано на рис. 1.2, основную часть и первичного, и вторичного осадка составляют летучие жирные кислоты, однако в составе вторичного осадка возрастает содержание белка и снижается количество углеводов, таких как целлюлоза (Ножевникова 2016).

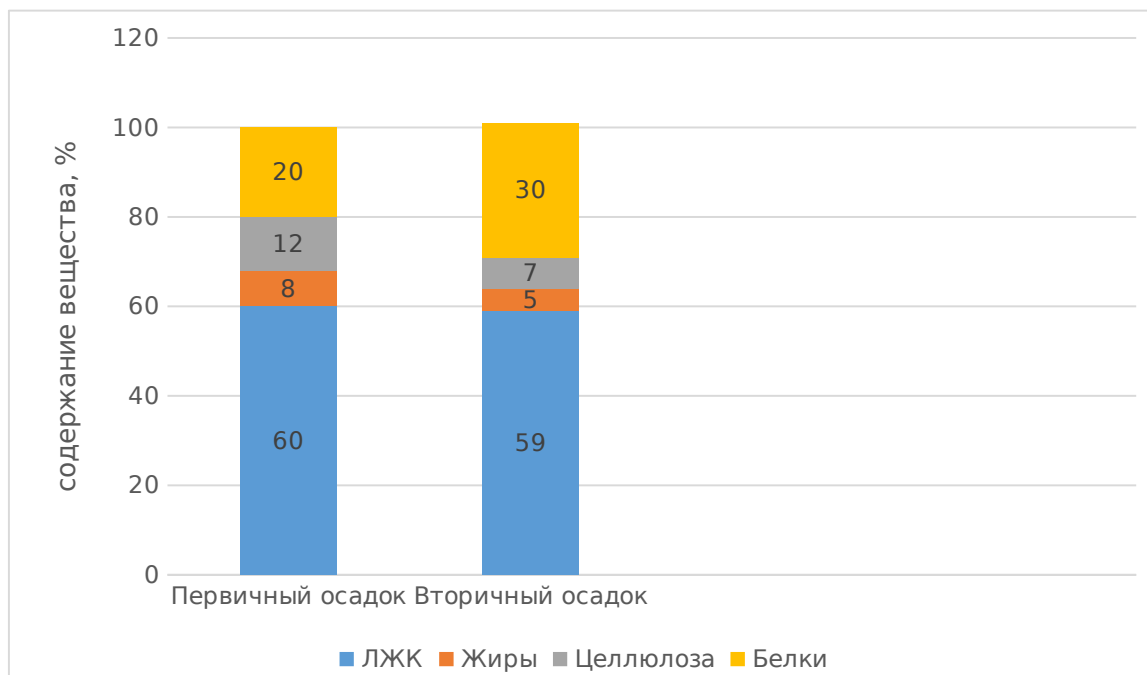


Рисунок 1.2 - Химический состав первичного и вторичного осадка сточных вод (% от сухого вещества)

Чаще всего осадки сточных вод содержат также поверхностно активные вещества (ПАВ) и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), попадающие в канализацию при использовании бытовой химии, лекарства, маслосодержащие вещества. Помимо вышеуказанных органических веществ присутствуют и опасные химические соединения, наиболее токсичными из которых являются полихлорированные дибензодиоксины и дибензофураны (ПХДД/Ф), галогенорганические и оловоорганические соединения и соединения тяжелых металлов попадают в стоки при мытье улиц (Ульянова 2016).

Органическая фракция ТКО. К ТКО относятся отходы жилых и общественных зданий, отопительных устройств, смет и опавшие листья, крупные предметы домашнего обихода (Систер 2001). Из рис. 1.3 видно, что основной компонент ТКО жилищного фонда – бумага, упаковочные материалы и пищевые отходы. Для ТКО крупных городов характерно преобладание упаковочных материалов и меньшее содержание пищевых отходов (Ножевникова 2016).



Рисунок 1.3 – Состав основных фракций ТКО городов России по массе, %

На сортировочных предприятиях России извлекается только 20% отходов, которые можно использовать повторно, остальная масса направляется на захоронение. Это связано не только с недостаточной автоматизацией процесса сортировки, но и с тем, что вблизи полигонов отсутствуют потребители, а транспортировка вторичного сырья экономически нецелесообразна (Гунич, 2015).

По мере роста народонаселения и увеличения потребления растёт и количество отходов разных видов, поэтому во всём мире

остро стоит проблема их утилизации. Особенно актуален этот вопрос мегаполисах, где накапливается большое количество твердых бытовых отходов и осадков сточных вод (Павлова 2014).

1.2 Сравнительный анализ методов переработки органических отходов

Существует два основных направления обращения с отходами: складирование на полигонах и переработка. Оба способа имеют свои преимущества и недостатки.

Захоронение на полигонах является наиболее эффективным при невозможности или опасности переработки отходов для вторичного использования. Для захоронения используются специально оборудованные полигоны, предназначенные для централизованного сбора, обезвреживания и захоронения ТКО (Калюжина, 2014).

В настоящее время на полигонах складировается 95% образующихся в Российской Федерации отходов. При этом число санкционированных свалок составляет 7 тысяч, несанкционированных около 17,5 тыс. Складирование имеет свои положительные стороны, например относительно невысокую энергоёмкость, низкие трудозатраты и относительно небольшой расход денежных средств на оборудование полигона (Павлова, 2014).

Основным недостатком этого способа является то, что свалки являются источником загрязнения атмосферного воздуха, почвы и грунтовых вод. Легковоспламеняющиеся свалочные газы создают пожарную опасность. Кроме того, при горении свалочных газов в атмосферу выделяются опасные для здоровья диоксины, фураны и бифенилы (Павлова 2014).

Переработка отходов. Выбор метода переработки отходов обусловлен различными факторами: источником образования, агрегатным состоянием отходов, его химическим составом, техническими, экономическими и другими параметрами. Наиболее распространённые методы переработки отходов представлены в табл. 1 (Лотош, 2002).

Таблица 1.1 - Основные методы переработки отходов

Группа методов	Принцип метода	Примеры
Химические	Подразумевают изменение физических свойств отходов и их химического состава	Сжигание, пиролиз, газификация, комплексообразование, саждение
Физические	Основаны на изменении таких свойств как агрегатное состояние, форма или размер. Химический состав при этом остаётся неизменным	Дробление, окомкование, брикетирование, сепарация, сушка
Физико-химические	Занимают пограничное положение между физическими и химическими, представляя собой цепочку связанных между собой физических и химических преобразований, происходящих в органическом веществе. На изменение свойств вещества влияют такие факторы как давление,	Коагуляция, флокуляция, экстракция, сорбция, флотация

	температура и объём. При этом происходит изменение поверхностных, межфазных свойств	
Биохимически е	Они основаны на способности микроорганизмов использовать различные органические загрязнители в качестве источников питательных веществ	Компостирование, анаэробная переработка, аэробная переработка, Вермикомпостирование, получение кормовых добавок
Комбинированные	Сочетание нескольких методов	-

Пиролиз – процесс сжигания горючих органических соединений без доступа кислорода, сопровождающийся образованием смеси горючих газов (синтез-газ) и некоторых других продуктов. Различают два вида пиролиза: высокотемпературный, происходящий при температуре свыше 900 градусов, и низкотемпературный, для которого требуется 450-900°. Достоинствами высокотемпературного пиролиза является: отсутствие необходимости сортировки отходов; сравнительно небольшая масса зольного остатка и возможность его дальнейшего использования в строительных целях; разложение опасных веществ; высокая чистота образовавшихся пиролизных масел (Бернадинер, 1990).

Для метода низкотемпературного пиролиза характерен высокий выход жидких и твердых продуктов, таких как пиролизные смолы, органические кислоты, ароматические соединения и др. Первичная смола и полукокс могут использоваться как топливо. (Гунич, 2016)

Пиролизный синтез-газ, который вырабатывается в процессе, может служить вторичным топливом для обогрева реакторного оборудования. Однако некоторое количество токсичных компонентов синтез-газа выделяется в атмосферу вместе с дымом, поэтому пиролиз, как и сжигание, требует дополнительной очистки продуктов горения. Тем не менее, пиролиз помогает снизить стоимость газоочистки, поскольку при пиролизе объём выделяющихся дымовых газов ниже, чем при сжигании в 3-5 раз. Кроме того, после фракционирования и очистки синтез-газов от примесей, возможна их продажа в качестве вторичного топлива (Гунич, 2015).

Биологические методы. Для переработки органических отходов биологические методы переработки отходов традиционно считаются экологически и экономически эффективными (Кобрин, 1995).

В качестве основных преимуществ биологических методов переработки отходов можно назвать низкое собственное энергопотребление, безопасность для окружающей среды и практически полное отсутствие вредных выбросов в атмосферу. Среди недостатков процессов биологической переработки отходов стоит отметить невысокую степень утилизации отходов (30–40%), нестабильность химического состава и объёма образовавшегося, низкую скорость реакций деградации отходов и большие единовременные затраты на строительство сооружений биологической очистки (Гунич, 2015).

Наиболее распространённым методом биологической переработки отходов является **аэробное разложение**.

Аэротенк работает в паре со вторичным отстойником, в котором происходит сепарация активного ила и очищенной воды.

Некоторое количество ила при этом возвращается в аэротенк для увеличения его производительности. (Кузнецов, 2006). Его основным недостатком является энергозатраты на аэрацию, обработку и утилизацию избыточного активного ила (Кобрин, 1995).

Избыток активного ила и неочищенные сточные воды сбрасывают на иловые площадки (иловые карты), поля орошения и поля фильтрации. Иловые площадки используются для складирования и естественного биологического разложения избыточного активного ила. Поля орошения - земельные участки, предназначенные для очистки сточных вод. Помимо санитарного назначения, поля орошения предназначены для выращивания технических культур. Единственная функция полей фильтрации - очистка сточных вод (Кузнецов, 2006).

Компостирование представляет собой процесс биологического окисления органического вещества до гумусоподобного продукта смешанным микробным сообществом, происходящий при высокой температуре и влажности. Оно используется для переработки свежих осадков, для которых характерно повышенное содержание органического вещества и азота (Ножевникова, 2016). Отличие компостирования от естественного процесса гниения заключается в том, что компостирование происходит в заданных человеком условиях (определённой температуре, влажности, содержанию кислорода, рН и др.). Оптимальными для компостирования являются температура 35-55°, влажность 75-85% и рН от 5,5 до 8,0 (Лотош, 2002).

Компостирование состоит из нескольких стадий:

- 1) Сортировка отходов, извлечение материалов, не поддающихся переработке микроорганизмами – стекла, керамики, металла, синтетические волокна;
- 2) Перемалывание отходов необходимо для ускорения компостирования, улучшения структуры, улучшает аэрацию;
- 3) Созревание компоста происходит после складирования в установку для компостирования;
- 4) Хранение.

Готовый компост может использоваться для рекультивации нарушенных земель. Основными недостатками этого метода является низкий спрос на компост, сезонность сбыта.

Вермикомпостирование – переработка органических отходов при помощи дождевых червей, конечной продукцией которой является биогумус и биомасса дождевых червей (Ножевникова 2016). Биогумус представляет собой вещество, обогащённое биологически активными соединениями, гуминовыми кислотами. Биогумус имеет ценные физико-химические свойства: хорошую влагоемкость, механическую прочность; он богат азотом, фосфором и калием (Миронов 2018). Этот метод широко используется во Франции, Италии, Германии, США, Канаде и Японии. Особой популярностью он пользуется у сторонников органического земледелия, которые призывают к отказу от использования пестицидов и минеральных удобрений в пользу компостов (Выгузова, 2012).

Вермикомпостирование хорошо подходит для переработки навоза (после выдерживания его в естественных условиях), растительных отходов, первичных и вторичных осадков очистных сооружений, поскольку эти виды отходов богаты азотсодержащей

органикой, необходимой для питания дождевых червей. Помимо азотсодержащих веществ (таких как протеины и аминокислоты) перерабатываемое сырьё должно быть богато углеводами, микроэлементами и витаминами и исключать токсичные примеси, часто встречающиеся в городских ТКО. Черви очень требовательны к условиям своего существования: им требуется влажность 60-80%, близкий к нейтральному pH, хорошая аэрация и темнота. Опасным для них может быть выделение газов, образующихся при гниении – метана, сероводорода и аммиака (Миронов, 2018).

Анаэробное разложение – это технология утилизации органических веществ с помощью микроорганизмов метаногенных сообществ, конечным продуктом которого является биогаз, состоящий из метана на 60-70% в зависимости от состава сбраживаемых отходов. Технология анаэробной биоконверсии подходит для переработки большинства видов органических отходов. Этот способ переработки отходов безопасен для окружающей среды, поскольку реакторы, в которых протекает процесс анаэробной ферментации, полностью изолированы от неё (Ножевникова, 2016).

Кроме того, в процессе анаэробной биodeградации обеспечивается дегельминтизация, уничтожение сорняков и патогенных микроорганизмов. Гибель патогенов происходит не только благодаря высокой температуре процесса анаэробной биodeградации, но и из-за антибактериального действия летучих жирных кислот, образующихся на стадии ацидогенеза (Найман, 2013).

Аэробная и анаэробная деградация отходов имеют разный энергетический баланс: 59 % энергии, высвобождающейся при

аэробном окислении глюкозы, идёт на прирост биомассы, в то время как при анаэробном процессе эта величина составляет всего 8%, а 89 % переходит в метан (Нетрусов, 2012). Благодаря медленному приросту биомассы снижаются затраты на переработку вторичного активного ила (Найман, 2013).

Биогаз, образующийся в процессе сбраживания, чаще всего сжигают, используя тепло для обогрева помещений и технических нужд (Ножевникова, 2016). В развивающихся странах (Китай, Индия, Непал) широко распространено приготовление пищи на биогазе. Это вызвано, в первую очередь возрастающим сокращением горючей древесины (Эдер, 1996).

Использование биогаза в качестве топлива требует дополнительной очистки: от H_2S - для производства электроэнергии, от CO_2 - для использования в автотранспорте (Найман, 2011). Источником сероводорода в биогазе являются протеиносодержащие субстраты, в которых его количество колеблется от 0,02 до 0,5 объемных процента. (в отдельных чрезвычайных случаях до 1,5%). Для очистки от сероводорода применяют добавление в сбраживаемую массу солей железа и сухие фильтры (Эдер, 1996).

Главными недостатками биогазовой технологии являются достаточно высокие капитальные затраты. Их уровень определяется размерами установки мощностью, степенью её автоматизации, и др. Высокая стоимость специального оборудования связана с тем, что из-за низкого спроса его производят в малых количествах. Увеличение капитальных затрат вызвано также необходимостью теплоизоляции, возрастающей в условиях российского климата. Помимо этого, значительная часть полученного биогаза (до 70%) будет

расходо­ваться на переме­ши­вание и под­дер­жание тем­пе­ратуры в био­реак­торе.

1.3 Анаэробное сбраживание в метантенках

Метановое сбраживание представляет собой многостадийный процесс разложения органического вещества, при котором исходные вещества последовательно преобразуются в более простые. Конечным продуктом метанового сбраживания является биогаз, состоящий, главным образом из метана и углекислого газа (Шевелуха, 2008). Биогаз, образующийся в процессе анаэробной биоконверсии, может быть использован в качестве топлива. (Кузнецов, 2012). Интересно, что наличие в биогазе негорючего CO_2 снижает накопление сажи в камере сгорания, что оказывает положительное влияние на энергетическую ценность. (Седнин, 2009)

Наиболее распространёнными аппаратами, используемые для метанового сбраживания, являются метантенки, которые широко применяются для очистки высококонцентрированных стоков (Кузнецов, 2012). Метантенк представляет собой герметично закрытую ёмкость, в которой поддерживаются определённые параметры температуры и влажности (Кущев, 2015).

Сбраживание осуществляется в мезофильном ($30-35^\circ$) или термофильном ($50-55^\circ$) режиме. Как это видно из рисунка 1.4, мезофильное сбраживание происходит в течение трёх-пяти недель, продолжительность термофильного – 2-3 недели. (Нетрусов, 2012).

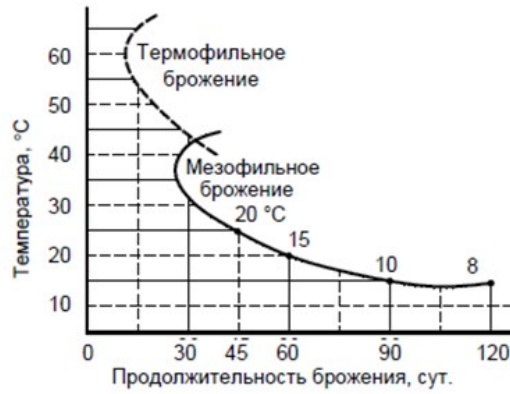


Рисунок 1.4 График зависимости продолжительности сбраживания от температуры в метантенке

Анаэробное разложение происходит в четыре последовательных стадии, каждая из которых осуществляется различными группами микроорганизмов (рис. 1.5).

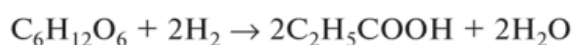


Рисунок 1.5 - Процесс анаэробного сбраживания

Стадия гидролиза, на которой сложные органические вещества гидролизуются на более простые. Бактерии-гидролитики находятся в условиях избытка недоступного для

других микроорганизмов нерастворимого субстрата и заселяют его поверхность. (Ножевникова, 2016). В этой стадии участвуют обладающие протеолитической, липолитической, целлюлолитической активностью гидролитические микроорганизмы. Гидролитические бактерии, разлагающие простые и сложные углеводы, принадлежат к родам *Clostridium*, *Bacteroides*, *Acetivibrio*, *Eubacterium*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, а также некоторым другим. Большинство протеолитических бактерий метантенков относятся к роду *Clostridium*. Протеолитическую активность проявляют бактерии родов *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Termobacteroides*. Хуже всего изучен процесс гидролиза липидов. Микроорганизмы с липолитической активностью представлены преимущественно родами *Clostridium* и *Micrococcus* (Кузнецов, 2012).

Ацидогенная стадия, в результате которой бактериобродильщики сбраживают мономеры, образовавшиеся на предыдущей стадии, до ещё более простых веществ – органических кислот и спиртов. (Ножевникова 2016). Реакции сбраживания представлены ниже:

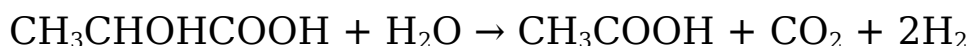


Для ацидогенных бактерий оптимальным является рН среды от 4,5 до 7,0.. Время генерации клеток на этой стадии составляет несколько часов. Стадию кислотообразования осуществляют бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Micrococcus* и другие. Некоторые бактерии этой стадии участвуют также в предыдущей, гидролизной стадии (Луканин, 2018).

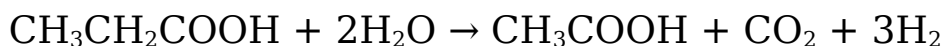
Синтрофная или ацетогенная стадия, на которой производится ацетат, водород и углекислота. На ней бактерии-ацетогены, такие как *Syntrophobacter*, *Syntrophomonas*, *Desulfovibrio* сбразивают органические кислоты и нейтральные соединения до водорода и уксусной кислоты (Кузнецов, Шеина 2009). Реакции проходят по следующим уравнениям:

Окисление органических кислот:

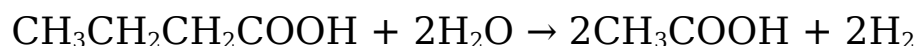
а) молочной



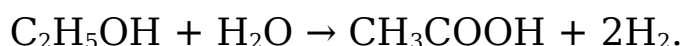
б) пропионовой



в) масляной



Окисление спиртов



Реакции превращения жирных кислот и спиртов в ацетат и молекулярный водород термодинамически не выгодны и для своего протекания обязательно требуют отвода молекулярного водорода. В микробных сообществах облигатные восстановители H^+ , выделяющие молекулярный водород, не могут существовать без микроорганизмов, удаляющих его из зоны реакции. (Нетрусов, 2018). Водород потребляется на следующей стадии метанобразующими археями, снижающими его концентрацию до 0,001% в термофильных условиях и до 0,0001 в мезофильных. Благодаря поддержанию низкого парциального давления водорода в системе становится возможным его межвидовой перенос, меняющий метаболизм первичных анаэробов в сторону образования непосредственных предшественников метана (Шевелуха 2008).

Межвидовой перенос водорода (формиата) продолжительное время считался основным способом внеклеточного переноса электронов в метаногенных микробных сообществах. (Stams, Plugge, 2009). Непрямой межвидовой перенос электронов имеет существенный недостаток: любой застой в процессе приводит к накоплению ЛЖК, понижающих рН среды и увеличению концентрации водорода. Это может блокировать синтрофный процесс (Baek, et al., 2016).

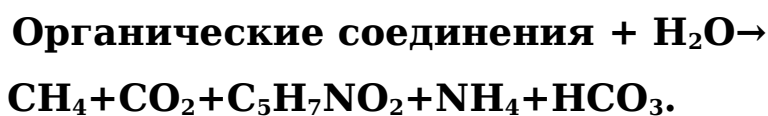
Однако недавние исследования показали, что межвидовой перенос электронов может осуществляться напрямую между синтрофными бактериями и метаногенными археями. В прямом переносе электронов задействованы такие структуры клеток как: е-пили, цитохромы С, полимерный матрикс (Martins, 2018).

Отсутствие пилей и других клеточных компонентов, вовлеченных во внешнюю передачу электрона, может быть компенсировано присутствием кондуктивных (электропроводящих) материалов, таких как гранулированный уголь, углеродная ткань, магнетит. Прикрепляясь к поверхности электропроводящих материалов, микроорганизмы формируют проводящие биопленки или агрегаты. (Martins 2018)

Стадия метаногенеза, протекающая по двум процессам, вызванным различными группами микроорганизмов – ацетокластическими и гидрогенотрофными метаногенами. Эти две группы метаногенов преобразуют питательные соединения предыдущей стадии в метан CH_4 , воду H_2O и диоксид углерода (Ножевникова, 2016). Важную роль в метаногенезе из органических субстратов играет группа ацетатиспользующих метаногенов, так как при сбраживании сточных вод и навоза из ацетата как промежуточного продукта образуется более 70%

метана (Шевелуха 2008, Шеина 2009). Разлагать ацетат с образованием угольной кислоты и метана способны осуществлять представители двух родов – метаносарцина и метанотрикс. Метаносарцины склонны к более высоким концентрациям ацетата и обнаруживаются в метантенках с более высокой скоростью продукционного процесса (Шевелуха 2008).

Суммарно процесс метаногенерации можно записать уравнением:



Стоит отметить, что гидролиз трудноразлагаемых полимеров происходит и в метаногенной фазе, а образование ацетата, основного предшественника метана, осуществляется гидролитической, бродильной и гомоацетатной микрофлорой, поэтому разделение процесса метаногенеза на фазы носит условный характер (Шевелуха, 2008).

Стабильное и эффективное сбраживание отходов требует рассмотрения не отдельных групп бактерий, а микробного сообщества в целом и конкретных условий его жизнедеятельности (Седин, 2009). Метаногены более требовательны к условиям своего существования, чем бактерии – гидролитики. Оптимальным для их жизнедеятельности является рН от 6,8 до 7,5. При снижении или повышении рН, процесс метаногенеза замедляется, вплоть до полного прекращения (Кузнецов, 2012). Кроме того, они способны существовать исключительно в абсолютно анаэробной среде и требуют длительного времени для воспроизводства (Седин, 2009).

При поступлении большого количества органического вещества в метаногенную систему происходит разбалансировка

цепи реакций. Из-за быстрого образования летучих жирных кислот происходит понижение рН, что может замедлить метаногенез, вплоть до его полного прекращения (Нетрусов, 2018).

1.4 Интенсификация метаногенеза внесением кондуктивных (электропроводящих) материалов

Существуют разные способы вывода биореактора из закисленного состояния, например добавление в содержимое метантенка горячей воды, известкового молока или соды.

В последние годы активно изучается перспектива использования недавно открытого процесса DIET (англ. «Direct Interspecies Electrons Transfer» - прямой межвидовой перенос электронов), при котором в анаэробном сообществе микроорганизмов электроны переносятся напрямую от одной клетки к другой или через материалы, способные проводить электричество (кондуктивные) для увеличения скорости разложения органических отходов. Экзоэлектрогенные бактерии (такие как *Geobacter* *Shewanella*), разлагающие органические субстраты, нуждаются в потоке электронов, а электротрофные метаногены (например *Methanotherix*, *Methanosarcina* и *Methanococcus*) представляют собой подходящих партнеров для ассимиляции этих электронов и образования метана (Baek, 2016).

В анаэробном биореакторе биомасса обладает высокой плотностью, поэтому отношения на основе прямого межвидового переноса электронов можно стимулировать внесением кондуктивных (электропроводящих) материалов даже у тех микроорганизмов, которые не способны к образованию электропроводящих пилей или межклеточного матрикса (Liu et al., 2012). Микроорганизмы прикрепляются к поверхности кондуктивных материалов и используют их в качестве проводников для обмена электронами (Barua and Dhar, 2017)

Многие исследователи сообщили об улучшении производства метана в анаэробных реакторах, в которые внесли

кондуктивные материалы, такие как магнетит, гранулированный активированный уголь, углеродные нанотрубки и биоуголь (Baek, 2015, Rotaru 2014, Lee 2015, Liu 2012, Xu 2015), Эти кондуктивные материалы очень стабильны, имеют большую площадь поверхности, хорошую адсорбционную способность и высокую электрическую проводимость (Figueiredo 1999, Van der Zee 2009, Van der Zee 2014).

В биоэлектрохимических системах кондуктивные материалы являются электродами. При выборе материала для электродов важными аспектами является высокая проводимость, низкая стоимость, химическая, механическая и термическая стойкость. Помимо этого, конфигурация электрода должна обеспечивать оптимальное распределение плотности тока и наличие площади для роста электроактивных микроорганизмов (Wei et al., 2011). Материал биоэлектрода должен обладать шероховатой поверхностью, чтобы обеспечить микроорганизмам возможность колонизировать её.

Благодаря повышению скорости передачи электронов с помощью DIET анаэробное сбраживание протекает более стабильно, даже при возрастании нагрузки. Стимулирующий эффект от применения различных видов кондуктивных материалов обычно выражается в сокращении периода запуска реактора, увеличении скорости и объёма выхода метана, более эффективном разложении субстрата и сокращении времени гидравлического удержания.

В последнее время стимуляция DIET добавлением проводящих материалов изучалась в инженерных системах, таких как лабораторные анаэробные биореакторы и в бинарных культурах. Стоит отметить, что большинство биореакторов

инокулируют с использованием неопределенной смешанной культуры, которая имеет гораздо более сложный характер структуры микробного сообщества, чем бинарные культуры. Они могут по-разному реагировать на внесение различных кондуктивных материалов, и это важный аспект практического применения (Baek et al. 2018).

Углеродные кондуктивные материалы. Проводящие материалы на основе углерода широко используются для стимулирования DIET при производстве метана. К ним относятся гранулированный активированный уголь, биоуголь, углеродная ткань, углеродные нанотрубки, графен и графит. Большинство материалов на основе углерода обладают высокой электропроводимостью, высокой стойкостью к коррозии и большой удельной площадью поверхности, что способствует усилению реакций (Martins, 2018). Кроме того, кондуктивные материалы на основе углерода способны накапливать образующийся водород, который потребляется гидрогенотрофными метаногенами (Dang et al., 2017).

Гранулированный активированный уголь имеет пористую структуру. Его производят путём переработки различных материалов органического происхождения, например: древесного угля, кокосовой скорлупы, скорлупы грецкого ореха, абрикосовых косточек, косточек маслины и др. Активированный уголь с химической точки зрения – аллотропная модификация углерода с несовершенной структурой. 87-97 % массы активированного угля составляет углерод, 3-13% - водород, кислород, азот, сера и другие примеси. По химическому составу активированный уголь схож с графитом. Активированный уголь имеет очень большую удельную поверхность (1 г активного угля

обладает поверхностью от 500 до 1500 м²). благодаря большому количеству пор (рис. 1.6). Увеличение пористости активного угля происходит в процессе активации, которая значительно увеличивает адсорбирующую поверхность. Суть процесса активации – вскрытие закрытых пор в углеродном материале. Это достигается либо термохимическим путём (нагрев предварительно пропитанного раствором хлоридом цинка, карбоната калия до 400-600° С в безвоздушной среде), либо обработкой водяным паром, углекислым газом СО₂ или их смесью при температуре 700-900° С.



Рисунок 1.6 Матрица пор активированного угля

Частицы ГАУ имеют размер от 0,1 до 5 мм. Он обладает типичными для материалов на основе углерода характеристиками и его легко загрузить в биореактор, поэтому он часто использовался в качестве проводящего материала для стимулирования ДИЕТ (Liu et al. 2012). Кроме того, большая удельная поверхность ГАУ способствует эффективному прикреплению микроорганизмов (Pham et al., 2009; Watanabe, 2008), а также адсорбции потенциально токсичных для метаногенного микробного сообщества химических веществ

(таких как органические растворители и тяжелые металлы (Ahmed and Rothenberger, 2014).

В исследованиях Liu и Luo отмечалось, что гранулированный активированный уголь может облегчить прямой межвидовой перенос электронов (DIET) между определенными видами микроорганизмов, такими как *Geobacter metallireducens* и *Methanosarcina barkeri* (Liu et al., 2012) или смешанной культуры внутри метаногенных агрегатов (Luo et al., 2015).

Карбоновая ткань — материал, образованный тонкими нитями диаметром от 5 до 15 мкм, состоящими из углерода, атомы которого агрегируются в микроскопические кристаллы, выровненные параллельно друг другу, что придает волокну высокую прочность на растяжение. Углеродные волокна обладают большой силой натяжения и прочностью, высокой электропроводностью, низкой плотностью, химической инертностью. Основной способ получения углеродного волокна - термическая обработка органических волокон различного происхождения, при которой в материале волокна остаются преимущественно атомы углерода (Симамура, 1987) .

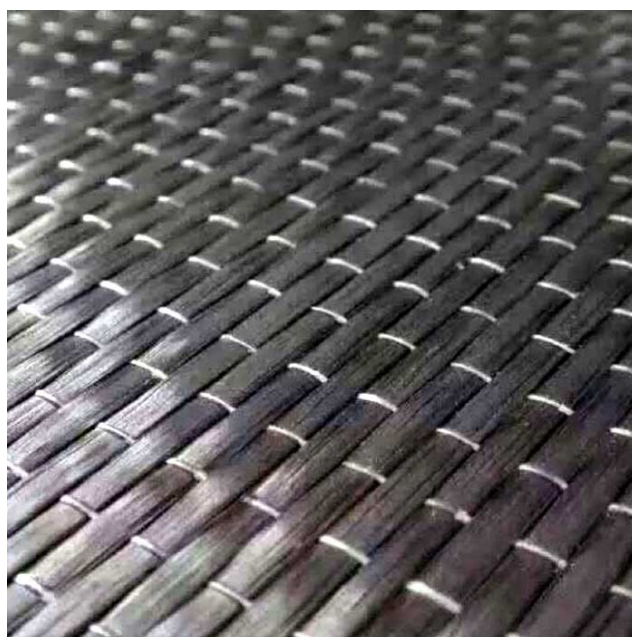


Рисунок 1.7 - Однонаправленная карбоновая ткань

Карбоновая ткань и войлок являются широко используемыми электродными материалами в биоэлектрохимических системах благодаря их проводящим характеристикам (Baek 2018). Использование углеродной ткани экономически целесообразно, поскольку она может удерживаться в реакторах без потерь от вымывания (Sasaki et al., 2009, Baek 2018). Углеродная ткань снижает негативные последствия, вызванные закислением и высоким парциальным давлением водорода в биореакторе. По мнению Zhao и соавторов, в стрессовых условиях, таких как снижение pH, доминирующий механизм переноса электронов сменяется с непрямого на прямой при наличии карбоновой ткани (Zhao et al. 2017, Baek, 2018).

Кондуктивные материалы на основе железа.

Существует несколько разновидностей оксидов железа с различной проводимостью: изоляционные (ферригидрит), полупроводниковые (гематит и гетит) и проводящие (магнетит). Они подходят для использования в экспериментах, чтобы проверить, стимулируется ли DIET-механизм проводящими материалами.

Kato и Watanabe (2010) исследовали использование различной проводимости разных типов оксидов железа, чтобы изучить взаимодействия почвенных микроорганизмов, и обнаружили, что наноразмерные частицы оксида железа могут облегчить дыхательный механизм почвенных микроорганизмов. Было подтверждено что проводимость оксидов железа может определять скорость метаногенеза в обогащенном микробном сообществе из почвы рисовых чеков. В этом исследовании три

разных оксида железа с разной проводимостью (магнетит, гематит и ферригидрит). Было обнаружено, что (полу) проводящее железо оксиды могут способствовать метаногенезу из ацетата и этанола с сокращением лаг-фазы и скорости производства. Любой другой эффект ионов железа, в том числе в качестве питательного вещества, был исключен (Kato, S.; Watanabe, 2010).

Магнетит - минерал состава Fe_3O_4 или $FeO \cdot Fe_2O_3$ иногда содержащий в виде примеси содержит титановую кислоту (TiO_2). В природе распространён в виде отдельных кристаллов, кристаллических друз, или же зернистых масс. Кристаллы представляют собой преимущественно октаэдр или ромбический додекаэдр; другие формы встречаются гораздо реже. Имеет сильный магнетизм, часто проявляя полярность (Григорьев, 1975)



Рисунок 1.8 - Магнетит

Изучение DIET находится еще на ранних стадиях и необходимы дополнительные исследования для понимания механизмов DIET и получения знаний о биоразнообразии

микроорганизмов, способных к прямому переносу электронов. Однако уже сейчас можно утверждать, что создание биотехнологии переработки отходов на основе использования процессов межвидового переноса электронов (DIET) для интенсификации разложения органических веществ может быть перспективно как с экологической, так с экономической точки зрения.

Глава 2 Объекты и методы исследования

2.1 Объекты исследования

Объектом исследования являются процессы анаэробного сбраживания модели органических отходов термофильным метаногенным сообществом микроорганизмов анаэробного активного ила Люберецких очистных сооружений.

Метаногенное сообщество. Благодаря сложному, многокомпонентному составу ОСВ в активном иле развиваются различные физиологические группы бактерий, которые потребляют все компоненты осадков. Огромную роль в процессах анаэробного сбраживания играют клостридии. Клостридии, вырабатывающие сахаролитические ферменты, сбраживают соединения, имеющие углеводную природу. При этом некоторые из них разлагают исключительно целлюлозу, некоторые - пектиновые вещества, другие — крахмал.

Кислотообразующие бактерии представлены в осадках в больших количествах, время генерации для многих видов составляет 20-30 мин, для других - несколько часов.

Все метаногенные археи— облигатные анаэробы, очень чувствительные к условиям среды. Оптимальное значение рН для них составляет 6,8—7,5, а оптимум окислительно-восстановительного потенциала имеет диапазон 510 -590 мВ. Содержание нитратов и сульфатов может ингибировать метаногенез. Многие метаногенные археи предпочитают мезофильные условия (35—40 С), хотя есть виды и с более низким, и с более высоким оптимумом температуры.

В качестве источника азота метаногенные археи используют соединения аммония. Характерной чертой метаногенов является специфичность некоторых видов по отношению к источнику

водорода, необходимого для реакций катаболизма. Большинство архей используют молекулярный водород, хотя многие виды используют простые органические вещества (спирты и низшие жирные кислоты) в качестве донора водорода. Состав микробного сообщества приведён в таблице 2.1.

Таблица 2.1 - Состав микробного сообщества анаэробного активного ила Люберецких очистных сооружений (по данным молекулярного анализа последовательностей гена 16S рРНКв)

№	Вид	Относительное количество, %
1	<i>Methanothermobacter sp.</i>	27
2	<i>Coprothermobacter sp.</i>	17
3	<i>Defluviitoga sp.</i>	10
4	<i>Hydrothermae sp.</i>	7
5	<i>Pelotomaculum sp.</i>	5
6	<i>Theridanaerobacter sp.</i>	3
7	<i>Aminicenantales sp.</i>	2
8	<i>Ruminiclostridium sp.</i>	2
9	Другие виды	27

В качестве **модели органических отходов** использовался комбикорм для крупного рогатого скота К-65 (рис 2.1). Влажность комбикорма 10,5%, содержание органического вещества – 90%.



Рисунок 2.1 – Комбикорм для крупного рогатого скота К- 65

Состав комбикорма: ячмень, пшеница, отруби пшеничные, известняковая мука, меласса, соль поваренная, антиоксидант,

витамино-минеральный премикс. Содержание основных нутриентов в комбикорме представлено в таблице 2.2.

Таблица 2.2 - содержание основных нутриентов в комбикорме К - 65

Наименование	%
Сырой протеин	1,3
Протеин, перевариваемый КРС	10,5
Сырой жир	2,5
Сырая клетчатка	10
Крахмал	20
Сахар	2,5
Сухое вещество	87

2.2 Методы исследования

Для решения поставленных задач было заложено два вида экспериментов: лабораторные эксперименты и эксперимент с биогазовой установкой (табл. 2.3)

Таблица 2.3. Виды поставленных экспериментов

Модельные лабораторные эксперименты		Эксперимент по изучению влияния кондуктивных материалов на процессы анаэробной биоконверсии жидких органических отходов в биогазовой установке при возрастающей нагрузке по органическому веществу
Эксперимент по оценке использования разных видов и доз кондуктивных материалов в анаэробной биоконверсии смеси летучих жирных кислот термофильным метаногенным микробным сообществом	Эксперимент по изучению влияния экспозиции активного ила к угольной ткани на процесс метаногенеза	

Эксперимент по изучению влияния кондуктивных материалов на процессы анаэробной биоконверсии жидких

органических отходов в биогазовой установке при возрастающей нагрузке по органическому веществу

Экспериментальная установка состояла из трёх идентичных анаэробных биореакторов (R) и реактора предварительного гидролиза (RH):

1. Реактор №1 (R1) – без носителей;
2. Реактор №2 (R2) – с инертным носителем (стеклоткань);
3. Реактор №3 (R3) – с носителем из угольной ткани.

Реакторы работали при возрастающей нагрузке по органическому веществу в течение 15-20 суток при каждом объёме нагрузки:

- 4 кг/м³ реактора;
- 8 кг/м³ реактора;
- 12 кг/м³ реактора.

Источником метаногенного микробного сообщества служила смесь осадка сточных вод (смесь первичного осадка и избыточного активного ила, подаваемая в метантенки на Люберецких очистных сооружениях (ЛОС) и. Влажность ОСВ – 97,2%, концентрация органического вещества (ОВ) 19,8 г/л.

В реакторах осуществлялось непрерывное (проточное) культивирование, которое обеспечивает фиксацию культуры в определенной стадии, при этом химический состав среды и условия жизнедеятельности микроорганизмов остаются неизменными. Для этого в сосуд для культивирования постоянно приливают свежую питательную среду и одновременно удаляют старую питательную среду с продуктами жизнедеятельности микроорганизмов и отмершими клетками. Для установления динамического равновесия скорость подачи свежей питательной

среды и удаление старой должно соответствовать скорости роста культуры.

Эксперимент проводился в течение 75 дней. Среднесуточная скорость выхода и объём биогаза измерялись ежедневно.

Эксперимент по оценке использования разных видов и доз кондуктивных материалов в анаэробной деградации смеси летучих жирных кислот термофильным метаногенным микробным сообществом

Культивирование осуществлялось при 55°C на модифицированной среде Пфенинга (без добавления дрожжевого экстракта) в стеклянных флаконах объемом 120. Летучие жирные кислоты (например, уксусная кислота, масляная кислота, и пропионовая кислота) и спирты (например, бутанол, этанол и пропанол) являются предпочтительными субстратами для экзоэлектрогенных микроорганизмов, таких как *Geobacter* sp. (Lin et. al, 2018), поэтому субстратом служила смесь летучих жирных кислот (ацетата, пропионата и бутирата). Объём питательной среды составлял 60 мл и газовой фазы 60 мл. Для обеспечения анаэробных условий флаконы со средой до засева продували азотом, после чего закрывали резиновыми пробками и металлическими колпачками с отверстием для отбора проб. Для засева каждого флакона вносили по 3 г. инокулята.

Эксперимент включал в себя варианты с разными видами (магнетит, уголь) и дозами кондуктивных материалов, а также контроль (таблица 2.4). Каждый вариант опыта ставился в трёх повторностях.

Таблица 2.4 – Схема опыта в эксперименте по оценке использования разных видов и доз кондуктивных материалов в

анаэробной деградации смеси летучих жирных кислот термофильным метаногенным микробным сообществом

Вид кондуктивных материалов	Доза
Контроль	-
Магнетит	5 мМоль/л
	10 мМоль/л
	50 мМоль/л
Уголь	1 г/л
	5 г/л
	10 г/л

Эксперимент по изучению влияния экспозиции активного ила к угольной ткани на процесс метаногенеза

Культивирование осуществлялось в анаэробных условиях при температуре 55°. Лабораторный эксперимент включал в себя контроль и шесть вариантов опытов, в которых варьировались источники инокулята и различные виды кондуктивных материалов.

Кислород удаляли из среды кипячением, сосуды тщательно закрывали резиновыми пробками с металлическими колпачками, газовую фазу культивационного сосуда заменяли на азот. Для удаления следовых количеств кислорода в среду внесли восстановители (сульфид натрия) и в дальнейшем поддерживали анаэробные условия, исключая попадание кислорода при пересевах. Объем питательной среды составлял 60 мл и газовой фазы 60 мл.

Таблица 2.5 -Схема опыта в эксперименте по изучению экспозиции активного ила к угольной ткани на процесс метаногенеза

Происхождение инокулята	Виды кондуктивных материалов	Количество кондуктивных материалов
Ил, взятый	Контроль	-
	Угольная	300 мг

из реактора без добавления кондуктивных материалов	ткань	
	Магнети т	50 мМ
Ил, взятый из реактора со стеклотканью	Контроль	-
	Угольная ткань	300 мг
	Магнети т	50 мМ
Ил, взятый из реактора со стеклотканью	Контроль	-
	Угольная ткань	300 мг
	Магнети т	50 мМ

Состав газов измерялся через 16, 40, 62, 91, 160, 234, 354, 544 часа после постановки эксперимента.

В обоих лабораторных опытах осуществлялось периодическое культивирование. При периодическом культивировании клетки помещаются в замкнутый с питательной средой и задают определённые условия. При росте плотности популяции, в среде накапливаются продукты обмена и понижается содержание питательных веществ. Периодическая культура является замкнутой системой, претерпевающей разные стадии развития.

Определяемые параметры

Во всех опытах определялся

- объём выделившегося биогаза;
- содержание в газовой фазе метана, углекислого газа и водорода;
- концентрация летучих жирных кислот.

Объём выделившегося биогаза в лабораторных опытах определялся с помощью манометра по избыточному давлению в

инкубационных флаконах, в биогазовых установках с помощью газовых счётчиков.

Определение состава газовой фазы осуществляли на газо-жидкостном хроматографе Кристалл 5000.1 (ЗАО ХРОМАТЕК г. Йошкар-Ола) с системой из 2-х параллельно соединенных колонок с выходом на детектор по теплопроводности и пламенный детектор через метанатор ($T=350^{\circ}\text{C}$), газ-носитель - гелий. Пробы газовой фазы отбирали с помощью шприца, снабжённого специальным клапаном для защиты от проникновения воздуха, в объеме 0,5 мл. Проводили измерения содержания H_2 , CH_4 и CO_2 .

Определение содержания летучих жирных кислот (уксусная, пропионовая, н- и изо-масляная, н- и изо-валериановая) в иловой воде проводили методом газо-жидкостной хроматографии на хроматографе Кристалл 5000.2 (ЗАО СКБ «Хроматэк», Йошкар-Ола, Россия) с пламенно-ионизационным детектором (ПИД). Определяемые компоненты разделялись на колонке Solgel-Wax (30 м _ 0.25 мм _ 0.25 мкм). Температура колонки увеличивается от 130 до 180 $^{\circ}\text{C}$ со скоростью 10 $^{\circ}\text{C}/\text{мин}$; температуры испарителя и детектора ПИД составляют, соответственно, 220 и 230 $^{\circ}\text{C}$; скорость потока газ-носителя (гелий) составляет 1 мл/мин. Перед анализом образцы центрифугируют при 10000 об/мин в течение 5 мин и доводят с помощью муравьиной кислоты до $\text{pH}=2,5-3,0$. Калибровку хроматографа и количественное определение ЛЖК осуществляли с применением внутреннего стандарта 2-этилмасляной кислоты (99%, Sigma-Aldrich).

Для дополнительной очистки (осветления) в подкисленные пробы добавляли специальные сорбенты: 0.02 г аэросила

(аморфный диоксид кремния SiO_2 с удельной поверхностью $300 \text{ м}^2 \text{ г}^{-1}$) и 0.02 г силикагеля (высокодисперсный порошок состава $m\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). Процесс сорбции интенсифицируют путем тщательного перемешивания на вортексе. Полученную суспензию центрифугируют при $8 \text{ тыс. об. мин}^{-1}$ в течение 5 мин на настольной центрифуге MiniSpin Plus (Эппендорф, Германия), после чего переносят надосадочную жидкость в чистую пробирку.

Объем анализируемого образца составляет 1 мкл . После каждого измерения проводят промывку хроматографической колонки деионизированной водой или специальным отмывочным раствором, состоящим из 10% метанола и подкисленной деионизированной воды.

Концентрацию ЛЖК в пробе иловой воды определяют по уравнению:

$$C = K \cdot S,$$

где C - концентрация ЛЖК, мМ ;

$K = C (\text{мМ}) \text{ стандарта} / S \text{ пика стандарта}$, коэффициент K получали из расчета стандартных растворов ЛЖК (10 мМ);

S - площадь пика на хроматограмме, $\text{мВ} \cdot \text{мин}$.

Для определения коэффициента K проводят градуировку хроматографа с использованием стандартной смеси ЛЖК с концентрацией 10 мМ л^{-1} (напр. Supelco, США).

Глава 3 Результаты исследования

3.1 Оценка использования разных видов и доз кондуктивных материалов в анаэробной деградации смеси летучих жирных кислот термофильным метаногенным микробным сообществом

Как показано на рис. 3.1, вариант с углём в дозе 1 г/л показал самую высокую скорость образования метана: на 15 день эксперимента в нём выделилось 15,69 мл. метана, что на 13,6 мл. выше, чем в контроле. Высокая скорость образования метана наблюдалась также в варианте с углём в дозе 5 г/л.

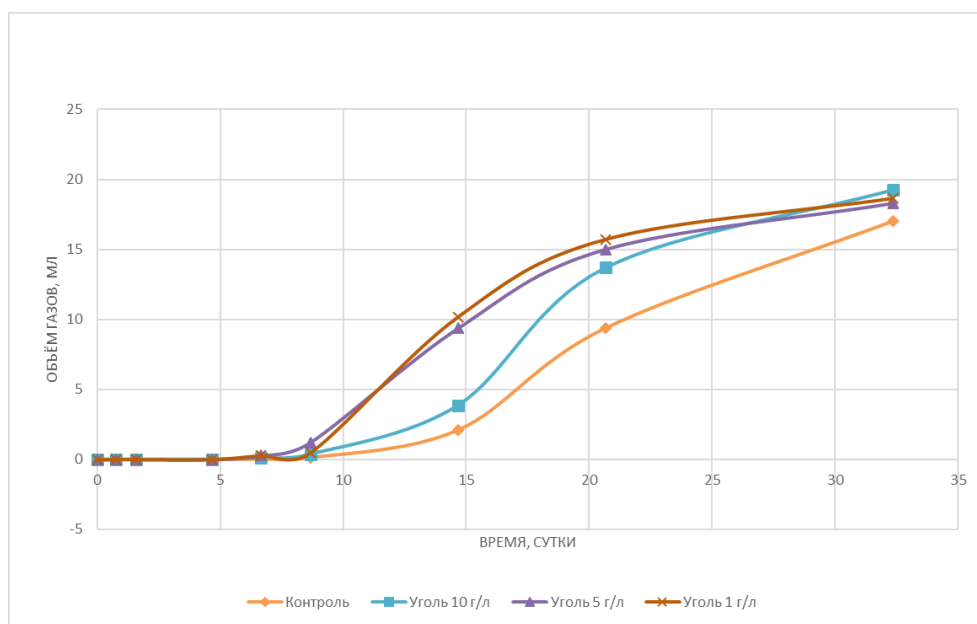


Рисунок 3.1- Динамика образования метана с добавлением угля

Это согласуется с данными Liu и соавторов о том, что добавление гранулированного угля может стимулировать DIET и интенсифицировать метаногенез, (Liu et al. 2012). В экспериментах по совместному культивированию *Geobacter metallireducens* и *Methanosarcina barkeri* они доказали, что внесение гранулированного угля значительно сокращает лаг-

фазу и увеличивает выхода метана (Liu et al., 2012). При этом биологических структур, таких как е-пили или внеклеточные мембраны они не наблюдали, что доказывает, что именно уголь был проводником для электронов.

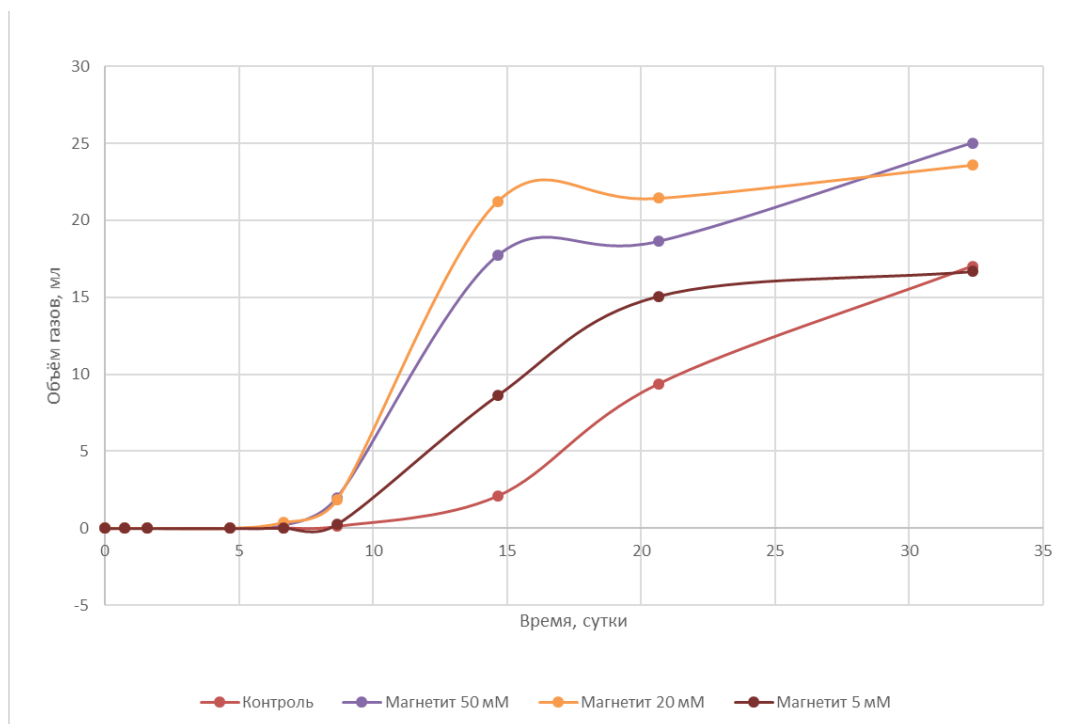


Рисунок 3.2. - Динамика образования метана с добавлением магнетита

Из рис. 3.2 видно, что наибольшая скорость образования метана наблюдалась в варианте опыта с высокими дозами магнетита: в дозе 20 мМоль/л на пятнадцатый день эксперимента объём выделившегося метана составил 21,23 мл, в дозе 50 мМоль/л – 17, 71 мл. Это выше чем в контроле на 19,14 и 15,62 мл соответственно.

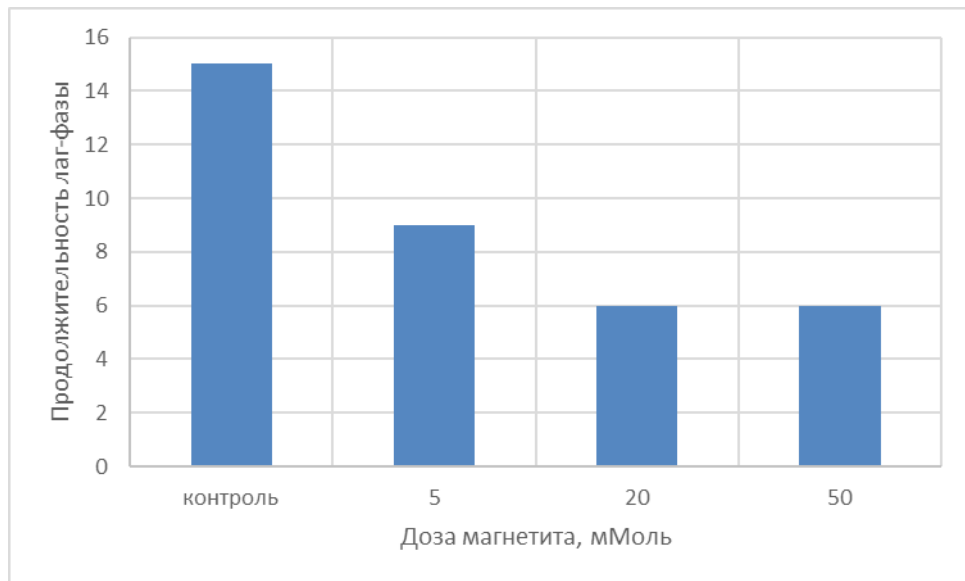


Рисунок 3.3- Зависимость продолжительности лаг-фазы от дозы внесённого магнетита

График на рис. 3.3 иллюстрирует зависимость продолжительности лаг-фазы от дозы внесённого магнетита: без внесения магнетита продолжительность лаг-фазы составляет 15 дней, при внесении 5 мМоль магнетита она сокращается до 9 дней, при внесении 20 и 50 мМоль лаг-фаза составляет всего 6 дней.

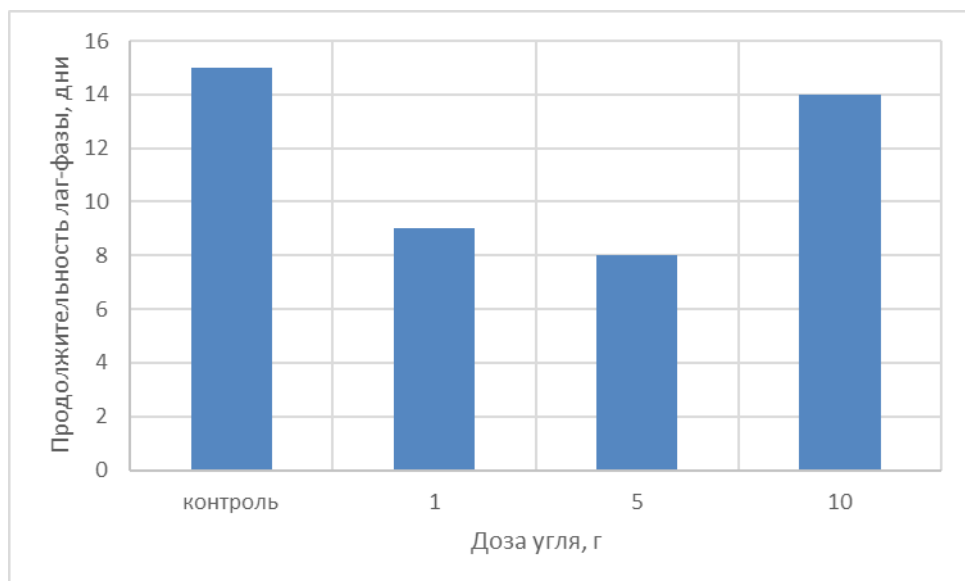


Рисунок 3.4- Зависимость продолжительности лаг-фазы от дозы угля

Как мы видим из рис. 3.4, в опыте с углём эта закономерность соблюдается не полностью: хотя при добавлении 1 грамма угля лаг-фаза сокращалась на 6 дней по сравнению с контролем, при внесении 5 грамм - на 7. Однако внесение 10 грамм не дало такого эффекта: лаг-фаза сократилась всего на 1 день по сравнению с контролем.

Если рассмотреть суммарный объём метана, выделившегося в ходе эксперимента, то мы обнаружим, что количество метана в опытах с углём сопоставимо с контролем (см. рис. 3.5)

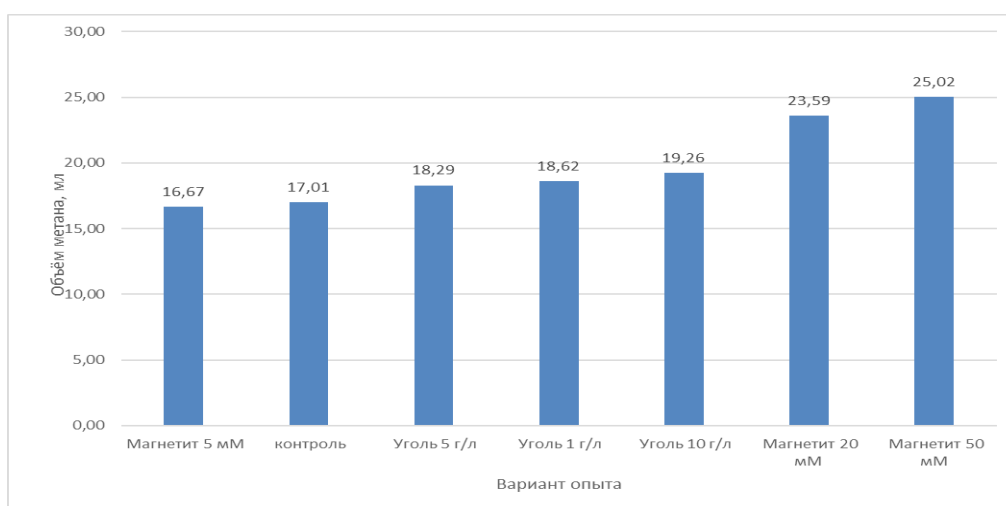


Рисунок 3.5 Суммарный объём выделившегося в ходе эксперимента метана

Это противоречит данным Yang et al. (2017) о существенном влиянии количества ГАУ, внесённого в реактор на эффективность стимуляции DIET. При добавлении ГАУ в концентрациях от 0,5 до 5 г/л, наиболее выраженный стимулирующий эффект на объём выделившегося метана Yang et al. (2017) отмечали при концентрации 5 г/л. Он был на 37,2 и 17,4% больше, чем в контроле без ГАУ в период запуска и в конце эксперимента, соответственно.

Самый высокий выход метана наблюдался в варианте со средними и высокими дозами магнетита (на 42 и 50% выше, чем в контроле).

Таким образом, можно сделать вывод, что добавление кондуктивных материалов сокращает лаг-фазу метаногенеза на 30-50% и увеличивает объём выделившегося биогаза.

Как видно из рис. 3.6 и 3.7., потребление ЛЖК во всех опытах происходило одинаково: сначала потреблялся ацетат, потом бутират и только потом начал потребляться пропионат. Однако в опытах с высокими дозами кондуктивных материалов гораздо быстрее чем в контроле и в опытах с низкими концентрациями кондуктивных материалов разложился пропионат – главный индикатор нестабильности процесса, накопление которого в биореакторе может ингибировать метаногенез. Это дополняет данные Cruz Viggi и соавторов о том, что внесение частиц магнетита ускоряет деградацию пропионата (Cruz Viggi et al., 2014).

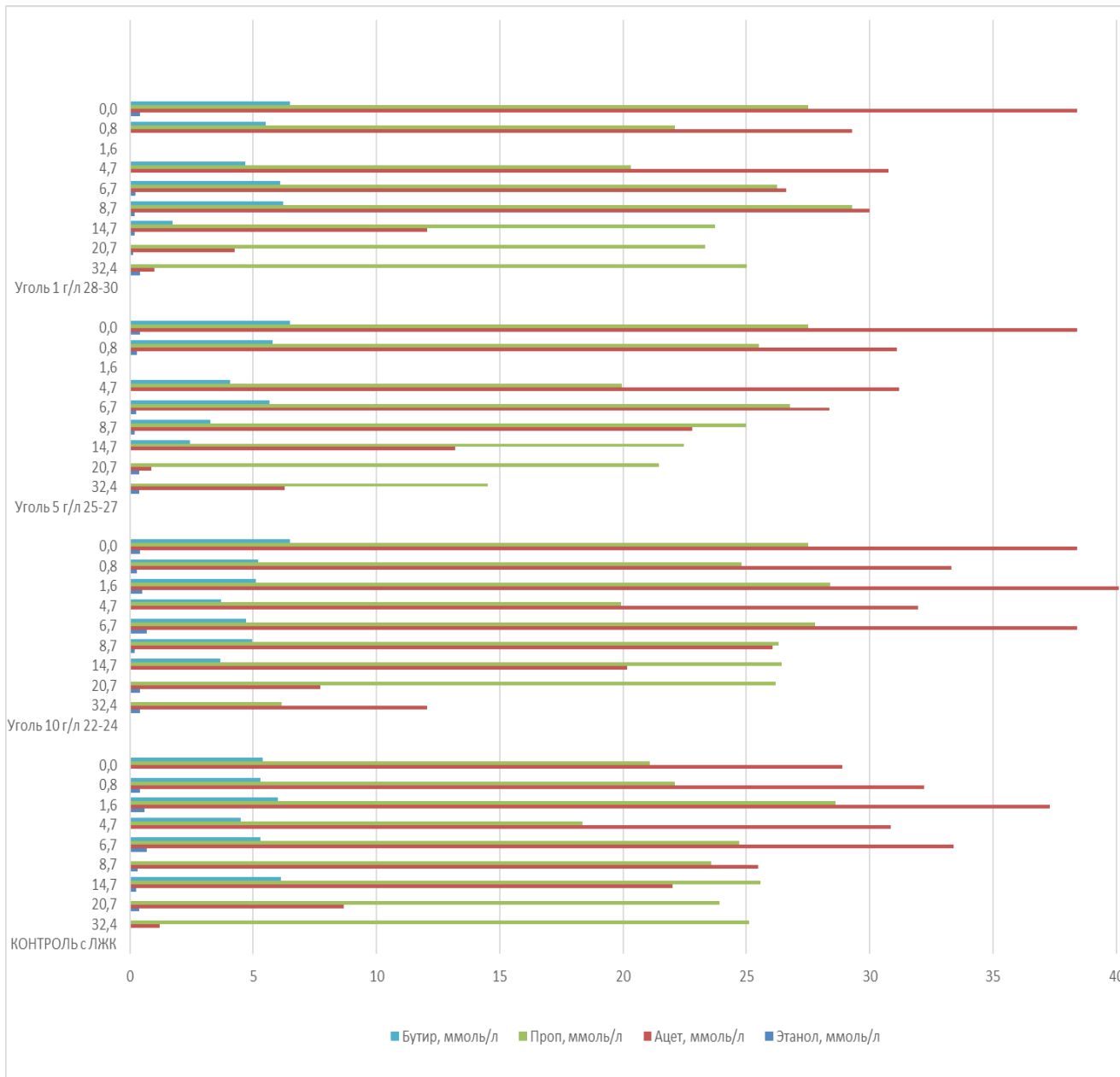


Рисунок 3.6 – Потребление летучих жирных кислот при внесении разных доз угля

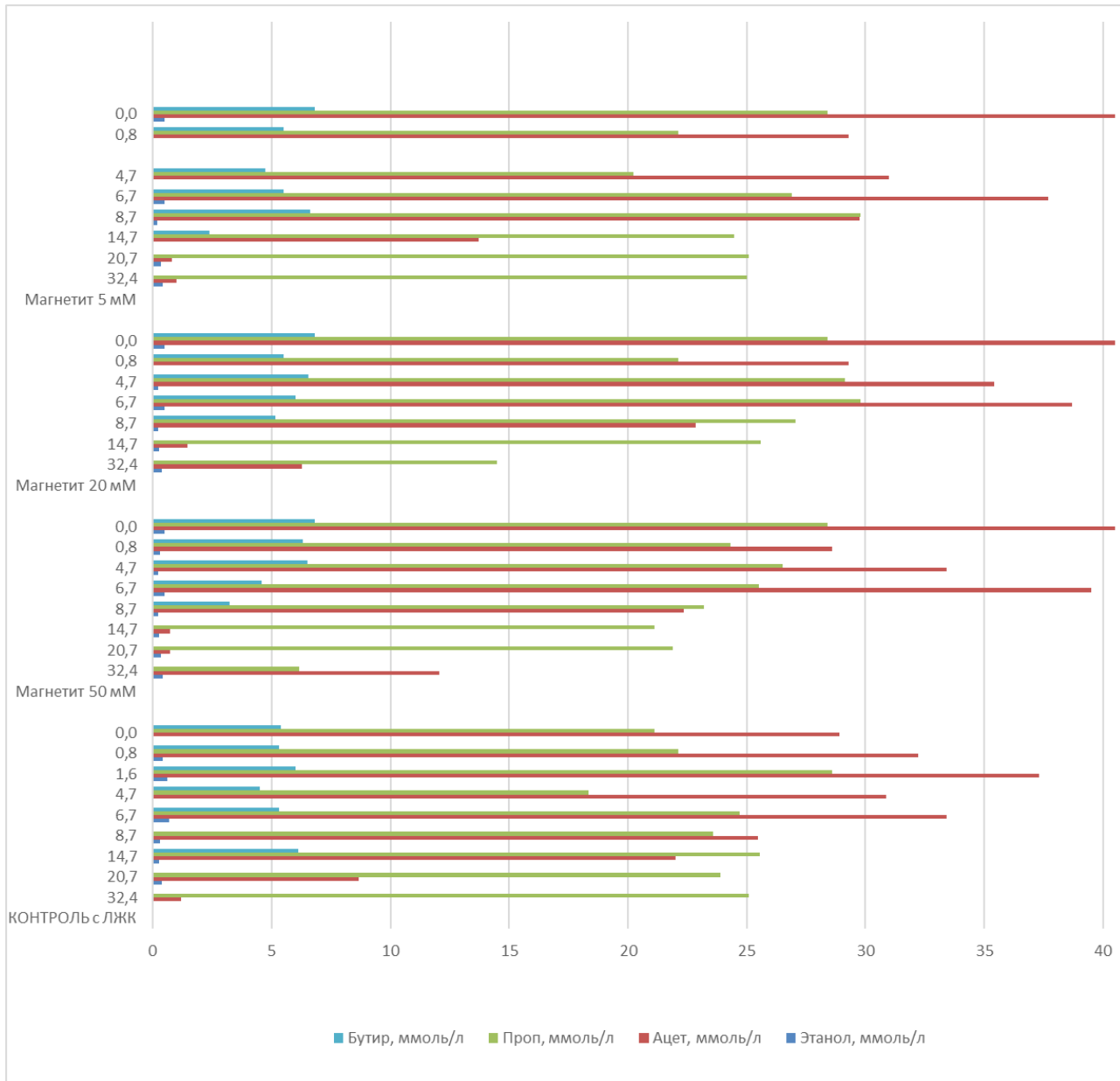


Рисунок 3.7- Потребление летучих жирных кислот при внесении разных доз магнетита

3.2 Влияние кондуктивных материалов на процессы анаэробной биоконверсии жидких органических отходов в биогазовой установке при возрастающей нагрузке по органическому веществу

Эксперимент проводился с 10 мая 2018 года по 20 июля 2018 года. Среднесуточная скорость выхода и объём биогаза в газовой установке измерялись ежедневно. На основании измерений были построены графики

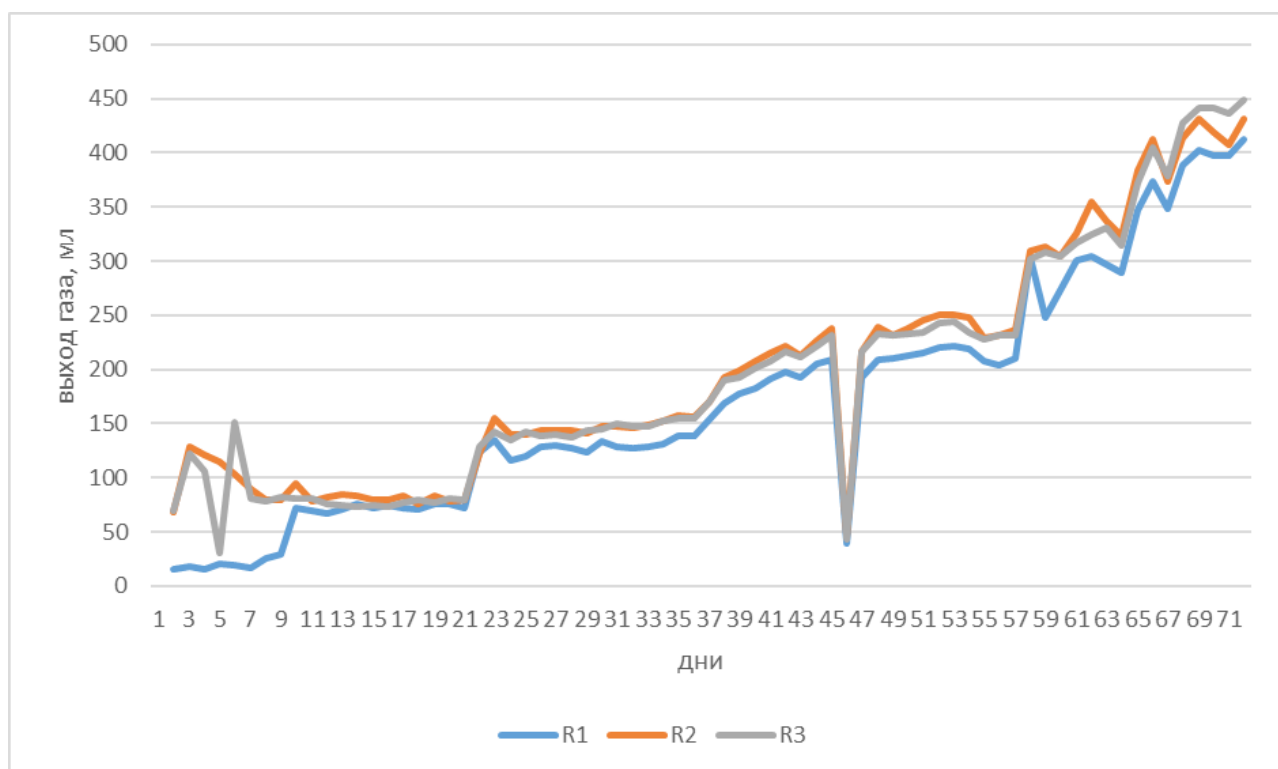


Рисунок 3.8 - Скорость образования газа в биогазовых установках. (R1 – реактор без электропроводящих материалов; R2 – реактор с инертным носителем (стеклотканью) ;R3 – реактор с угольной тканью)

Проанализировав рис. 3.8, мы можем отметить, что в реакторе № 1 субстрат долго адаптировался к нагрузке, скорость образования биогаза стала расти только на девятый день, выход на режим произошел на 10-ый день. Реактор №2 начал активно производить метан уже в первые сутки, но вышел на режим на 8

сутки. Реактор № 3 начал активнее чем R1 и R2 производить метан, однако, нестабильно в первую неделю работы и вышел на режим также на 8 сутки.

При увеличении нагрузки количество выделившегося биогаза было выше в реакторе с инертным носителем и реакторе с угольной тканью.

Из рис. 3.9 мы видим, что самое большое количество биогаза образовалось в реакторе со стеклотканью и несколько меньше в пределах 3% погрешности измерений в реакторе с угольной тканью. Это может быть связано с тем, что на волокнах стеклоткани лучше иммобилизуются микроорганизмы метаногенного сообщества-гидролитические, ацетогенные бактерии и метаногенные археи. Они не вымываются из реактора потоком, а разлагают органическое вещество на всей поверхности стеклоткани, формируя плёнки обрастания.

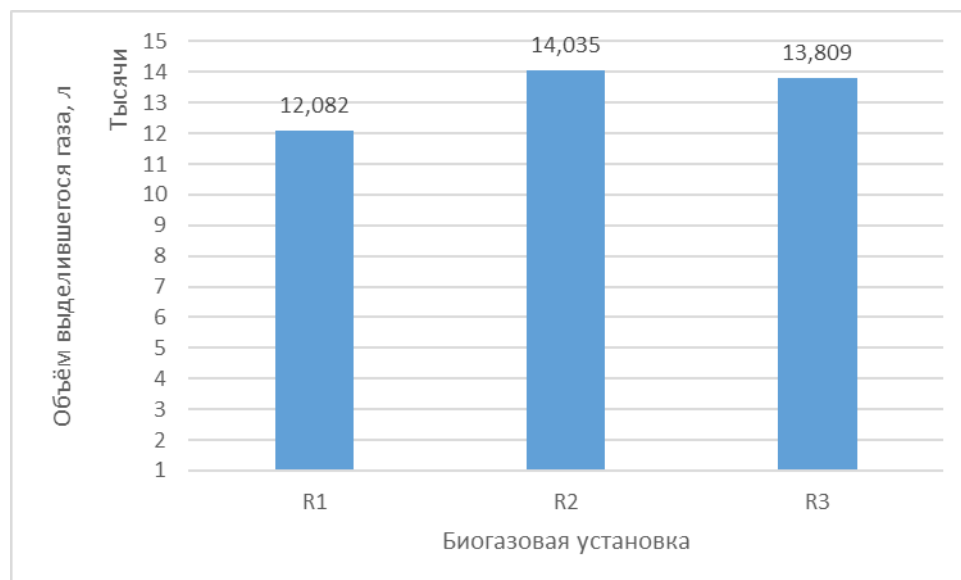


Рисунок 3.9 - Суммарный выход биогаза за 2,5 месяца (R1 – реактор без электропроводящих материалов; R2 – реактор с инертным носителем(стеклотканью); R3 – реактор у угольной тканью)

Большой, по сравнению с реактором с угольной тканью, выход биогаза может быть также вызван тем, что на угольной ткани происходит адсорбция не только микроорганизмов, но и химических веществ.

На начальном этапе эксперимента угольная ткань вела к ускорению метаногенеза, но дальнейшее её влияние незначительно.

В нормально функционирующем метантенке соотношение метана и углекислого газа 60:40 % (Кузнецов, 2012). Сопоставив данные хроматографического анализа проб газа, взятых из биогазовых установок в конце эксперимента, мы можем отметить, что применение кондуктивных материалов никак не влияет на соотношение газов в биогазовых установках (рис. 3.10).

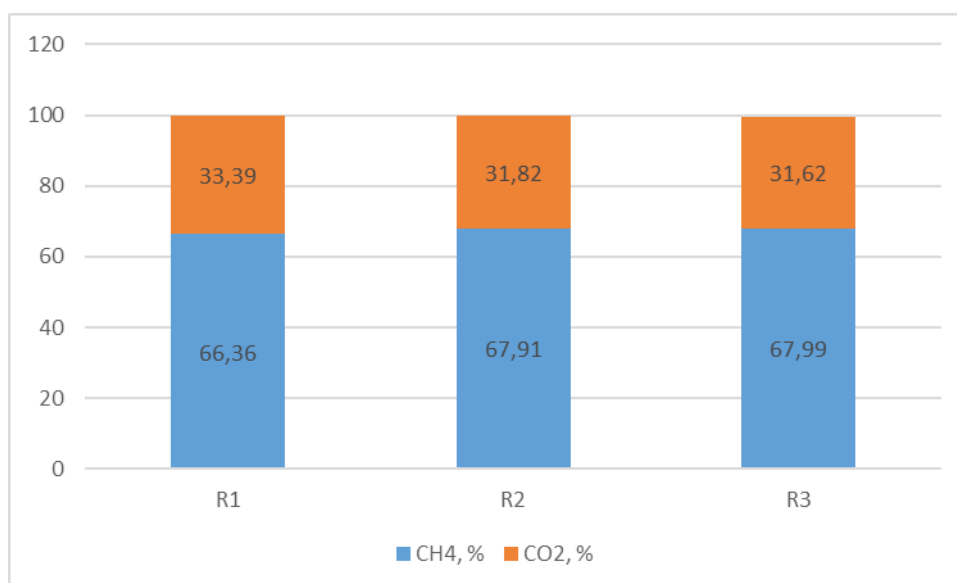


Рисунок 3.10 - Соотношение метана и углекислого газа в реакторах к концу эксперимента (R1 – реактор без носителя, R2 – реактор с инертным носителем (стеклотканью), R3 – реактор с карбоновой тканью)

Результаты анализа концентрации летучих жирных кислот (рис. 3.11) показали, что при небольших нагрузках процесс

сбраживания протекал стабильно и разница в концентрациях ЛЖК была несущественна, однако при повышении нагрузки быстрее всего ЛЖК потреблялись в реакторах со стеклотканью и с угольной тканью. При максимальных нагрузках самая низкая концентрация ЛЖК наблюдалась в реакторе с карбоновой тканью. Это согласуется с данными Sasaki и соавторов (2010) о том, что при внесении карбоновой ткани в реактор накопления ЛЖК не происходит (Sasaki et al., 2010).

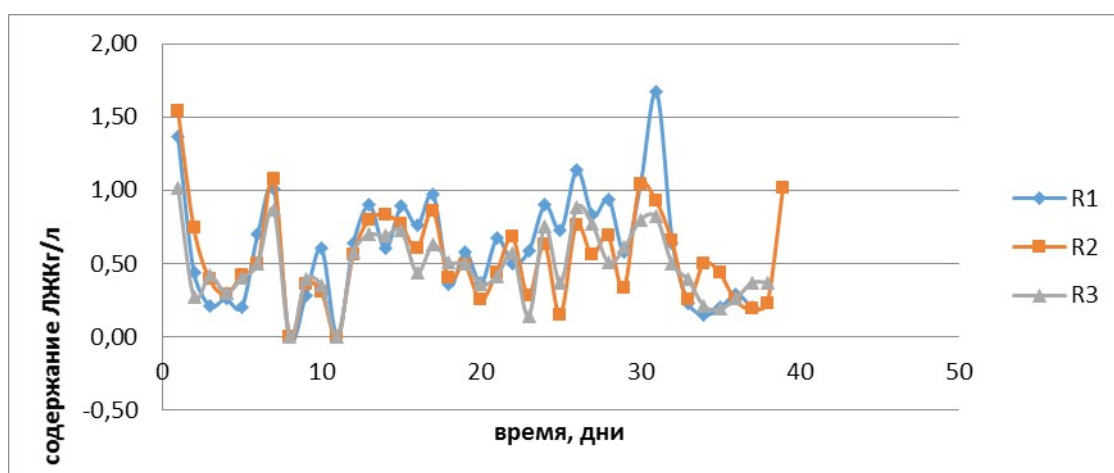


Рисунок 3.11 – Динамика потребления летучих жирных кислот в высокопродуктивных биогазовых установках при увеличении нагрузки

Полученные результаты позволяют утверждать, что добавление угольной ткани в биогазовую установку приводит к ускорению метаногенеза на начальном этапе, что позволяет сократить период запуска реактора. При работе биогазовых установок в условиях увеличивающихся нагрузок карбоновая ткань позволяет сделать процесс сбраживания более стабильным и увеличить скорость потребления летучих жирных кислот.

3.3 Влияние экспозиции активного ила к угольной ткани на процесс метаногенеза

В варианте опыта с инокулятом, взятым из реактора без кондуктивных материалов в начале опыта объём выделившегося метана увеличивался скачкообразно. Как видно из рис. 3.13, увеличение содержания CH_4 произошло уже в первые 16 часов эксперимента. До 62-го часа отмечался активный рост содержания метана в газовой фазе, но уже с 91 часа эксперимента линия тренда стала более плавной и к 354 часу вышла на плато.

При применении магнетита отмечался резкий рост объёма выделившегося метана (36, 9 мл в первые 16 часов), что примерно в два раза выше, чем в контроле. После резкого скачка в начале эксперимента, увеличения количества выделившегося метана в следующие 196 часов не наблюдалось.

Динамика изменения состава газовой фазы в варианте опыта с угольной тканью схожа с той, которую мы наблюдали в опыте с магнетитом: скачок в первые 16 часов, затем спад скорости образования метана.

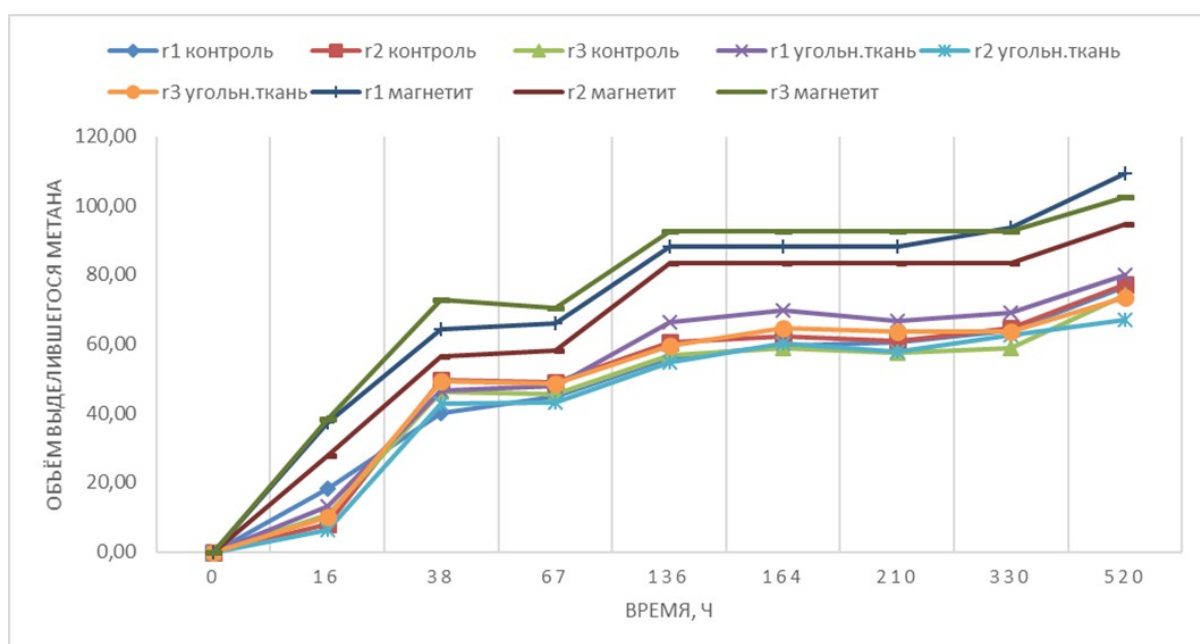


Рисунок 3.13 - Динамика образования метана

Как мы видим из графика на рис 3.13, самая высокая скорость образования метана наблюдалась в варианте опыта с инокулятом, взятым из реактора с угольной тканью и добавлением магнетита. Это может быть связано с адаптацией микробного сообщества к угольной ткани и развитием в нём бактерий-электрогенов.

Увеличение скорости метаногенеза отмечалось также в при сочетании «реактор 1 -магнетит» и «реактор 2 -магнетит», что позволяет нам утверждать, что магнетит, за счёт своих кондуктивных свойств, ускоряет метаногенез.

Скорость выхода метана в вариантах опыта с угольной тканью незначительно отличается от контроля.

Подсчитав суммарный выход газа за двадцать дней, мы можем построить диаграмму.

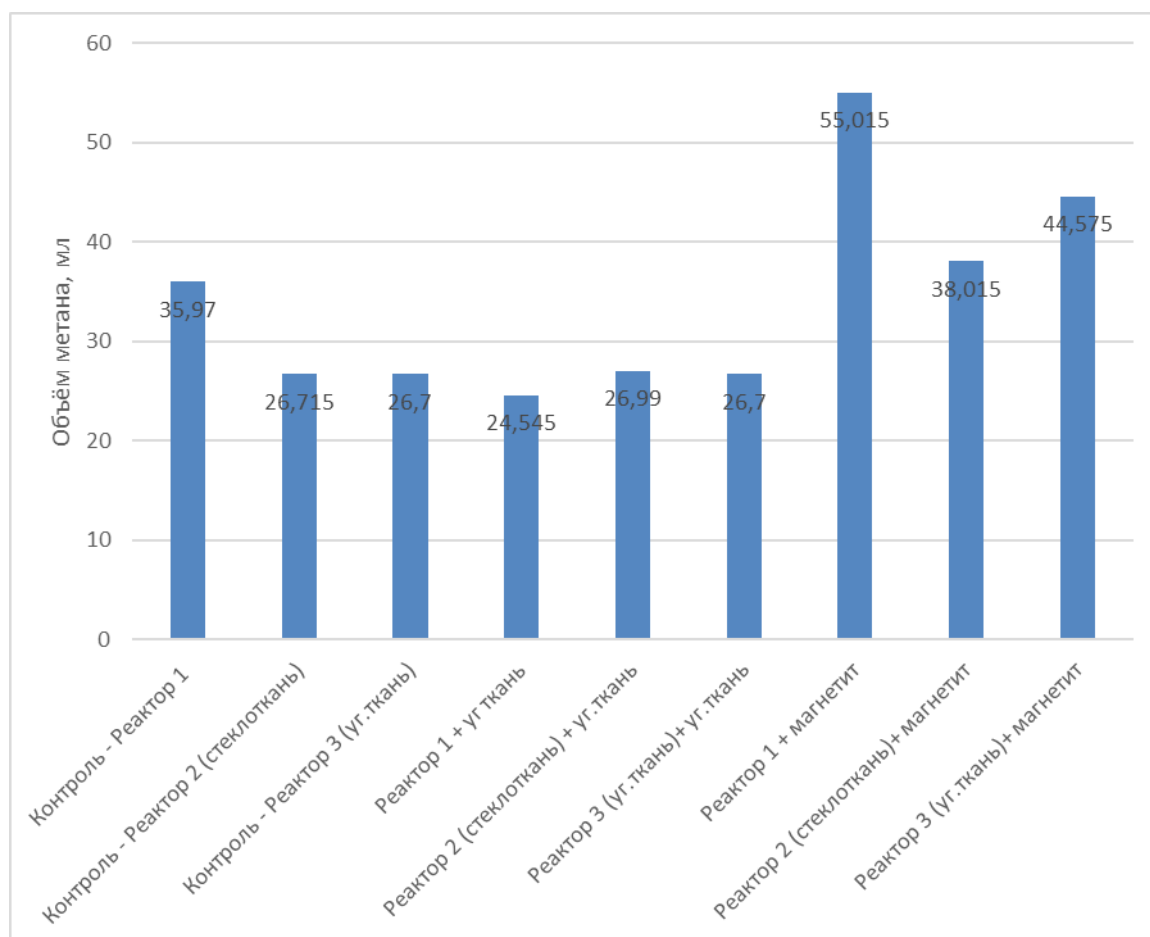


Рисунок 3.14 - Суммарный объём метана

Как мы видим из диаграммы на рис. 3.14, наибольший выход метана наблюдается в варианте опыта с инокулятом, взятым из контрольного реактора с добавлением магнетита (55,015 мл), что на 52,8% выше, чем в контроле. Также высокие результаты наблюдаются в опытах с инокулятом из реактора с углеродной тканью с добавлением магнетита (38.015 мл)- на 66,18% выше, чем контроль. Применение угольной ткани не усилило метаногенез ни в одном из вариантов опыта: в опыте с инокулятом, взятым из первого реактора, выход метана был ниже, чем в контроле на 31%. В опыте с илом, взятым из реактора со стеклотканью, объём выделившегося метана лишь на 1,03% выше, чем в контроле. Выход метана в опыте с инокулятом из третьего реактора соответствует контролю.

Выводы

- 1) Добавление угля и магнетита позволяет сократить лаг-фазу на 30-50% по сравнению с контролем, при чём продолжительность лаг-фазы напрямую зависит от дозы внесённых кондуктивных материалов.
- 2) Высокие (50 мМоль) и средние (20 мМоль) дозы позволяют увеличить выход метана на 42 и 50% соответственно.
- 3) Внесение высоких доз магнетита позволяет увеличить скорость потребления пропионовой кислоты – главного индикатора нестабильности процесса анаэробного сбраживания.
- 4) Внесение карбоновой ткани в биореактор увеличивает скорость выхода биогаза на начальном этапе, что позволяет сократить период его запуска. При увеличении нагрузки по органическому веществу карбоновая ткань позволяет сделать процесс сбраживания более стабильным, увеличить скорость выхода биогаза и потребления ЛЖК.
- 5) Внесение кондуктивных материалов никак не влияет на соотношение CO_2 CH_4 в биогазе.
- 6) При добавлении карбоновой ткани объём выделившегося метана возрастает на 14% по сравнению с контролем.
- 7) Благодаря кондуктивным свойствам, магнетит ускоряет передачу электронов в микробном сообществе. Применение магнетита в лабораторном эксперименте ускорило метаногенез и увеличило выход метана на 52,8 % по сравнению с контролем.

8) Создание биотехнологии переработки отходов на основе использования процессов межвидового переноса электронов (DIET) для интенсификации разложения органических веществ может быть перспективно как с экологической, так с экономической точки зрения.

Библиографический список

1. Активированный уголь. [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://chemsystem.ru/catalog/386>. - Заглавие с экрана - (дата обращения 27.05.2019)
2. Биогазовые установки Практическое пособие//Барбара Эдер, Хайнц Шульц.: перевод с немецкого М.: Мир, 2011. -270 с.
3. Биоэнергетические установки "Мосводоканала" [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.mosvodokanal.ru/press/smi/5446> . - Заглавие с экрана. - (Дата обращения: 23.03.2019).
4. Биотехнология и микробиология анаэробной переработки органических коммунальных отходов: коллективная монография/ общая редакция и составл. А.Н. Ножевниковой, А.Ю. Каллистова, Ю.В. Литти, М.В. Кевбрина
5. Бернадинер М.Н., Шурыгин А.П. Огневая переработка и обезвреживание промышленных отходов. — М.: Химия, 1990. — 304 с.
6. Вандышева М.С. Биогаз альтернативный источник энергии // Вестник НГИЭИ. 2014. №6 (37).
7. Варианты исполнения биогазовых установок [Электронный ресурс]. - Режим доступа:<http://www.rosbiogas.ru/varianti-ispolneniya-biogazovix-ustanovok.html>. - Заглавие с экрана. - (Дата обращения: 23.03.2019).
8. Вильданов Ф. Ш., Латыпова Ф. Н., Чанышев Р. Р., Николаева С. В. Успехи развития мировой биогазовой индустрии // Баш. хим. ж.. 2011. №1.
9. Выгузова М.А., Касаткин В.В., Линкевич А.С., Литвинюк Н.Ю. Перспективы развития технологии

- вермикомпостирования в России и за рубежом // Пищевая промышленность. 2012. №8.
10. ГОСТ Р 54098-2010. «Национальный стандарт Российской Федерации. Ресурсосбережение. Вторичные материальные ресурсы. Термины и определения» Введ. 2012-01-01.— М.: Стандартинформ, 2012.— 23 с.
 11. Гунич С.В., Янчуковская Е.В., Днепровская Н.И. Анализ современных методов переработки твердых бытовых отходов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2015. №2 (13).
 12. Гунич С.В., Янчуковская Е.В. Анализ процессов пиролиза отходов производства и потребления // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. №1 (16).
 13. Кобрин В.С., Казубова Л.И. Опасные органические отходы (технология управления: Аналит. обзор/СО РАН, ГПНТБ, НИОХ. - Новосибирск, 1995 - 122 с - (Сер. Экология Вып 35)
 14. Кузнецов А. Е., Градова Н. Б. К89 Научные основы экобиотехнологии / Учебное пособие для студентов. - М.: Мир, 2006. - 504 с: ил.
 15. Калюжина Екатерина Алексеевна, Самарская Наталья Сергеевна Экологические особенности воздействия полигонов твердых бытовых отходов на состояние окружающей среды в районах их расположения // ИВД. 2014. №2.
 16. Карбоновое волокно и углеткань (интернет-ресурс) [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://graphite-pro.ru/category/materials/carbon-fabric>. - Заглавие с экрана - (дата обращения 27.05.2019)

17. Комплексное устойчивое управление отходами. Жилищно-коммунальное хозяйство: учебное пособие / О.В. Уланова и др.; под общ. ред. О.В. Улановой. – М.: Издательский дом Академии Естествознания, 2016. – 520 с.
18. Корзникова М. В., Козлов Ю. П. Использование технологии анаэробного сбраживания в целях минимизации загрязнения окружающей среды отходами животноводства и птицеводства // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2006. №1.
19. Крайнов Юрий Евгеньевич Технология получения биогаза из отходов и сырья в сельскохозяйственном производстве // Вестник НГИЭИ. 2013. №10 (29).
20. Кузнецов А.Е., Градова Н.Б. Научные основы экобиотехнологии / Учебное пособие для студентов. – М.: Мир, 2006. – 504 с.: ил.
21. Кущев Л.А., Суслов Д.Ю. Теоретическое описание процесса анаэробной ферментации в биогазовых установках // Вестник Белгородского государственного технологического университета им. В.Г. Шухова. 2015. №6. С.227-230.
22. Лотош В.Е. Классификация утилизационных технологий переработки отходов // Экологические системы и приборы.- 2003.- №2.-С.29-31.
23. Луканин А.Л. Инженерная экология : защита литосферы от твердых промышленных и бытовых отходов : учебное пособие. – М.: ИНФРА-М, 2018. – 480 с.
24. Максимов С.П., Алексеев И.А. Обзор методов биологической очистки сточных вод // Технические науки – от теории к практике. 2014 № 41 (95)

25. Микробиология: учебник для вузов/ В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин – М: Дрофа 2005
26. Миронов В.В. Экобиотехнологии переработки органических отходов // Вестник ВНИИМЖ. 2018. №1 (29).
27. Найман С. М., Тунакова Ю. А. Экологические и экономические аспекты применения биогазовых технологий для переработки органических отходов // Вестник Казанского технологического университета. 2013. №17.
28. Нетрусов, А. И. Микробиология: теория и практика в 2 ч. Часть 1 : учебник для бакалавриата и магистратуры /. — Москва : Издательство Юрайт, 2019. — 315 с.
29. Павлова, Е. И. Экология транспорта : учебник и практикум / Е. И. Павлова, В. К. Новиков. — 5-е изд., перераб. и доп. — Москва : Издательство Юрайт, 2014. — 479 с.
30. Предпосылки к развитию биогазовых технологий в России [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.rosbiogas.ru/predposilki-k-razvitiyu-biogazovix-technologij-v-rossii.html>. - Заглавие с экрана. - (Дата обращения: 14.04.2019).
31. Прикладная экобиотехнология: учебное пособие в 2 т. Т 1. /[А.Е. Кузнецов и др.] 2-е изд. - М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012
32. Руководство по биогазу. От получения до использования [Электронный ресурс]. — Режим доступа: http://esco-ecosys.narod.ru /2012_9/Art272.pdf. - Заглавие с экрана. - (Дата обращения 15.03.2019)
33. Сельскохозяйственная биотехнология: Учебник/В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.З. Кочиева и др.; Под ред.

- В.С. Шевелухи. – 3-е изд., перераб и доп. – М.: Высш.шк., 2008. – 710 с.:ил
34. Седнин В. А., Седнин А. В., Прокопеня И. Н., Шимукович А. А. Анализ факторов, влияющих на производство биогаза при сбраживании осадка сточных вод // Энергетика. Известия высших учебных заведений и энергетических объединений СНГ. 2009. №5.
35. Сидоренко Биоконверсия вторичных продуктов агропромышленного комплекса:учебник для вузов. – М.: Издательство РГАУ-МСХА, 2012. – 297 с.: ил.»
36. Систер В.Г., Мирный А.Н., Скворцов Л.С., Абрамов Н.Ф., Никогосов Х.Н. Твердые бытовые отходы (сбор, транспорт и обезвреживание). Справочник. – М.: АКХ им. К.Д. Панфилова, 2001 г.
37. Сравнительный анализ стратегий обращения с отходами. [Электронный ресурс] URL: http://www.cleandex.ru/articles/2015/07/01/waste-management_article_1. – Заглавие с экрана. – (дата обращения:06.06.2019)
38. Стребков Д.С., Ковалев А.А. Биогазовые установки для обработки отходов животноводства. // Техника и оборудование для села - 2006. - №11. - С.28-30
39. Твёрдые бытовые отходы [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.solidwaste.ru/>. – Заглавие с экрана. – (Дата обращения 27.04.2019)
40. Тихонравов В. С. Ресурсосберегающие биотехнологии производства альтернативных видов топлива в животноводстве : науч. аналит. обзор. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2011. – 52 с.

41. Углеродные волокна: Пер. с японск./под ред. С.Симамуры. – М.: Мир, 1987 – 304 с.
42. Утилизация мусора в России. Досье [Электронный ресурс]. – Режим доступа:<https://tass.ru/info/4517967>. – Заглавие с экрана. – (Дата обращения 23.03.2019)
43. Филимонов О.И. Твёрдые бытовые отходы как источник ресурсов и их структура // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1 (часть 1)
44. Что такое пиролиз и его основные методы. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://greenologia.ru/othody/utilizaciya-i-pererabotka/piroliz> - Заглавие с экрана. – (Дата обращения 26.05.2019)
45. Шеина О. А., Сысоев В. А. Биохимия процесса производства биогаза как альтернативного источника энергии // Вестник ТГУ, 2009, т.14, вып.1, с. 73-76.
46. Экологическая биотехнология : учеб. пособие / Г. П. Трошкова, Е.К.Емельянова, Н.О.Карабинцева.—Новосибирск: Сибмедиздат 2011
47. Экология микроорганизмов: Учеб. для студ. вузов / А. И. Нетрусов, Е.А. Бонч-Осмоловская, В. М. Горленко и др.; Под ред. А. И. Нетрусова. — М.: Издательский центр «Академия», 2012. - 272 с.
48. Ahmed, E., Rothenberger, A., 2014. Adsorption of volatile hydrocarbons in iron polysulfide chalcogels. Microporous Mesoporous Mat. 199, 74-82.
49. Baek, G.; Kim, J.; Cho, K.; Bae, H.; Lee, C. The Biostimulation of Anaerobic Digestion with (Semi) Conductive Ferric Oxides: Their Potential for Enhanced Biomethanation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015, 99 (23), 10355–10366.

50. Chen, S., Rotaru, A.-E., Liu, F., Philips, J., Woodard, T.L., Nevin, K.P., Lovley, D.R., 2014a. Carbon cloth stimulates direct interspecies electron transfer in syntrophic cocultures. *Bioresour. Technol.* 173, 82–86.
51. Figueiredo, J. L.; Pereira, M. F. R.; Freitas, M. M. . A.; Órfão, J. J. M. Modification of the Surface Chemistry of Activated Carbons. *Carbon* 1999, 37 (9), 1379–1389.
52. Kato, S.; Watanabe, K. Ecological and evolutionary interactions in syntrophic methanogenic consortia. *Microbes Environ.* 2010, 25, 145–151
53. Kendall K., Finnerty C.M., Saunders G., Chung J.T. Effects of dilution on methane entering an SOFC anode // *J. Power Sources.* - 2002. - V. 106, No 1-2. - P. 323–327.
54. Lee, J. Y.; Lee, S. H.; Park, H. D. Enrichment of Specific Electro-Active Microorganisms and Enhancement of Methane Production by Adding Granular Activated Carbon in Anaerobic Reactors. *Bioresour. Technol.* 2016, 205, 205–212.
55. Liu, F., Rotaru, A.-E., Shrestha, P.M., Malvankar, N.S., Nevin, K.P., Lovley, D.R., 2012. Promoting direct interspecies electron transfer with activated carbon. *Energy Environ. Sci.* 5 (10), 8982–8989.
56. Martins, G., Salvador, A. F., Pereira, L., Alves, M. M. Methane production and conductive materials: A Critical Review. *Environmental Science and Technology*//-2018.-V.52.-№18.-P.10241–10253
57. Pereira, R. A.; Pereira, M. F. R.; Alves, M. M.; Pereira, L. Carbon Based Materials as Novel Redox Mediators for Dye Wastewater Biodegradation. *Appl. Catal., B* 2014, 144, 713–720.

58. Pham, T.H., Aelterman, P., Verstraete, W., 2009. Bioanode performance in bioelectrochemical systems: recent improvements and prospects. *Trends Biotechnol.* 27, 168–178.
59. Sasaki, K., Morita, M., Hirano, S.-I., Ohmura, N., Igarashi, Y., 2009. Effect of adding carbon fiber textiles to methanogenic bioreactors used to treat an artificial garbage slurry. *J. Biosci. Bioeng.* 108, 130–135.
60. Stams, A.J.; Plugge, C.M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, 7, 568–577
61. Van der Zee, F. P.; Cervantes, F. J. Impact and Application of Electron Shuttles on the Redox (Bio)Transformation of Contaminants: A Review. *Biotechnol. Adv.* 2009, 27 (3), 256–277.
62. Van Herle J., Marechal F., Leuenberger S., Favrat D. Energy balance model of a SOFC cogenerator operated with biogas // *J. Power Sour.* - 2003. - V. 118, No 1. - P. 375–383.
63. Watanabe, K., 2008. Recent developments in microbial fuel cell technologies for sustainable bioenergy. *J. Biosci. Bioeng.* 106 (6), 528–536.
64. Xu, S.; He, C.; Luo, L.; Lü, F.; He, P.; Cui, L. Comparing Activated Carbon of Different Particle Sizes on Enhancing Methane Generation in Upflow Anaerobic Digester. *Bioresour. Technol.* 2015, 196, 606–612.