

# СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ВЫСОКОЙ СОЛЮБИЛИЗИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ БУРОГО УГЛЯ КАЗАХСТАНА

## SCREENING OF MICROORGANISMS WITH HIGH SOLUBILIZING ACTIVITY AGAINST BROWN COAL OF KAZAKHSTAN

**N. Akimbekov  
A. Zhubanova**

*Summary.* Two cultures of microorganisms producing biosurfactants with targeted metabolic activity, i.e. the ability to biosolubilize brown coal were selected. They were identified as *Bacillus* sp. RKB2 and *Providencia* sp. RKB10. It has been shown that cultures in the process of biosolubilization actively generate on media with a high content of brown coal, and the adaptation phase of growth for these microorganisms did not exceed 24 hrs. The maximum biomass growth was observed when the concentration of brown coal in the medium was 5%.

*Keywords:* Brown coal, bacteria, biosolubilization..

**Акимбеков Нуралы**

*Д.философии, Казахский Национальный университет  
имени Аль-Фараби*

**Жубанова Ажар**

*Д.б.н., профессор, Казахский Национальный  
университет имени Аль-Фараби  
akimbeknur@gmail.com*

*Аннотация.* В данной работе авторами отобраны 2 культуры микроорганизмов-продуцентов биосурфактантов с целевой метаболической активностью, т.е. способностью к биосольюбилизации бурых углей. Они были идентифицированы как *Bacillus* sp. RKB2 и *Providencia* sp. RKB10. Показано, что культуры в процессе биосольюбилизации активно размножаются на средах с высоким содержанием бурого угля, причем, адаптационная фаза роста для этих микроорганизмов не превышает 24 часа. Максимальный рост биомассы отмечается при концентрации бурого угля в среде — 5%.

*Ключевые слова:* Бурый уголь, бактерия, биосольюбилизация.

## Введение

**Б**иотехнологические приемы позволяют эффективно и безопасно получать ценные продукты из различного исходного сырья. Достижения биотехнологии с недавних пор начали утилизировать для увеличения добычи и переработки традиционных видов топлив, таких как нефть, мазут, уголь и т.п. [1]. Известно, что ископаемые твердые топлива — это природные полимеры гетерогенного строения, включающие в свой состав различные минеральные, органические и органо-минеральные компоненты. Их соотношение в каждом конкретном топливе в основном определяется степенью его метаморфизма [2]. Биотехнологическая конверсия бурого угля может быть направлено на получение из него различных видов продуктов, а также улучшения его специфических потребительских свойств. Значительный эффект на осуществление процесса биоконверсии органической и минеральной части твердых топлив оказывают вырабатываемые микроорганизмами в процессе их жизнедеятельности сурфактанты и ферменты [3,4].

К настоящему времени, главными направлениями биоконверсии разных углей является оптимизация их экологических характеристик для энерготехнологического использования путем биосольюбилизации (биора-

створение), биодесульфуризации (удаления серных соединений), биодеминерализации и биогазификации [5,6]. В разных работах [7–9], на примере бурого угля, получены прямые доказательства существования огромного числа аборигенных микроорганизмов, пригодных для биоконверсии и биопереработки углей, что делает актуальным изучение факторов их существования и размножения в нативной среде. Использование низкокачественного топлива для утилизации и сжигания требует очистки его от вредных примесей, особенно серосодержащих.

Бурые угли Ленгерского угольного бассейна (Казахстан), промышленные запасы которых оцениваются в 34 000 тыс.т., характеризуются средней зольностью, значительным содержанием серы. Другими причинами, определяющими целесообразность получения из бурого угля Ленгерского происхождения энергоэффективного твердого топлива, являются их средняя влажность [10,11]. С учетом того, что в Казахстане огромная часть населения проживает в поселках и деревнях, проблема производства экологически чистого и безопасного брикетированного топлива для коммунального потребления приобретает большое социальное и экономическое значение.

Цель данной работы — отбор штаммов микроорганизмов с целевой метаболической активностью в отно-

Таблица 1. Технические характеристики проб бурого угля месторождения Ленгера

Показатель	Результат анализа
Массовая доля влаги в аналитической пробе угля, W,%	9,8
Зольность пробы угля, A,%	21,2
Выход летучих веществ в угле, V,%	43
Удельная теплота сгорания пробы угля, Q, кДж/кг	7 300

Таблица 2. Элементный анализ бурого угля Ленгерского угольного месторождения, в расчете на беззольную, безводную массу,%

Элементы	C	H	N	S	O
%	51,3 ± 0,7	3,52 ± 0,1	0,85 ± 0,1	1,61 ± 0,3	42,72 ± 0,6

шении бурого угля Ленгерского угольного месторождения, Казахстан.

### Материалы и методы исследования

#### Отбор проб угля

В работе были использованы бурые (LLI) и окисленные бурые (LLE) угли Ленгерского (Каратауского) угольного бассейна (42°10'51.7»N69°52'58.8»E) Южно-Казахстанской области группы Б3. Отбор проб угля проводили согласно ISO 18283:2006 «Hard coal and coke — Manual sampling and ISO 13909-4:2016 Preview Hard coal and coke — Mechanical sampling — Part 4: Coal — Preparation of test samples» (ГОСТ 10742-71).

Технический анализ угля выполнен в соответствии с [12–16].

Элементный анализ выполнен на стандартной установке vario EL cube (Германия) для элементного микроанализа, а также сканирующем электронном микроскопе JEOL-6380LV (Jeol, Япония), оборудованного EDAX GENESIS2000.

#### Выделение бактерий из проб углей

Пробу угля предварительно растирали в фарфоровой ступке, увлажнив физиологическим раствором, соблюдая правила асептики. Для изоляции культуры подготовленные образцы вносили в МПБ, разлитый в пробирки по 5 мл, после чего инкубировали в термостате при 30 °C в течение 2 часов. Затем культуру высевали на поверхность МПА, разлитого на чашки Петри. Рассев производили стерильной петлей методом истощающего штриха. После посева чашки помещали в термостат при 30 °C в течение 3 суток, затем проводили отбор изолированных колоний. Чистоту культуры микроорганизмов контролировали с помощью микроскопирования и проверяли высевом на плотные среды.

#### Отбор бактериальных культур

Изучение способности к росту на буром угле проводили в 300 мл колбах Эрленмейера с 100 мл стерильной минеральной среды, куда добавляли бурый уголь в концентрации 5%. Бурый уголь стерилизовали в автоклаве при 1 атм. Питательные среды инокулировали двухсуточной бактериальной суспензией с концентрацией клеток бактерий около 108 кл/мл.

Процесс вели в термостатической камере с механическим перемешиванием (150 об/мин) при температуре 30 °C. Продолжительность процесса контакта угля с бактериальной культурой составляла до 14 дней. О способности к росту на среде с бурым углем бактерий судили по интенсивности размножения клеток. Опыты проводили в трехкратной повторности.

### Результаты исследований и обсуждение

Результаты изучения технических характеристик, элементного анализа проб бурого угля месторождения Ленгера представлены в табл. 1 и 2.

Для определения различных физиологических групп культивируемых микроорганизмов бурого угля, были созданы селективные условия, с применением специальных питательных сред, создающих более благоприятные условия для роста и развития определенного инокулята. Так, в результате проведенных исследований с использованием селективной среды, из проб Ленгерского угольного месторождения были выделены 2 культуры микроорганизмов: *Providencia* RKB2 и *Bacillus* RKB10.

В настоящее время изучение микроорганизмов, находящихся в буром угле, сводится, в основном, к поиску микроорганизмов, обладающих ярко выраженной метаболической активностью, которую используют с целью биоконверсии низкокачественных углей [1, 17].

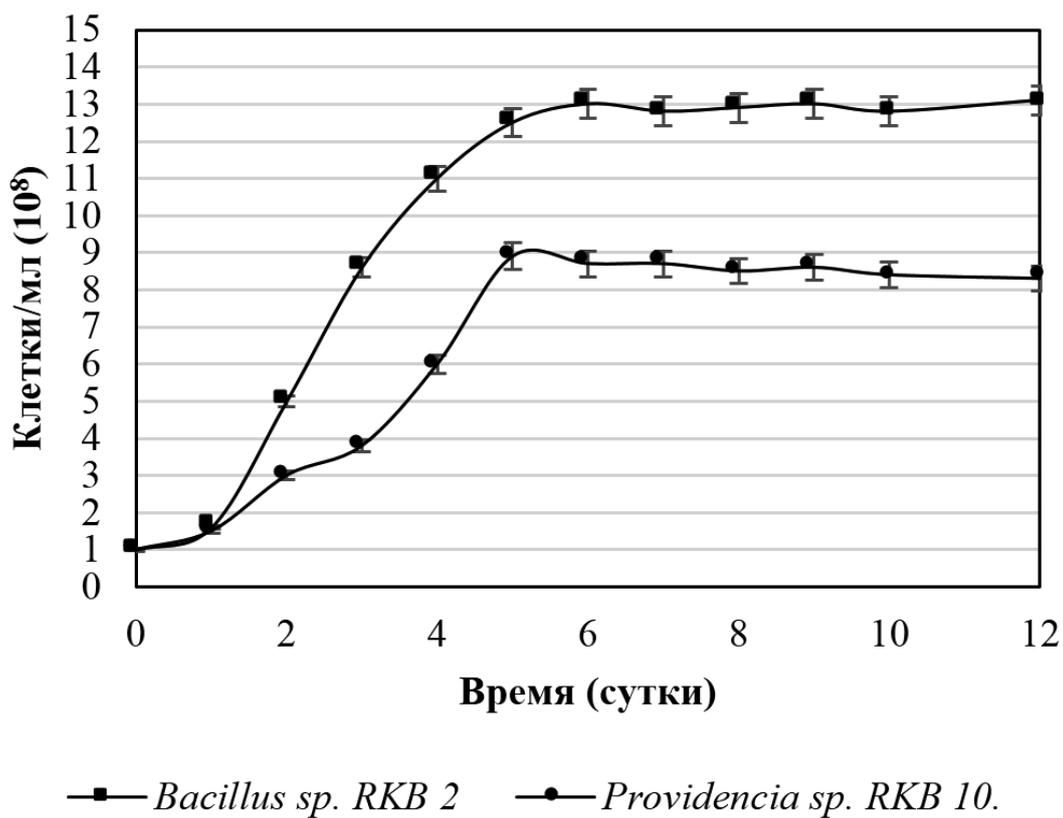


Рис. 1. Динамика роста микроорганизмов продуцентов биосурфактантов на среде с бурым углем

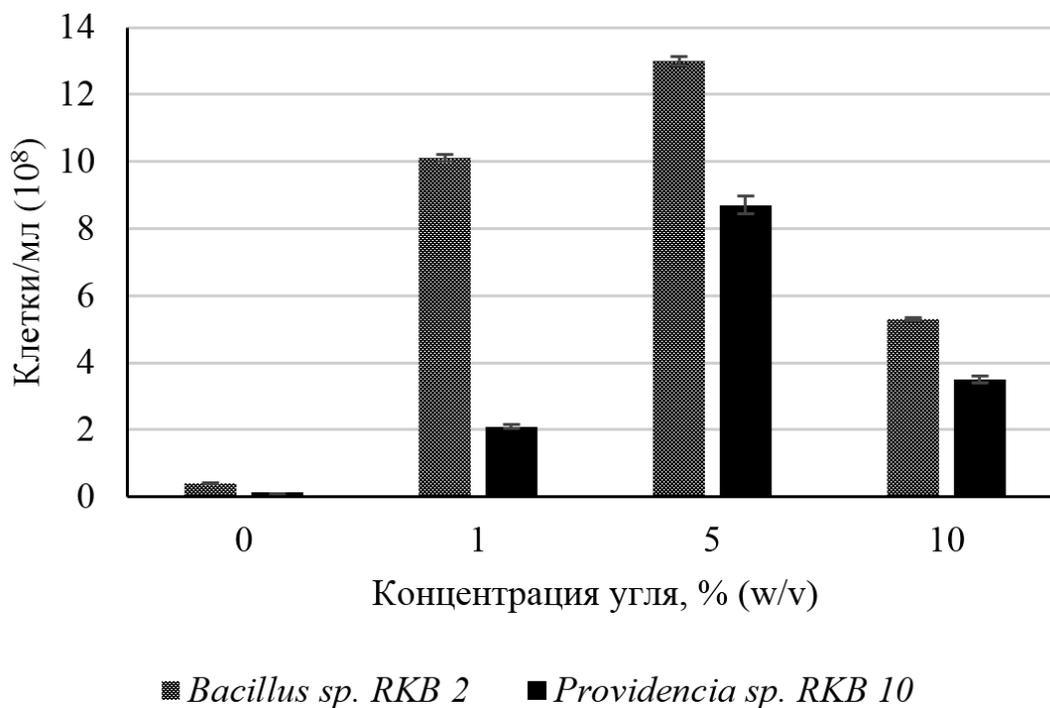


Рис. 2. Рост микроорганизмов на среде с различной концентрацией бурого угля

Для изучения способности чистых культур бактерий к росту на буром угле Ленгерского угольного бассейна, нами были использованы выделенные штаммы бактерий. В опытах по изучению роста инокулянтов на твердом топливе использовалась модифицированная минеральная среда. В качестве единственного источника углерода и азота добавлялся стерилизованный Ленгерский бурый уголь. Метаболическую способность микроорганизмов расти на минеральной среде определяли по динамике изменения количества микробных клеток в суспензии.

На рисунке 1 представлены результаты изучения роста выделенных штаммов на минеральной среде, где в качестве единственного источника углерода использовали уголь в количестве 5%. Эксперимент проводился в течение 14 суток.

Как видно, эти инокулянты размножаются на среде с высоким содержанием бурого угля, причем, адаптационная фаза роста клеток не превышает 24 часов. Следует отметить активное размножение выделенных культур — пик наибольшего количества клеток в среде составил  $13,1 \times 10^8$  кл/мл для RKB2 на 6-е сутки, а для культуры RKB10— $8,9 \times 10^8$  кл/мл на 5-е сутки.

5%-ая концентрация бурого угля в суспензии как оптимальная среда была выбрана с учетом результатов следующих экспериментов. Для этого была изучена динамика роста культур в средах с содержанием угля в концентрациях 0, 1, 5 и 10%. Уголь использовался в качестве единственного источника углерода и энергии. На рисунке 2 представлена динамика изменения количества микробных клеток в суспензии на минеральной среде с различным содержанием бурого угля.

Как показано на рисунке 2, максимальный рост бактерий наблюдался при концентрации бурого угля в среде 5%.

Таким образом, при изучении роста выделенных культур микроорганизмов — продуцентов биосурфактантов в процессе биосольubilизации показано, что оба инокулята размножаются на среде с высоким содержанием бурого угля, причем, адаптационная фаза роста для всех микроорганизмов не превышает 1 сутки. Максимальное количество клеток в суспензии для *Bacillus* sp. RKB2 наблюдалось на 6 сутки инкубирования, когда показатель ОМЧ составил  $1,3 \times 10^9$  кл/мл, тогда как исходный показатель —  $1 \times 10^8$  кл/мл.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Fakoussa R. M., Hofrichter M. Biotechnology and microbiology of coal degradation // *Appl Microbial Biotechnol.* — 1999. — № 52. — P. 25–40.
2. Петрова Г. И. Теоретические и прикладные основы трансформации бурых углей при тепловом и электрохимическом воздействии. афтореф. ... к.т.н.: 25.00.20. — Якутск, 2002. — 17 с.
3. Crawford D. L., Gupta R. K. Influence of cultural parameters on the depolymerization of a soluble lignite coal polymer by *Pseudomonas cepacia* DLC-07 // *Resources, Conservation and Recycling.* — 1991. — № 5 (2). — P. 245–254.
4. Gokcay C. F., Kolankaya N., Dilek F. B. Microbial solubilization of lignites // *Fuel.* — 2001. — № 80 (10). — P. 1421–1433.
5. Laborda F., Redondo M. F., Luna N. Characterization of liquefaction/solubilization mechanisms of Spanish coals by newly isolated microorganisms // *Coal Science and Technology.* — 1995. — № 24. — P. 1387–1390.
6. Angel A., Olegario M., Jose A. Bidesulphurisation of coal by microorganisms isolated from the coal itself // *Fuel Processing Technology.* — 2001. — № 69. — P. 45–57.
7. Nelson V., Liliana G., Manuel P. Production of humic substances through coal-solubilizing bacteria // *Brazilian Journal of Microbiology.* — 2014. — № 43. — P. 911–918.
8. El-Midany A. A., Abdel-Khalek M. A. Reducing sulfur and ash from coal using *Bacillus subtilis* and *Paenibacillus polymyxa* // *Fuel.* — 2014. — № 115. — P. 589–595.
9. Machnikowska H., Pawelec K., Podgórska A. Microbial degradation of low rank coals // *Fuel Processing Technology.* — 2002. — № 77. — P. 17–23.
10. Каирбеков Ж., Ермолдина Э. Т., Каирбеков А. Ж., Джелдыбаева И. М. Комплексная переработка бурых углей южного Казахстана. — Алматы: Қазақ университеті, — 2018. — 454 с.
11. Справочник «Бассейны и месторождения углей и горючих сланцев» // Под ред. А. А. Абдуллина, Х. А. Беспяева, Э. С. Воцалевского, С. Ж. Даукеева, Л. А. Мирошниченко, — Алматы, — 1997. — 122 с.
12. ГОСТ 10742–71, ISO 1988:1975. Угли бурые, каменные, антрацит, горючие сланцы и угольные брикеты. Методы отбора и обработка проб.
13. ГОСТ 11022–90, ISO 1171–81. Топливо твердое минеральное. Метод определения зольности.
14. ГОСТ 11014–81. Угли бурые, каменные, антрацит и сланцы горючие. Ускоренный метод определения влаги.
15. ГОСТ 6382–80. Угли бурые, каменные, антрацит и сланцы горючие. Метод определения выхода летучих веществ.
16. ГОСТ 8606–72. Топливо твердое. Методы определения серы.
17. Baylon M. G., David Y., Pamidimarri S. D., Baritugo K. A., Chae C. G., Kim Y. J., Kim T. W., Kim M. S., Na J. G., Park S. J. Bio-solubilization of the untreated low rank coal by alkali-producing bacteria isolated from soil // *Korean Journal of Chemical Engineering.* — 2017. — 34 (1). — PP. 105–109.

© Жубанова Ажар ( akimbeknur@gmail.com ).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»