

2. Son, K.H. Leaf shape, growth, and antioxidant phenolic compounds of two lettuce cultivars grown under various combinations of blue and red light-emitting diodes / K.H. Son, M-M. Oh // HortScience. – 2013. – № 48(8). – С. 988–995.
3. Sharakshane, A. Whole high-quality light environment for humans and plants / A. Sharakshane // Life Sci Space Res. – 2017. – Nov; 15. – С. 18–22.

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СОЛЮБИЛИЗАЦИИ БУРОГО УГЛЯ

STUDYING THE MICROBIOLOGICAL SOLUBILIZATION OF BROWN COAL

А. Э. Юницкий^{1,2}, И. Е. Лобазова¹, С. Н. Зыль², И. В. Налетов², В. С. Заяц²
A. Unitsky, I. Labazava, N. Zyl, I. Naletov, V. Zayats

¹ООО «Астроинженерные технологии», г. Минск, Республика Беларусь
i.lobazova@aet.space

²ЗАО «Струнные технологии» г. Минск, Республика Беларусь

¹LLC “Astroengineering Technology”, Minsk, Belarus

²Unitsky String Technologies Inc., Minsk, Belarus

Современное технократическое потребление природных ресурсов ухудшает экологию Земли с каждым годом всё больше, в связи с чем перед учёными всех стран остро встает проблема разработки и использования экологически чистых и эффективных технологий. Для достижения этой глобальной цели разработана программа «ЭкоМир» и ведутся многочисленные исследования для её осуществления. В проведенной нами работе предложены обладающие рядом необходимых ферментов микроорганизмы – деструкторы бурого угля, показаны результаты их жизнедеятельности на различных питательных средах. Данная биотехнологическая конверсия является одной из перспективных «зелёных» технологий утилизации твёрдых углеотходов.

Modern technocratic consumption of natural resources worsens the ecology of the Earth every year more and more. The problem of development and use of environmentally friendly and efficient technologies is acute for scientists of all countries. To achieve this global goal has been developed the program EcoSpace and numerous studies are being conducted to implement it. In our study, we proposed microorganisms that destruct brown coal, which have a number of necessary enzymes, and show the results of their vital activity on various nutrient media. This biotechnological conversion is one of the promising «green» technologies for the utilization of solid coal waste.

Ключевые слова: программа «ЭкоМир», деструкция бурого угля, биоконверсия, биосолюбилизация.

Keywords: EcoSpace program, destruction of brown coal, bioconversion, biosolubilization.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2022-2-322-324>

В концепции программы «ЭкоМир» [1] лежит основополагающий тезис «Земля для жизни, Космос – для индустрии». Сотрудниками ЗАО «Струнные технологии» ведутся разносторонние исследования по различным отраслям науки и техники: разрабатываются транспортные технологии и проекты градостроительства, проводятся биологические эксперименты для замкнутых экосистем. Настоящая работа посвящена одному из таких направлений – экологически безопасной утилизации углеотхода – бурого угля.

По негативному воздействию на окружающую среду угольная промышленность занимает одно из ведущих мест среди отраслей топливно-энергетического комплекса, что обусловлено значительным объёмом отходов, получаемых от переработки углей [2].

В этой связи улучшение качества угля, его переработка с использованием экологически чистых и эффективных технологий являются весьма актуальными. Перспективным направлением в повышении энергетических и экологических характеристик ископаемых углей и углеотходов является биотехнологический метод его переработки.

Внедрение в процесс производства биотехнологических процессов соответствует требованиям экологически чистых и устойчивых «зелёных технологий». Одной из перспективных технологий утилизации твёрдых углеотходов, которая согласуется с основными экологическими тенденциями, а также концепцией [1], является технология микробной конверсии отходов угольных шахт с получением свободных гуминовых кислот, применяемых далее для органического земледелия.

В зависимости от способа биоконверсии бурого угля и используемых при этом групп микроорганизмов различают два основных технологических метода переработки – аэробный и анаэробный. В первом случае, за счёт подачи кислорода происходят окислительные процессы, обеспечивающие фракциональную деструкцию, т. е. солюбилизацию структуры бурого угля; во втором – протекают процессы, ведущие к формированию метана и углекислого газа в угольной суспензии.

Биодеградацию бурого угля можно условно разделить на две стадии:

– солюбилизация бурого угля и его перевод в более биодоступное состояние. Является лимитирующей, так как именно в ходе начальной солюбилизации сложнодеградируемые соединения переходят в растворимое состояние. Это происходит главным образом вследствие деструкции органических полимеров и полиядерных ароматических углеводородов по ферментативному механизму. Кроме того, при солюбилизации бурых углей работают щелочной и хелаторный механизмы, которые переводят более низкомолекулярные соединения в растворимую форму;

– транспортировка и включение растворённых соединений в метаболизм клеток. Продукты первой стадии, представляющие собой более биодоступные фрагменты с меньшим молекулярным весом, вовлекаются в метаболизм микроорганизмов и трансформируются до конечных продуктов.

Известно, что основными ферментами, участвующими в биодеградации угля, являются лигнинпероксидаза, Mn-пероксидаза и лакказа [3].

В случае с микроскопическими грибами клетки мицелия выделяют необходимые ферментные системы, которые воздействуют на субстрат (в данном случае бурый уголь), вызывая его деструкцию. Затем происходит полное или частичное поглощение продуктов деструкции клетками микроскопического гриба. Бактерии вырабатывают необходимые для разложения бурого угля ферменты во внешнюю среду и затем, как и грибы, поглощают образовавшиеся экзометаболиты; однако могут использовать и внутриклеточные механизмы деструкции.

Для настоящего исследования были отобраны микроскопический гриб *Trametes versicolor* и бактерии *Acinetobacter pittii*, *Enterobacter cloacae*, *Microbacterium sp.*, *Bacillus sp.*, обладающие необходимыми ферментными системами и/или агрономически ценными функциями, такими как фиксация азота, фосфатсольбилизация и др.

Целью данной работы является выявление биодеструкции бурого угля бактериями видов *Acinetobacter pittii*, *Enterobacter cloacae*, *Microbacterium sp.*, *Bacillus sp.*, а также анализ способности к биодеструкции бурого угля микроскопического гриба *Trametes versicolor* индивидуально и совместно с бактериями *Bacillus sp.*

В качестве питательной среды была использована минеральная среда, содержащая KH_2PO_4 ; K_2HPO_4 ; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$; NaCl и CaCl_2 , а также бурый уголь в следующих пропорциях (к питательной среде): 0.5 %, 1.0 %, 2.0 %, 2.5 %, 5.0 %. В качестве контроля выступала среда без добавок угля, а в качестве положительного контроля – с добавлением 10 % пивного сусла (предполагается максимальный рост микроорганизмов). В ходе эксперимента определяли количество колоний, выросших на чашках – КМАФАнМ, КОЕ/г [4] – до начала эксперимента (обозначено как C_0) и через 2 недели (C_1), результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Изменение концентрации бактерий в процессе их жизнедеятельности на питательных средах с бурым углём

Название микроорганизма	Контроль	ПС+0,5% БУ	ПС+1,0% БУ	ПС+2,0% БУ	ПС+2,5% БУ	ПС+5,0% БУ	Положительный контроль
<i>Acinetobacter pittii</i> - C_0^* , КОЕ/г				$2,5 \times 10^8$			
<i>Acinetobacter pittii</i> - C_1^* , КОЕ/г	1×10^6	1×10^9	1×10^9	1×10^9	1×10^{10}	1×10^{10}	$1,5 \times 10^{12}$
<i>Enterobacter cloacae</i> - C_0^* , КОЕ/г					1×10^{10}		
<i>Enterobacter cloacae</i> - C_1^* , КОЕ/г	5×10^9	5×10^{10}	$1,5 \times 10^{12}$	1×10^{10}	1×10^9	5×10^9	2×10^9
<i>Microbacterium sp.</i> - C_0^* , КОЕ/г					1×10^9		
<i>Microbacterium sp.</i> - C_1^* , КОЕ/г	5×10^7	1×10^{10}	$2,5 \times 10^{11}$	1×10^{12}	1×10^{10}	$7,5 \times 10^{11}$	$1,5 \times 10^{11}$
<i>Bacillus sp.</i> - C_0^* , КОЕ/г					1×10^8		
<i>Bacillus sp.</i> - C_1^* , КОЕ/г	1×10^{10}	5×10^{10}	8×10^{11}	1×10^{12}	3×10^{12}	5×10^{12}	2×10^{11}

ПС – питательная среда; БУ – бурый уголь

где C_0 – начальная концентрация МО, КОЕ/г. C_1 – конечная концентрация МО, КОЕ/г.

В выделенных цветом ячейках указана максимальная концентрация микроорганизмов в процессе их жизнедеятельности, свидетельствующая о потреблении бурого угля в качестве субстрата.

Как видно из представленных данных, можно говорить об использовании микроорганизмами органических соединений бурого угля в качестве источника углерода и, следовательно, о деструкции бурого угля. Наиболее перспективными микроорганизмами при биоразложении бурого угля являются *Bacillus sp* *Enterobacter cloacae* и *Microbacterium sp.*, КМАФАнМ *Enterobacter cloacae* и *Bacillus sp.* на питательной среде, содержащей 5 % бурого угля, и составляют 5×10^{12} КОЕ/г и 5×10^9 КОЕ/г, что выше, чем при выращивании с применением пивного сусла – 2×10^{11} КОЕ/г и 2×10^9 КОЕ/г, соответственно. Это может свидетельствовать об их эффективности при биодеградации бурого угля даже при наличии в составе питательной среды сахаров или о том, что максимум роста пройден и наступила стадия отмирания.

Кроме того, исходя из полученных результатов можно предложить ступенчатую технологическую схему деструкции: при повышенных концентрациях бурого угля (5 % и выше) осуществлять биоразложение с помощью бактерий рода *Bacillus*, после чего в процессе биодеградации бурого угля до содержания 1 % максимально эффективно использование *Enterobacter cloacae*, о чем свидетельствует максимальный рост этих микроорганизмов на средах с различной концентрацией углеотхода.

Далее исследовалась деструкция бурого угля грибом *Trametes versicolor* и бактериями *Bacillus sp*, показавшими наилучший результат при биосолюбилизации. В качестве положительного контроля использована среда Сабуро. В связи с тем, что период созревания мицеллиальных грибов дольше, чем бактерий, наблюдение за экспериментом составило 6 недель, результаты которого представлены на рисунке 1.

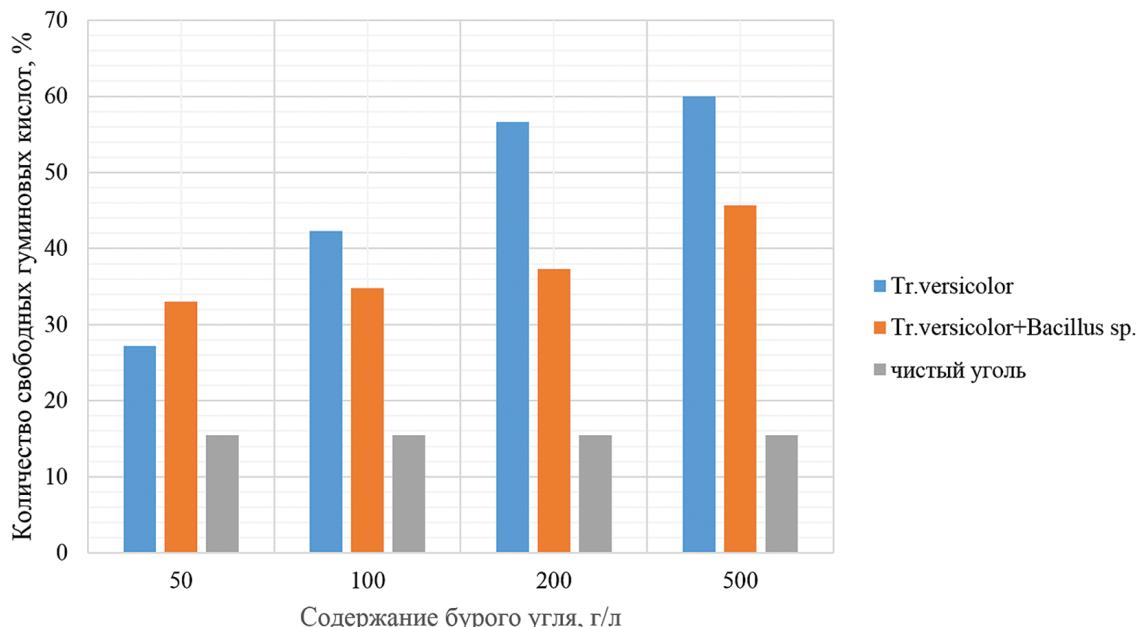


Рисунок 1 – Количество гуминовых кислот в образцах и исходном буром угле

В ходе эксперимента измерены:

– количество гуминовых кислот в буром угле питательной среды до и после культивирования по [5], результаты которых приведены на рисунке 1. Образующиеся в процессе биообработки бурого угля гуминовые кислоты являются промежуточным субстратом для жизнедеятельности микроорганизмов, в результате которой они превращаются в продукты с меньшей молекулярной массой;

– во всех образцах количество бактерий на начало опыта составляло 1×10^7 , по его окончании колебалось в пределах $1,1-1,2 \times 10^7$ КОЕ/г, что говорит о возможном подавлении роста *Bacillus sp.* микроскопическим грибом *Trametes versicolor*.

В процессе выращивания микроскопического гриба *Trametes versicolor* на минеральной среде, включающей бурый уголь в количестве 50 % (500 г/л), концентрация свободных гуминовых кислот в буром угле возросла более чем в три раза.

Деструкция чистой культурой гриба происходит активнее, однако уступает в скорости бактериям *Bacillus sp* *Enterobacter cloacae* и *Microbacterium*.

Таким образом, в ходе работы: а) подобраны микроорганизмы-деструкторы бурого угля и показана их эффективность при различном содержании полезного ископаемого в питательной среде; б) предложена ступенчатая схема с максимальной эффективностью солюбилизации. Данные, полученные во втором эксперименте и демонстрирующие многократный прирост свободных гуминовых кислот, дают основания считать микроскопический гриб *Trametes versicolor* перспективным в качестве микроорганизма-деструктора бурого угля и потому требуют проведения дополнительных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Unitsky, A. System Foundations of Non-Rocket Near Space Industrialization: Problems, Ideas, projects / Anatoli Unitsky. – Minsk : Gradient, 2021. – 567 с.
2. Еришова О.В. К проблеме улучшения экологической обстановки в районах угледопользования // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 12–1. С. 19–22.
3. Sekhohola, L.M. Biological Degradation and Solubilisation of Coal / L.M. Sekhohola, E.E. Igbinigie, A.K. Cowan // Biodegradation. – 2013. – №. 24. – Р. 305–318.
4. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов: ГОСТ 10444.15-94. – Взамен ГОСТ 10444.15-75; введ. 01.01.1996. – М.: Стандартинформ, 2010. – с. 312–317.
5. Топливо твёрдое. Методы определения выхода гуминовых кислот: ГОСТ 9517-94. – Взамен ГОСТ 9517-76; введ. 01.01.1997. – Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 1996. – 9 с.