

БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 628.336.6+628.385+547.211+662.767

МЕТАНОГЕНЕЗ: БИОХИМИЯ, ТЕХНОЛОГИЯ, ПРИМЕНЕНИЕ

*А.З. Миндубаев, Д.Е. Белостоцкий, С.Т. Минзанова, В.Ф. Миронов,
Ф.К. Алимова, Л.Г. Миронова, А.И. Коновалов*

Аннотация

В настоящее время насущной проблемой цивилизации является нехватка энергетических ресурсов, обусловленная интенсивной эксплуатацией месторождений невозобновляемых энергоносителей. В свете этого необходимость перехода энергетики на возобновляемое сырье, использование продуктов жизнедеятельности живых организмов и их биомассы является очевидной. Она привела к появлению значительного количества работ, посвященных переработке биомассы, в частности получению горючего биогаза в результате природного процесса, именуемого метаногенезом. В представленной работе обобщен материал по метаногенезу, взятый из 98 источников за 1995–2009 гг. Метаногенез рассмотрен с разных позиций (особенности и состав метаногенной микрофлоры, метаболический путь и условия протекания процесса, выход и состав газа, применение и технология производства, включая перспективы дальнейшего развития, а также экологические аспекты).

Ключевые слова: метаногенез, реактор, безотходная технология, метан, анаэробная микрофлора, парниковые газы, утилизация отходов, экология, энергетика, ферментация.

Самой насущной проблемой современности является энергетический кризис, обусловленный постепенным исчерпанием энергоносителей: нефти, природного газа, угля и сланцев. Предложен ряд решений данной проблемы, одним из которых может стать получение углеводородного топлива в результате биологического процесса, именуемого метановым брожением.

Метановое брожение, или метаногенез, – распространенный в природе процесс. Важным условием его протекания является отсутствие кислорода, то есть анаэробная среда. В данных условиях главным продуктом разложения практически любых органических остатков является метан. Основными источниками биогенного метана в природе являются богатая перегноем почва [1–7], желудочно-кишечный тракт животных, в особенности жвачных млекопитающих, а также разлагающиеся фекалии [8–14], отложения торфа [15], нефтяные месторождения [16], бытовые и промышленные стоки [9, 17–22], заиленное дно пресных стоячих водоемов [7], а также морские донные осадки [23, 24].

Метаногенез – микробиологический процесс. Единственными способными его осуществлять организмами являются крайне специализированные прокариоты –

архебактерии, или археи, родов *Methanobacterium*, *Methanosaeta* (*Methanothrix*), *Methanococcus*, *Methanosarcina*, *Methanocorpusculum*, *Methanobrevibacteria* и *Methanopyrus* [3, 25–33]. Для них метановое брожение является основным или даже единственным источником энергии. В процессе участвуют уникальные коферменты птериновой природы, а также специфичные микроэлементы – молибден и вольфрам [27, 34] (рис. 1). Метановое брожение включает три стадии: гидролитическую (гидролиз полисахаридов в среде органического происхождения), ацидогенную (сбраживание образовавшихся в предыдущей стадии моносахаридов до спиртов и далее до короткоцепочечных летучих жирных кислот (ЛЖК): муравьиной, уксусной, пропионовой, масляной, а также молочной) и собственно метаногенную (ацетокластический метаногенез – расщепление ЛЖК до метана и углекислого газа, другой путь метаногенеза заключается в восстановлении одноуглеродных молекул (углекислый газ, муравьиная кислота, метанол) молекулярным водородом, также являющимся продуктом микробного метаболизма). Метаногенные архебактерии осуществляют только заключительную стадию процесса: гидролиз и ацидогенез производятся эубактериями, анаэробными грибами и простейшими [7, 12–18, 27–29, 35–37]. Описаны также пути биосинтеза метана из длинноцепочечных жирных кислот животного жира и углеводородов нефти [9, 16, 22, 38, 39].

Будучи биологическим процессом, метаногенез протекает только в определенных условиях, наиболее благоприятных для микрофлоры. По отношению к температуре выделяют три вида метаногенеза: психрофильный (низкотемпературный), протекающий при 10–14 °С, мезофильный (среднетемпературный) с наиболее благоприятным интервалом температур 35–37 °С и термофильный (высокотемпературный), идущий при 50–55 °С. Каждый из перечисленных процессов осуществляется особым комплексом микробов, приспособленных к определенной температуре. Термофильный метаногенез является наиболее продуктивным, но его осуществление требует искусственного подогрева, поэтому на практике чаще используют мезофильный процесс. При температуре ниже 6 °С метаногенез подавляется полностью [7, 22, 25, 31, 40–44]. Культуры метаногенов хорошо сохраняются при 4 °С, но замораживание при –20 °С переносят хуже [45]. Как и большинство микроорганизмов, метаногены легко переносят высушивание, образуя споры, которые можно выделить из атмосферы [46]. Наиболее благоприятный рН для метаногенеза близок к нейтральному (в пределах 6–8), хотя на ацидогенной стадии происходит заметное подкисление среды. При рН 4.3 метановое брожение останавливается в результате отравления микрофлоры токсичными недиссоциированными ЛЖК (этим объясняется высокая сохранность органических отложений на торфяных болотах) [14, 15, 31, 43, 45, 47]. Метаногенные бактерии чувствительны к содержанию в среде солей тяжелых металлов (Zn, Cr, Cu, Cd, Ni, Pb), благодаря чему даже разрабатываются обладающие очень низким порогом обнаружения микробиологические тесты на присутствие металлов в почве и воде [48]. Отмечена способность метаногенных культур в активных илах очистных сооружений обезвреживать продукты химической промышленности, причем даже такие с трудом поддающиеся биологическому расщеплению вещества, как хлорорганические соединения, нитросоединения, амины, сульфокислоты и четвертичные алкил- и ацилсодержащие аммонийные соли [17, 18, 21, 49, 50].

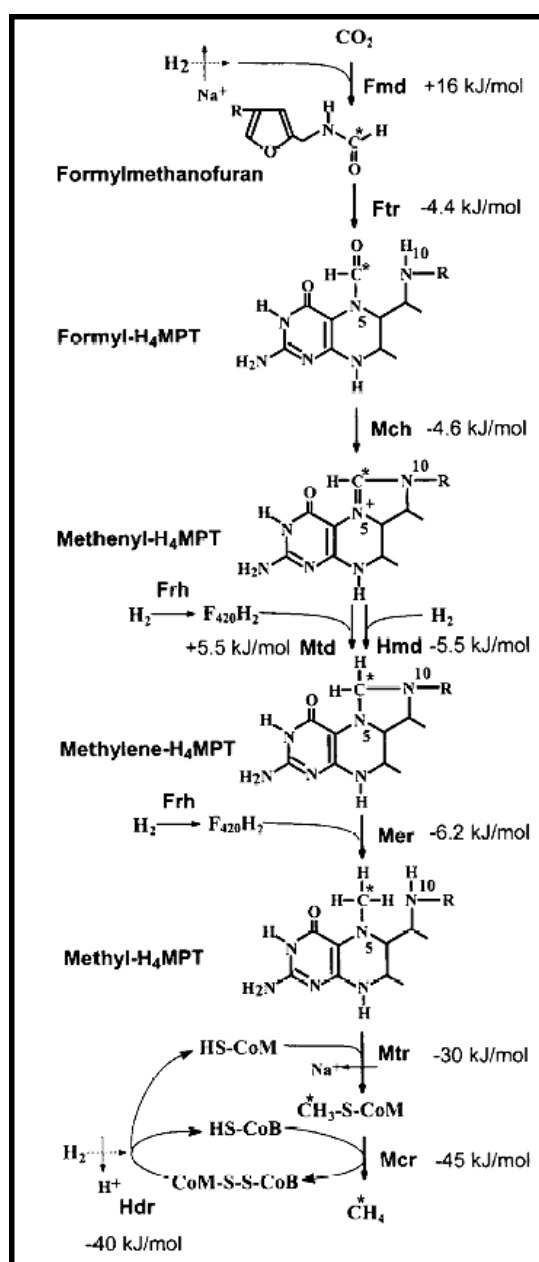


Рис. 1. Схема метаногенеза [27]

Разумеется, развитие метаногенных микроорганизмов определяется составом питательных сред. Метаногенному сбраживанию, как и любому другому типу брожения, легче всего подвергаются моно- и олигосахариды, а также полисахариды, легко поддающиеся осахариванию (крахмал, гемицеллюлозы, арабиногалактаны, пектины) [12, 14]. Устойчивая к гидролизу целлюлоза сбраживается с трудом, а особенно трудноусваиваемым субстратом является лигноцеллюлоза, которую перед сбраживанием рекомендуется разлагать гидротермолизом при температуре 350 °С и давлении 240 бар [12, 51]. Предлагаются и другие

методы предварительной обработки труднодоступного питательного сырья: ультразвуком различной частоты и интенсивности [19, 52], щелочным гидролизом [20]; ферментативным гидролизом целлюлозы с помощью низших грибов рода *Neocallimastix* [36], а также бактерий целлюлолитиков рода *Fibrobacter* [51]. Стимулирующее влияние на популяции метаногенов оказывает азотная подкормка: внесение в среду сульфата или фосфата аммония, мочевины либо D,L-аминокислот [43, 46]. Большой интерес представляет исследование влияния на метанпродуцирующую микрофлору биомасс и экстрактов различных видов растений. Например, установлено, что экстракты лаванды (*Lavandula officinalis*), золотарника (*Solidago virgaurea*), тысячелистника (*Achillea millefolium*), а также биомасса ипомеи (*Ipomoea asarifobia*) стимулируют метаногенез, а экстракты арники (*Arnica chamissonis*), гречихи (*Fagopyrum esculentum*), хвоща (*Equisetum arvense*) и шалфея (*Salvia officinalis*) его снижают [13, 53]. Избыточное содержание серы в субстрате ведет в анаэробных условиях к накоплению в нем сульфид-ионов, ингибирующих ацетокластический метаногенез (метаногенез из H_2 и CO_2 менее чувствителен к сульфиду) [31].

В литературе есть сведения об эффективности метаногенеза. Например, в экспериментах Франсезе и др. [9] пятилитровый реактор, заполненный смесью свиного навоза и отходов переработки рыбы, содержащей 7.6% летучих компонентов, производил в среднем 183.7 мл биогаза на 1 г летучих компонентов в день. В опытах Ким и др. [19] выход биогаза из 1 м³ отходов после термохимической обработки последних составил 5037 л (на 34.3% выше по сравнению с контролем без обработки). Согласно ван Герле и др. [54], фермерский биореактор (размеры не указаны) производит 35 м³ биогаза в сутки. У Накасимада и др. [36] лабораторный реактор с 700 мл среды (целлюлозный порошок, гидролизующий грибок) производил до 150 мМ биогаза (в пересчете на чистый метан). В работе Инсе и др. [29] указывается, что пятнадцатилитровый реактор с бытовыми стоками производил 550 мл биогаза (в пересчете на чистый метан) / г летучих компонентов в сутки при содержании последних 14.7 г/л. У Шобер и др. [43] тридцатилитровый реактор со средой, содержащей твердый городской мусор с концентрацией летучих компонентов до 8%, производил около 800 л биогаза на кг летучих компонентов в мезофильных условиях (37 °С) и около 830 л газа на кг ЛК в термофильных условиях (55 °С). Холубар и др. [35] описали выход 5.0–5.6 м³ биогаза в сутки для двадцатилитрового реактора с богатой взвесью сточной водой. Лабораторные исследования Филидеи и др. [18] на реакторах объемом 200 мл, заполненных отходами производства оливкового масла, продемонстрировали выработку до 11.23 л биогаза (в пересчете на метан) на л среды в течение 42 дней. Согласно расчетам Солера и др. [40], выход метана в термофильных (55 °С) реакторах лабораторного масштаба составлял до $7.49 \cdot 10^{-9}$ мл на бактериальную клетку в день. У Экпеньонг и др. [46] реактор объемом 50 см³, заполненный растительной биомассой, производил до 800 см³ биогаза за 6 дней при добавлении азотных, фосфорных и серных подкормок. Разработана автоматическая система для определения выхода биогаза из фуража: инокулятом в ней служит отрыжка жвачных [10]. Подробные сведения о факторах, влияющих на метаногенез, стимуляторах и ингибиторах данного процесса приводят Кумар и др. [55].

Количественный состав биогаза сильно варьирует, однако качественный в достаточной степени постоянен. Биогаз представляет собой смесь метана и углекислого газа в соотношениях от 30 : 70 [56] до 60 : 40 [54, 57]. У Франсезе и др. [9] соотношение метана и углекислого газа достигало 73.6 : 26.4; у Ким и др. [19] 5037 л биогаза, выделившиеся из 1 м³ среды, содержали 3367 л метана. Наибольшее содержание метана в биогазе (83–85%) представлено в работе Филидеи и др. [18]. Помимо метана и углекислого газа, в биогазе содержатся другие газообразные продукты, концентрация которых зависит от состава сред. В частности, промежуточным продуктом метаболизма микрофлоры является молекулярный водород [7, 27, 36, 47, 58–60]. В следовых количествах биогаз содержит кислород и азот [58]. В некоторых источниках указывается присутствие в биогазе высших гомологов метана, таких, как пропан, образующихся, вероятно, при ферментативном декарбоксилировании ЛЖК [45], а также этилена и угарного газа [59]. В биогазе всегда содержится аммиак [59, 61] и сероводород; концентрация последнего возрастает при подкормке сульфатами, утилизируемыми сульфатредуцирующими бактериями [31, 58]. При избыточной подкормке фосфором в виде фосфатов или фосфоноацетатов биогаз содержит фосфин [62, 63]. Подкормка азотом в виде нитрата ведет к накоплению закиси азота [1, 2, 23, 24]. Содержание в среде следов *p*-металлов и металлоидов (сурьма, олово, висмут, селен, мышьяк, теллур, ртуть, свинец) ведет к появлению в биогазе летучих алкильных соединений перечисленных элементов [64].

Поскольку метан, углекислый газ и закись азота отнесены к так называемым парниковым газам (их накопление в атмосфере, предположительно, ведет к увеличению поглощения инфракрасных лучей последней и глобальному потеплению климата на Земле), к биогазу сформировано двойственное отношение. С одной стороны, биогаз, бесконтрольно выделяющийся на свалках, фермах, полях, в осадках промышленных стоков рассматривается как нежелательное явление, которое, согласно принятому в 1997 г. Киотскому протоколу, требуется взять под контроль путем политических решений международного масштаба, реорганизуемых сельское хозяйство и промышленность [1–6, 11, 15, 23, 24, 65–67]. С другой стороны, биогаз, вырабатываемый искусственно с помощью специальных биореакторов, является ценным возобновляемым топливом для двигателей [57–60, 68], генераторов электроэнергии [54, 56, 69, 70] и отопления [8, 71, 72]. Биогаз рассматривается даже как энергетический эквивалент водорода [70]. Интересно, что даже присутствие в нем негорючего углекислого газа оказывает положительное влияние на энергетическую ценность, снижая вредное осаждение сажи в камере сгорания [54, 56–58, 69, 70].

Однако анаэробное сбраживание – не только источник топлива, это еще и позволяющий сохранить окружающую среду способ переработки отходов: мусора, сельскохозяйственных, бытовых и промышленных стоков [1, 9, 17–20, 22, 35, 43, 48–51, 53, 66, 67, 73–82]. Продукт анаэробного метаногенного сбраживания может служить удобрением [8, 18, 66]. Кроме того, доказана способность анаэробного сбраживания отходов обеззараживать их. Например, согласно работе Кумар и др. [83], анаэробная переработка стоков при 35 °С способна уничтожать патогенные бактерии *Streptococcus faecalis* за 15 дней, *Salmonella typhimurium* – за 10 дней, а *Shigella dysenteriae* – всего за 5 дней. При комнатной

температуре процесс обеззараживания занимает примерно вдвое больше времени. Благодаря присутствию в микрофлоре рубца жвачных животных бактерий, осуществляющих фумаратное дыхание (*Wolinella succinogenes*, *Fibrobacter succinogenes*), метановое сбраживание навоза рогатого скота сопровождается накоплением янтарной кислоты – ценного биологически активного соединения [84–87]. Другой представитель микрофлоры рубца – *Selenomonas ruminantium* – является эффективным продуцентом витамина В₁₂ (кобаламина), содержание которого также нарастает на протяжении метаногенеза [88–90]. В последние годы интенсивно изучается возможность получения биогаза из отходов спиртовой промышленности. Существует возможность удачно совмещать производство этилового спирта и биогаза из одного сырья, тем самым значительно повысить эффективность его использования. В работе Аглер и др. [91] таким сырьем служило зерно кукурузы, а у Бауэр и др. [92] – зерно пшеницы.

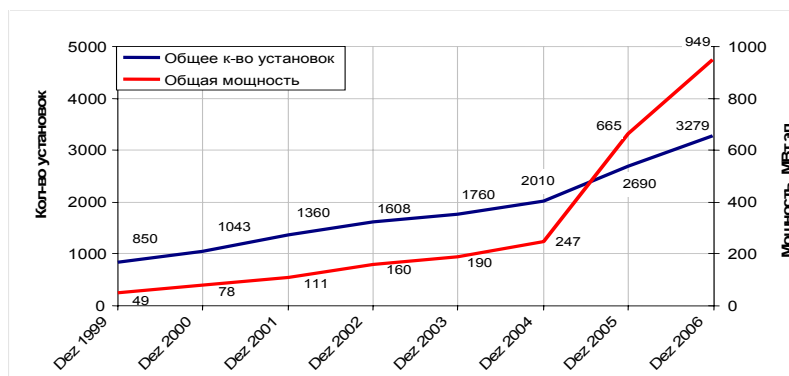
Разумеется, процесс, имеющий такое количество применений, не может не внедряться в практику. Например, в Индии в ближайшем будущем планируется создание до 38 миллионов метаногенных биореакторов, работающих на бытовых отходах, для газификации сельских частных хозяйств [71]; в той же Индии предполагается использование энергии биогаза в промышленности [72]. В Малайзии рассматривается вопрос о переводе птицефабрик на энергетическое самообеспечение путем превращения в биогаз куриного помета [8]. В Швеции еще в 1991 г. правительство выделило 120 миллионов крон на исследование, создание и демонстрацию биотоплива (технического спирта и биогаза) для транспортных средств [93]. В 2000 г. в Германии было 850 биогазовых фабрик – маленького фермерского масштаба и крупного промышленного – и они оказывали благотворное влияние на экономику страны [66]. В стенах Лейпцигского университета (Саксония, Германия) под руководством доктора Франка Шольвина ведется серьезная научно-практическая работа по модернизации производства биогаза из свиного навоза. Развитие данной отрасли в Германии продемонстрировано на рис. 2¹. На протяжении ряда лет группа Ф. Шольвина активно сотрудничает с Республикой Татарстан в деле внедрения биогазовых технологий. В ноябре 2007 г. татарстанская делегация посетила Лейпциг для ознакомления с передовым немецким опытом. А в 2008 г. доктор Шольвин с коллегами дважды приезжал в Казань с целью налаживания сотрудничества. В ближайшее время в Татарстане планируется создание Центра биогазовых технологий на базе Казанского (Приволжского) федерального университета, который объединит усилия тех, кто в настоящее время занимается биогазовой проблематикой независимо друг от друга: исследователей из Казанского университета, Казанского государственного технологического университета, Казанского государственного технического университета им. А.Н. Туполева и Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН с коллегами из Лейпцига. Без сомнения, этот шаг приведет к значительному ускорению развития биогазовых технологий в республике, возможно, даже во всей России.

¹ Рисунок любезно предоставлен коллегами из Лейпцигского университета.



Ситуация получения и использования биогаза

Биогазовые установки в Германии



Дополнительно: установки для полигонов и очистных сооружений

Рис. 2. Тенденция внедрения биогаза в Германии

В 1997 г. в странах Европейского Союза учреждена программа THERMIE, поддерживающая концепцию энергетической переработки бытовых, промышленных и сельскохозяйственных стоков; после этого исследование биогаза пережили второе рождение [74, 75]. Согласно прекрасному обзору канадских авторов [68], посвященному выработке топлива методами биотехнологии, производство биогаза является одним из перспективнейших направлений энергетики будущего, наряду с модернизированным производством этилового спирта, синтез-газа, жидких липидов микроводорослей и водорода, а также микробиологическим разжижением каменного угля и прямой выработкой электроэнергии микроорганизмами.

Последние достижения технической мысли вкладываются в разработку новых поколений анаэробных биореакторов. Современный биореактор – это сооружение, поддерживающее оптимальные условия для протекания метаногенеза, нередко компьютеризированное. Здесь внедрены многие технологические решения. Например, созданы реакторы непрерывного действия с постоянной загрузкой свежего сырья [73]; башневидные многоэтажные реакторы с продуманной циркуляцией жидкого содержимого [94]; реактор с подогревом от солнечной батареи [41]; реактор, оснащенный чувствительными датчиками для контроля состояния внутренней среды и подсоединенный к специальной, обслуживающей его сети компьютеров [35].

Большое внимание уделяется математическому моделированию процесса метаногенеза, дающему стартовые теоретические предпосылки для дальнейшей практической работы [7, 35, 37, 95–97]. Моделируются такие параметры, как рН, выработка ЛЖК, качество и количество подкормки.

Обобщая сказанное выше, можно сделать вывод, что на фоне охватившего цивилизацию энергетического кризиса исследование биогаза, наряду с изучением других возобновляемых источников энергии, является актуальным и перспективным; в настоящее время в мире (к сожалению, не в России) это направ-

ление бурно развивается и активно финансируется. Поэтому совершенно понятен интерес к нему в Республике Татарстан. Есть надежда на то, что при сотрудничестве татарстанских исследователей с группой доктора Шольвина из Лейпцига наша республика окажется на передовых позициях в России в области использования возобновляемых топливных ресурсов. Развитие технологии выработки биогаза в России – это реальная возможность избавления от пресловутой нефтяной зависимости и вхождения в мир высоких технологий. Для этого необходимо всестороннее ознакомление с мировым опытом и последовательное внедрение достижений в направлении возобновляемых источников энергии в нашей стране.

Работа выполнена при поддержке программы № 7 Президиума ОХНМ РАН.

Summary

A.Z. Mindubaev, D.E. Belostotskii, S.T. Minzanova, V.F. Mironov, F.K. Alimova, L.G. Mironova, A.I. Konovalov. The Methanogenesis: Biochemistry, Technology, Using.

At present the lack of energy resources stipulated by intensive exploitation of the deposits of nonrenewable energy resources has become an urgent problem of civilization. In this connection there is an evident necessity of switching to the use of renewable raw material, namely the living organisms' vital activity products and their biomass. This necessity stimulated the investigations devoted to the biomass processing, in particular to the obtaining of fuel biogas as a result of natural process named methanogenesis. In this work the information on methanogenesis from 98 references for 1995–2009 years is integrated. Various aspects of methanogenesis are considered (specific features and composition of the methanogenetic microflora, methabolic way and conditions of the process, gas yield and composition, application and technology of production including the perspectives of further development, as well as ecological aspects).

Key words: methanogenesis, digester, non-waste technology, methane, anaerobic microflora, greenhouse gases, waste recycling, ecology, energetics, fermentation.

Литература

1. *Yang S.S., Liu C.M., Liu Y.L.* Estimation of methane and nitrous oxide emission from animal production sector in Taiwan during 1990–2000 // *Chemosphere.* – 2003. – V. 52, No 8. – P. 1381–1388.
2. *Desjardins R.L., Kulshreshtha S.N., Junkins B., Smith W., Grant B., Boehm M.* Canadian greenhouse gas mitigation options in agriculture // *Nutr. Cycl. Agroecosys.* – 2001. – V. 60, No 1–3. – P. 317–326.
3. *Min H., Zhao Y.H., Chen M.C., Zhao Y.* Methanogens in paddy rice soil // *Nutr. Cycl. Agroecosys.* – 1997. – V. 49, No 1–3. – P. 163–169.
4. *Kaku N., Ueki A., Fujii H., Ueki K.* Methanogenic activities on rice roots and plant residues and their contributions to methanogenesis in wetland rice field soil // *Soil Biol. Biochem.* – 2000. – V. 32, No 14. – P. 2001–2010.
5. *Freeman C., Liska G., Ostle N.J., Lock M.A., Hyghes S., Reynolds B., Hudson J.* Enzymes and biogeochemical cycling in wetlands during a simulated drought // *Biochem.* – 1997. – V. 39, No 2. – P. 177–187.
6. *Conrad R.* Control of microbial methane production in wetland rice fields // *Nutr. Cycl. Agroecosys.* – 2002. – V. 64, No 1–2. – P. 59–69.

7. *Lokshina L.Ja., Vavilin V.A.* Kinetic analysis of the key stages of low temperature methanogenesis // *Ecol. Model.* – 1999. – V. 117, No 2–3. – P. 285–303.
8. *Othman M.Y.H., Yatim B., Salleh M.M.* Chicken dung biogas power generating system in Malaysia // *Renewable Energy.* – 1996. – V. 9, No 1–4. – P. 930–933.
9. *Francese A.P., Aboagye-Mathiesen G., Olesen T., Cordoba P.R., Sineriz F.* Feeding approaches for biogas production from animal wastes and industrial effluents // *World J. Microbiol. Biotechnol.* – 2000. – V. 16, No 2. – P. 147–150.
10. *Davies Z.S., Mason D., Brooks A.E., Griffith G.W., Merry R.J., Theodorou M.K.* An automated system for measuring gas production from forages inoculated with rumen fluid and its use in determining the effect of enzymes on grass silage // *Anim. Feed Sci. Technol.* – 2000. – V. 83, No 3–4. – P. 205–221.
11. *Denmead O.T., Leuning R., Griffith D.W.T., Jamie I.M., Esler M.B., Harper L.A., Freney J.R.* Verifying inventory predictions of animal methane emissions with meteorological measurements // *Bound.-Layer Meteorol.* – 2000. – V. 96, No 3–4. – P. 187–209.
12. *Van Laar H., Tamminga S., Williams B.A., Verstegen M.W.A.* Fermentation of the endosperm cell walls of monocotyledon and dicotyledon plant species by faecal microbes from pigs. The relationship between cell wall characteristics and fermentability // *Anim. Feed Sci. Technol.* – 2000. – V. 88, No 1–2. – P. 13–30.
13. *Broudiscou L.P., Papon G., Broudiscou A.F.* Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes // *Anim. Feed Sci. Technol.* – 2000. – V. 87, No 3–4. – P. 263–277.
14. *Dongowski G., Lorenz A.* Unsaturated oligogalacturonic acids are generated by in vitro treatment of pectin with human faecal flora // *Carbohydr. Res.* – 1998. – V. 314, No 3–4. – P. 237–244.
15. *Bergman I., Lundberg P., Nilsson M.* Microbial carbon mineralization in an acid surface peat: effects of environmental factors in laboratory incubations // *Soil Biol. Biochem.* – 1999. – V. 31, No 13. – P. 1867–1877.
16. *Pallasser R.J.* Recognising biodegradation in gas/oil accumulations through the $\delta^{13}\text{C}$ compositions of gas components // *Org. Geochem.* – 2000. – V. 31, No 12. – P. 1363–1373.
17. *Booker R.S., Pavlostathis S.G.* Microbial reductive dechlorination of hexachloro-1,3-butadiene in a methanogenic enrichment culture // *Water Res.* – 2000. – V. 34, No 18. – P. 4437–4445.
18. *Filidei S., Masciandaro G., Ceccanti B.* Anaerobic digestion of olive oil mill effluents: evaluation of wastewater organic load and phytotoxicity reduction // *Water, Air, Soil Pollut.* – 2003. – V. 145, No 1–4. – P. 79–94.
19. *Kim J., Park C., Kim T.H., Lee M., Kim S., Kim S.W., Lee J.* Effects of various Pretreatments for Enhanced Anaerobic Digestion with Waste Activated Sludge // *J. Biosci. Bioeng.* – 2003. – V. 95, No 3. – P. 271–275.
20. *Saiki Y., Imabayashi S., Iwabuchi C., Kitadawa Y., Okumura Y., Kawamura H.* Solubilization of excess activated sludge by self-digestion // *Water Res.* – 1999. – V. 33, No 8. – P. 1864–1870.
21. *Kawachara K., Yakabe Y., Ohide T., Kida K.* Evaluation of laboratory – made sludge for an anaerobic biodegradability test and its use for assessment of 13 chemicals // *Chemosphere.* – 1999. – V. 39, No 12. – P. 2007–2018.
22. *Broughton M.J., Ghiele J.H., Birch E.J., Cohen A.* Anaerobic batch digestion of sheep tallow // *Water Res.* – 1998. – V. 32, No 5 – P. 1423–1428.
23. *Marty D., Bonin P., Michotey V., Bianchi M.* Bacterial biogas production in coastal systems affected by freshwater inputs // *Cont. Shelf Res.* – 2001. – V. 21, No 18–19. – P. 2105–2115.

24. *Bonin P., Tamburini C., Michotey V.* Determination of the bacterial processes which are sources of nitrous oxide production in marine samples // *Water Res.* – 2002. – V. 36, No 3. – P. 722–732.
25. *McHugh S., Carton M., O'Flaherty V., Mahony T.* Methanogenic population structure in a variety of anaerobic bioreactors // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2003. – V. 219, No 2. – P. 297–304.
26. *White R.H.* Methanopterin biosynthesis: methylation of the biosynthetic intermediates // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – V. 1380, No 2. – P. 257–267.
27. *Shima S., Warkentin E., Thauer R.K., Ermler U.* Structure and Function of Enzymes Involved in the Methanogenic Pathway Utilizing Carbon Dioxide and Molecular Hydrogen // *J. Biosci. Bioeng.* – 2002. – V. 93, No 6. – P. 519–530.
28. *Ince O., Anderson G.K., Kasapgil B.* Composition of the microbial population in a membrane anaerobic reactor system during start-up // *Water Res.* – 1997. – V. 31, No 1. – P. 1–10.
29. *Ince B.K., Ince O., Oz N.A.* Changes in acetoclastic methanogenic activity and microbial composition in an upflow anaerobic filter // *Water, Air, Soil Pollut.* – 2003. – V. 144, No 1. – P. 301–315.
30. *Hochheimer A., Hedderich R., Thauer R.K.* The formylmethanofuran dehydrogenase isoenzymes in *Methanobacterium wolfei* and *Methanobacterium thermoautotrophicum*: induction of the molybdenum isoenzyme by molybdate and constitutive synthesis of the tungsten isoenzyme // *Arch. Microbiol.* – 1998. – V. 170, No 5. – P. 389–393.
31. *Pender S., Toomey M., Carton M., Eardly D., Patching J.W., Collieran E., O'Flaherty V.* Long-term effects of operating temperature and sulphate addition on the methanogenic community structure of anaerobic hybrid reactors // *Water Res.* – 2004. – V. 38, No 3. – P. 619–630.
32. *Kletzin A., Adams M.W.W.* Tungsten in biological systems // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1996. – V. 18, No 1. – P. 5–63.
33. *Hippler B., Thauer R.K.* The energy conserving methyltetrahydromethanopterin: coenzyme M methyltransferase complex from methanogenic archaea: function of the subunit Mtr H // *FEBS Lett.* – 1999. – V. 449, No 2–3. – P. 165–168.
34. *Deppenmeier U., Müller V.* Life close to the thermodynamic limit: how methanogenic archaea conserve energy // *Results Probl. Cell Differ.* – 2008. – V. 45. – P. 123–152.
35. *Holubar P., Zani L., Hager M., Fröschl W., Radak Z., Braun R.* Advanced controlling of anaerobic digestion by means of hierarchical neural networks // *Water Res.* – 2002. – V. 36, No 10. – P. 2582–2588.
36. *Nakashimada Y., Srinivasan K., Murakami M., Nishio N.* Direct conversion of cellulose to methane by anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* and defined methanogens // *Biotechnol. Lett.* – 2000. – V. 22, No 3. – P. 223–227.
37. *Von Sachs J., Meyer U., Rys P., Feitkenhauer H.* New approach to control the methanogenic reactor of a two-phase anaerobic digestion system // *Water Res.* – 2003. – V. 37, No 5. – P. 973–982.
38. *Финкельштейн М., де Брюн Р., Вебер Дж., Додсон Дж.* Остаточные углеводороды: источник добычи биогенного метана // *Нефтегазовые технологии.* – 2005. – № 12. – С. 33–38.
39. *Finkelstein M., de Bruin R.P., Weber J.L., Dodson J.B.* Buried hydrocarbons: a resource for biogenic methane generation // *World Oil.* – 2005. – V. 226, No 8. – P. 64–67.
40. *Solera R., Romero L.I., Sales D.* Analysis of the methane production in thermophilic anaerobic reactors: use of autofluorescence microscopy // *Biotechnol. Lett.* – 2001. – V. 23, No 22. – P. 1889–1892.

41. *Alkhamis T.M., El-Khazali R., Kablan M.M., Alhusein M.A.* Heating of a biogas reactor using a solar energy system with temperature control unit // *Solar Energy*. – 2000. – V. 69, No 3. – P. 239–247.
42. *Zupančič G.D., Roš M.* Heat and energy requirements in thermophilic anaerobic sludge digestion // *Renewable Energy*. – 2003. – V. 28, No 14. – P. 2255–2267.
43. *Schober G., Schäfer J., Schmid-Staiger U., Trosch W.* One and two-stage digestion of Solid organic waste // *Water Res.* – 1999. – V. 33, No 3. – P. 854–860.
44. *Sambo A.S., Garba B., Danshehu B.G.* Effect of some operating parameters on biogas production rate // *Renewable Energy*. – 1995. – V. 6, No 3. – P. 343–344.
45. *Castro H., Queirolo M., Quevedo M., Muxi L.* Preservation methods for the storage of anaerobic sludges // *Biotechnol. Lett.* – 2002. – V. 24, No 4. – P. 329–333.
46. *Ekpenyong K.I., Arawo J.D.E., Melaiye A., Ekwenchi M.M., Abdullahi H.A.* Biogas production potential of unextracted, nutrient-rich elephant-grass lignocellulose // *Fuel*. – 1995. – V. 74, No 7. – P. 1080–1082.
47. *Murnleitner E., Becker T.M., Delgado A.* State detection and control of overloads in the anaerobic wastewater treatment using fuzzy logic // *Water Res.* – 2002. – V. 36, No 1. – P. 201–211.
48. *Codina J.C., Muñoz M.A., Cazorla F.M., Perez-Garcia A., Moriñigo M.A., de Vicente A.* The inhibition of methanogenic activity from anaerobic domestic sludges as a simple toxicity bioassay // *Water Res.* – 1998. – V. 32, No 4. – P. 1338–1342.
49. *Garcia M.T., Campos E., Sanchez-Leal J., Ribosa I.* Anaerobic degradation and toxicity of commercial cationic surfactants in anaerobic screening tests // *Chemosphere*. – 2000. – V. 41, No 15. – P. 705–710.
50. *Saravanane R., Murthy D.V.S., Krishnaiah K.* Anaerobic fluidized bed degradation and the development of a kinetic model for a particulate organic matter enriched wastewater sludge // *Water, Air, Soil Pollut.* – 2001. – V. 127, No 1–4. – P. 15–30.
51. *Lissens G., Verstraete W., Albrecht T., Brunner G., Creuly C., Seon J., Dussap G., Lasseur C.* Advanced anaerobic bioconversion of lignocellulosic waste for bioregenerative life support following thermal water treatment and biodegradation by *Fibrobacter succinogenes* // *Biodegradation*. – 2004. – V. 15, No 3. – P. 173–183.
52. *Tiehm A., Nickel K., Zellhorn M., Neis U.* Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization // *Water Res.* – 2001. – V. 35, No 8. – P. 2003–2009.
53. *Dangoggo S.M., Aliyu M., Atiku A.T.* The effect of seeding with bacteria on biogas production rate // *Renewable Energy*. – 1996. – V. 9, No 1–4. – P. 1045–1048.
54. *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.
55. *Kumar S., Puniya A.K., Puniya M., Dagar S.S., Sirohi S.K., Singh K., Griffith G.W.* Factors affecting rumen methanogens and methane mitigation strategies // *World J. Microb. Biotechnol.* – 2009. – V. 25, No 9. – P. 1557–1566.
56. *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.
57. *Huang J., Crookes R.J.* Assessment of simulated biogas as a fuel for the spark ignition engine // *Fuel*. – 1998. – V. 77, No 15. – P. 1793–1801.
58. *Bari S.* Effect of carbon dioxide on the performance of biogas/diesel dual-fuel engine // *Renewable Energy*. – 1996. – V. 9, No 1–4. – P. 1045–1048.

59. Lietti L., Groppi G., Ramella C. NH₃ oxidation during the catalytic combustion of biomass-related fuels over Mn-substituted hexaaluminates // *Catalysis Lett.* – 1998. – V. 53, No 1–2. – P. 91–95.
60. Kovacs K.L., Bagyinka Cs., Bodrossy L., Csaki R., Fodor B., Gyorfı K., Hanczar T., Kalman M., Osz J., Perei K., Polyak B., Rakhely G., Takacs M., Toth A., Tusz J. Recent advances in biohydrogen research // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* – 2000. – V. 439, No 7. – P. 81–83.
61. Wojcik A., Middleton H., Damopoulos I., van Herle J. Ammonia as a fuel in solid oxide fuel cells // *J. Power Sour.* – 2003. – V. 118, No 1–2. – P. 342–348.
62. Han S.H., Zhuang Y.H., Zhang H.X., Wang Z.J., Yang J.Z. Phosphine and methane generation by the addition of organic compounds containing carbon-phosphorus bonds into incubated Soil // *Chemosphere.* – 2002. – V. 49, No 6. – P. 651–657.
63. Jenkins R.O., Morris T.-A., Craig P.J., Ritchie A.W., Ostah N. Phosphine generation by mixed- and monoseptic-cultures of anaerobic bacteria // *Sci. Total Environ.* – 2000. – V. 250, No 1–3. – P. 73–81.
64. Feldmann J., Koch I., Cullen W.R. Complementary use of capillary gas chromatography-mass spectrometry (ion trap) and gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry for the speciation of volatile antimony, tin and bismuth compounds in landfill and fermentation gases // *Analyst.* – 1998. – V. 123, No 5. – P. 815–820.
65. Chan Y.S.G., Chu L.M., Wong M.H. Codisposal of municipal refuse, sewage sludge and marine dredgings for methane production // *Environ. Pollut.* – 1999. – V. 106, No 1. – P. 123–128.
66. Weiland P. Anaerobic waste digestion in Germany – Status and recent developments // *Biodegradation.* – 2000. – V. 11, No 6. – P. 415–421.
67. Machnow J., Schleifer J. Nutzung von Deponie-Schwachgasen im Klärwerk // Artikel aus der Zeitschrift: KA ABWASSER ABFALL. – 2006. – Bd. 53, H. 1. – S. 48–50.
68. Kosaric N., Velikonja J. Liquid and gaseous fuels from biotechnology: challenge and opportunities // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1995. – V. 16, No 2–3. – P. 111–142.
69. Naumann S.T., Myren C. Fuel processing of biogas for small fuel cell power plants // *J. Power Sour.* – 1995. – V. 56, No 1. – P. 45–49.
70. Staniforth J., Kendall K. Biogas powering a small tubular solid oxide fuel cell // *J. Power Sour.* – 1998. – V. 71, No 1–2. – P. 275–277.
71. Purohit P., Kumar A., Rana S., Kandpal T.C. Using renewable energy technologies for domestic cooking in India: a methodology for potential estimation // *Renewable Energy.* – 2002. – V. 26, No 2. – P. 235–246.
72. Vijay V.K., Prasad R., Singh J.P., Sorajan V.P.S. A case for biogas energy application for rural industries in India // *Renewable Energy.* – 1996. – V. 9, No 1–4. – P. 993–996.
73. Martin D.J. Accelerated biogas production without leachate recycle // *Renewable Energy.* – 2001. – V. 24, No 3. – P. 535–538.
74. Zakkour P.D., Gaterell M.R., Griffin P., Gochin R.J., Lester J.N. Anaerobic treatment of domestic wastewater in temperate climates: treatment plant modelling with economic considerations // *Water Res.* – 2001. – V. 35, No 17. – P. 4137–4149.
75. Hedegaard M., Jaensch V. Anaerobic codigestion of Urban and Rural Wastes // *Renewable Energy.* – 1999. – V. 16, No 1–4. – P. 1064–1069.
76. Шекель А.И., Петухов И.С. Определение объемов образования биогаза на полигонах твердых бытовых отходов // 4-й Междунар. конгресс по управлению отходами (Вэйст Тэк – 2005), Москва, 31 мая – 3 июня 2005 г.: Материалы конгресса. – М.: СИБИКО Инт., 2005. – С. 252.

77. Чумаков А.Н., Дегтярев В.В. О необходимости создания индустрии переработки отходов // 4-й Междунар. конгресс по управлению отходами (Вэйст Тэк – 2005), Москва, 31 мая – 3 июня 2005 г.: Материалы конгресса. – М.: СИБИКО Инт., 2005. – С. 113–114.
78. Докль А. 3А-биогаз: трёхстадийная ферментация твердофазных биоотходов в производстве и очистке биогаза // 4-й Междунар. конгресс по управлению отходами (Вэйст Тэк – 2005), Москва, 31 мая – 3 июня 2005 г.: Материалы конгресса. – М.: СИБИКО Инт., 2005. – С. 273–274.
79. Панцхава Е.С., Пожарнов В.А. Органические отходы и локальная энергетика // 4-й Междунар. конгресс по управлению отходами (Вэйст Тэк – 2005), Москва, 31 мая – 3 июня 2005 г.: Материалы конгресса. – М.: СИБИКО Инт., 2005. – С. 289–290.
80. Вайсер Т., Шмидт Х., Риттер М., Чеботарева М. Биогаз из сточных вод молокозаводов // Перераб. молока. – 2005. – № 2. – С. 30–31.
81. Перфилов Е.В. Моделирование при исследовании процессов биогазообразования на полигонах твердых бытовых отходов // Вестн. Волгоград. гос. архит.-строит. ун-та. Сер. Тех. науки. – 2004. – № 4. – С. 68–71.
82. Ganidi N., Tyrrel S., Cartmell E. Anaerobic digestion foaming causes – a review // Bioresour. Technol. – 2009. – V. 100, No 23. – P. 5546–5554.
83. Kumar R., Gupta M.K., Kanwar S.S. Fate of bacterial pathogens in cattle dung slurry subjected to anaerobic digestion // World J. Microbiol. Biotechnol. – 1999. – V. 15, No 3. – P. 335–338.
84. Koike S., Kobayashi Y. Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flavefaciens* // FEMS Microbiol. Lett. – 2001. – V. 204, No 2. – P. 361–366.
85. Matsui H., Ushida K., Miyazaki K., Kojima Y. Use of ratio of digested xylan to digested cellulose (X/C) as an index of fiber digestion in plant cell-wall material by ruminal microorganisms // Anim. Feed Sci. Technol. – 1998. – V. 71, No 3–4. – P. 207–215.
86. Matheron C., Delort A.-M., Gaudet G., Forano E. Re-investigation of glucose metabolism in *Fibrobacter succinogenes*, using NMR spectroscopy and enzymatic assays. Evidence for pentose phosphates phosphoketolase and pyruvate formate lyase activities // Biochim. Biophys. Acta. – 1997. – V. 1355, No 1. – P. 50–60.
87. Bibollet X., Bosc N., Matulova M., Delort A.-M., Gaudet G., Forano E. ¹³C and ¹H NMR study of cellulose metabolism by *Fibrobacter succinogenes* S85 // J. Biotechnol. – 2000. – V. 77, No 1. – P. 37–47.
88. Anderson P.J., Entsch B., McKay D.B. A gene, cobA1+hemD, from *Selenomonas ruminantium* encodes a bifunctional enzyme involved in the synthesis of vitamin B₁₂ // Gene. – 2001. – V. 281, No 1–2. – P. 63–70.
89. Iwamoto M., Asanuma N., Hino T. Effects of Energy Substrates on Nitrate Reduction and Nitrate Reductase Activity in a Ruminant Bacterium, *Selenomonas ruminantium* // Anaerobe. – 2001. – V. 7, No 6. – P. 315–321.
90. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. – М.: Мир, 1987. – 411 с.
91. Agler M.T., Garcia M.L., Lee E.S., Schlicher M., Angenent L.T. Thermophilic Anaerobic Digestion to Increase the Net Energy Balance of Corn Grain Ethanol // Environ. Sci. Technol. – 2008. – V. 42, No 17. – P. 6723–6729.
92. Bauer A., Bösch P., Friedl A., Amon T. Analysis of methane potentials of steam-exploded wheat straw and estimation of energy yields of combined ethanol and methane production // J. Biotechnol. – 2009. – V. 142, No 1. – P. 50–55.
93. Bucksch S., Egebäck K.-E. The Swedish program for investigations concerning biofuels // Sci. Total Environ. – 1999. – V. 235, No 1. – P. 293–303.

94. *Reinhold G., Merrath S., Lennemann F., Märkl H.* Modelling the hydrodynamics and the liquid-mixing behaviour of a biogas tower reactor // *Chem. Engin. Sci.* – 1996. – V. 51, No 17. – P. 4065–4073.
95. *Martin D.J.* A novel mathematical model of solid-state digestion // *Biotechnol. Lett.* – 2000. – V. 22, No 1. – P. 91–94.
96. *Krastanov M.I., Dimitrova N.S.* Stabilizing feedback of a nonlinear process involving uncertain data // *Bioprocess Biosyst. Eng.* – 2003. – V. 25, No 4. – P. 217–220.
97. *He R., Shen D., Xu H., Zhu Y.* Nongye gongcheng xuebao // *Trans. Chin. Soc. Agr. Eng.* – 2006. – V. 22, No 1. – P. 134–137.

Поступила в редакцию
25.02.09

Миндубаев Антон Зуфарович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, г. Казань.

E-mail: mindubaev@iopc.ru

Белостоцкий Дмитрий Евгеньевич – аспирант Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, г. Казань.

Минзанова Салима Тахиятулловна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, г. Казань.

E-mail: minzanova@iopc.ru

Миронов Владимир Федорович – профессор, доктор химических наук, заведующий лабораторией Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, г. Казань.

E-mail: miroнов@iopc.ru

Алимова Фарида Кашифовна – профессор, доктор биологических наук, заведующий кафедрой биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: farida_alimova@hotmail.com

Миронова Любовь Геннадьевна – инженер-исследователь Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, г. Казань.

Коновалов Александр Иванович – академик РАН, доктор химических наук, заведующий отделом Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, г. Казань.

E-mail: konovalov@knc.ru