

УДК 573.6:579.222:579.262:579.63 579.85

## ПОЛУЧЕНИЕ БИОГАЗА ИЗ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ СУБСТРАТОВ (ОБЗОР)

© 2012 г. Е. А. Цавкелова, А. И. Нетрусов

Биологический факультет Московского государственного университета им М.В. Ломоносова, Москва, 119992  
e-mail: tsavkelova@mail.ru

Поступила в редакцию 20.12.2011 г.

Анаэробная микробная трансформация органических субстратов, приводящая к получению различных видов биотоплива, в настоящее время занимает одно из ведущих мест среди исследований, посвященных поиску и использованию альтернативных источников энергии. Получение биогаза имеет ряд преимуществ перед другими технологиями, так как метаногенные сообщества способны потреблять различные виды органических субстратов, а сам процесс трансформации приводит к утилизации отходов, сокращению эмиссии парниковых газов и получению высококачественных удобрений. Целлюлозосодержащие материалы являются одними из наиболее перспективных субстратов, однако для их полноценного использования существует ряд нерешенных вопросов, касающихся полноты их утилизации, улучшения качества и объема продукции биогаза, а также сохранения стабильности и повышения функциональной активности микробных сообществ. В обзоре представлена информация о микроорганизмах, входящих в состав целлюлозоразрушающих метаногенных сообществ, ферментных комплексах, необходимых анаэробам для гидролиза волокон целлюлозы, о способах предобработки сырья, доступность для биоразложения которого значительно снижается в присутствии лигнина. На примерах образования биогаза из различного типа растительной и бумажной продукции (офисная бумага, картон) рассмотрены способы повышения продуктивности используемых микроорганизмов при оптимизации условий их культивирования.

Сокращение запасов традиционных видов топлива (нефть, каменный уголь, природный газ, горючие сланцы и древесина), способы их добычи, транспортировки и использования, приводящие к глобальным нарушениям в экосистеме и неуклонно ухудшающейся экологии, определили современные тенденции в разработке биотехнологических процессов получения и использования альтернативных возобновляемых источников энергии [1–6]. При этом возобновляемая энергия в настоящее время уже составляет около 14% от потребляемой в мире [7]. Помимо таких природных ресурсов, как солнечный свет, ветер, дождь, приливы-отливы и геотрёмальные источники, значительную роль среди альтернативных источников энергии может играть биоэнергетика, что подразумевает использование топлива, полученного на основе микробиологической трансформации ряда органических субстратов биологического происхождения: специально выращиваемые растения, продукция и отходы лесопользования и лесопереработки, отходы сельского хозяйства и животноводства, различных виды органических бытовых и промышленных отходов [3, 6–10, 11]. Преимущество технологий, основанных на природных процессах и механизмах конверсии органических веществ с помощью ферментов или микробных культур, заключается в том, что отходы и побочные продукты процессов также могут

служить дополнительными источниками сырья, что позволяет создать полностью безотходные технологии [3]. Одним из самых энергетически эффективных способов производства биотоплива является получение биогаза (биометан) посредством анаэробной микробной переработки органических субстратов различного происхождения. Биогаз состоит, в основном, из метана (55–75% CH<sub>4</sub>) и двуокиси углерода (25–45% CO<sub>2</sub>) со следовыми количествами азота, водорода, сероводорода, кислорода. Кроме того, в зависимости от используемого сырья, среди продуктов обнаруживается незначительное количество аммиака, алканов, ароматических и галогено-ароматических углеводородов, окисленных соединений, например диоксида серы [12–18]. Биогаз относится к экологически чистым видам топлива, хотя его сжигание с загрязняющими примесями может сопровождаться токсичными выбросами. В природе метанотрофные микроорганизмы – представители родов *Methylosinus*, *Methylocystis*, а также неметанотрофные *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Janthinobacterium* и *Rubrivivax*, зачастую развивающиеся совместно с метаногенами, способны к соокислению бензола, толуола, ксилола и нафталина без накопления токсичных продуктов [19]. Было показано, что разложение толуола может осуществляться метаногенным сообществом, в котором доминировали *Methanosaeta*, *Methano-*

*spirillum*, *Desulfotomaculum* и неизвестные ранее бактериальные штаммы [20].

Биогаз с содержанием метана не менее 60% чаще всего сжигают, а образующееся тепло используют для обогрева помещений и различных технологических целей, однако для получения чистого топлива, идентичного по составу природному газу, необходима его дополнительная очистка. При разделении исходной газовой смеси на специализированных газоочистительных установках и мембранных модулях концентрация метана повышается до 95% и выше, в результате чего биометан может быть использован для получения электроэнергии, а также в двигателях внутреннего сгорания [17, 21, 22]. В зависимости от содержания метана теплотворная способность биогаза составляет 4700–6000 ккал/м<sup>3</sup> [23, 24]. Биогаз имеет ряд преимуществ перед другими видами альтернативного топлива. Биометан образует значительно меньше вредных выхлопов, чем бензин или дизель [17]. Энергия, заключенная в метане примерно в 3 раза больше, чем у водородного топлива, а условия хранения и транспортировки метана также более эффективны [25]. Кроме того, при образовании биогаза из биомассы нет необходимости в специальном выращивании сельскохозяйственных растений, как это делается при получении биодизеля и биоэтанола [22].

В основном, биогаз получают при разложении органических отходов животноводства (преимущественно навоз крупного рогатого скота, **КРС**), пищевой и сельскохозяйственной промышленности, очистке сточных вод, когда на конечном этапе происходит образование биогаза в метантенках. Несмотря на то что анаэробная очистка сточных вод издавна и широко используется, применение этой технологии в промышленных масштабах при обработке твердых органических отходов без их захоронения на свалках менее успешно [17]. В ряде стран значительное количество биогаза получают при переработке так называемых “энергетических” растений, выращиваемых исключительно с целью дальнейшей переработки в биотопливо [7, 26].

Получение биогаза из органического сырья на сегодняшний день широко востребовано во всем мире. Помимо производства высокоэффективной энергии и уменьшения загрязнения атмосферы парниковыми газами, оставшаяся после процесса анаэробного разложения масса представляет собой высококачественное биоудобрение, содержащее азотные и фосфорные соединения; кроме того, при высоких температурах уничтожаются патогенные микроорганизмы (например, *E. coli*, *Salmonella* spp.) и паразиты (яйца гельминтов) [17, 27–30]. Примечательно, что ферментеры для получения биогаза можно использовать не только в промышленных масштабах (метантен-

ки), где условиями их функционирования являются высокая скорость и объемы полученного биометана, а также низкая себестоимость процесса, но и локально для энергообеспечения животноводческих и аграрных комплексов, жилых домов. Например, к концу 2008 г. только в одной Германии функционировало около 4000 сельскохозяйственных установок по получению биогаза [6].

Однако, несмотря на то что реализация метановой энергетики приобретает все больший интерес и важность, потенциал таких производств не используется достаточно широко [31]. Для полноценного и повсеместного применения технологий производства биогаза остаются нерешенными многие вопросы, касающиеся полноты утилизации субстратов, повышения качества и объема продукции биогаза, очистки биогаза от примесей, а также сохранения стабильности и функциональной активности микробных сообществ [17, 32]. Использование имеющихся на настоящий момент инженерных конструкций промышленного масштаба распространяется на крайне небольшой набор субстратов, а по мнению некоторых исследователей [31, 32] технологическая сторона получения биогаза в современном виде вообще представлена чисто эмпирически. В редких случаях эффективность процесса соответствует его оптимальным значениям. Кроме того, не существует математических моделей, способных описать все процессы и учесть все факторы, происходящие при микробной трансформации органического вещества в биогаз.

## МЕТАНОГЕННЫЕ СООБЩЕСТВА

Основной особенностью анаэробного разложения органических субстратов, в том числе и целлюлозы, является сложная структура участвующих в таких превращениях микробных сообществ, составляющих своеобразную “пищевую цепь” [25]. Микробные популяции, преобразующие целлюлозу в биогаз, таксономически разнообразны, но различаются, например, в психрофильных, мезофильных и термофильных условиях, осуществляя сходные типовые реакции [33–35]. Состав и стабильность микробного сообщества, следовательно, и эффективность всего процесса образования биогаза, зависят от состава питательной среды, условий культивирования (температура, pH), состава и структуры органического субстрата, скорости загрузки органического вещества в ферментер, времени удержания твердого вещества и ряда других факторов [36–39].

Микробное сообщество может включать в себя до 60 различных видов бактерий и архей, развивающихся в анаэробных условиях [40]. Взаимодействие этих микроорганизмов обусловлено их тро-

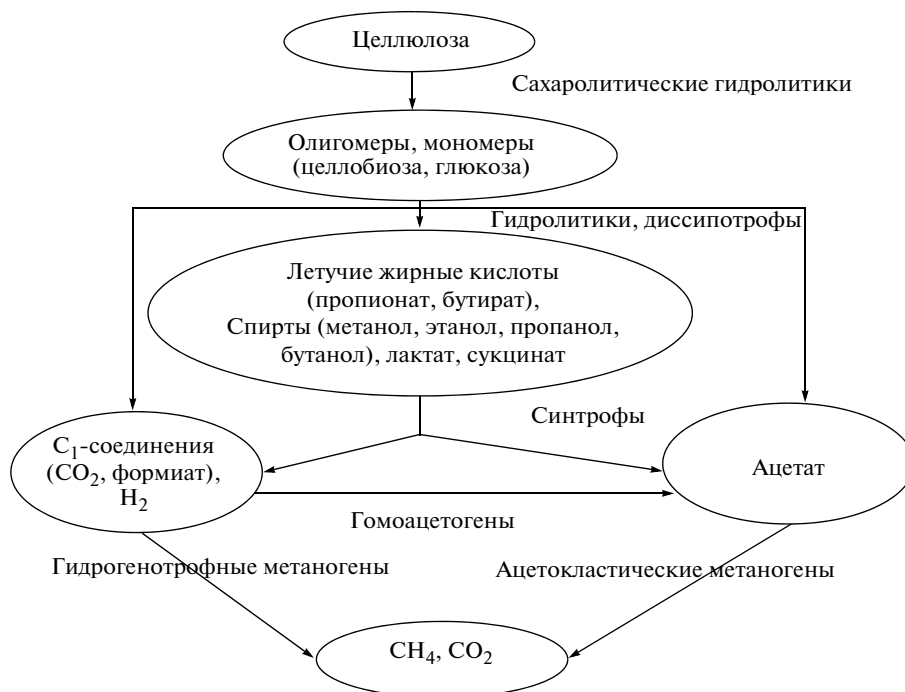
фической взаимосвязью, обменом факторами роста, воздействием физиологически активных веществ [41, 42]. Тесные взаимоотношения внутри микробного сообщества базируются, прежде всего, на пищевых потребностях, складывающихся внутри цепи, когда продукты одних процессов становятся субстратами для других без значительного накопления промежуточных соединений. Метанообразующие микроорганизмы (метаногены) — это строгие анаэробы, представляющие доминирующую группу архей (Archaea) из филума Euryarchaeota, включенных в пять порядков Methanobacteriales, Methanococcales, Methanosarcinales, Methanomicrobiales и Methanopyrales [43–46]. Эта классификация принята на основе анализа си-квенсов генов 16S рРНК и большого числа морфологических и физиолого-биохимических свойств. Однако также используются и альтернативные классификации и номенклатуры (сужение до 2–3 классов/групп), основанные на различного рода филогенетических исследованиях [46–48]. Метаногены чрезвычайно разнообразны, что обусловлено различием их морфологии (от простых палочек, кокков и сарцин до спиральных форм и нерегулярных коккоидов), структурой клеточных стенок, их метаболическими и физиологическими свойствами [49]. В качестве источников углерода многие из них могут использовать такие одноуглеродные соединения, как метанол, формиат и метилированные амины. Метанол, например, играет важную роль в качестве субстрата метаногенеза, когда он образуется при гидролизе пектина, широко представленного в целлюлозосодержащих субстратах [50, 51]. При этом последние исследования выявляют все больше количество ранее неидентифицированных штаммов и филогенетических групп метаногенов [46].

Метаногены повсеместно распространены и занимают различные анаэробные экониши: морские и пресноводные донные осадки, затопляемые почвы, желудочно-кишечный тракт человека и животных, геотермальные системы, а также разного рода свалки органических отходов и анаэробные системы с использованием ферментеров [46]. Одной из особенностей этих микроорганизмов является присутствие необходимых для метаногенеза уникальных ферментных комплексов и необычных коферментов. Метаногенез является заключительной стадией при разложении органического вещества в анаэробных условиях, которой предшествуют другие метаболические процессы, такие, как, например, гидролиз органического сырья, сбраживание сахаров и аминокислот, анаэробное окисление и образование уксусной кислоты — ацетогенез [42, 52]. По некоторым данным, в глобальном цикле углерода благодаря микроорганизмам образуется около 1 млрд т метана/г [53]. Причем метан, образующийся в биосфере, происходит из двух источни-

ков: две трети поступает при ацетокластическом метаногенезе (восстановление метильной группы ацетата) и одна треть — при восстановлении  $\text{CO}_2$ ; в качестве доноров для его восстановления выступают водород или формиат [25]. Меньшее, но не менее значимое количество метана образуется при восстановлении метильной группы метанола, метиламинов и диметилсульфида. Необходимо учитывать, что метан является парниковым газом и поглощает тепловые лучи примерно в 25 раз активнее, чем  $\text{CO}_2$  [17, 45, 54].

Деградация органических веществ осуществляется как многоступенчатый процесс, в котором необходимо участие, по меньшей мере, трех-четырёх групп микроорганизмов (рис. 1): первичные анаэробы (гидролитики и диссипотрофы), синтрофы, ацетогены и метаногены [11, 25]. Изначально первичные анаэробы-бройдильщики используют легкодоступные углеводы и белки, поступающие с отмершими частями растений и животных. Гидролитики, начинающие разложение биомассы, представлены группами бактерий, специализирующимися на различных типах полимеров (полисахариды, белки, липиды, нуклеиновые кислоты и др.). Среди анаэробных микроорганизмов, гидролизующих, например, целлюлозу, часто в микробных сообществах встречаются бактерии рода *Clostridium*, а также виды следующих родов: *Acetivibrio*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Fibrobacter*, *Cellobacterium* [55–59]. Крахмал подвергается биодеградации благодаря участию, в частности, *Ruminobacter*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Clostridium*, *Succinimonas*, *Butirivibrio*, *Streptococcus*, *Thermoanaerobacterium* [60–64], ксилан и пектин — *Bacteroides*, *Butirivibrio*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Lachnospira* [65–68], а белки и аминокислоты — *Bacteroides*, *Clostridium*, *Acidaminococcus*, *Peptostreptococcus*, *Selenomonas*, *Syntrophomonas*, *Fusobacterium* и др. [69–74]. Это далеко не полный список микроорганизмов, разлагающих полимерные соединения, а представители одного и того же рода зачастую способны к расщеплению различных по своей природе высокомолекулярных веществ.

Образовавшиеся после биодеградации полимеры олиго- и мономеры (сахара, аминокислоты, пурины, пиримидины, жирные кислоты, глицерол) затем разлагаются первичными анаэробами (гидролитики и диссипотрофы) с образованием органических спиртов (метанол, этанол, пропанол, бутанол), ароматических соединений, органических кислот (ацетат, пропионат, бутират, сукцинат, лактат, пируват), а также водорода, углекислого газа и других одноуглеродных соединений [42, 52]. При разложении целлюлозы после действия гидролитиков и бройдильщиков среди основных продуктов также обнаруживают-



**Рис. 1.** Разложение целлюлозы с образованием метана в анаэробном микробном сообществе (с изменениями по [52, 154]). В условиях высокой температуры, низких концентраций ацетата и высоких концентраций ЛЖК и аммония, ацетокластический метаногенез неактивен; происходит окисление ацетата с образованием C1-соединений и водорода, которые преобразуются в метан с помощью гидрогенотрофных метаногенов [52, 150].

ся летучие жирные кислоты (ЛЖК), спирты, водород и углекислый газ.

Метаногенное сообщество – это типичный пример синтрофных взаимодействий, когда для нормального и стабильного функционирования анаэробной пищевой цепи необходим межвидовой перенос водорода от одного микроорганизма к другому [11]. Подробно синтрофные отношения в метаногенном сообществе описаны в обзорах Шинка [52] и Зибера с соавт. [75]. Синтрофию определяют, как вид симбиотической кооперации между двумя разными по метаболизму типами бактерий, которые нуждаются друг в друге для разложения определенного субстрата и, более того, такую взаимную зависимость невозможно преодолеть простым добавлением ко-субстрата или иным другим питательным соединением [52, 75].

Вторичные анаэробы (синтрофы) осуществляют окислительно-восстановительные реакции с участием внешних неорганических акцепторов электронов и также превращают спирты, пропионат и другие короткоцепочечные ЛЖК, некоторые аминокислоты и ароматические соединения в ацетат,  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ , из которых, в свою очередь, в результате ацетокластического или гидрогенотрофного метаногенеза формируется метан [75]. Отличительной чертой синтрофов является их возможность осуществлять метаболические реакции при изменениях свободной энергии, очень

близких к минимальному приросту энергии, необходимой для синтеза АТФ, а также обязательность осуществления обратного транспорта электронов. При этом синтрофные микроорганизмы, такие, например, как *Syntrophomonas* и *Syntrophobacter*, могут развиваться только при условии удаления молекулярного водорода из среды гидрогенотрофными метаногенами, ацетогенами, а также сульфат- и сероредукторами. Однако гидрогенотрофные метаногены – единственные участники системы, способные эффективно удалять водород для восстановления  $\text{CO}_2$  в метан. Синтрофный метаболизм, основанный на переносе водорода, показан, в частности, для *Syntrophotulus glycolicus* и *Syntrophococcus sucromutans* [75]. В метаногенном сообществе, помимо водорода, внешним переносчиком электрона также выступает формиат [43, 76]. Например, синтрофное потребление пропианата *Syntrophobacter fumaroxidans* и бутирата *Syntrophomonas bryantii* происходило только при участии метаногена, который одинаково использовал и водород, и формиат, но не с метаногеном, который потреблял исключительно водород [75]. Недавно была показана возможность прямого электронного переноса между партнерами с помощью электропроводящих пилей или нанопроводов [75, 77].

Среди синтрофных микроорганизмов известны такие, как *Thermacetogenium phaeum*, которые

образуют ацетат при росте в чистой культуре и начинают окислять его при совместном росте с метаногенами [78]. Другими соединениями, подвергающимися деградации в процессе синтрофных взаимодействий, являются пропионат, бутират и бензоат, а среди синтрофов в этом отношении известны представители родов *Syntrophobacter*, *Desulfotomaculum*, *Pelotomaculum* и *Smithella* (метаболизм пропионата), *Syntrophomonas*, *Thermosyntrophia* и *Syntrophothermus* (метаболизм бутирата), *Syntrophus*, *Sporotomaculum*, *Pelotomaculum*, а также *Thauera* (метаболизм бензоата) [75]. В любом случае внеклеточный перенос электронов в анаэробном микробном сообществе необходим для полного разложения органического вещества. Метаногены и синтрофы являются ключевыми игроками, поскольку поддерживают концентрации водорода, формиата и (или) ацетата на термодинамически выгодном для броуидильщиков и ацетогенов уровне, что и позволяет сообществу микроорганизмов целиком перерабатывать исходный субстрат [25].

Микробное сообщество потребляет крайне широкий круг органических субстратов: поли- и моносахариды, белки, аминокислоты, органические кислоты и спирты, ароматические соединения и другие вещества [12, 79]. По данным З. Дэвиса [80], из одной молекулы глюкозы, например, получается следующее количество конечных продуктов:

$$1.0 \text{ г } C_6H_{12}O_6 \rightarrow 0.25 \text{ г } CH_4 + 0.69 \text{ г } CO_2 + 0.06 \text{ г клеточной массы} + 632 \text{ кДж энергии,}$$

или из 1 моля глюкозы можно получить 2.8 моля  $CH_4$  и 2.6 моля  $CO_2$ .

В свою очередь, метаногены являются “узкими специалистами”, так как могут использовать лишь ограниченный набор субстратов, образующихся за счет активности других членов микробного сообщества. Так, основными субстратами метаногенеза являются углекислый газ и водород (гидрогенотрофный метаногенез), ацетат (ацетокластический метаногенез), формиат, метанол и метиламины. Наиболее энергетически выгодным процессом является реакция образования метана и воды:

$$4H_2 + CO_2 \text{ с выходом свободной энергии } -135.6 \text{ кДж/моль [81, 82].}$$

Гомоацетогенные бактерии, в случае если метаногенез подавлен, синтезируют из водорода и углекислого газа ацетат, который, в свою очередь, также затем может быть использован ацетокластическими метаногенами для образования метана [52]. Представители родов *Methanosarcina* и *Methanosaeta* (*Methanothrix*) способны активно потреблять ацетат [83]. Род *Methanosarcina* включает в себя виды, способные также расти на  $H_2/CO_2$ , метаноле, метиламинах и ацетате, в то

время как представители *Methanosaeta* могут использовать лишь ацетат в качестве источника энергии. Известно, что при высоких концентрациях ацетата в сообществе преобладают представители *Methanosarcina* [84]. Так, *M. barkeri* играет главную роль в быстром увеличении содержания метана, потребляя накопленный ацетат, а *Methanosaeta* доминирует в случае длительного периода сброса, когда уровень ацетата становится ниже 100 мг/л.

Изменения в значениях pH могут быть критическими для функционирования метаногенного сообщества. Оптимальными для развития метаногенов являются нейтральные pH, а pH ниже 5.0 подавляют их активность. В то же время Ким с соавт. [85] показали, что при культивировании мезофильного метаногенного сообщества в полупрерывном режиме ферментера с глюкозой в качестве субстрата и временем гидравлического удержания в течение 9 сут низкий pH (4.5) не оказывал ингибирующего влияния на процесс гидрогенотрофного метаногенеза. Однако другие авторы [86] считают, что внутри ферментера существуют ниши с нейтральным pH – своеобразные центры инициирования метаногенеза. Наличие различий в значениях pH, влажности и концентрации ЛЖК способствуют проявлению микробной активности при низких pH. При отсутствии таких ниш начало метаногенеза может быть связано с проявлением активности толерантной к низким pH *M. barkeri*. Как только pH достигает нейтральных значений, активность метаногенеза сообщества увеличивается в несколько раз.

## ВОЗОБНОВЛЯЕМЫЕ СУБСТРАТЫ МЕТАНОГЕНЕЗА

Для получения биогаза могут быть использованы различные виды органических субстратов, однако основным сырьем для его производства на промышленно-коммерческих предприятиях остаются навоз сельскохозяйственных животных и помет птиц, а также органическая часть бытовых и промышленных отходов в виде сточных вод [11, 17]. Проводятся исследования по получению биогаза из таких труднообрабатываемых субстратов, как торф и уголь [25, 87]. Показано, что намного выгоднее как с экономической, так и с экологической точек зрения сбрасывать не “чистые” отходы, а дополнять их ко-субстратами, например, из “энергетических” растений, к которым относят специально выращиваемые травянистые культуры (сахарный тростник, кукуруза, просо, подсолнечник, мискантус, рапс и некоторые другие), а также древесный подрост [7, 26, 32]. Растительные отходы, получаемые при лесопереработке, ведении сельского хозяйства и животноводства также могут значительно повысить выход

биогаза, кроме того, они не требуют затрат на их выращивание, сбор и обработку, как в случае с “энергетическими” растениями [7]. Так, по данным Василова [88], выход биогаза при использовании травы, картофельной ботвы, кукурузных стеблей, шелухи подсолнечника и пшеничной соломы составляет 630, 420, 420, 300, 340 л  $\text{CH}_4$ /кг соответственно, в то время как при сбраживании, например, только навоза КРС образуется 250 л/кг. По другим данным [26], выход биогаза при использовании различных субстратов составляет при сбраживании навоза КРС, свиней и содержащего загонов для животных – 25, 30 и 60 л биогаза/кг влажной биомассы соответственно, в то время как при сбраживании свекловичных листьев, кормовой свеклы, суданской травы (*Sorghum vulgare*), травяного и кукурузного силосов и остатков зерна образуется 60, 90, 130, 160, 230 и 550 л биогаза/кг влажной биомассы соответственно. В Германии кукурузный и травяной силос наиболее часто используют в качестве ко-субстратов в ферментерах [26].

Биомассу фототрофных микроорганизмов также рассматривают, как перспективный субстрат для получения биогаза, так как они характеризуются высокими скоростями роста, лучшим по сравнению с наземными растениями усвоением солнечной энергии, большим содержанием запасных веществ и включений, которые повышают их энергетический потенциал [89]. Кроме того, их культивирование относительно недорого. Среди наиболее изученных в этом плане микроорганизмов – представители цианобактерий и микроводорослей [21, 90, 91]. Так, при анаэробном разложении фототрофной биомассы было получено 500, 450, 300 и 350 мл биогаза/г биомассы *Spirulina platensis*, *Anabaena variabilis*, *Chlorella* sp. [21] и *Spirulina maxima* [90] соответственно. Продуктивность разложения биомассы водорослей сравнима с предыдущими показателями и составляет 500 мл/г [91].

Основным полисахаридным компонентом высших растений является целлюлоза, содержание которой может составлять около 35–50% от сухой массы растительных волокон [57, 92]. Вторым по содержанию растительным полисахаридом является гемицеллюлоза, которая составляет 25–35% от лигноцеллюлозной биомассы и представлена, в основном, замещенными ксиланами (преобладают в твердой древесине), глюканами, маннанами, арабинанами или галактанами (содержание глюкоманнанов повышено в мягкой древесине) [92–94]. В состав клеточной стенки растений входят также и другие биополимеры – пектины (полисахариды, содержащие, в основном, остатки галактоуроновой кислоты), полифенолы (лигнины, составляющие от 5 до 30% от сухой массы растений, а также танины) и, в

меньшей степени, структурные белки, крахмал [57]. Считается, что в настоящее время используется лишь 2% биомассы клеточных стенок растений [94]. При высоком содержании лигнина (древесина, солома, отруби) любая обработка растительного сырья становится затруднительной и зачастую необходимо проводить предварительный гидролиз сырья [95].

## АНАЭРОБНОЕ РАСЩЕПЛЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Способностью к анаэробному разложению целлюлозы обладают различные физиологические группы микроорганизмов. Наиболее полные сведения об этом представлены в обзорах [57, 93, 97]. Поскольку волокна целлюлозы плотно связаны с другими полимерами, такими, как гемицеллюлоза и лигнин – это делает целлюлозосодержащие материалы крайне устойчивыми к разрушению. Гидролиз целлюлозы бактериями обычно осуществляется медленно, однако микробный консорциум рубца жвачных способен гидролизовать 60–65% целлюлозы за 48 ч [96]. Способность к разложению целлюлозы обнаружена у аэробов – представителей родов *Acidothermus*, *Bacillus*, *Caldibacillus*, *Cellulomonas*, *Cellvibrio*, *Cytophaga*, *Dyella*, *Erwinia*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*, *Pseudoxanthomonas*, *Sporocytophaga*, *Rhodothermus*, *Streptomyces*, *Thermobifida* [57, 92, 98–104]. Среди анаэробных микроорганизмов целлюлозолитики обнаружены у представителей родов *Acetivibrio*, *Anaerocellum*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Caldicellulosiruptor*, *Clostridium*, *Desulfurococcus*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fibrobacter*, *Halocella*, *Ruminococcus*, *Spirochaeta*, *Thermotoga* [33, 55, 56, 57–59, 92, 96, 101, 105, 106]. Важной особенностью анаэробных целлюлозолитиков является их способность к адгезии на субстрате (рис. 2), что осуществляется за счет бактериального внеклеточного матрикса, который не только позволяет микроорганизмам прикрепляться к гидролизному субстрату, но и выполняет структурообразующую роль и предоставляет защиту для микробных клеток от разного рода физико-химических факторов [57, 107–109].

Анаэробные термофильные целлюлозолитические микроорганизмы большей частью высоко специализированы и часто не способны расти на моно-, олиго- и полисахаридах, содержащих в своем составе отличные от глюкозы звенья. Они достаточно быстро гидролизуют такие целлюлозосодержащие материалы, как фильтровальная бумага, вата, волокна хлопка и льна, льняные и хлопчатобумажные ткани, картон [57, 92]. В отличие от аэробов, которые разрушают целлюлозу с помощью внеклеточного комплекса ферментов, анаэробные бактерии гидролизуют ее с участием мультиферментных целлюлазных систем – цел-

люлосом [96, 110, 111]. *C. thermocellum* наравне с заякоренными на клеточной поверхности целлюлосомы выделяет и внеклеточные целлюлазы, тогда как многие анаэробы имеют только комплексы целлюлосом и не образуют какого-либо значительного количества растворимых целлюлаз [57]. Целлюлосомы представителей родов *Clostridium* и *Ruminococcus* изучены достаточно подробно. У *C. thermocellum* гидролиз целлюлозы происходит с помощью специальных органелл – полицеллюлосом, молекулярная масса которых достигает 100 МДа [57, 96]. Строение, разнообразие и механизм действия этих целлюлосом рассмотрены в обзорах В. Шварца [96], Л. Линда [57] и Е. Байера [112].

Целлюлосомы *C. thermocellum* представляют стабильный внеклеточный ферментный комплекс с молекулярной массой около 3 МДа, жестко связанный с бактериальной клеточной стенкой. Этот комплекс состоит из некаталитического полипептида, получившего название интегрирующего целлюлосому белка А (CipA) – скаффолдина и от 15 до 25 различных гидролитических ферментов – белков-модулей [57, 96, 113, 114]. В состав мультфункциональных целлюлазных комплексов клостридий, помимо целлюлаз, эндо- и экзоглюканазы могут входить также маннаназы, ксиланазы, хитиназы и лихеназы. Благодаря целлюлосомам (рис. 3) расстояние между субстратом и клеткой становится минимальным, что значительно сокращает потери продуктов гидролиза целлюлозы. Целлюлосомы представляют собой сложные белки с каталитическими центрами и субстратсвязывающими доменами [96]. Все составляющие комплекс ферменты также имеют модули, называемые докеринными (докерины I), которые специфически связываются с комплементарными им когезиновыми модулями (когезины I) скаффолдина [96, 113]. Подобные когезин-докериновые взаимодействия формируют структуру целлюлосомы и удерживают вместе весь комплекс [57, 112, 114]. Среди других модулей, входящих в состав целлюлосомы, обнаружены углеводсвязывающие (целлюлозосвязывающие) модули (УСМ), иммуноглобулинподобные модули, модули типа фибронектин III-связывающих доменов, обозначаемые, как X-модули [96, 114]. Прикрепление целлюлосомы к кристаллической структуре субстрата, главным образом, обусловлено взаимодействием УСМ семейства III скаффолдина [96]. При этом субъединица скаффолдина содержит один УСМ, но с большим количеством когезиновых модулей [112].

Скаффолдин *C. thermocellum* (197 кДа) состоит из 9 когезиновых доменов типа I. К настоящему моменту у этого микроорганизма идентифицировано более 20 генов, ответственных за биосинтез компонентов целлюлосомы: среди них 4 кодируют экзоглюканазы (целлюбиогидролазы), 9 – эн-

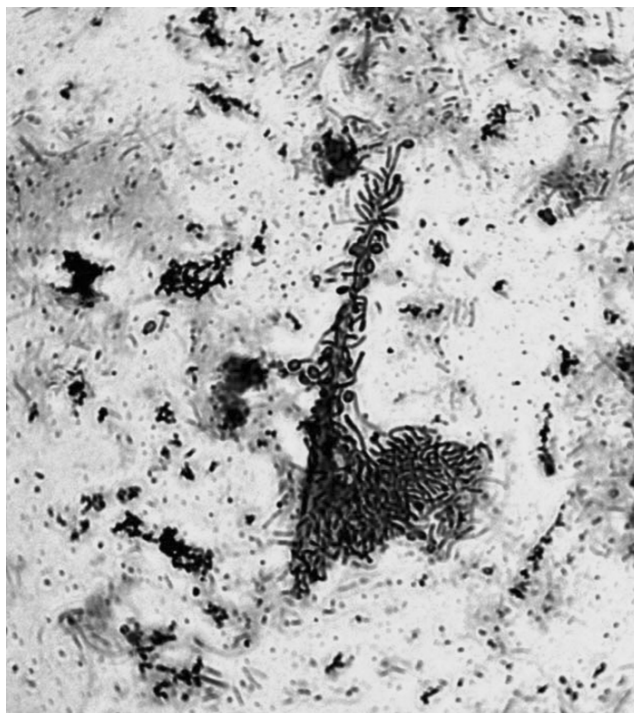
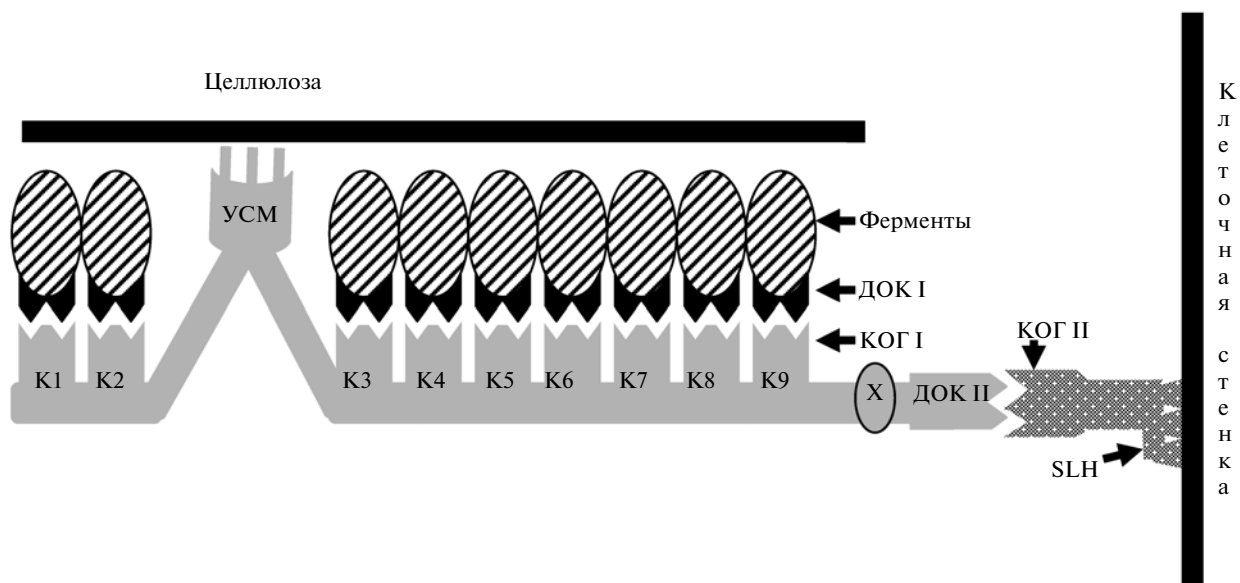


Рис. 2. Фрагмент анаэробного мезофильного сообщества микроорганизмов, разлагающих целлюлозу с образованием метана. Микробные клетки, в том числе с терминальными спорами, объединяются (адгезия) вокруг волокна целлюлозы [146]. Световая микроскопия, увеличение X900.

доглюканазы, 5 – ксиланазы, гидролизующие гемицеллюлозу, по одному – хитиназу, маннаназу и лихеназу ( $\beta$ -1,3–1,4-эндоглюканазу) [57, 96]. Кроме того, скаффолдины несут УСМ семейства III, X-домены и модифицированные докерины II типа. Комплементарные им когезины типа II содержатся в белках предположительно принадлежащих S-слою бактериальной клетки, так как все они содержат специфические для S-слоя SLH домены (surface-layer homologous module) [96, 113]. Строение и состав целлюлосом, а также локализация генов отличаются не только между родами микроорганизмов, но и у видов, принадлежащих к одному роду. В то же время среди анаэробных грибов из родов *Neocallimastix*, *Piromyces*, *Orpinomyces*, заселяющих желудочно-кишечный тракт травоядных животных (в основном, рубец и слепую кишку) и активно гидролизующих целлюлозу, также обнаружены сходные целлюлосомо-подобные белковые комплексы [114].

Эффективность и преимущества бактериальных целлюлосом связаны с высокой активностью целлюлозосвязывающего домена, обеспечивающего прикрепление к субстрату, синергизмом действия и оптимальным соотношением между всеми компонентами, входящими в состав этого мультиферментного комплекса, а также про-



**Рис. 3.** Схематичное представление структуры целлюлосомы на примере *C. thermocellum* (с изменениями по [57, 96]). Обозначения: модульная структура скаффолдина отмечена серым цветом, ферментные компоненты – темным цветом. УСМ – углеводсвязывающий (целлюлозосвязывающий) модуль, х – X-модуль, К1–К9 – когезины, КОГ I, II – когезиновые модули I и II типов, ДОК I, II – докериновые модули I и II типов, SLH – “surface-layer homologous” модуль, связывающий комплекс с бактериальной клеточной стенкой.

пространственной организацией, определяющей порядок действия ферментов [96]. В последнее время многие исследования посвящены генетическому конструированию искусственных целлюлосом с заданными свойствами, что позволяет объединить несколько нужных ферментов вместе и добиться их скоординированного действия внутри созданной целлюлосомы [57, 112]. Более того, плазмиды с генами, ответственными за синтез подобных структур, можно вводить в менее требовательный к условиям культивирования микроорганизм, например штаммы – представители рода *Bacillus* [112]. Подобный подход позволит значительно снизить затраты по предобработке целлюлозосодержащего сырья (см. ниже) и его конверсии в биотопливо.

В процессе гидролиза целлюлозы образуются глюкоза, целлобиоза и целлодекстрины различной длины, которые сбраживаются до продуктов, среди которых присутствует значительное количество ацетата и углекислого газа. В результате конверсии промежуточных продуктов, например пирувата, разные виды бактерий образуют лактат, этанол, формиат, сукцинат и другие органические кислоты, в том числе ацетат, а также водород и углекислый газ [92]. В природных условиях разрушение целлюлозы происходит, в основном, в результате активности сообщества микроорганизмов, состоящего из нескольких (многих) целлюлозолитических и нецеллюлозолитических видов [33, 52, 57, 104, 115–117]. Микроорганизмы, составляющие такие сообщества, помимо

катаболических взаимодействий, обеспечивают своих партнеров связанным азотом, витаминами и другими факторами роста, в которых нуждаются, но не могут синтезировать некоторые из их участников [41, 42, 52].

## ПЕРЕРАБОТКА ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В МЕТАН

Большинство фундаментальных и биотехнологических работ посвящено изучению образования биогаза из навоза животных, осадочного ила сточных вод и разного рода органических отходов, что достаточно широко отражено в литературе [3, 23, 37, 118–121]. Значительно меньше информации представлено о таком субстрате, как целлюлоза. При этом именно целлюлоза и гемицеллюлоза зачастую преобладают в твердых органических бытовых отходах (ТБО) [122–124]. В последнее время интерес к конверсии бумажного сырья в биогаз возобновился, что связано, в частности, с активным внедрением во многих странах технологий раздельного сбора мусора. Кроме того, бумага и картон являются наиболее доступной для биodeградации фракцией ТБО [7, 124, 125], а сточные воды, образуемые при анаэробном разложении целлюлозосодержащих материалов нетоксичны [125].

Известно, что энергия, содержащаяся в органическом сырье, может переходить на 85% в метан (расчет произведен по конверсии целлюлозы), который является основным компонентом биогаза [126]. На скорость и полноту биоразложе-



ния целлюлозосодержащего материала влияет присутствие лигнина. В различных видах целлюлозосодержащих субстратов его содержание может составлять (%): 18–35 – древесина, 30–40 – скорлупа орехов, 10–30 – трава, 0–15 – различного типа бумага, 15 – пшеничная солома, 0 – листья, 18–30 – газета, 2.7–5.7 – твердый навоз крупного рогатого скота [97]. Несмотря на то что существует прямая зависимость между повышением концентрации метана в среде культивирования при увеличении содержания целлюлозы и гемицеллюлозы в субстрате, наличие лигнина может значительно ингибировать образование биогаза [125].

Стадия гидролиза целлюлозы вообще является скоростьюлимитирующим этапом при анаэробном расщеплении субстратов, содержащих целлюлозу, что, в основном, связано именно с присутствием лигнина [57]. Кристаллическая структура и размеры частиц мультикомпонентной и гетерогенной по составу лигноцеллюлозной биомассы и недоступность  $\beta$ -гликозидных связей для целлюлаз значительно затрудняют усвояемость целлюлозы и гемицеллюлозы [57, 127].

В связи с этим зачастую применяют различные и не всегда дешевые способы предобработки целлюлозосодержащего сырья, которые могут включать механическое измельчение и перемалывание, пиролиз при температурах выше 300°C, использование гамма- и сверхвысокочастотных (микроволновые) излучений [128, 129]. В деревообрабатывающей промышленности используют обработку горячим паром – высокотемпературный автогидролиз и гидротермолиз – нередко с добавлением дополнительных агентов в виде неорганических кислот, паров углекислого газа, аммиака [93, 97, 130]. Химические способы предобработки целлюлозосодержащих материалов включают озонлиз, щелочной гидролиз и гидролиз с помощью концентрированных и разбавленных кислот, а также оксидирование оксидом водорода во влажной атмосфере [57, 93, 131, 132] и так называемый органосоль – процесс, при котором, наряду с неорганическими кислотами, используются метанол, этанол, ацетон, этиленгликоль, тетрагидрофуран и некоторые другие органические растворители [57, 93, 97, 133]. Все больше внимания уделяют изучению и улучшению технологий биологической предобработки с использованием культур микроорганизмов, в основном грибов и ферментов, выделенных из них. Так, высокую активность при разложении лигнина проявляют базидиомицеты, вызывающие белую гниль, из рода *Phanerochaeta*. Не менее активны представители родов *Pleurotus*, *Sporotrichum*, *Cyathus* и *Ceriporiopsis* [97, 134]. Есть данные [135] об эффективном использовании микромицета *Trichoderma reesei* в двухстадийном процессе предобработки отходов высоколигнифицированных

листьев агавы (сизаль). При дальнейшем сбраживании обработанного таким образом сырья выход метана составил 292 мл/г массы сухой массы, что было на 101% выше по сравнению с необработанным контролем.

Для получения ферментов (целлюлаз) используют различные микроорганизмы, причем грибам отдается предпочтение, поскольку они не требуют специфических условий для роста, как, например, анаэробные или термофильные бактерии, а количество образуемых ферментов в несколько раз превышает микробный бактериальный биосинтез. При этом среди бактериальных культур наиболее изучены в этом отношении представители родов *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Ruminococcus*, *Thermomonospora*, *Erwinia*, *Bacteriodes*, *Acetovibrio*, *Microbispora* [57, 96, 97, 135]. Среди микромицетов основными продуцентами целлюлаз являются виды родов *Phanerochaeta*, *Sclerotium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* и *Schizophyllum* [97].

Необходимо отметить, что любые способы предобработки значительно увеличивают стоимость всего процесса, зачастую являются неэкологичными и требуют последующей очистки от использованных реактивов. Поиск микробных сообществ, способных эффективно осуществлять все стадии анаэробного разложения целлюлозосодержащих субстратов без предобработки, остается одной из актуальных и первостепенных задач для получения биогаза микробиологическим путем.

При исследовании переработки ряда органических субстратов: трава, листья, ветки, пищевые отходы, мелованная бумага, старые газеты, старый гофрированный оберточный картон, офисная бумага – выход биогаза составил 144.4, 30.6, 62.6, 300.7, 84.4, 74.3, 152.3 и 217.3 мл  $\text{CH}_4$ /г сухой массы соответственно [124]. Наилучшие показатели, не считая полученных при биоразложении пищевых отходов (300.7), получены при разложении картона и офисной бумаги, в которых содержание лигнина минимально. По некоторым данным [124, 136], содержание лигнина колеблется от 2% в офисной до 24% в газетной бумаге. При этом авторы отмечают длительный период образования одинаковых количеств метана при разложении офисной бумаги, что связано с ее постоянным составом (в основном, целлюлоза и гемицеллюлоза, лигнин практически отсутствует). Другие исследователи [137] указывают на то, что офисная бумага по скоростям разложения и количеству образуемого кумулятивного метана практически сходна с чистой целлюлозой, взятой в качестве контроля, в то время как картон (как гофрированный, так и оберточный), содержащий в своем составе до 5% лигнина, гидролизуется менее активно, а древесина практически устойчива к мик-

робному разложению. При анаэробном разложении травы, смешанных растительных отходов, белой (офисной) бумаги, гофрированного картона, журналов и газет авторы получили выход метана 210, 140, 370, 280, 20 и 8 мл/г сухого вещества соответственно. Таким образом, офисная бумага и картон являются наиболее эффективно гидролизуемыми субстратами.

Данные последних исследований [123] свидетельствуют о том, что измельчение субстрата (бумага и картон) не способствует повышению доступности целлюлозосодержащего материала микробным ферментам и не облегчает адгезию на нем микроорганизмов. В экспериментах, проведенных в мезофильных условиях, авторы показали, что измельчение не влияло ни на выход метана, ни на скорость его образования. Скорость гидролиза целлюлозы в большой степени зависит от активности микроорганизмов, входящих в состав микробного сообщества. Так, по сравнению с чистыми мезофильными культурами, *Clostridium cellulolyticum* или *Ruminococcus albus*, микробные сообщества, состоящие из нескольких (многих) микроорганизмов, оказываются более эффективными [122, 138, 139]. При этом особое значение имеет источник выделения микробного сообщества и количество внесенного инокулята, от чего зависит плотность колонизации и адгезия микроорганизмов на волокнах целлюлозы [122]. О'Салливан с соавт. [140] показали, что именно от адгезии на субстрате в большей степени, чем от гидролитической активности отдельных видов зависит способность микробного сообщества к гидролизу целлюлозы. Различия в составе микробного сообщества, а также используемой питательной среде и других факторах имели меньшее влияние на скорость гидролиза по сравнению с количеством активных клеток, способных к адгезии и гидролизу субстрата. Авторы предполагают, что если в ферментерах увеличить плотность клеток до концентрации, сопоставимой с содержанием бактерий в рубце жвачных, то и скорость гидролиза целлюлозосодержащих материалов может значительно возрасти.

Среди факторов, определяющих, по мнению ряда исследователей, высокие показатели скорости гидролиза целлюлозы в мезофильных условиях (34–38°C), можно выделить использование фильтрата рубца жвачных животных в качестве инокулята [141–143], концентраций посевного материала, равных 15–25% об/об [141, 142] и постоянное поддержание нейтральных значений pH среды, а также культивирование микробных сообществ в режиме полунепрерывной ферментации [122, 144, 145]. Процесс биodeградации целлюлозы в таких условиях проходит эффективнее из-за отсутствия лаг-фазы [122]. В термофильных условиях (60°C) в режиме хемостата при культивировании чистой культуры *Clostridium thermocel-*

*lum* [144] ее продуктивность значительно превышала показатели, полученные в мезофильных условиях культивирования. Так, например, константа скорости гидролиза первого порядка в термофильных условиях составила 5.6/сут по сравнению с 0.5–2.5/сут в мезофильных. В мезофильном сообществе, выделенном из сточных вод и обогащенном на среде с целлюлозой, выход метана достиг 314 мл метана/л сут, а содержание CH<sub>4</sub> в составе биогаза составило 57–62% [122].

При сравнении различных источников инокулята (навоз травоядных животных, компостные кучи, иловые отложения различных водоемов, отходы переработки винограда – жом), взятого для биотрансформации целлюлозы микробными сообществами в термофильных (55°C) условиях, наиболее активными и стабильными оказались сообщества, выделенные из навоза травоядных (копытных) животных [146, 147]. Состав функционального микробного сообщества различается не только в зависимости от источника инокулята, но и используемого субстрата, а также условий культивирования (например, температуры). Данные исследований, проведенных с использованием современных молекулярных методов, позволили более точно отследить различия и идентифицировать микроорганизмы, входящие в сообщество, образующие биогаз при разложении органических веществ. Так, по данным Левен с соавт. [36], при разложении органических отходов, в том числе целлюлозосодержащих, анализ микробных сообществ, выращенных при 37 и 55°C, показал, что представители Bacteroidetes (34% от общего числа клонов) и Chloroflexi (27%) доминировали в мезофильных условиях, в то время как в термофильных условиях преобладали *Thermotogae* (61%). Основными представителями архей были *Methanospirillum* и *Methanosarcina* в мезофильных и термофильных условиях соответственно. В метаногенных сообществах, выделенных на рисовых полях и обогащенных на среде с целлюлозой в течение 5 пересевов, были идентифицированы виды семейств Methanosarcinaceae и Methanosaetaceae, доминирующие при 30 и 15°C соответственно [148, 149]. В обоих сообществах также присутствовали штаммы рода *Methanobacterium* (5–25%). Авторы отмечают различие в составе микроорганизмов в исходной культуре и на конечном этапе культивирования [148]. Если в начале разложения целлюлозы количество архей составляло 4 и 10%, то к концу культивирования их число увеличилось до 50 и 30% при 30 и 15°C соответственно [149].

В наших работах с помощью методов микроскопии были выявлены различия в микробных сообществах, выращиваемых в мезофильных и термофильных условиях [146, 147], причем состав микроорганизмов отличался при использовании различных инокулятов для засева, а также в дина-

мике развития сообществ при пересевах. Несмотря на то что в мезофильных условиях биоконверсия использованного бумажного сырья успешно завершалась образованием биогаза с содержанием метана от 47 до 63%, этот процесс происходил медленнее и скорость образования биогаза (СОБ) была в 2 и более раза меньше, чем при 55°C (0.7–0.9 мл/сут мл среды) [146, 147]. В условиях периодического культивирования (37°C) наиболее активные сообщества образовывали около 12 ммоль СН<sub>4</sub>/г целлюлозы. Однако для большинства мезофильных культур выход метана был значительно меньше (от 2–4 до 8–11 ммоль СН<sub>4</sub>/г), чем при 55°C (16 ммоль СН<sub>4</sub>/г с содержанием метана в составе биогаза 60%).

В модельных экспериментах по изучению биodeградации офисной бумаги и картона было показано, что в мезофильных условиях (35°C) происходит временное ингибирование ацетокластических метаногенов летучими жирными кислотами и низким рН. Это приводит к тому, что сначала метан образуется преимущественно из Н<sub>2</sub>/Н<sub>2</sub>СО<sub>3</sub>, а затем из ацетата [150]. Известно, что ацетокластический метаногенез происходит предпочтительней при высоких концентрациях ацетата в среде. В термофильных условиях (55–60°C) при низких концентрациях ацетата и наличии ингибиторов (аммоний, ЛЖК) доминирующим механизмом образования метана становится двухступенчатый процесс, в котором ацетат сначала окисляется синтрофными ацетатооксилирующими бактериями до водорода и СО<sub>2</sub>, а затем гидротрофные метаногены переводят эти соединения в метан [52, 150, 151].

В исследованиях Г. Эрига [152], К. Харриеса с соавт. [153] и С. Помье с соавт. [123] при биоразложении в мезофильных условиях некоторых целлюлозосодержащих субстратов биологический потенциал метана (БПМ, мл СН<sub>4</sub>/г) составил 72 и 96 для газет, 60–135 для журнальной бумаги и 209 для оберточного картона. При сбраживании смеси из бумаги и картона были получены сходные результаты по БПМ и проценту биodeградации субстрата, которые практически не отличались при использовании частиц субстрата разного размера (10 см, 2 см, менее 1 мм) и составили 141–143 мл СН<sub>4</sub>/г и 43% соответственно [123]. Известно, что измельчение биомассы повышает эффективность ее биodeградации, однако авторы указывают, что для бумажной продукции не размер частиц, а именно содержание лигнина в сырье скорее является определяющим фактором при его обработке.

При выращивании других микробных сообществ на офисной бумаге с черно-белой печатью и упаковочном гофрированном картоне (55°C) выход метана составил около 48–51%, что в среднем соответствовало 240–280 мл СН<sub>4</sub>/г при культивировании на офисной бумаге и 223–252 мл СН<sub>4</sub>/г на картоне [147].

Скорость образования биогаза (СОБ) при разложении целлюлозы, офисной бумаги и картона наиболее активными микробными сообществами, выращенными в термофильных (Т) и мезофильных (М) условиях культивирования

№	Максимум СОБ, мл СН <sub>4</sub> /сут мл среды		Максимум СОБ, мл СН <sub>4</sub> /сут г	
	Целлюлоза, пассаж			
	1	5	1	5
3 Т	1.30	0.76	86.7	50.7
4 Т	0.66	0.72	44.0	48.0
6 Т	1.30	0.71	30.0	47.3
7 Т	0.64	0.48	42.7	32.0
17 Т	0.64	0.72	42.7	48.0
18 Т	0.59	0.64	39.3	42.7
19 Т	0.96	0.80	60.6	53.4
20 Т	1.00	0.82	66.7	54.7
21 Т	0.93	0.54	62.0	36.0
22 Т	1.36	0.90	90.7	60.0
1 М	0.40	0.46	26.7	30.7
21 М	0.40	0.43	26.7	28.7
	Офисная бумага	Картон	Офисная бумага	Картон
3 Т	0.60	0.66	40.0	44.0
6 Т	1.00	0.74	66.7	49.3
17 Т	0.68	0.76	45.3	50.7
18 Т	0.86	0.70	75.3	46.7
19 Т	1.00	0.80	66.7	53.3
20 Т	1.91	0.78	127.3	52.0
21 Т	0.86	0.82	75.3	54.7
22 Т	0.84	0.62	56.0	41.3
1 М	0.60	0.60	40.0	40.0
21 М	0.49	0.46	32.7	30.7

Скорость образования биогаза, и объемы выхода метана в составе образующегося биогаза были на этих субстратах ниже (211–245 и 193–240 мл СН<sub>4</sub>/г соответственно). Примечательно, что в процессе селекции микробных сообществ (пересевы на среду, содержащую целлюлозу, в течение нескольких пассажей) общей тенденции в изменении скорости образования биогаза и накопления метана в биогазе выявлено не было: для некоторых сообществ происходило увеличение продуктивности и СОБ, в то время как для других первоначальные показатели либо не изменились, либо уменьшились [146, 147] (таблица).

\*\*\*

При разработке различных стратегий по утилизации и биотрансформации целлюлозосодержащих субстратов (отходы) в биогаз селекция микробных сообществ и подбор оптимальных условий для их культивирования могут иметь решающее значение для того, чтобы этот процесс проходил максимально эффективно. В последнее время появились предложения по использованию генно-инженерных штаммов метаногенов, свойства и продуктивность которых значительно превосходили бы таковые у исходных природных видов [25].

При неуклонно сокращающихся запасах традиционных видов топлива все большее внимание уделяют альтернативной энергетике. Одним из наиболее популярных и широко используемых способов переработки органического сырья и отходов является их анаэробное разложение с образованием биогаза. Однако, несмотря на обилие всевозможной информации относительно различных аспектов получения биогаза, до сих пор ощущается недостаток фундаментальных данных о составе и динамике развития микроорганизмов, о механизмах регуляции и влиянии различных факторов, в том числе стрессовых, на все стадии преобразования субстрата в метан, отсутствует глубинное понимание процессов, протекающих в многокомпонентном микробном сообществе. Из-за недостаточного развитой технологической базы альтернативная биоэнергетика остается недооцененной и закрытой для повсеместного использования. Особенно остро эти вопросы стоят при получении биогаза из целлюлозосодержащих материалов, хотя именно целлюлоза, отходы деревообрабатывающей промышленности и бумажное сырье являются одними из наиболее перспективных субстратов для получения биогаза.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Abelson H.P.* // Science. 1995. V. 268. № 5213. P. 955.
2. *Claassen P.A.M., de Vrije T.* // Int. J. Hydrogen Energy. 2006. V. 31. № 11. P. 1416–1423.
3. *Björnsson P., Mattiasson B.* // Trends Biotechnol. 2008. V. 26. № 1. P. 7–13.
4. *Munasinghe P.C., Khanal S.K.* // Bioresour. Technol. 2010. V. 101. № 13. P. 5013–5022.
5. *Peralta-Yahya P.P., Keasling J.D.* // Biotech. J. 2010. V. 5. № 2. P. 147–162.
6. *Weiland P.* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 85. № 4. P. 849–860.
7. *Antizar-Ladislao B., Turrion-Gomez J.L.* // Biofuels, Bioprod. Bioref. 2008. V. 2. № 5. P. 455–469.
8. *Rice W.* // Int. J. Hydrogen Energy. 2006. V. 31. № 14. P. 1955–1963.
9. *Koike Y., An M., Tang Y., Syo T., Osaka N., Morimura S., Kida K.* // J. Biosci. Bioeng. 2009. V. 108. № 6. P. 508–512.
10. *Rude M.A., Scjirmer A.* // Curr. Opin. Microbiol. 2009. V. 12. № 3. P. 274–281.
11. *Angelidaki I., Karakashev D., Batstone D.J., Plugge C.M., Stams A.J.* // Methanogenesis (Methods in Enzymology) / Eds. C. Rosenzweig, W. Ragsdale. Academic Press, 2011. V. 494. P. 327–351.
12. *Калюжный С.В., Пузанков А.Г., Варфоломеев С.Д.* // Биогаз: проблемы и решения. М.: ВИНТИ. Итоги науки и техники. Биотехнология. 1988. Т. 21. 177 с.
13. *Паничева Е.С., Давиденко Е.В.* // Биотехнология. 1990. Т. 6. № 4. С. 49–53.
14. *Glissmann K., Hammer E., Conrad R.* // FEMS Microbiol. Ecol. 2005. V. 52. № 1. P. 43–48.
15. *Kapdi S.S., Vijay V.K., Rajesh S.K., Prasad R.* // Renew. Energy. 2005. V. 30. № 8. P. 1195–1202.
16. *Rasi S., Veijanen A., Rintala J.* // Energy. 2007. V. 32. № 8. P. 1375–1380.
17. *Bochiwal C., O'Malley C., Chong J.P.J.* // Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology / Ed. K.N. Timmis. Berlin: Springer, 2010. P. 2810–2815.
18. *Hecht C., Griehl C.* // Bioresour. Technol. 2009. V. 100. № 2. P. 654–658.
19. *Hesselsoe M., Boysen S., Iversen N., Jorgensen L., Murrell J.C., McDonald I., Radajewski S., Thestrup H., Roslev P.* // Biodegrad. 2005. V. 16. № 5. P. 435–448.
20. *Ficker M., Krastel K., Orlicky S., Edwards E.* // Appl. Environ. Microbiol. 1999. V. 65. № 12. P. 5576–5585.
21. *Gassanova L.G., Netrusov A.I., Teplyakov V.V., Modigell M.* // Desalination. 2006. V. 198. № 1–3. P. 56–66.
22. *Verstraete W.* // Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology / Ed. K.N. Timmis. Berlin: Springer, 2010. P. 3333–3336.
23. *Ambulkar A.R., Shekdar A.V.* // Res. Conserv. Recycl. 2004. V. 40. № 2. P. 111–128.
24. *Eze J.I., Uzodinma E.O.* // Pacific J. Sci. Technol. 2009. V. 10. № 2. P. 942–948.
25. *Ferry J.G.* // Curr. Opin. Biotechnol. 2011. V. 22. № 3. P. 351–357.
26. *Weiland P.* // Eng. Life Sci. 2006. V. 6. № 3. P. 302–309.
27. *Cheunbarn T., Pagilla K.R.* // J. Environ. Eng. 2000. V. 126. № 9. P. 796–801.
28. *Cabirol N., Rojas Oropeza M., Noyola A.* // Wat. Sci. Technol. 2002. V. 45. № 10. P. 269–274.
29. *Sahlström L.* // Bioresour. Technol. 2003. V. 87. № 2. P. 161–166.
30. *Oleskowicz-Popiel P., Lisiecki P., Holm-Nielsen J.B., Thomsen A.B., Thomsen M.H.* // Bioresour. Technol. 2008. V. 99. № 13. P. 5327–5334.
31. *Lübken M., Gehring T., Wichern M.* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 85. № 6. P. 1643–52.
32. *Yadvika S., Sreekrishnan T.R., Sreekrishnan T.R., Kohli S.* // Bioresour. Technol. 2004. V. 95. № 1. P. 1–10.
33. *Smiti N., Ollivier B., Garcia J.L.* // FEMS Microbiol. Lett. 1986. V. 35. № 1. P. 93–97.
34. *Nozhevnikova A.N., Zepp K., Vazquez F., Zehnder A.J.B., Holliger C.* // Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69. № 3. P. 1832–1835.

35. Li T., Mazéas, Sghir A., Leblon G., Bouchez T. // Environ. Microbiol. 2009. V. 11. № 4. P. 889–904.
36. Levén L., Eriksson A.R.B., Schnurer A. // FEMS Microbiol. Ecol. 2007. V. 59. № 3. P. 683–693.
37. Ferrer I., Vazquez F., Font X. // Bioresour. Technol. 2010. V. 101. № 9. P. 2972–2980.
38. Gao W.J., Leung K.T., Qin W.S., Liao B.Q. // Biore-sour. Technol. 2011. V. 102. № 19. P. 8733–8740.
39. Wijekoon K.C., Visvanathan C., Abeynayaka A. // Bioresour. Technol. 2011. V. 102. № 9. P. 5353–5360.
40. Заварзин Г.А. // Микробиология. 1997. Т. 66. № 5. С. 669–673.
41. Заварзин Г.А. // Микробиология. 1989. Т. 51. № 6. С. 3–14.
42. Stams A.J.M. // Antonie van Leeuwenhoek. 1994. V. 66. № 1–3. P. 271–294.
43. Boone D.R., Whitman W.B., Rouviere P. Methanogenesis: Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics / Ed. J.G. Ferry. N.Y.: Chapman & Hall, 1993. P. 35–80.
44. Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd ed. / Ed. G. Garrity. N.Y.: Springer-Verlag, 2001. 721 p.
45. Ferry G. // Annu. Rev. Microbiol. 2010. V. 64. P. 453–473.
46. Liu Y. Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology / Ed. K.N. Timmis. Berlin: Springer, 2010. P. 549–558.
47. Bapteste E., Brochier C., Boucher Y. // Archaea. 2005. V. 1. № 5. P. 353–363.
48. Anderson K.L. // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. № 4. P. 1488–1491.
49. Methanogenesis: Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics / Ed. J.G. Ferry. N.Y.: Chapman & Hall, 1993. 553 p.
50. Schink B., Zeikus J.G. // J. General Microbiol. 1982. № 2. V. 128. P. 393–404.
51. Pol A., Demeyer D.I. // Appl. Environ. Microbiol. 1988. V. 54. № 3. P. 832–834.
52. Schink B. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1997. V. 61. № 2. P. 262–280.
53. Thauer R., Shima S. // Nature. 2006. V. 440. № 7086. P. 878–879.
54. Rodhe H. // Science. 1990. V. 248. № 8. P. 1217–1219.
55. Pavlostathis S.G., Miller T.L., Wolin M.J. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1990. V. 33. № 1. P. 109–116.
56. Leschine S.B. // Annu. Rev. Microbiol. 1995. V. 49. P. 399–426.
57. Lynd L.R., Weimer P.J., van Zyl W.H., Pretorius I.S. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2002. V. 66. № 3. P. 506–577.
58. Burrell P.C., O'Sullivan C., Song H., Clarke W.P., Blackall L.L. // Appl. Environ. Microbiol. 2004. V. 70. № 4. P. 2414–2419.
59. Show K.Y., Tay J.H., Hung Y. // Env. Bioeng. Handbook of Environ. Eng. 2010. V. 11. P. 773–807.
60. Cotta M.A. // Appl. Environ. Microbiol. 1992. V. 58. № 1. P. 48–54.
61. Anderson I., Ulrich L.E., Lupa B., Susanti D., Porat I., Hooper S.D., Lykidis A., Sieprawaska-Lupa M., Dharmarajan L., Goltsman E., Lapidus A., Saunders E., Han C., Land M., Lucas S., Mukhopadhyay B., Whitman W.B., Woese C., Bristow J., Kyrpides J. // PLoS One. 2009. V. 4. e5797.
62. Bokkenheuser V. // Clin. Infect. Dis. 1993. V. 16. № 4. P. 427–434.
63. Wang X., Conway P.L., Brown I.L., Evans A.J. // Appl. Environ. Microbiol. 1999. V. 65. № 11. P. 4848–4854.
64. Zhang T., Liu H., Fang H.H.P. // J. Environ. Manag. 2003. V. 69. № 2. P. 149–156.
65. Heinrichová K., Wojciechowicz M., Ziołocki A. // J. General Microbiol. 1985. V. 131. № 8. P. 2053–2058.
66. Hespell R.B., Wolf R., Bothast R.J. // Appl. Environ. Microbiol. 1987. V. 53. № 12. P. 2849–2853.
67. Dušková D., Marouek M. // Lett. Appl. Microbiol. 2001. V. 33. № 3. P. 159–163.
68. Sirotek K., Slováková L., Kopečný J., Marounek M. // Lett. Appl. Microbiol. 2004. V. 38. № 4. P. 327–332.
69. Mahadevan S., Erfle J.D., Sauer F.D. // J. Anim. Sci. 1980. V. 50. № 4. P. 723–728.
70. Barker H.A. // Annu. Rev. Biochem. 1981. V. 50. P. 23–40.
71. Egli T. // Adv. Microb. Ecol. 1995. V. 14. P. 305–386.
72. Wallace R.J. // J. Nutr. 1996. V. 126. № 4. P. 1326–1334.
73. Baena S., Fardeau M.-L., Ollivier B., Labat M., Thomas P., Garcia J.-L., Patel B.K.C. // Int. J. Syst. Bacteriol. 1999. V. 49. P. 975–982.
74. Díaz C., Baena S., Patel B.K.C., Fardeau M.L. // Braz. J. Microbiol. 2010. V. 41. № 3. P. 707–717.
75. Sieber J.R., McInerney M.J., Plugge C.M., Schink B., Gunsalus R.P. K. // Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology / Ed. K.N. Timmis. Berlin: Springer, 2010. P. 338–350.
76. Stams A.J.M., de Bok F.A.M., Plugge C.M., van Eekert M.H.A., Dolfing J., Schraa G. // Environ. Microbiol. 2006. V. 8. № 3. P. 371–382.
77. Reguera G., McCarthy K.D., Mehta T., Nicoll J.S., Tuominen M.T., Lovley D.R. // Nature. 2005. V. 435. № 7045. P. 1098–1101.
78. Hattori S., Galushko A.S., Kamagata Y., Schink B. // J. Bacteriol. 2005. V. 187. № 10. P. 3471–3476.
79. Zinder S.H. Methanogenesis: Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics / Ed. J.G. Ferry. N.Y.: Chapman & Hall, 1993. P. 128–206.
80. Davies Z.S., Mason D., Brooks A.E., Griffith G.W., Merry R.J., Theodorou M.K. // Anim. Feed Sci. Technol. 2000. V. 83. № 3–4. P. 205–221.
81. Whitman W.B., Bowen T.L., Boone D.R. The methanogenic bacteria. The Prokariotes. 2 ed. / Eds. A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K. Schleifer. N.Y.: Springer-Verlag, 1992. P. 719–760.
82. Stams A.J.M., Oude Elferink S.J.W.H., Westermann P. // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 2003. V. 81. P. 31–56.
83. Ferry J.G. // J. Bacteriol. 1992. V. 174. № 17. P. 5489–5495.
84. Yu Y., Kim J., Hwang S. // Biotechnol. Bioeng. 2006. V. 93. № 3. P. 424–433.
85. Kim I.S., Hwang M.H., Jang N.J., Hyun S.H., Lee S.T. // Int. J. Hydr. Energ. 2004. V. 29. № 11. P. 1133–1140.

86. *Staley B.F., de los Reyes III F.L., Barlaz M.A.* // Appl. Environ. Microbiol. 2011. V. 77. № 7. P. 2381–2391.
87. *Jones E.J., Voytek M.A., Corum M.D., Orem W.H.* // Appl. Environ. Microbiol. 2010. V. 76. № 21. P. 7013–7022.
88. *Василов П.Г.* // Вестник биотехнол. и физ-хим. биологии им Ю.А. Овчинникова. 2007. Т. 3. № 3. С. 54–61.
89. *Шмандий В.М., Никифоров В.В., Алферов В.П., Харламова Е.В., Пронин В.А.* // Гигиена и санитария. 2010. № 6. С. 35–37.
90. *Samson R., Leduy A.* // Biotechnol. Bioeng. 1986. V. 28. № 7. P. 1014–1023.
91. *de Schampelaire L., Verstraete W.* // Biotechnol. Bioeng. 2009. V. 103. № 2. P. 296–304.
92. *Lynd L.R., Wyman C.E., Gerngross T.U.* // Biotechnol. Prog. 1999. V. 15. № 5. P. 777–793.
93. *Saha B.C.* // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2003. V. 30. P. 279–291.
94. *Pauly M., Keegstra K.* // Plant J. 2008. V. 54. № 4. P. 559–568.
95. *Скомаровский А.А., Марков А.В., Гусаков А.В., Кондратьева Е.Г., Окунев О.Н., Беккаревич А.О., Матыс В.Ю., Синицын А.П.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2006. Т. 42. № 6. С. 674–80.
96. *Schwarz W.H.* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2001. V. 56. № 5–6. P. 634–649.
97. *Sun Y., Cheng J.* // Bioresour. Technol. 2002. V. 83. № 1. P. 1–11.
98. *Bagnara C., Gaudin C., Belaich J.P.* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1987. V. 26. № 2. P. 170–176.
99. *Wachinger G., Bronnenmeier K., Staudenbauer W.L., Schrempf H.* // Appl. Environ. Microbiol. 1989. V. 55. № 10. P. 2653–2657.
100. *Gallagher J., Winters A., Barron N., McHale L., McHale A.P.* // Biotechnol. Lett. 1996. V. 18. № 5. P. 537–540.
101. *Bergquist P.L., Gibbs M.D., Morris D.D., Te'o V.S.J., Saul D.J., Morgan H.W.* // FEMS Microbiol. Ecol. 1999. V. 28. № 2. P. 99–110.
102. *Wirth S., Ulrich A.* // Syst. Appl. Microbiol. 2002. V. 25. № 4. P. 584–591.
103. *Haichar F.Z., Achouak W., Christen R., Heulin T., Marol C., Marais M., Mougel C., Ranjard L., Balesdent J., Berge O.* // Environ. Microbiol. 2007. V. 9. № 3. P. 625–634.
104. *Okeke B.C., Lu J.* // Appl. Biochem. Biotechnol. 2011. V. 163. № 7. P. 869–881.
105. *Patel G.B., Khan A.W., Agnew B.J., Colvin J.R.* // Int. J. Syst. Bacteriol. 1980. V. 30. № 1. P. 179–185.
106. *Perevalova A.A., Svetlichny V.A., Chernyh N.A., Kostrikina N.A., Tourova T.P., Kuznetsov B.B., Bonch-Osmolovskaya E.A.* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2005. V. 55. № 3. P. 995–999.
107. *Shapiro J.A.* // Annu. Rev. Microbiol. 1998. V. 52. P. 81–104.
108. *Олескин А.В., Ботвинко И.В., Цавкелова Е.А.* // Микробиология. 2000. Т. 69. № 3. С. 309–327.
109. *Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2006. Т. 42. № 3. С. 133–143.
110. *Xu Q., Gao W., Ding S., Kenig R., Shoham Y., Bayer E.A., Lamed R.* // J. Bacteriol. 2003. V. 185. № 15. P. 4548–4557.
111. *Bayer E.A., Lamed R., Himmel M.E.* // Curr. Opin. Biotechnol. 2007. V. 18. P. 237–245.
112. *Рабинович М.Л., Мельник М.С.* // Успехи биол. химии. 2000. Т. 40. С. 205–266.
113. *Ljungdahl L.G.* // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2008. V. 1125. P. 308–321.
114. *Kato S., Haruta S., Cui Z.J., Ishii M., Igarashi Y.* // Appl. Environ. Microbiol. 2005. V. 71. № 11. P. 7099–7106.
115. *O'Sullivan C.A., Burrell P.C., Clarke W.P., Blackall L.L.* // Biotech. Bioeng. 2005. V. 92. № 7. P. 871–878.
116. *Chassard C., Delmas E., Robert C., Bernalier-Donadille A.* // FEMS Microbiol. Ecol. 2010. V. 74. № 1. P. 205–213.
117. *Speece R.E.* Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters. Nashville, TN: Archae Press, 1996. P. 29–58.
118. *Díaz E.E., Stams A.J.M., Amils R., Sanz J.L.* // Appl. Environ. Microbiol. 2006. V. 72. № 7. P. 4942–4949.
119. *Farhadian M., Borghei M., Umrانيا V.V.* // Bioresour. Technol. 2007. V. 98. № 16. P. 3080–3083.
120. *Tabatabaei M., Rahim R.A., Abdullah N., Wright A.G., Shirai Y., Sakai K., Sulaiman A., Hassan M.A.* // Proc. Biochem. 2010. V. 45. P. 1214–1225.
121. *Clarke W.P.* // Waste Manage. Res. 2000. V. 18. № 6. P. 510–524.
122. *Song H., Clarke P.* // Biores. Technol. 2009. V. 100. P. 1268–1273.
123. *Pommier S., Mañas L.A., Lefebvre X.* // Biores. Technol. 2010. V. 101. P. 463–468.
124. *Eleazer W.E., Odle W.S., Wang Y.S., Barlaz M.A.* // Environ. Sci. Technol. 1997. V. 31. № 3. P. 911–917.
125. *Wolfe R.S.* // ASM News. 1996. V. 62. № 10. P. 529–534.
126. *Hendriks A.T., Zeeman G.* // Bioresour. Technol. 2009. V. 100. № 1. P. 10–18.
127. *Zheng Y., Pan Z., Zhang R.* // Int. J. Agric. Biol. Eng. 2009. V. 2. № 3. P. 51–68.
128. *Ha S.H., Mai N.L., An G., Koo Y.M.* // Bioresour. Technol. 2011. V. 102. № 2. P. 1214–1219.
129. *Teghammar A., Yngvesson J., Lundin M., Taherzadeh M.J., Horváth I.S.* // Bioresour. Technol. 2010. V. 101. № 4. P. 1206–1212.
130. *Bjerre A.B., Oiesen A.B., Fernquist T., Ploger A., Schmidt A.S.* // Biotechnol. Bioeng. 1996. V. 49. № 5. P. 568–577.
131. *Schell D.J., Ruth M.F., Tucker M.P.* // Appl. Biochem. Biotechnol. 1999. V. 77. № 1–3. P. 67–81.
132. *Thring R.W., Chorent E., Overend R.* // Biomass. 1990. V. 23. № 4. P. 289–305.
133. *Akin D.E., Rigsby L.L., Sethuraman A., Morrison W.H.-III., Gamble G.R., Eriksson K.E.L.* // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. № 4. P. 1591–1598.

134. *Muthangya M., Mshandete A.M., Kivaisi A.K.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2009. V. 10. № 11. P. 4805–4815.
135. *Bayer E.A., Morag E., Lamed R.* // *Trends Biotechnol.* 1994. V. 12. № 9. P. 379–386.
136. *Barlaz M., Ham R.K., Shaefer D.M.* // *CRC Crit. Rev. Environ. Control.* 1990. V. 19. № 6. P. 557–584.
137. *Owens J.M., Chynoweth D.P.* // *Wat. Sci. Tech.* 1993. V. 27. № 2. P. 1–14.
138. *Desvaux M., Guedon E., Petitdemange H.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. V. 66. № 6. P. 2461–2470.
139. *Desvaux M., Guedon E., Petitdemange H.* // *J. Bacteriol.* 2001. V. 183. № 1. P. 119–130.
140. *O'Sullivan C.A., Burrell P.C., Clarke W.P., Blackall L.L.* // *Bioresour. Technol.* 2008. V. 99. № 11. P. 4723–4731.
141. *Weimer P.J., Lopezguisa J.M., French A.D.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1990. V. 56. № 8. P. 2421–2429.
142. *Mourino F., Akkarawongsa R., Weimer P.J.* // *J. Dairy Sci.* 2001. V. 84. № 4. P. 848–859.
143. *O'Sullivan C.A., Burrell P.C., Clarke W.P., Blackall L.L.* // *Bioresour. Technol.* 2006. V. 97. № 18. P. 2356–2363.
144. *Lynd L.R., Grethlen H.E., Wolkin R.H.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1989. V. 55. № 12. P. 3131–3139.
145. *Desvaux M., Guedon E., Petitdemange H.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2001. V. 67. № 9. P. 3837–3845.
146. *Цавкелова Е.А., Егорова М.А., Петрова Е.В., Нетрусов А.И.* // *Вест. МГУ. Сер. Биол.* 2012. № 2. С. 46–51.
147. *Цавкелова Е.А., Егорова М.А., Петрова Е.В., Нетрусов А.И.* // *Прикл. биохимия и микробиология.* 2012. Т. 48. № 4. С. 1–8.
148. *Chin K., Lukow T., Stubner S., Conrad R.* // *FEMS Microbiol. Ecol.* 1999. V. 30. № 4. P. 313–326.
149. *Wu X.L., Conrad R.* // *Environ. Microbiol.* 2001. V. 3. № 6. P. 355–362.
150. *Qu X., Vavilin V.A., Mazeas L., Lemunier M., Duquenois C., He P., Bouchez T.* // *Waste Manag.* 2009. V. 29. № 6. P. 1828–1837.
151. *Zinder S.H., Koch M.* // *Arch. Microbiol.* 1984. V. 138. № 3. P. 263–272.
152. *Ehrig H.J.* // *Proc. Third Int. Waste Management and Landfill Symposium, Cagliari: CISA Publisher, 1991. P. 87–114.*
153. *Harries C.R., Cross C., Smith R.* // *Proc. Eighth Int. Waste Management and Landfill Symposium, Cagliari: CISA Publisher, 2001. P. 579–588.*
154. *Scheffinger C.C., Wolin M.J.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 1973. V. 26. № 5. P. 789–795.

## Biogas Production from Cellulose-Containing Substrates: A Review

E. A. Tsavkelova and A. I. Netrusov

*Department of Microbiology, Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, 119992 Russia*

*e-mail: tsavkelova@mail.ru*

Received December 20, 2011

**Abstract**—Anaerobic microbial conversion of organic substrates to various biofuels is one of the alternative energy sources attracting the greatest attention of scientists. The advantages of biogas production over other technologies are the ability of methanogenic communities to degrade a broad range of substrates and concomitant benefits: neutralization of organic waste, reduction of greenhouse gas emission, and fertilizer production. Cellulose-containing materials are a good substrate, but their full-scale utilization encounters a number of problems, including improvement of the quality and amount of biogas produced and maintenance of the stability and high efficiency of microbial communities. We review data on microorganisms that form methanogenic cellulolytic communities, enzyme complexes of anaerobes essential for cellulose fiber degradation, and feedstock pretreatment, as biodegradation is hindered in the presence of lignin. Methods for improving biogas production by optimization of microbial growth conditions are considered on the examples of biogas formation from various types of plant and paper materials: writing paper and cardboard.