



Получение биоводорода из молочной сыворотки методом непрерывной темновой анаэробной ферментации в аппаратах двух типов: этап запуска процесса

Э. Р. Михеева¹, И. В. Катраева²✉, Д. Л. Ворожцов¹

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Н. Новгород, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный архитектурно-строительный университет», г. Н. Новгород, Россия, e-mail: lab4-5@mail.ru

Поступила в редакцию: 30.10.2020 г., после доработки: 09.12.2020 г., принята в печать: 11.12.2020 г.

Аннотация – Производство биоводорода (H₂) из возобновляемых источников энергии (отходов производства и потребления) является перспективным направлением развития энергетической отрасли промышленности. H₂ считается уникальным энергоносителем с высоким выходом энергии (122 кДж/г). Представленная работа посвящена изучению процесса запуска непрерывной анаэробной ферментации молочной сыворотки в мезофильных условиях с получением водород содержащего биогаз в реакторах двух типов: с неподвижной загрузкой (затопленный биофильтр – anaerobic filter, AF) и подвижной загрузкой (аппарат с кипящим слоем загрузки – fluidized bed loading, AFB). Инактивацию метаногенов проводили термическим методом (30 мин, 90°C). На начальной стадии процесса оптимальным является режим с гидравлическим временем удерживания (hydraulic retention time, HRT) 12–14 сут, нагрузкой по органическому веществу (organic loading rate, OLR) 1,88–2,25 кг ХПК/(м³·сут). Данный режим позволяет начать работу со стабильной генерацией биогаза с содержанием водорода в нем 15,9% (для AF) и 11,4% (для AFB) и поддержанием pH среды 5,72. В реакторе AF-типа общее количество образовавшегося за 17 сут темновой анаэробной ферментации биогаза было больше, чем в реакторе с AFB-типа. Содержание масляной кислоты превышало содержание уксусной кислоты в обоих реакторах.

Ключевые слова: биоводород, молочная сыворотка, темновая анаэробная ферментация, инактивация метаногенов, иммобилизация биомассы.

Utilization and biodegradation of wastes

Biohydrogen production from milk whey by continuous dark anaerobic fermentation in apparatus of two types: start-up stage

Elza R. Mikheeva¹, Inna V. Katraeva²✉, and Dmitriy L. Vorozhtsov¹

¹Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

²Nizhny Novgorod State University of Architecture and Civil Engineering,
Nizhny Novgorod Russia, e-mail: lab 4-5@mail.ru

Received: November 30, 2020, Revised: December 9, 2020, Accepted: December 11, 2020

Abstract – Production of biohydrogen (H_2) from renewable energy sources (production and consumption waste) is an upcoming trend in energy industry. H_2 is considered as a unique energy carrier with a high energy yield (122 kJ/g). The paper presents the results of investigating the start-up stage of the process of continuous dark fermentation of milk whey under mesophilic conditions with the production of hydrogen-containing biogas in two types of reactors: with a fixed feed (flooded biofilter – anaerobic filter, AF) and with a movable load (apparatus with fluidized bed loading – AFB). Methanogens are inactivated by the thermal method (90°C, 30 min). At the initial stage of the process, the optimal regime is achieved with hydraulic retention time of 12–14 days, and organic loading rate of 1.88–2.25 kg COD/(m³·day). This mode makes it possible to run the process with a stable biogas generation with hydrogen content of 15.9% (for AF) and 11.4% (for AFB) and maintaining the pH of the medium at 5.72. The total amount of biogas formed over 17 days of dark anaerobic fermentation processing in the AF-type reactor was greater than in the AFB-type reactor. The butyric acid content exceeded the acetic acid content in both types of reactors.

Keywords: biohydrogen, milk whey, dark anaerobic fermentation, inactivation of methanogens, immobilization of biomass.

ВВЕДЕНИЕ

Технология производства биоводорода – это новый способ усовершенствования переработки отходов с когенерацией энергии. Кроме того, водород обладает высокой энергетической ценностью (122 кДж/г), является возобновляемым источником энергии в отличие от других известных видов топлива на углеродной основе, без вредного воздействия на окружающую среду, поскольку во время сгорания в качестве побочных продуктов он выделяет только водяной пар. Технологии производства биоводорода можно поддерживать двумя основными путями: (а) светозависимая реакция (биофотоллиз и фотоферментация) и (б) светонезависимая реакция (темновая ферментация и электрогенез). Светозависимая реакция может катализироваться фотосинтезирующими бактериями, тогда как темновая анаэробная ферментация (ТАФ) катализируется гетеротрофной бактериальной группой факультативных и облигатных анаэробов. Биологическое производство водорода путем ТАФ может считаться экологически безопасным, поскольку в процессе используются органические отходы и органические вещества из сточных вод и не применяются ископаемые виды топлива [1].

Молочная сыворотка (МС) представляет собой высококонцентрированный жидкий отход, образующийся в процессе производства творога, кефира и некоторых видов сыров из молока. МС характеризуется высоким содержанием органических веществ, составляющим от 25 до 80 г ХПК/л (ХПК – химическое потребление кислорода). Ежегодное производство молока в России составляет более 30 млн т, при этом удельное образование МС оценивается в 0,8–0,9 л на литр переработанного молока [2]. Благодаря высокому содержанию в ней лактозы (45–50 г/л), белков (6–8 г/л),

липидов (4–5 г/л), а также входящих в состав молока макро- и микроэлементов, водо- и жирорастворимых витаминов, МС можно использовать в качестве недорогого сырья для производства биотоплива, в частности, биоводорода путем ее переработки методом ТАФ [1–3]. Теоретически, из 1 моля лактозы можно получить 8 моль водорода. Однако реальный выход зависит от многих факторов и редко превышает 4 моль H_2 /моль лактозы [4].

Режим ТАФ и конфигурация биореактора являются значимыми факторами в производстве водорода, влияющими на процессы взаимодействия между органическими отходами и производителями водорода, на скорость разбавления биомассы, условия перемешивания и массообмена. В зависимости от режима подачи, производство биоводорода может осуществляться в периодическом, полунепрерывном и непрерывном режимах. Наибольшее количество работ было проведено в режиме периодической ферментации, поскольку этот режим относительно прост в аппаратном исполнении и в управлении [5]. В полунепрерывном режиме работы реактора органический субстрат обрабатывается последовательно, включая стадии подачи, реакции, осаждения и удаления [6]. Полунепрерывный режим рекомендуется для вязких субстратов и твердой органической биомассы, такой как пищевые отходы и лигноцеллюлозная биомасса, где физический контакт между субстратом и микроорганизмами ограничен, и такой режим работы реактора обеспечивает лучшую скорость гидролиза, предотвращая засорение труб, и сохраняет эффективную концентрацию биомассы. В непрерывном режиме производится постоянная подача питательных веществ и удаление продуктов ферментации/переработки. Для коммерческих и промышленных целей работа в непрерывном режиме является предпочтительнее [7].

Нами были проведены исследования в реакторах непрерывного действия двух типов: с неподвижной загрузкой (затопленный биофильтр – anaerobic filter) – далее по тексту «реактор AF» и с подвижной загрузкой (аппарат с кипящим слоем загрузки – fluidized bed loading) – далее «реактор AFB». Для осуществления бактериальной иммобилизации используются различные типы вспомогательных материалов: активированный уголь, альгинатный гель, полиэфирное волокно, пористые стеклянные шарики, скорлупа яиц и лигноцеллюлозные отходы, такие как стебель бамбука, скорлупа арахиса, кокосовая койра и др. [8–11]. В качестве биофильтра/иммобилизующего материала в представленной статье использовались кусочки полиуретановой пены размером 9 x 9 x 9 мм.

Целью работы было сравнить характеристики запуска процесса непрерывной ТАФ МС в мезофильных условиях ($37 \pm 1^\circ C$) в реакторах двух типов: AF и AFB.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Субстраты и инокулянты

В качестве субстрата была использована молочная сыворотка, образующаяся при производстве творога (ХПК исходной молочной сыворотки ($ХПК_{исх}$) = 30,0 г/л; pH = 3,77; содержание сухих веществ (СВ) 3,77%;

минеральная часть 12,71% СВ; содержание органической части сухих веществ (оСВ) составило 87,29% СВ; соотношение содержания общего углерода к общему азоту (C_{tot}/N_{tot}) составило 31,8.

Поскольку рН исходной молочной сыворотки был низким, то перед подачей в реактор рН доводили вручную до 7,0 раствором 1 М NaOH. Подготовленную сыворотку (суточное количество) заливали в предварительные емкости, из которых осуществлялась ее подача в реакторы в автоматическом режиме через установленные промежутки времени.

Молочную сыворотку хранили в холодильнике при 4°C. Перед подачей в реактор сыворотку не стерилизовали, поскольку было показано, что для стабильного образования водорода достаточно обеспечить хранение сыворотки при 4°C [12].

Дополнительно в МС подавали раствор минеральных элементов (1 мл/л): KH_2PO_4 (3 г/л), K_2HPO_4 (7 г/л), $MgSO_4$ (1 г/л), $(NH_4)_2SO_4$ (1 г/л).

В качестве источника анаэробной культуры использовали мезофильный анаэробный ил, взятый из промышленного UASB реактора, очищающего сточные воды пивоваренного завода (СВ = 10,96%, оСВ = 88,3% СВ) – далее по тексту «инокулят». Инокулят предварительно культивировали при $37 \pm 1^\circ C$ в течение недели и фильтровали через сито с размером пор 0,2 мм. В реакторы загружали жидкую фракцию менее 0,2 мм. Затем для инактивации метаногенов инокулят выдерживали 30 мин при 90°C.

Среди различных технологий предварительной обработки метод температурного шока получил широкое признание в качестве подходящего способа подготовки инокулята, производящего водород, из-за относительно простого и эффективного метода подавления потребителей водорода и селективного обогащения инокулята спорулирующими водород-продуцирующими бактериями [13–15].

Постановка эксперимента

Изучение анаэробного процесса ТАФ МС проводили в мезофильных условиях при $(37 \pm 1)^\circ C$. Лабораторная установка включала в себя два идентичных аппарата из полипропилена, каждый из которых имел рабочий объем 0,8 л.

Для создания мезофильных условий аппараты были помещены в суховоздушный шкаф с принудительной конвекцией FD 53 (Binder, Германия), оборудованный в верхней части шлюзом для вывода шлангов и кабелей. Подача субстрата и откачка сброженной массы осуществлялась автоматически в соответствии с заданным временем. Насосы рециркуляции, обеспечивающие требуемую скорость восходящего потока жидкости, работали круглосуточно в заданном режиме. В реакторах были установлены сетки для удержания на них загрузочного материала.

Лабораторный стенд позволял варьировать гидравлическое время удерживания (HRT – hydraulic retention time), нагрузку по органическому веществу (OLR – organic loading rate), скорость восходящего потока жидкости, частоту подачи субстрата и откачки сброженной массы, изменять

температурный режим, производить замену загрузочного материала и др. Технологические и конструктивные особенности лабораторной установки, схема которой представлена на рисунке 1, позволяют проводить исследования по повышению эффективности и оптимизации процессов анаэробного сбраживания, в частности, процесса ТАФ.

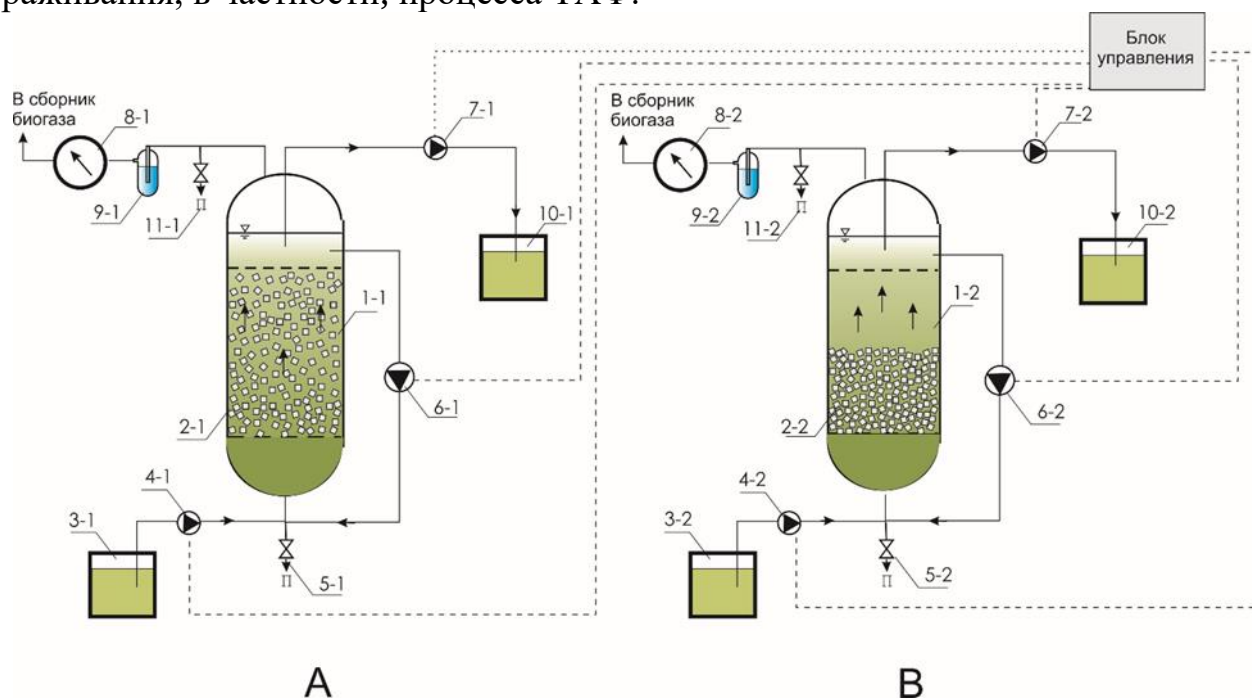


Рис. 1. Схема лабораторной установки. А – аппарат с кипящим слоем загрузки (АФВ): 1-1 аппарат; 2-1 загрузочный материал; 3-1 емкость с исходным субстратом; 4-1 насос подачи субстрата; 5-1 пробоотборник; 6-1 насос рециркуляции; 7-1 насос откачки сброженного субстрата; 8-1 счетчик биогаза; 9-1 гидрозатвор; 10-1 емкость для сброженного субстрата; 11-1 пробоотборник биогаза. В – анаэробный биофильтр (АФ): 1-2 аппарат; 2-2 загрузочный материал; 3-2 емкость с исходным субстратом; 4-2 насос подачи субстрата; 5-2 пробоотборник; 6-2 насос рециркуляции; 7-2 насос откачки сброженного субстрата; 8-2 счетчик биогаза; 9-2 гидрозатвор; 10-2 емкость для сброженного субстрата; 11-2 пробоотборник биогаза.

Fig. 1. Diagram of laboratory setup. А – apparatus with fluidized bed loading (AFB): 1-1 apparatus; 2-1 loading material; 3-1 container with starting substrate; 4-1 pump of substrate supply; 5-1 sampler; 6-1 recirculation pump; 7-1 pump for unloading fermented substrate; 8-1 biogas counter; 9-1 water seal; 10-1 container for fermented substrate; 11-1 biogas sampler. В – anaerobic biofilter (AF): 1-2 apparatus; 2-2 loading material; 3-2 container with starting substrate; 4-2 substrate supply pump; 5-2 sampler; 6-2 recirculation pump; 7-2 pump for unloading fermented substrate; 8-2 biogas counter; 9-2 water seal; 10-2 capacity for fermented substrate; 11-2 biogas sampler.

В обоих реакторах процесс ТАФ осуществлялся в режиме постоянной рециркуляции со скоростью восходящего потока жидкости 11,2 м/ч для АФВ и 3,0 м/ч для АФ. Выбранная скорость для АФВ обеспечивала ожигение загрузочного материала, для АФ – достаточный массообмен и отделение биогаза.

Исследования запуска процесса ТАФ в двух реакторах с получением биоводорода проводились в течение 17 сут, при этом изменялись два параметра: нагрузка по органическому веществу и гидравлическое время

удерживания. Для иммобилизации биомассы в АФ и АFB были использованы кусочки пенополиуретана размером 0,9 x 0,9 x 0,9 см, суммарный объем которых составил 260 мл, объем инокулята, который был залит в каждый из реакторов, составил 800 мл.

Изменения гидравлического времени удерживания, нагрузки по органическому веществу и pH в ходе проведения эксперимента по запуску непрерывного процесса получения биоводорода путем ТФ в реакторах АФ и АFB представлены на рисунке 2.

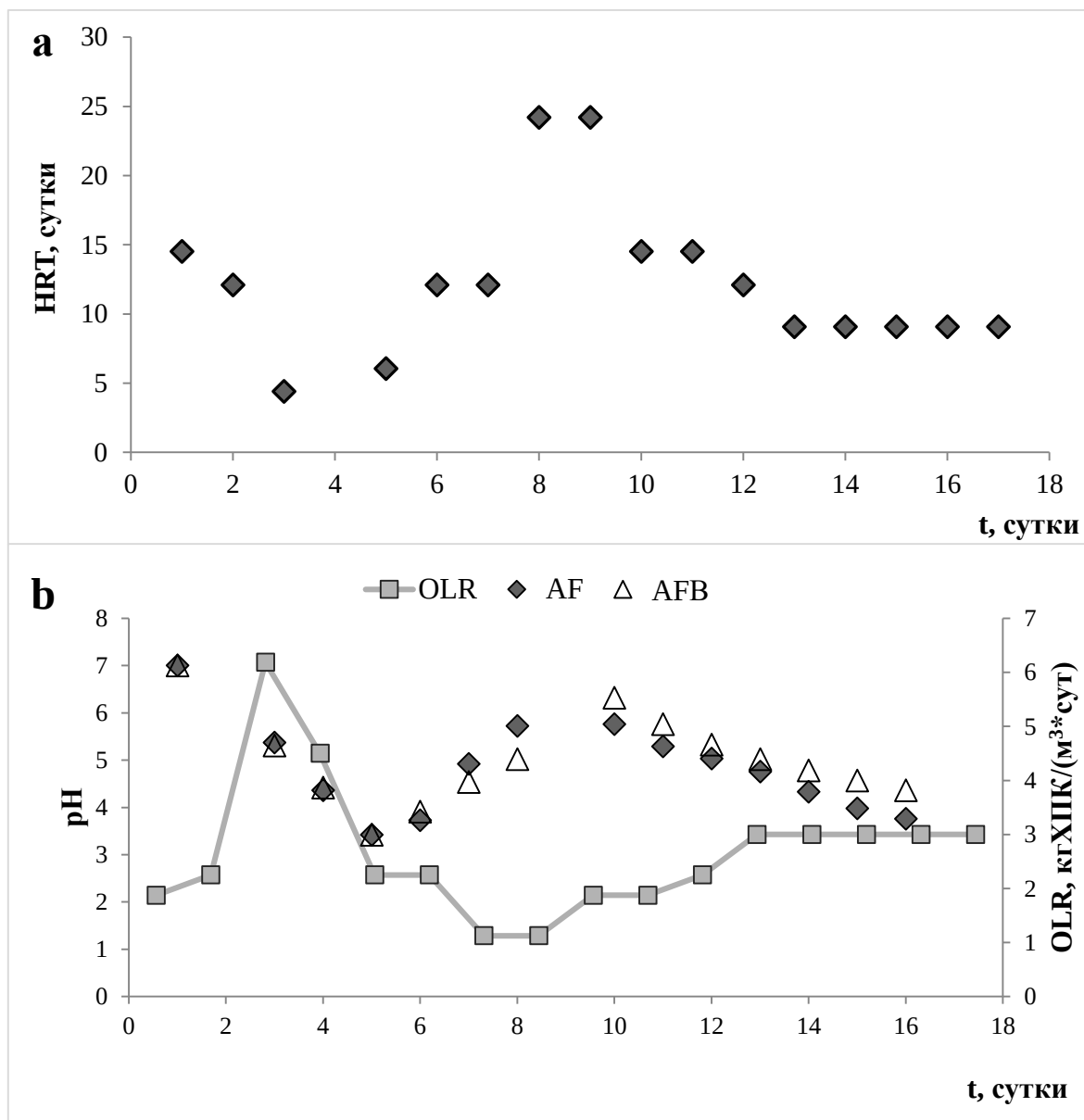


Рис. 2. Временные профили: (а) HRT, (б) pH в зависимости от OLR.

Fig. 2. Time profiles for: (a) HRT, (b) pH versus OLR.

Аналитические методы

Для измерения объема образующегося биогаза использовали газовый счетчик MilliGascounter (RITTER, Германия). Состав биогаза определяли с использованием газового хроматографа GC-2010 Plus (Shimadzu, Япония). Содержание общего углерода (C_{total}) и общего азота (N_{total}) определяли на

элементном анализаторе Vario EL cube (Elementar, Германия). Количество и состав летучих жирных кислот (ЛЖК), образующихся в процессе анаэробной ферментации, определяли на хромато-масс-спектрометре GCMSQP2010 Ultra (Shimadzu, USA), условия и режим работы которого описан нами ранее [16]. Содержание сухого вещества (СВ) определяли после высушивания образцов до постоянной массы при 105°C. Зольный остаток определяли при сжигании сухого образца в муфельной печи при 600°C. Химическое потребление кислорода (ХПК) определяли бихроматным методом, рН измеряли с помощью портативного рН-метра WTW рН 3110 SET (WTW, Германия). Измерения проводили в двух повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что температура сбраживания, рН, ORL и HRT играют важную роль в процессе ТФ с получением биоводорода [17]. HRT является одним из ключевых параметров управления процессом сбраживания, влияющим на непрерывное производство водорода. С помощью HRT можно осуществлять контроль микробиологических процессов, регулировать метаболический путь микроорганизмов, благоприятный для эффективного производства водорода. Длительное HRT способствует росту потребителей водорода, главным образом, архей. Тогда как слишком короткое HRT приводит к вымыванию активной биомассы и ухудшению характеристик реактора. Оптимизация HRT имеет первостепенное значение для масштабного, долгосрочного и устойчивого производства водорода.

Первые двое суток реакторы работали при HRT $12,1 \div 14,5$ сут и значениях OLR $1,88 \div 2,25$ кг ХПК/(м³·сут), наблюдали небольшое выделение биогаза. На третьи сутки OLR увеличили до 6,2 кг ХПК/(м³·сут) (HRT = 4,4 сут), при этом образовывалось 177 мл/сут (для AF) и 188 мл/сут (для AFB) биогаза с содержанием водорода 1,6 об.% (для AF) и 1,2 об.% (для AFB), метан в газе отсутствовал в обоих реакторах, что свидетельствовало об эффективности предварительной термической инактивации метаногенов. Дальнейшее продолжение работы при указанных нагрузках привело к быстрому снижению рН до 3,42 для обоих реакторов на шестые сутки эксперимента, выделение биогаза при этом прекратилось.

После увеличения значения HRT до 24,2 сут выделение биогаза вновь возобновилось, а значение рН плавно поднялось до 5,72 (AF) и 5,02 (AFB). При HRT 14,5 сут наблюдали стабильную работу реакторов с уровнем рН = 5,72 и выходом водорода 15,9% (AF) и 11,4% (AFB), выход биогаза значительно увеличился. Повторное уменьшение значения HRT до 9 сут на 13 сутки эксперимента вновь привело к понижению рН, снижению количества биогаза и снижению содержания водорода в нем до 2,5% (AF) и 8,6% (AFB). Метан в биогазе отсутствовал, углекислый газ составлял остальную часть биогаза.

Таким образом, было выявлено, что при запуске реакторов AF и AFB при OLR = 1,13–2,25 кг ХПК/м³·сут и HRT 12–14 сут процесс выделения водородсодержащего биогаза при анаэробном сбраживании МС протекал

наиболее стабильно и эффективно, pH системы сохранялся выше 5,0; метан в биогазе не обнаруживался.

На начальном этапе исследований наблюдали незначительный вынос биомассы из AFB реактора при откачке сброженной жидкости. В результате темновой анаэробной ферментации в реакторе AF выделилось больше биогаза (54,68 мл/г ХПК), чем в реакторе AFB (52,04 мл/г ХПК). Удельная скорость образования биогаза была практически одинаковой в обоих реакторах (рисунок 3).

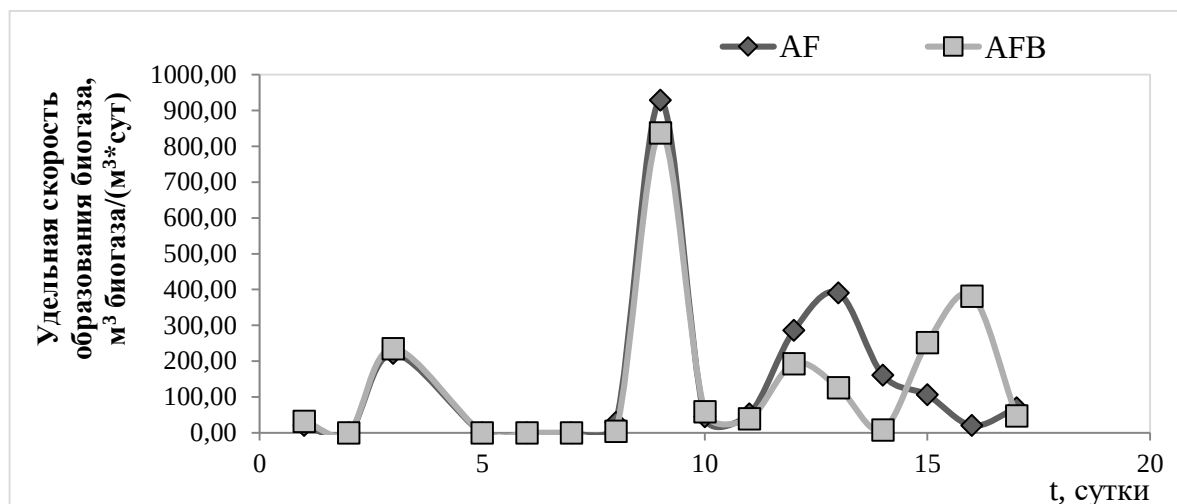


Рис. 3. Удельная скорость образования биогаза в реакторах.

Fig. 3. Specific rate of biogas formation in reactors.

Wen-Hsing Chen и соавт. [17] показали, что чем выше концентрация обезжиренного сухого молока, тем выше выход водорода (119 мл/г ХПК). Они выявили, что при концентрации субстрата более 64 г ХПК/л происходит обратный процесс и количество водорода в биогазе снижается. Причиной этого являлось резкое снижение pH ниже 4,0.

Таким образом, было установлено, что для обоих реакторов типа AF и AFB, имеющих различную скорость восходящего потока жидкости, при их запуске оптимальные значения ORL и HRT одинаковы. Однако в AF аппарате наблюдали образование большего количества биогаза и водорода.

Определение количества продуктов ферментации, таких как ЛЖК, важно для оценки их роли в качестве регулятора переключения метаболических путей анаэробных бактерий, продуцирующих водород, ацидогенеза (получения биоводорода) в сольвентогенез (производство ацетона, этанола, пропанола и бутанола). Сообщалось, что некоторые ЛЖК токсичны, или ингибируют деятельность водород производящих бактерий. По мнению Van Ginkel S. и соавт. [18], масляная кислота более токсична, чем уксусная кислота при производстве водорода, однако до сих пор неизвестны пороговые значения концентраций этих кислот, переключающих метаболические пути ацидогенеза в сольвентогенез. Ориентировочно, авторы упоминают значения от 2 до 30 mM недиссоциированных форм кислот. Другим важным фактором, регулирующим процесс метаболического переключения, является pH. Оптимальное значение pH для сольвентагенеза является pH 4,5, тогда как для ацидогенеза – pH 5,5 или

выше. G. Davila-Vazquez и соавт. [6] считают, что высокое парциальное давление водорода (p_{H_2}) в реакционной среде – одна из причин низкого производства водорода, поскольку при p_{H_2} больше 0,0001 атм. метаболические пути, приводящие к образованию уксусной кислоты, переключаются на пути производства других продуктов, таких как, например, бутановая кислота. При анализе состава ЛЖК в реакционной среде нами было выявлено, что процесс ферментации идет по пути образования масляной кислоты, содержание уксусной кислоты в обоих реакторах было не более 1670 мг/л (27,81 мМ) при рН более 5,0. Аналогичным образом, G. Davila-Vazquez и соавт. [6] при исследовании процесса анаэробного сбраживания при 37°C высушенной сырной сыворотки наблюдали снижение содержания уксусной кислоты до 30 мМ, бутановой кислоты до 40 мМ при нагрузке 15 г/л и рН 6,0. Наибольший выход водорода авторы наблюдали при нагрузке 25 г сыворотки/л, рН 7,5 при концентрации уксусной кислоты и бутановой кислоты 60 мМ (1 : 1). При сбраживании сырной сыворотки авторы при изменении нагрузки наблюдали колебание рН в диапазоне 4,3–6,1, что аналогично результатам, полученным нами в представленной работе. Следует отметить и необходимость проведения процесса предварительной термической инактивации метаногенов в смешанном инокуляте. Несмотря на низкие значения рН, лабораторные исследования показали, что снижение рН ниже 5,5 ингибирует метаногенез. Снижение рН примерно до 3,5 приведет к полному подавлению производства метана. В полевых исследованиях было показано, что подкисление до рН 4,8 привело к неполному ингибированию метаногенеза, что снизило скорость продукции метана примерно до 50% от контрольной [19]. В то же время Kim с соавт. [20] показали, что при культивировании мезофильного метаногенного сообщества в полунепрерывном режиме ферментера с глюкозой в качестве субстрата и временем гидравлического удержания в течение 9 сут низкое значение рН (4,5) не оказывало ингибирующего влияния на процесс гидрогенотрофного метаногенеза. Использование нами в реакторах пористого иммобилизующего материала (пенополиуретана) позволяет сделать предположение, что внутри пор существуют ниши с нейтральным рН – своеобразные центры инициирования метаногенеза. Наличие различий в значениях рН, влажности и концентрации ЛЖК в разных зонах реактора способствуют проявлению метаногенной активности и при низких рН. К тому же известно, что как только рН достигает нейтральных значений, активность метаногенеза увеличивается в несколько раз [21]. Поэтому показатели рН 5,5 не являются исчерпывающим аргументом, позволяющим сделать вывод об ингибировании активности метаногенов за счет рН. Следовательно, в реакторах с иммобилизующими агентами для получения биоводорода является необходимым процесс предобработки и предварительной инактивации метаногенов.

Известно, что ингибирование процесса образования водорода возможно бутановой кислотой ($pK_a = 4,81$) при рН 4,8, которая способствует увеличению концентрации недиссоциированной формы кислоты в реакционной среде. Поэтому поддержание рН в области более высоких значений позволит преодолеть ингибирование процесса образования водорода. В соответствии с

полученными нами результатами, при pH 6,32 содержание масляной кислоты в реакционной среде AFB реактора было 2,86 г/л, тогда как при уменьшении pH до 5,3 содержание бутановой кислоты увеличилось в 1,76 раза, а уксусной кислоты увеличилось в 2,28 раза. Аналогично и для реактора AF наблюдали увеличение содержания масляной кислоты в 1,22 раза, тогда как содержание уксусной кислоты уменьшилось в 1,91 раз (рисунок 4).

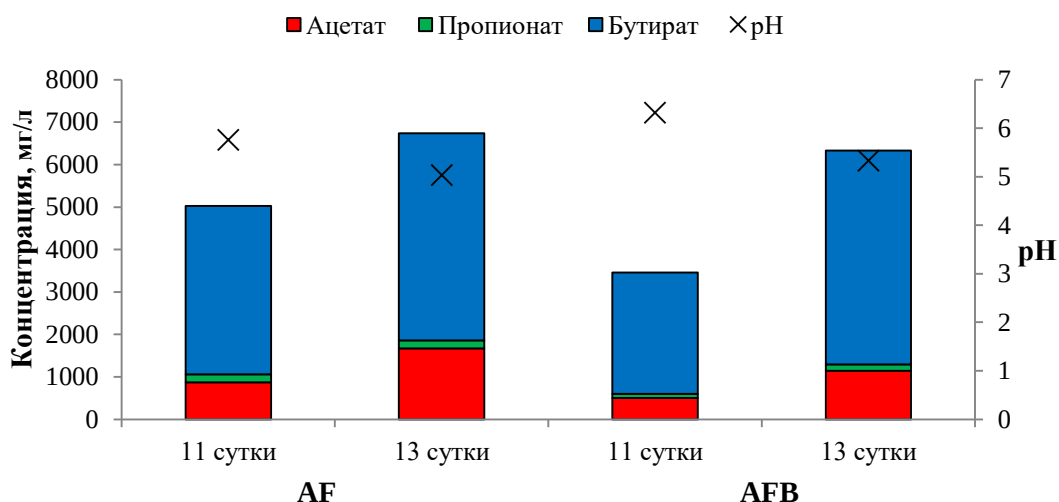


Рис. 4. Содержание ЛЖК в сброженной жидкости для аппаратов AF и AFB.

Fig. 4. Content of volatile fatty acids in fermented liquid for AF and AFB reactors.

G. DavilaVazquez и соавт. [6] выявили, что при pH 8,12 и 7,5 образуется большое количество ЛЖК, которые резко снижают pH. С другой стороны, ЛЖК являются основными субстратами для метанового сбраживания и большое их количество на первой стадии сбраживания сыворотки позволит увеличить количество легко доступного субстрата для второй ступени анаэробного сбраживания – метаногенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного эксперимента по запуску процесса темновой анаэробной ферментации молочной сыворотки с получением биоводорода в аппаратах типа AF и AFB было выявлено, что на начальной стадии процесса оптимальным является режим с гидравлическим временем удерживания 12–14 сут и нагрузкой по органическому веществу $1,88 \div 2,25$ кг ХПК/(м³·сут). Данный режим позволяет начать работу со стабильной генерацией биогаза с содержанием водорода в нем 15,9% (AF) и 11,4% (AFB) и поддержанием pH среды 5,72.

На начальном этапе работы аппаратов в реакторе с неподвижной загрузкой (биофильтр) общее количество образовавшегося биогаза было выше, чем в реакторе с подвижной загрузкой (аппарат с кипящим слоем); при резком увеличении объемной нагрузки по органическому веществу выше 2,25 кг ХПК/(м³·сут) наблюдается резкое закисление реакционной среды и снижение

выработки биогаза: содержание масляной кислоты в реакционной среде превышало содержание уксусной кислоты.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-29-25042.

Авторы выражают благодарность ЦКП «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского за предоставленное оборудование.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was partially supported by the Federal State Budgetary Institution “Russian Foundation for Basic Research” as part of scientific project No. 18-29-25042.

The authors express their gratitude to the Common Use Centre “New Materials and Resource-saving Technologies” of Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod for the equipment provided.

Список литературы:

1. Banu J.R., Kannah R.Y., Kavitha S., Usman T.M.M., Gunasekaran M., Kumar G., Kim S-H. (2020). Biohydrogen: resource recovery from industrial wastewater. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, 51 - 87. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64321-6.00004-5>
2. Carvalho F., Prazeres A.R., & Rivas J. (2013). Cheese whey wastewater: characterization and treatment. *Sci. Total Environ.*, 445-446, 385 - 396. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>
3. De Gioannis G., Friargiu M., Massi E., Muntoni A., Poletti A., Pomi R., Spiga D. (2014). Biohydrogen production from dark fermentation of cheese whey: influence of pH. *Int. J. Hydrogen Energy*, 39, 20930 - 20941. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.10.046>
4. Calli B., Schoenmaekers K., Vanbroekhoven K., Diels L. (2008). Dark fermentative H₂ production from xylose and lactose – Effects of on-line pH control. *Int. J. Hydrogen Energy*, 33(2), 522 - 530. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.10.012>
5. Pandey A., Mohan S.V., Chang J.-S., Hallenbeck P.C., Larroche C. (2019). *Biomass, Biofuels, Biochemicals: Biohydrogen*. Second Edition. Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-444-64203-5.00004-6
6. Davila-Vazquez G., Alatrisme-Mondragon F., Leon-Rodriguez A., & Razo-Flores E. (2008). Fermentative hydrogen production in batch experiments using lactose, cheese whey and glucose: Influence of initial substrate concentration and pH. *Int. J. Hydrogen Energy*, 33(19), 4989 - 4997. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.065>
7. Sivagurunathan P., Kumar G., Pugazhendhi A., Zhen G., Kobayashi T., Xu K. (2017). *Biohydrogen production from wastewaters*. In: *Biological wastewater treatment and resource recovery*. IntechOpen. DOI: 10.5772/65891
8. Akinbomi J., Wikandari R., Taherzadeh M.J. (2015). Enhanced fermentative hydrogen and methane production from an inhibitory fruit-flavored medium with membrane-encapsulated cells. *Membranes*, 5(4), 616 - 631. <https://doi.org/10.3390/membranes5040616>
9. Andreani C.L., Torres D.G., Schultz L., de Carvalho K.Q., Gomes S.D. (2015). Hydrogen production from cassava processing wastewater in an anaerobic fixed bed reactor with bamboo as a support material. *Eng. Agric.*, 35(3), 578 - 587. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v35n3p578-587/2015>

10. Kirli B., Kapdan I.K. (2016). Selection of microorganism immobilization particle for dark fermentative biohydrogen production by repeated batch operation. *Renew. Energy*, 87(1), 697 - 702. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.11.003>
11. Gokfiliz P., Karapinar I. (2017). The effect of support particle type on thermophilic hydrogen production by mobilized batch dark fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy*, 42(4), 2553 - 2561. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.03.041>
12. Lima D.M.F., Inoue R.K., Rodrigues J.A. D., Ratusznei S.M., Zaiat M. (2015). Biohydrogen from cheese whey treatment in an AnSBBR: achieving process stability. *Brazilian J. Chem. Engin.*, 32(2). <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20150322s00003342>
13. Preethic, Usman T.M.M., Banu J.R., Gunasekaran M., Kumar G. (2019). Biohydrogen production from industrial wastewater: An overview. *Bioresource Technology Reports*, 7, 100287. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100287>
14. Ren N.-Q., Guo W.-Q., Wang X.-J., Xiang W.-S., Liu B.-F., Wang X.-Z., Ding J., Chen Z.-B. (2008). Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacteria for hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(16), 4318 – 4324. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.003>
15. Kumar G., Bakonyi P., Sivagurunathan P., Nemestóthy N., Bélafi-Bakó K., Lin C.-Y. (2015). Improved microbial conversion of de-oiled Jatropha waste into biohydrogen via inoculum pretreatment: process optimization by experimental design approach. *Biofuel Research Journal*, 5, 209 - 214. DOI: [10.18331/BRJ2015.2.1.7](https://doi.org/10.18331/BRJ2015.2.1.7)
16. Mikheeva E.R., Katraeva I.V., Vorozhtsov D.L., Litti Yu.V., Nozhevnikova A.N. (2020). Efficiency of two-phase anaerobic fermentation and the physicochemical properties of the organic fraction of municipal solid waste processed in a vortex-layer apparatus. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 56(6), 736 - 742. <https://doi.org/10.1134/S0003683820060113>
17. Chen W.-H., Sung S., Chen S.-Y. (2009). Biological hydrogen production in an anaerobic sequencing batch reactor: pH and cyclic duration effects. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(1), 227 - 234. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.09.061>
18. Van Ginkel S.W., Oh S.-E., Logan B.E. (2005). Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. *Int. J. Hydrogen Energy*, 30(15), 1535 - 1542. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2004.09.017>
19. Walichnowski A.Z., Lawrence S.G. (1982). Studies into the effects of cadmium and low pH upon methane production. *Hydrobiologia*, 91, 559 - 569. <https://doi.org/10.1007/BF00000054>
20. Kim I.S., Hwang M.H., Jang N.J., Hyun S.H., Lee S.T. (2004). Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process. *Int. J. Hydrogen Energy*, 29(11), 1133 - 1140. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2003.08.017>
21. Цавкелова Е.А., Нетрусов А.И. (2012). Получение биогаза из целлюлозосодержащих субстратов (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*, 48(4), 469 - 483.

References:

1. Banu, J.R., Kannah, R.Y., Kavitha, S., Usman, T.M.M., Gunasekaran, M., Kumar, G., & Kim, S.-H. (2020). Biohydrogen: resource recovery from industrial wastewater. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, 51 - 87. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64321-6.00004-5>
2. Carvalho, F., Prazeres, A.R., & Rivas, J. (2013). Cheese whey wastewater: characterization and treatment. *Sci. Total Environ.*, 445-446, 385 - 396. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.038>
3. De Gioannis, G., Friargiu, M., Massi, E., Muntoni, A., Poletti, A., Pomi, R., & Spiga, D. (2014). Biohydrogen production from dark fermentation of cheese whey: influence of pH. *Int. J. Hydrogen Energy*, 39, 20930 - 20941. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.10.046>

4. Calli, B., Schoenmaekers, K., Vanbroekhoven, K., & Diels, L. (2008). Dark fermentative H₂ production from xylose and lactose – Effects of on-line pH control. *Int. J. Hydrogen Energy*, 33(2), 522 - 530. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.10.012>
5. Pandey, A., Mohan, S.V., Chang, J.-S., Hallenbeck, P.C., & Larroche, C. (2019). *Biomass, Biofuels, Biochemicals: Biohydrogen*. Second Edition. Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-444-64203-5.00004-6
6. Davila-Vazquez, G., Alatrisme-Mondragon, F., Leon-Rodriguez, A., & Razo-Flores, E. (2008). Fermentative hydrogen production in batch experiments using lactose, cheese whey and glucose: Influence of initial substrate concentration and pH. *Int. J. Hydrogen Energy*, 33(19), 4989 - 4997. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.065>
7. Sivagurunathan, P., Kumar, G., Pugazhendhi, A., Zhen, G., Kobayashi, T., & Xu, K. (2017). *Biohydrogen production from wastewaters*. In: *Biological wastewater treatment and resource recovery*. IntechOpen. DOI: 10.5772/65891
8. Akinbomi, J., Wikandari, R., & Taherzadeh, M.J. (2015). Enhanced fermentative hydrogen and methane production from an inhibitory fruit-flavored medium with membrane-encapsulated cells. *Membranes*, 5(4), 616 - 631. <https://doi.org/10.3390/membranes5040616>
9. Andreani C.L., Torres D.G., Schultz L., de Carvalho K.Q., Gomes S.D. (2015). Hydrogen production from cassava processing wastewater in an anaerobic fixed bed reactor with bamboo as a support material. *Eng. Agríc.*, 35(3), 578 - 587. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v35n3p578-587/2015>
10. Kirli, B., & Kapdan, I.K. (2016). Selection of microorganism immobilization particle for dark fermentative biohydrogen production by repeated batch operation. *Renew. Energy*, 87(1), 697 - 702. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.11.003>
11. Gokfiliz, P., & Karapinar, I. (2017). The effect of support particle type on thermophilic hydrogen production by mobilized batch dark fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy*, 42(4), 2553 - 2561. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.03.041>
12. Lima, D.M.F., Inoue, R.K., Rodrigues, J.A. D., Ratusznei, S.M., & Zaiat, M. (2015). Biohydrogen from cheese whey treatment in an AnSBBR: achieving process stability. *Brazilian J. Chem. Engin.*, 32(2). <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20150322s00003342>
13. Preethic, Usman, T.M.M., Banu, J.R., Gunasekaran, M., & Kumar, G. (2019). Biohydrogen production from industrial wastewater: An overview. *Bioresource Technology Reports*, 7, 100287. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100287>
14. Ren, N.-Q., Guo, W.-Q., Wang, X.-J., Xiang, W.-S., Liu, B.-F., Wang, X.-Z., Ding, J., & Chen, Z.-B. (2008). Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacteria for hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(16), 4318 - 4324. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.06.003>
15. Kumar, G., Bakonyi, P., Sivagurunathan, P., Nemestóthy, N., Bélafi-Bakó, K., & Lin, C.-Y. (2015). Improved microbial conversion of de-oiled Jatropha waste into biohydrogen via inoculum pretreatment: process optimization by experimental design approach. *Biofuel Research Journal*, 5, 209 - 214. DOI: [10.18331/BRJ2015.2.1.7](https://doi.org/10.18331/BRJ2015.2.1.7)
16. Mikheeva, E.R., Katraeva, I.V., Vorozhtsov, D.L., Litti, Yu.V., & Nozhevnikova, A.N. (2020). Efficiency of two-phase anaerobic fermentation and the physicochemical properties of the organic fraction of municipal solid waste processed in a vortex-layer apparatus. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 56(6), 736 - 742. <https://doi.org/10.1134/S0003683820060113>
17. Chen, W.-H., Sung, S., & Chen, S.-Y. (2009). Biological hydrogen production in an anaerobic sequencing batch reactor: pH and cyclic duration effects. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(1), 227 - 234. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.09.061>
18. Van Ginkel, S.W., Oh, S.-E., & Logan, B.E. (2005). Biohydrogen gas production from food processing and domestic wastewaters. *Int. J. Hydrogen Energy*, 30(15), 1535 - 1542. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2004.09.017>
19. Walichnowski, A.Z., & Lawrence, S.G. (1982). Studies into the effects of cadmium and low pH upon methane production. *Hydrobiologia*, 91, 559 - 569. <https://doi.org/10.1007/BF00000054>

20. Kim, I.S., Hwang, M.H, Jang, N.J., Hyun, S.H., & Lee, S.T. (2004). Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process. *Int. J. Hydrogen Energy*, 29(11), 1133 - 1140. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2003.08.017>
21. Tsavkelova, E.A., & Netrusov, A.I. (2012). Biogas production from cellulose-containing substrates: A review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 48(5), 421 - 433. <https://doi.org/10.1134/S0003683812050134>