

УДК 579.851

ВИДОВОЙ СОСТАВ СООБЩЕСТВ АРХЕЙ В АНАЭРОБНЫХ БИОГАЗОВЫХ РЕАКТОРАХ

А.М. Зиганшин, Т. Шмидт, Ф. Шольвин, С. Кляйнштаубер

Аннотация

Разработан эффективный способ утилизации послеспиртовой барды в анаэробных условиях с получением биогаза и создано стабильное и высокоактивное по отношению к барде микробное сообщество. Внесение FeCl_3 в один из биореакторов для осаждения токсичного H_2S в нетоксичный сульфид железа сопровождалось более эффективной деструкцией барды, повышенным выходом биогаза и развитием разнообразного архейного сообщества. Так, средний выход биогаза в отсутствие FeCl_3 составил 520 мл/г·оСВ с содержанием метана 63.0% (первый биореактор), тогда как в присутствии FeCl_3 выход биогаза увеличился до 610 мл/г·оСВ с содержанием метана 62.3% (второй биореактор). ПЦР-амплификация, клонирование и секвенирование архейных генов 16S рРНК позволили нам обнаружить два и восемь фило типов в первом и во втором биореакторах соответственно. Все исследованные клоны были отнесены к некультивируемым формам микроорганизмов. Если в первом биореакторе доминировали два фило типа метаногенов, отнесенных к родам *Methanoculleus* и *Methanosaeta*, то во втором биореакторе микробное сообщество было представлено археями родов *Methanoculleus*, *Methanospirillum*, *Methanosaeta*, *Methanosarcina*, *Methanomethylovorans*, порядка Thermoplasmatales и класса Thermoprotei. По-видимому, повышенная концентрация H_2S в первом биореакторе оказывала угнетающее действие на анаэробные микроорганизмы, что сопровождалось снижением видовой разнообразия архей и низкой продукцией биогаза.

Ключевые слова: биогазовый реактор, продукция биогаза, послеспиртовая барда, метаногены, токсичность сероводорода, анализ генов 16S рРНК.

Введение

Одним из потенциальных источников энергоресурсов является биомасса, которая играет важнейшую роль в мире среди возобновляемых источников энергии, и топливо на основе биомассы не оказывает негативного влияния на окружающую среду. В частности, применение биотоплива способствует сокращению выбросов в атмосферу парниковых газов – углекислого газа и метана [1, 2]. К таким экологичным источникам энергии относится биогаз, получение которого является одним из активных направлений современной экологической биотехнологии. Источником же получения биогаза являются энергорастения, побочные продукты, промышленные, сельскохозяйственные отходы [2–5].

Анаэробный процесс, связанный с получением биогаза из биомассы, является стадийным микробным процессом и включает стадии гидролиза субстрата, ацидогенеза, ацетогенеза и метаногенеза. Анаэробная ферментация протекает в анаэробных биореакторах и осуществляется функционально разными микробными ассоциациями [2, 6, 7].

Стадия гидролиза протекает в результате разложения полимеров анаэробными и факультативно анаэробными бактериями. Гидролитические популяции состоят из сахаролитических, целлюлолитических, протеолитических и липолитических бактерий, которые разрушают полимеры до олигомеров и мономеров. На следующем этапе анаэробного процесса кислотообразующие бактерии играют главную роль. Они превращают продукты, полученные на стадии гидролиза, в уксусную, пропионовую, масляную, молочную кислоты, а также спирты, водород и углекислый газ. Метаногены – группа строго анаэробных микроорганизмов, замыкающая цикл деградации органических соединений в отсутствие молекулярного кислорода. Они поглощают водород, углекислый газ, ацетат, формиат и выделяют метан, а также углекислый газ в качестве газообразных отходов. Ацетогенные бактерии растут в тесном симбиозе с метаногенами. Сульфатредукторы, трансформирующие сульфат в сероводород, также присутствуют в анаэробных биореакторах [2, 7].

Применение методов молекулярной биологии, в частности использование гена 16S рРНК в качестве филогенетического маркера для идентификации прокариот в биогазовых реакторах, показало, что значительная часть микроорганизмов в микробных сообществах является некультивируемой. Идентификация, выделение и культивирование неизвестных микроорганизмов является одной из главных задач современной микробиологии. Это будет способствовать не только развитию представления о микроорганизмах, обитающих в биореакторах, но и позволит создать научную базу регуляции контроля всего анаэробного процесса [8, 9].

С целью получения биогаза могут быть использованы различные органические отходы. Так, одной из проблем в производстве спирта является проблема утилизации послеспиртовой барды. В России часть барды (до 35%) используется для откорма скота и производства кормовых препаратов для животноводства, однако большая ее часть портится и не подлежит длительному хранению (не более 2 сут). Поэтому на спиртовых заводах часто происходит ее сброс в стоки, что сопровождается загрязнением окружающей среды [10]. Кроме этого, в России планируется строительство заводов по переработке зерна для получения биоэтанола, что приведет к увеличению производственных отходов. В состав барды входит большое количество питательных веществ, которые могут быть переведены в биогаз. Поэтому развитие альтернативных направлений утилизации барды, в частности с получением биогаза, и изучение микробных сообществ, участвующих в этом процессе, являются актуальными.

Цель настоящей работы – оценить возможность анаэробной переработки послеспиртовой барды в биогаз и идентифицировать микробные сообщества, участвующие в метангенерации. Кроме этого, было исследовано влияние сероводорода на состав метаногенного консорциума в мезофильных биогазовых реакторах.

1. Материалы и методы

1.1. Параметры биореакторов. В настоящей работе использовали два анаэробных биореактора емкостью 7 л (табл. 1). В качестве субстрата для первого биогазового реактора использовали 12.24 г высушенной барды (DDGS, dried distillers grains with solubles) и 137.76 мл стерильной водопроводной воды. Во второй

биореактор вносили 12.24 г DDGS, 1.39 г FeCl₃ (40%) и 136.37 мл стерильной водопроводной воды. Внесение новой порции субстрата и выгрузка переработанной смеси производились ежедневно. Количество перерабатываемого субстрата поддерживали на уровне 5 л при его непрерывном перемешивании со скоростью 60 об./мин. Все биореакторы функционировали при 38 ± 0.5 °С. Физико-химические анализы проводили два раза в неделю.

1.2. Выделение и очистка тотальной ДНК. Биомассу переработанной смеси осаждали центрифугированием при 20000 g в течение 10 мин. Далее тотальную ДНК экстрагировали и очищали с использованием FastDNA SPIN Kit for soil (MP Biomedicals, Германия). Общее количество ДНК оценивали с использованием УФ-видимого спектрофотометра NanoDrop ND-1000 (PepLab, Германия).

1.3. Амплификация, клонирование, секвенирование генов 16S рРНК. Фрагменты архейных генов 16S рРНК ПЦР-амплифицированы в амплификаторе MJ Thermal Cycler PTC-200 (Certified GeneTool Inc, США) с применением универсальных праймеров UniArc8F (5'-YCY GKT TGA TCC YGS CRG-3') и UniArc931R (5'-CCC GCC AAT TCC TTT HAG-3') (Ulm, Германия). Реакционная смесь (25.0 мкл) для ПЦР включала: 1.0 мкл 100-кратно разбавленной ДНК (эквивалентно 1.0–2.0 нг), 1.0 мкл (5.0 пмоль) каждого праймера, 1.0 мкл 99.5% диметилсульфоксида, 1.0 мкл 50 мМ MgCl₂, 7.5 мкл H₂O и 12.5 мкл Taq Master Mix (QIAGEN, Hilden, Германия). Реакция начиналась с денатурации при 95 °С в течение 5 мин и с последующими 30 циклами: денатурация при 94 °С – 1 мин; отжиг при 54 °С – 1 мин и элонгация при 72 °С – 2 мин. Конечную элонгацию проводили при 72 °С в течение 20 мин.

По окончании продукты ПЦР очищали с использованием QIAGEN PCR Purification Kit и клонировали с использованием QIAGEN PCR Cloning Kit (QIAGEN, Hilden, Германия). Из каждого образца отбирали 96 положительных клонов. Скрининг клонов рестрикционным анализом с использованием *Hae*III (New England Biolabs, Германия) и дальнейшее объединение клонов в группы (кластеры) проводили в соответствии с прежней работой [11]. Из каждого кластера 2–4 клон были просеквенированы с использованием вектор-специфичных праймеров M13uni(-21) (5'-TGT AAA ACG ACG GCC AGT-3') и M13rev(-29) (5'-CAG GAA ACA GCT ATG ACC-3'). Секвенирование осуществляли с использованием Big Dye Terminator Ready Reaction Cycle Sequencing Kit на ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Germany). Программу BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) применяли для поиска сходных нуклеотидных последовательностей в базе данных GenBank и Ribosomal Database Project (<http://rdp.cme.msu.edu>) – для определения таксономической принадлежности.

1.4. Аналитические методы. Выход биогаза измеряли на приборе Ritter MGC-1 (Bochum, Германия). Состав биогаза исследовали с использованием газового анализатора GA 94 (Ansyco, Karlsruhe, Германия). Концентрацию аммония определяли в жидкой фазе образцов после отделения твердой фазы центрифугированием при 20000 g в течение 20 мин. Далее супернатант окрашивали реактивом Несслера; спектрофотометрические измерения проводили на спектрофотометре DR/2000 (Hach Company, Loveland, США) при 425 нм. Измерения pH проводили

с помощью рН-метра Accumet, Model 50 (США). Органические кислоты анализировали посредством газовой хроматографии на приборе 5890 series II GC (Hewlett Packard, США), оснащенном автоматическим пробоотборником HS40 (Perkin Elmer, США) и колонкой Agilent HP-FFAP (30 м × 0.32 мм × 0.25 мкм). Подвижная фаза – азот, скорость потока 17 мл/мин. Температуры инжектора и детектора 220 °С и 250 °С соответственно. Температуру повышали от 60 °С до 100 °С со скоростью 20 °С/мин, затем до 140 °С со скоростью 5 °С/мин и на конечном этапе до 200 °С со скоростью 40 °С/мин. Пробы анализировали после внесения 0.5 мл 85%-ной H_3PO_4 в пенициллиновые флаконы емкостью 10 мл, содержащие 3.0 мл супернатанта. Далее флаконы плотно закрывали и газовую фазу вводили в хроматограф.

1.5. Химические реактивы. Реактив Несслера был приобретен у фирмы Merck KGaA (Германия). FeCl_3 – химическое соединение фирмы Tesserlo Schweiz AG (Германия); органические кислоты – соединения фирмы Sigma-Aldrich (Германия).

1.6. Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью электронных таблиц Excel 7.0. Проведены интервальные оценки данных, результаты выражены в виде среднего значения ($n = 4$) и стандартного отклонения.

2. Результаты и их обсуждение

В настоящей работе послеспиртовая барда (DDGS) была подвергнута анаэробной конверсии в лабораторных мезофильных биогазовых реакторах и были определены метаногенные сообщества, участвующие в образовании биогаза. Основные технологические параметры анаэробного разложения барды с образованием биогаза представлены в табл. 1. Анаэробная конверсия биомассы протекала в двух семилитровых ферментерах с рабочей емкостью 5 л при 38 °С. Подсушенную барду вносили в биореакторы в концентрации 12.24 г в сутки. После двух месяцев функционирования биореакторов выход биогаза был стабилизирован на уровне 520–610 мл/г·оСВ (органическое сухое вещество) с содержанием метана 62.3–63.0%.

Внесение ионов железа во второй биореактор для удаления токсичного H_2S сопровождалось изменением цвета перерабатываемой смеси от желто-коричневого до черного в результате осаждения нетоксичного и нерастворимого Fe_2S_3 . Очистка биогаза от H_2S внутри второго биореактора, а также снабжение микробного сообщества дополнительным источником ионов железа вели к повышенной продукции биогаза и более стабильному процессу метангенерации. Так, средний выход биогаза из первого и второго биореакторов составил 520 и 610 мл/г·оСВ соответственно (табл. 1). Возможно, присутствие высокой концентрации H_2S в первом биореакторе вело к осаждению микроэлементов в виде недоступных сульфидов, что также могло оказать влияние на активность микроорганизмов и, следовательно, на выход биогаза. Кроме этого, применение таких реакционных соединений, как сульфид железа, решает проблему очистки биогаза от вредных газообразных примесей.

Табл. 1

Основные технологические параметры анаэробной переработки барды

		Биореактор № 1	Биореактор № 2
Объем биореактора (л)		7.0	7.0
Объем перерабатываемой смеси (л)		5.0	5.0
Температура сбраживания (°С)		38 ± 0.5	38 ± 0.5
Нагрузка по органике (г органического сухого вещества в сутки)		10	10
Сухое вещество (%)		88	88
Органическое сухое вещество (%)		81.8	81.8
Состав субстрата (г/сут)	DDGS	12.24	12.24
	H ₂ O	137.76	136.37
	FeCl ₃ (40%)	–	1.39
Время пребывания субстрата в реакторе (сут)		33.3	33.3
Выход биогаза при н.у. (мл/г·оСВ)		520 ± 18	610 ± 8
Состав биогаза	CH ₄ (%)	63.0 ± 0.6	62.3 ± 0.4
	CO ₂ (%)	36.1 ± 0.8	37.4 ± 0.3
	H ₂ S (ppm)	4513 ± 71	66 ± 3.5
рН		7.51 ± 0.07	7.26 ± 0.02
Органические кислоты (мг/л)	Уксусная	149.5 ± 8.1	0.3 ± 0.1
	Пропионовая	64.3 ± 4.4	–
	Изобутановая	1.7 ± 0.02	–
NH ₄ ⁺ -N (г/л)		1.82 ± 0.09	1.78 ± 0.04

Концентрацию ионов аммония в биореакторах поддерживали на уровне ~1.8 г/л; значение рН поддерживали в слабощелочной области (табл. 1). Эти параметры характерны для нормально функционирующего анаэробного процесса [12]. Кроме этого, количество органических кислот, полученных на стадии ацидо- и ацетогенеза, было обнаружено на низком уровне, что означает их полное вовлечение в метаногенез, за исключением первого ферментера (табл. 1).

В связи с отсутствием в мировой литературе данных относительно микроорганизмов, участвующих в анаэробной переработке послеспиртовой барды с получением биогаза, нами была предпринята попытка идентифицировать микробные популяции, ответственные за данный процесс. Результаты секвенирования ПЦР-амплифицированных и клонированных архейных генов 16S рРНК приведены в табл. 2. Анализ архейных генов 16S рРНК показал низкое разнообразие архей и позволил обнаружить восемь различных фило типов в исследованных образцах. Наши результаты соответствуют ранним работам [4, 5], в которых исследователи также обнаружили низкое видовое разнообразие метанобразующих микроорганизмов в образцах, отобранных из мезофильных и термофильных сельскохозяйственных биогазовых установках.

В первом биореакторе среди генов 16S рРНК архейных клонов мы обнаружили два основных фило типа (две операционные таксономические единицы, ОТЕ) представителей гидрогенотрофного рода *Methanoculleus* (ОТЕ 1) и ацетокластического рода *Methanosaeta* (ОТЕ 5), тогда как во втором биореакторе в присутствии FeCl₃ были идентифицированы восемь групп архей, относящихся к гидрогенотрофным родам *Methanoculleus* (ОТЕ 1) и *Methanospirillum* (ОТЕ 2),

ацетокластическим родам *Methanosaeta* (ОТЕ 4 и 5) и *Methanosarcina* (ОТЕ 3), метилотрофному роду *Methanomethylovorans* (ОТЕ 6), а также к порядку Thermoplasmatales (ОТЕ 7) и классу Thermoprotei (ОТЕ 8) (табл. 2). Представители двух последних групп не участвуют в продукции биогаза и многие из них растут при высоких температурах. Интересно, что все идентифицированные микроорганизмы относятся к некультивируемым формам.

Известно, что избыток аммонийного азота является токсикантом для микробов, участвующих в анаэробном процессе. Концентрация $\text{NH}_4^+\text{-N}$ свыше 3.0 г/л может привести к остановке ферментационного процесса [12, 13]. Концентрация ионов аммония в наших образцах не превышала 3.0 г/л, что сопровождалось нормальной метангенерацией. Кроме этого, токсичность ионов аммония не должна была повлиять на различие в видовом составе микробных сообществ в двух наших системах, так как его концентрация в обоих биореакторах отличалась незначительно (табл. 1). К тому же рН смеси был на уровне, необходимом для роста и активности метаногенов [7]. По-видимому, высокая концентрация токсичного H_2S могла ингибировать анаэробные микроорганизмы в первом ферментере.

Представителей родов *Methanoculleus* и *Methanospirillum*, использующих молекулярный водород и углекислый газ для роста и активности, а также продуцирующих метан в качестве газообразного отхода, часто идентифицируют в биогазовых установках [4, 5]. Результаты нашего исследования подтверждают данное наблюдение.

В связи с тем что количество ряда органических кислот во втором биореакторе было обнаружено на очень низком уровне, мы предполагаем, что синтрофные связи между ацетогенными бактериями и ацетокластическими метаногенами были лучше установлены во втором биореакторе. Это способствовало высокому разнообразию ацетокластических метаногенов (*Methanosaeta* sp. и *Methanosarcina* sp.), быстрому расщеплению ацетата и повышенной продукции биогаза. Напротив, в первом ферментере наблюдалась аккумуляция пропионовой и уксусной кислот, что означает ингибирование бактерий, утилизирующих пропионат, и неэффективное использование ацетата метаногенами (*Methanosaeta* sp.), сопровождающееся низким выходом метана.

Из данных литературы также известно [14, 15], что метаногены рода *Methanosaeta* доминируют в присутствии низких концентраций ацетата, тогда как микроорганизмы рода *Methanosarcina* предпочитают повышенные концентрации ацетата.

Во втором биореакторе был идентифицирован и представитель облигатно метилотрофного рода *Methanomethylovorans* [16]. Первый представитель данного рода – *Methanomethylovorans hollandica* – был изолирован из осадков, содержащих диметилсульфид в качестве единственного источника углерода и энергии. Данный штамм также оказался способным к росту на метаноле, метиламинах и метантиоле. Диметилсульфид и метантиол образуются в ходе деградации серосодержащих аминокислот или в результате метилирования сульфида при деструкции метоксилированных ароматических соединений [17]. В связи с этим не исключено участие микроорганизмов рода *Methanomethylovorans* в метаногенезе серосодержащей биомассы в наших системах.

Табл. 2

Результаты секвенирования клонированных архейных генов 16S рРНК

Клон (п.о.)	Ближайший представитель (номер в базе данных GenBank) / процент совпадения	Таксономическая принадлежность в соответствии с RDP 10
A1 (862)	Uncultured archaeon clone 5.5ft C124A (EU369622) / 99%	<i>Methanoculleus</i> sp.
A2 (307)	Uncultured archaeon clone 5.5ft C124A (EU369622) / 99%	<i>Methanoculleus</i> sp.
A3 (863)	Uncultured archaeon clone 5.5ft C124A (EU369622) / 99%	<i>Methanoculleus</i> sp.
A4 (858)	Uncultured archaeon clone 5.5ft C124A (EU369622) / 99%	<i>Methanoculleus</i> sp.
OTE 1		<i>Methanoculleus</i> sp.
A5 (392)	Uncultured archaeon clone MCSArc_E11 (EU591675) / 98%	<i>Methanospirillum</i> sp.
A6 (860)	Uncultured archaeon clone MCSArc_E11 (EU591675) / 98%	<i>Methanospirillum</i> sp.
OTE 2		<i>Methanospirillum</i> sp.
A7 (871)	Uncultured <i>Methanosarcina</i> sp. (EU857627) / 98%	<i>Methanosarcina</i> sp.
A8 (451)	Uncultured <i>Methanosarcina</i> sp. (EU857627) / 98%	<i>Methanosarcina</i> sp.
OTE 3		<i>Methanosarcina</i> sp.
A9 (867)	Uncultured archaeon clone GZK31 (AJ576221) / 99%	<i>Methanosaeta</i> sp.
A10 (865)	Uncultured archaeon clone GZK31 (AJ576221) / 99%	<i>Methanosaeta</i> sp.
OTE 4		<i>Methanosaeta</i> sp. I
A11 (862)	Uncultured archaeon clone GZK39 (AJ576227) / 99%	<i>Methanosaeta</i> sp.
A12 (860)	Uncultured archaeon clone GZK39 (AJ576227) / 98%	<i>Methanosaeta</i> sp.
OTE 5		<i>Methanosaeta</i> sp. II
A13 (864)	Uncultured archaeon clone EV818102502oo101 (DQ354734) / 96%	<i>Methanomethylovorans</i> sp.
A14 (866)	Uncultured archaeon clone ASC22 (AB161327) / 96%	<i>Methanomethylovorans</i> sp.
OTE 6		<i>Methanomethylovorans</i> sp.
A15 (320)	Uncultured archaeon clone PISD-DJ44 (AM941445) / 98%	Thermoplasmatales
A16 (422)	Uncultured archaeon clone 13 (DQ402021) / 93%	Thermoplasmatales
OTE 7		Thermoplasmatales
A17 (889)	Archaeon enrichment culture clone C3-41C-A (GQ4705951) / 98%	Thermoprotei
OTE 8		Thermoprotei

Археи порядка *Thermoplasmatales* и класса *Thermoprotei* также были обнаружены при проведении наших экспериментов. К вышеуказанным группам относятся археи, не участвующих в метаногенезе [18]. В связи с тем что обнаруженные филоотипы только отдаленно относятся к культивируемым видам, очень сложно сделать заключение об их экофизиологической роли во втором биореакторе. Однако известно, что археи порядка *Thermoplasmatales* обнаруживают в типичных для метаногенов местообитаниях.

Таким образом, полученные результаты указывают на возможность получения биогаза из органических отходов спиртового производства и целесообразность внесения Fe^{3+} в ферментеры для увеличения выхода метана из потенциально доступной биомассы. Кроме этого, получено стабильное и высокоактивное по отношению к барде микробное сообщество. Применение разработанной биотехнологии может повысить эффективность утилизации всей биомассы.

Заключение

В работе идентифицированы мезофильные архейные сообщества, участвующие в анаэробной переработке послеспиртовой барды с образованием биогаза. Внесение FeCl_3 в один из биореакторов для осаждения токсичного H_2S в виде нетоксичного сульфида железа сопровождалось развитием разнообразного метаногенного консорциума и более эффективной анаэробной деструкцией субстрата с повышенным выходом биогаза. Научные результаты настоящей работы могут быть применены на спиртовых заводах, а биогаз, получаемый в ходе анаэробной деструкции барды, может быть использован для частичного отопления самих заводов, а также генерации электричества.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке: грант Правительства Республики Татарстан «Алгарыш» (2008 г.) и стипендия совместной программы DAAD и Министерства образования и науки РФ (Программа «Михаил Ломоносов II», 2009 г.).

Авторы благодарят профессора кафедры микробиологии КФУ Р.П. Наумову за ценные советы при изложении материала.

Summary

A.M. Ziganshin, T. Schmidt, F. Scholwin, S. Kleinsteuber. Archaeal Communities Composition in Anaerobic Biogas Reactors.

In the present work, we created an effective method for anaerobic degradation of distillers grains (DDGS) with biogas production and developed stable and active microbial communities utilizing distillers grains. The addition of FeCl_3 into one bioreactor for precipitation of toxic H_2S in the form of non-toxic iron sulfide resulted in more effective distillers grains destruction, higher biogas yield, and the development of diverse archaeal community. Thus, the average biogas production from the first digester (in the absence of FeCl_3) was 520 ml/g·oTS with the methane content of 63.0%, whereas it increased up to 610 ml/g·oTS with the methane content of 62.3% in the case of the second digester (in the presence of FeCl_3). PCR-amplification, cloning, and sequencing of archaeal 16S rRNA genes allowed us to detect two and eight phylotypes in the first and second fermenters, respectively. All clones were assigned to uncultured forms of microorganisms. The first bioreactor was dominated by organisms related to *Methanoculleus* sp. and *Methanosaeta* sp., whereas archaea in the second bioreactor were

represented by members of *Methanoculleus* sp., *Methanospirillum* sp., *Methanosaeta* sp., *Methanosarcina* sp., *Methanomethylovorans* sp., Thermoplasmatales, and Thermoprotei. The high concentration of H₂S in the first bioreactor apparently inhibited anaerobic microorganisms, what resulted in lower archaeal diversity and lower amount of biogas production.

Key words: biogas reactor, production of biogas, distillers grains, methanogens, hydrogen sulfide toxicity, 16S rRNA genes analysis.

Литература

1. Huber G.W., Iborra S., Corma A. Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering // Chem. Rev. – 2006. – V. 106, No 9. – P. 4044–4098.
2. Antoni D., Zverlov V.V., Schwarz W.H. Biofuels from microbes // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – V. 77, No 1. – P. 23–35.
3. Ilori M.O., Adebusoye S.A., Lawal A.K., Awotiwon O.A. Production of biogas from banana and plantain peels // Adv. Environ. Biol. – 2007. – V. 1, No 1. – P. 33–38.
4. Krause L., Diaz N.N., Edwards R.A., Gartemann K-H., Kromeke H. Taxonomic composition and gene content of a methane-producing microbial community isolated from a biogas reactor // J. Biotechnol. – 2008. – V. 136, No 1–2. – P. 91–101.
5. Goberna M., Insam H., Franke-Whittle I.H. Effect of biowaste sludge maturation on the diversity of thermophilic bacteria and archaea in an anaerobic reactor // Appl. Environ. Microbiol. – 2009. – V. 75, No 8. – P. 2566–2572.
6. Karakashev D., Batstone D.J., Angelidaki I. Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactors // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – V. 71, No 1. – P. 331–338.
7. Demirel B., Scherer P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review // Rev. Environ. Sci. Biotechnol. – 2008. – V. 7, No 2. – P. 173–190.
8. Talbot G., Topp E., Palin M.F., Masse D.I. Evaluation of molecular methods used for establishing the interactions and functions of microorganisms in anaerobic bioreactors // Water Res. – 2008. – V. 42, No 3. – P. 513–537.
9. Lee C., Kim J., Hwang K., O'Flaherty V., Hwang S. Quantitative analysis of methanogenic community dynamics in three anaerobic batch digesters treating different wastewaters // Water Res. – 2009. – V. 43, No 1. – P. 157–165.
10. Фадеева И.В., Атыкян Н.А., Ревин В.В. Отработка условий биоконверсии отходов спиртовой промышленности с помощью молочнокислых бактерий и базидиальных грибов // Вестн. Нижегород. ун-та. – 2009. – № 6 (1). – С. 113–119.
11. Kleinstaub S., Riis V., Fetzer I., Harms H., Muller S. Population dynamics within a microbial consortium during growth on diesel fuel in saline environments // Appl. Environ. Microbiol. – 2006. – V. 72, No 5. – P. 3531–3542.
12. WPCF. Anaerobic sludge digestion. Manual of practice No 19. – Alexandria, VA, 1987.
13. Gerardi M.H. The microbiology of anaerobic digesters. – Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons, Inc., 2003. – 178 p.
14. Griffin M.E., McMahon K.D., Mackie R.I., Raskin L. Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids // Biotechnol. Bioeng. – 1998. – V. 57, No 3. – P. 342–355.
15. Zheng D., Raskin L. Quantification of *Methanosaeta* species in anaerobic bioreactors using genus- and species-specific hybridization probes // Microb. Ecol. – 2000. – V. 39, No 3. – P. 246–262.

16. *Lomans B.P., Maas R., Luderer R., Op den Camp H.J.M., Pol A., van der Drift C., Vogels G.D.* Isolation and characterization of *Methanomethylovorans hollandica* gen. nov., sp. nov., isolated from freshwater sediment, a methylotrophic methanogen able to grow on dimethyl sulfide and methanethiol // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1999. – V. 65, No 8. – P. 3641–3650.
17. *Lomans B.P., van der Drift C., Pol A., Op den Camp H.J.* Microbial cycling of volatile organic sulfur compounds // *Cell Mol. Life Sci.* – 2002. – V. 59, No 4. – P. 575–588.
18. *Chaban B., Ng S., Jarrell K.F.* Archaeal habitats – from the extreme to the ordinary // *Can. J. Microbiol.* – 2006. – V. 52, No 2. – P. 73–116.

Поступила в редакцию
16.09.10

Зиганшин Айрат Мансурович – кандидат биологических наук, ассистент кафедры микробиологии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: a.ziganshin06@fulbrightmail.org

Шмидт Томас – научный сотрудник департамента биогазовых технологий Немецкого центра исследования биомассы, г. Лейпциг, Германия.

Шольвин Франк – начальник департамента биогазовых технологий Немецкого центра исследования биомассы, г. Лейпциг, Германия.

Кляйнштаубер Сабина – научный сотрудник департамента экологической микробиологии Института имени Гельмгольца по исследованию окружающей среды, г. Лейпциг, Германия.