

УДК 328

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИХ МАТЕРИАЛОВ НА СКОРОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ БИОГАЗА И НА СОСТАВ МЕТАНОГЕННОГО МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА В ТЕРМОФИЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ*Ю.И. Русскова, Ю.В. Литти, Н.А. Чернова, А.Н. Ножевникова**Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии, РАН, Москва, Россия*

В настоящее время активно изучается недавно открытый процесс межвидового переноса электронов между микроорганизмами. Прямой межвидовой перенос электронов (англ. «Direct Interspecies Electrons Transfer, DIET»), при котором в анаэробном сообществе, включающем синтрофные бактерии и метаногенные археи, электроны переносятся напрямую между клетками этих микроорганизмов без участия переносчиков. При этом существенно увеличивается скорость образования метана из органических субстратов. Открытие DIET в 2010 году положило начало новой научной области – электромикробиологии, изучающей перенос электронов между микроорганизмами в анаэробных условиях (Sasaki et al., 2010; Lovley et al., 2017). Процесс DIET наблюдается при близком контакте клеток микроорганизмов, образующих агрегаты / гранулы, и через электропроводящие клеточные выросты – пили (нанопровода). Было замечено, что отсутствие таких пилей у микроорганизмов может быть компенсировано внесением электропроводящих (кондуктивных) материалов (Rotaru et al., 2012; Liu et al., 2015; Barua, Dhar, 2017). Летучие жирные кислоты (ЛЖК) и спирты, являются основными промежуточными продуктами деградации органических веществ, при анаэробной переработке органических отходов (Ножевникова с соавт., 2016). На последующей ацетогенной стадии происходит разложение ЛЖК синтрофными бактериями с образованием ацетата, водорода и углекислого газа, однако, в случае избыточного накопления ЛЖК может происходить ингибирование образования метана – конечного продукта анаэробной биodeградации. Перспектива эффективного разложения ЛЖК в анаэробных термофильных условиях путем стимулирования процесса DIET кондуктивными материалами для ускорения процесса метаногенеза привлекает внимание биотехнологов и уже находит практическое применение в анаэробных биореакторах за рубежом (Martins et al., 2018).

Лабораторные исследования были направлены на изучение влияния кондуктивных материалов (магнетит (Fe₃O₄) и уголь (карбоновая ткань и гранулированный)) в концентрациях от 1 до 10 г./л на динамику разложения смеси летучих жирных кислот (ЛЖК), вносимых в среду в концентрациях 20–60 мМоль, в виде солей натрия: ацетата, пропионата и бутирата. В качестве инокулята использовали анаэробный ил Люберецких очистных сооружений. Эксперименты проводили при периодическом культивировании (в стеклянных флаконах объемом 120 мл) в термофильных условиях при 55°С, аналогичных существующим в промышленных метантенках России. Образование H₂, CH₄ и CO₂ в газовой фазе и также концентрацию ЛЖК измеряли на газово-жидкостном хроматографе Хроматэк – Кристалл 5000.2 (Россия). Был проведен анализ состава метаногенного сообщества микроорганизмов молекулярно-генетическими методами анализа 16SРНК в посевном контрольном образце ила Люберецких очистных сооружений и при культивировании в присутствии кондуктивных материалов: магнетита и угольной ткани.

При внесении в среду магнетита получены данные о снижении лаг-фазы на 30 % и двукратном ускорении метаболизма ЛЖК, при этом наблюдалось увеличение доли метана до 77 % в биогазе. Показана линейная зависимость скорости метаболизма ЛЖК от концентрации внесенного магнетита. Самый высокий выход метана на 50 % выше, чем в контроле наблюдался в варианте со средней (4,6 г/л) концентрацией магнетита. Кондуктивные материалы на основе угля были менее эффективны, чем магнетит, и, соответственно, обеспечивали незначительное увеличение на 8–20 % скорости разложения ЛЖК в присутствии активированного угля и угольной ткани (5г/л по содержанию угля) соответственно. Около 20 – 43 % метана образуются в результате разложения пропионата и бутирата синтрофными бактериями и метаногенными археями (Stams et al., 2012), следовательно, эффективная биodeградация этих ЛЖК может служить показателем сбалансированной работы анаэробного биореактора.

Наблюдаемая в экспериментах последовательность разложения смеси ЛЖК в термофильных анаэробных условиях: ацетат, бутират, пропионат – согласуется с литературными данными, согласно которым накопление трудно разлагаемого пропионата в анаэробных биореакторах является показателем нестабильности процесса. Для ускорения разложения пропионата может быть рекомендовано применение кондуктивных материалов: магнетита или угольной ткани.

Состав термофильного микробного сообщества на основании анализа 16SPНК был представлен метаногенными археями и бактериями, и при росте на ЛЖК в присутствии кондуктивных материалов произошли некоторые изменения сообщества микроорганизмов (Табл. 1).

Таблица 1 – Состав микробного сообщества (относительное количество, %) при анаэробном разложении ЛЖК (55° С) по данным молекулярного анализа последовательностей гена 16S рНК

Домен, Род	Контроль	С магнетитом	С угольной тканью
Археи			
<i>Methanothermobacter</i>	27	27	50
Бактерии			
<i>Coprothermobacter</i>	17	10	7
<i>Defluviitoga</i>	10	-	2
<i>Hydrothermae</i>	7	8	6
<i>Pelotomaculum</i>	5	5	1
<i>Clostridia (Clostridia DTU014)</i>	5	6	3
<i>Tepidanaerobacter</i>	3	7	7
<i>Aminicenanales</i>	2	-	1
<i>Hydrogenospora</i>	2	6	0,7
<i>Ruminiclostridium</i>	2	1	2
<i>Acetivibrio</i>	–	3	–
Другие виды	20	27	20,3

При внесении угольной ткани в метаногенном консорциуме микроорганизмов наблюдалось увеличение доли архей с 27 % (контроль) до 50 %. В сообществе с внесенным магнетитом доля архей осталась неизменной, однако, наблюдалась более разнообразная структура бактериального компонента сообщества. Во всех образцах (контроль, с магнетитом, с угольной тканью) археи представлены родом *Methanothermobacter*, соответственно, в анализируемом термофильном метаногенном сообществе образование метана шло по гидрогенотрофному пути. Основными бактериальными представителями метаногенного консорциума анаэробного ила являлись микроорганизмы родов *Coprothermobacter*, *Defluviitoga* и *Hydrothermae*. Количество синтрофных бактерий рода *Tepidanaerobacter*, увеличилось в более чем два раза по сравнению с контролем, следовательно, эти бактерии могут играть роль в ускорении синтрофного разложения ЛЖК как в присутствии магнетита, так и угольной ткани. При применении магнетита в метаногенном консорциуме появились представители родов *Hydrogenospora* и *Acetivibrio*, которые не наблюдаются в контроле и в образцах с внесенной угольной тканью.

Магнетит имеет преимущество по сравнению с материалами на основе угля для ускорения процессов анаэробного разложения ЛЖК в термофильных условиях, стимулируя образование биогаза с повышенной долей метана, образуемого гидрогенотрофными археями. В присутствии кондуктивных материалов сформировалось более разнообразное термофильное бактериальное сообщество с основными представителями *Coprothermobacter*, *Hydrothermae* и синтрофными бактериями рода *Tepidanaerobacter*. Сделано предположение, что ускорение процесса метаногенеза и увеличение выхода метана связано с электропроводящими свойствами магнетита, влияющими на стимулирование процесса DIET у представителей родов *Acetivibrio*, *Hydrogenospora*, *Tepidanaerobacter*. Несомненна актуальность данного исследования, направленного на изучение стимулирующего влияния кондуктивных материалов на синтрофное разложение органических веществ термофильным анаэробным консорциумом микроорганизмов за счет стимулирования процесса DIET и улучшения состава продуцируемого в процессе метаногенеза биогаза с повышенным содержанием метана.

*Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ в рамках
научного проекта № 18–38–00275.*

ЛИТЕРАТУРА

Ножевникова А.Н., Каллистова А.Ю., Литти Ю.В., Кевбрина М.В. Биотехнология и микробиология анаэробной переработки органических коммунальных отходов // Под ред. А.Н. Ножевниковой. Москва: Университетская книга. 2016. 320 с.

Barua S., Dhar B.R. Advances towards understanding and engineering direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion // *Bioresource Technology*. 2017. V. 244. P. 698–707.

Liu F., Rotaru A.E., Shrestha P.M., Malvankar N.S., Nevin K.P., Lovley D.R. Magnetite Compensates for the Lack of a Pilin-Associated c-Type Cytochrome in Extracellular Electron Exchange // *Environ. Microbiol.* 2015. V. 17 (3). P. 648–655.

Lovley D.R. Syntrophy Goes Electric: Direct Interspecies Electron Transfer // *Annu. Rev. Microbiol.* 2017b. V. 71. P. 643–664.

Martins G., Salvador A.F., Pereira L., Alves M. Methane Production and Conductive Materials: A Critical Review // *Environ. Sci. Technol.* 2018. V 52. P. 10241–10253.

Rotaru A-E., Shrestha P.M., Liu F., Markovaite B., Chen S., Nevin K.P., Lovley D.R. Direct Interspecies Electron Transfer between *Geobacter metallireducens* and *Methanosarcina barkeri* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014a. V.80. № 15. P. 4599–4605.

Sasaki K., Morita M., Hirano S., Sasaki D., Ohmura N., Igarashi Y. Efficient degradation of rice straw in the reactors packed by carbon fiber textiles // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010. V. 87. P. 1579–1586.

Stams A.J.M., Sousa D.Z., Kleerebezem R., Plugge C.M. Role of syntrophic microbial communities in high-rate methanogenic bioreactors // *Water Science and Technology*. 2012. V. 66. № 2. P.352–362.