

Новости Правительства Республики Тыва [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: http://gov.tuva.ru/press_center/news/building/38779/, свободный (дата обращения: 16.04.2019).

Обзор состояния и загрязнения окружающей среды в Российской Федерации за 2007–2018 гг. [Электрон. ресурс]. – М.: Росгидромет, 2008–2019. – Режим доступа: <http://www.meteorf.ru/product/infomaterials/90/>, свободный (дата обращения 05.03.2019).

О Государственном докладе о состоянии здоровья населения Республики Тыва в 2017 г.: пост. прав. Респ. Тыва от 27.04.2018 г. № 227 [Электрон. ресурс]. – 2018. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/550147526>, свободный (дата обращения 16.04.2019).

Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду: Р 2.1.10.1920–04 (Утв. и введено в действие первым зам. Министра здравоохранения РФ, Гл. гос. сан. врачом РФ Г.Г. Онищенко 05.03.2004 г.) [Электрон. ресурс]. – М., 2004. – 324 с. – Режим доступа: <http://www.gosthelp.ru/text/r2110192004rukovodstvopoo.html>, свободный (дата обращения 27.03.2019).

Тас-оол Л.Х., Калуш Ю.А., Чуникова С.А. 3D-моделирование загрязнения атмосферы на примере г. Кызыла // Геоинформатика. – 2016. – № 3. – С. 12–16.

Тас-оол Л.Х., Хомушку Б.Г., Чуникова С.А., Янчат Н.Н. Геохимические аспекты загрязнения окружающей среды г. Кызыла пылевыми частицами дымовых выбросов // Геоэкология, инженерная геология, гидрогеология, геокриология. – 2016. – № 6. – С. 531–542.

РосРеэлт Тыва [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <https://rosrealt.ru/tyva/Tyva-otlichaetsya-skromnostjyu-individualjnyh-zastroyschikov>, свободный (дата обращения 15.04.2019).

УДК 662.74:663.18

Р.Б. ЧЫСЫМА

Тувинский институт комплексного освоения природных ресурсов СО РАН (Кызыл, Россия)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО РАЗВЕДЕНИЯ УГОЛЬНОЙ СУСПЕНЗИИ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ УГЛЕЙ

В статье приведены результаты опытов по подбору оптимального разведения угольной суспензии для проведения микробиологического анализа. В процессе работы из экспериментально подбираемых разведений определено разведение угольной суспензии в соотношении равное 1 : 100, которое имело существенное преимущество перед остальными, поскольку обеспечивало получение заданного числа изолированных колоний бактериальных клеток и микроскопических грибов. Полученные параметры разведения угольной суспензии могут быть рекомендованы в дальнейших микробиологических исследованиях.

Ключевые слова: каменный уголь, угольная суспензия, колониеобразующая единица, параметры разведения.

Табл. 1. Библ. 15 назв. С. 61–64.

R.B. CHYSYMA

Tuvinian Institute for Exploration of Natural Resources of SB RAS (Kyzyl, Russia)

DETERMINATION OF OPTIMAL DIVISION OF COAL SUSPENSION IN MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF COALS

The article presents the results of experiments on the selection of the optimal dilution of the coal suspension for microbiological analysis. In the course of work, the dilution

of the coal suspension was determined from experimentally selected dilutions in a ratio of 1: 100, which had a significant advantage over the others, since it provided a specified number of isolated colonies of bacterial cells and microscopic fungi. The obtained parameters of dilutions of coal suspension can be recommended in further microbiological studies.

Keywords: coal, coal suspension, colony-forming unit, breeding parameters.

Table 1. References 15. P. 61–64.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы вопросы биологической переработки каменного угля привлекают всё большее внимание (Васючков, Стулишенко, 2011, с. 190; Иванов, 2007, с. 5; Иванов и др., 2016, с. 190; Aller et al., 2001, p. 45; Aytar et al., 2014, p. 634; Soleimani et al., 2007, p. 570). В настоящее время имеется множество публикаций, в которых показан анализ методов и подходов по оценке биоразнообразия микроорганизмов, участвующих в биологической переработке углей (Drobner et al., 1990, p. 2922; Handayani et al., 2017, p. 84; Isbister, Kobyliniski, 1985, p. 627).

Одним из важнейших составляющих в изучении биоразнообразия микробных сообществ, остаются прямой микроскопический метод и метод посева. При проведении микробиологического анализа оптимальное разведение исследуемого субстрата является первым и определяющим этапом, т. к. от качества соотношения разбавления и субстрата во многом зависят результаты дальнейших исследований. В этой связи для минимизации погрешностей, при проведении микробиологического анализа рассматриваемые вопросы являются важными.

ЦЕЛЮ настоящей работы является: выбор оптимального разведения угольной суспензии для микробиологического анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили образцы каменного угля Каа-Хемского месторождения. Для подготовки суспензии угольные образцы были измельчены до порошкообразного состояния в агатовой ступке. Для десорбции микроорганизмов и дезагрегирования микроколоний с угольных частиц использовали обработку угольного образца ультразвуком на диспергаторе УЗДН-1 при следующем режиме: время обработки образца — 4 мин., сила тока — 0,44 А, частота — 15 кГц (Буланкина и др., 2007, с. 239). В подготовке соответствующих разведений угольной суспензии использовали стерильную водопроводную воду. Навеску угля в 1 г переносили в колбу с 10 мл стерильной водопроводной воды. Далее 1 мл угольной суспензии из колбы (разведение 1:10) последовательно переносили в ряд пробирок с 10 мл стерильной водопроводной водой. В результате нами были выбраны ряд последовательных разведений: 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000; 1:100000, с последующим высевом на чашки Петри с питательными средами. Для учёта бактериальных колоний, посев 0,1 мл суспензии производили на глюкозо-пептонную дрожжевую среду, а для грибов на среду Чапека, по 5 параллельных высевок из каждого разведения угольной суспензии.

Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики с использованием пакетов программ Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клетки микроорганизмов, попав в питательную среду, начинают размножаться и образуют видимые невооружённым глазом колонии. Каждая колония на чашке с питательной средой вырастает из одной колониеобразующей единицы (КОЕ), которая может представлять собой бактериальную, дрожжевую клетку, кусочек мицелия актиномицета или гриба. Учитывая колонии микроорганизмов, выросшие на питательной среде, можно определить количество КОЕ в 1 г исследуемого субстрата (Зенова и др., 2002, с. 10). Для изучения роста бактерий, нами, из экспериментально подбира-

емых разведений произведены посевы на глюкозопептонный дрожжевой агар. Динамика роста бактериальных клеток представлена в *таблице 1*.

Таблица 1. Средние значения показателей роста микроорганизмов из разных разведений угольной суспензии

Степень разведения угольной суспензии	Рост бактерий (глюкозопептонный дрожжевой агар)			Рост грибов (среда Чапека)		
	среднее число колоний в абсолютных числах	КОЕ* / г	время инкубации посевов, сут.	среднее число колоний в абсолютных числах	КОЕ* / г	время инкубации посевов, сут.
1:10	> 390 колоний	390×10^1	7–14**	$405 \pm 6,15$	290×10^1	7–10***
1:100	$67 \pm 2,13$	67×10^2	7–14**	$59 \pm 3,51$	59×10^2	7–10***
1:1000	$36 \pm 0,72$	36×10^3	7–14**	$42 \pm 1,93$	42×10^3	10–14***
1:10000	$14 \pm 0,09$	14×10^4	7–14**	$25 \pm 0,17$	25×10^4	14–21***
1:100000	<10 колоний	0	14–21**	отсутствие роста колоний	0	14–21***
1:1000000	отсутствие роста колоний	0	7**	отсутствие роста колоний	0	14–21***

Примечания: * КОЕ / г — колониобразующая единица в 1 грамме угля;

**учёт интенсивности роста бактерий;

***учёт интенсивности роста грибов.

Для правильного определения численности КОЕ подсчитывали только чашки с питательными средами, в которых колоний свыше 10 и не более 250–300 (Учёт численности...: Электрон. ресурс, с. 1). Из данных таблицы видно, что посев 0,1 мл суспензии угля из разведения 1 : 10 характеризуется максимальными значениями числа колоний при значительной плотности роста. Наблюдается сплошной рост в виде бесцветных прозрачных колоний разных размеров ($d = 1,0$ до $5,0$ мм), количество КОЕ — более 390. При посеве 0,1 мл взвеси угля из разведения 1 : 100, динамика показателей роста были значительно ниже, и среднее число колоний составляло $67 \pm 2,13$, при 67×10^2 КОЕ/г. В разведении 1 : 1000 показатель роста бактерий составлял $36 \pm 0,72$ (36×10^3 КОЕ/г). В посевах с разведениями 1 : 10000 среднее число колоний было $14 \pm 0,09$ при 14×10^4 КОЕ/г. В посевах из разведений 1 : 100000 и 1 : 1000000 обнаружено от 10 до 0 бактерий.

Микроскопические грибы значительно различаются способностью использовать для питания разнообразные соединения углерода. Многие органические соединения и синтетические материалы, после попадания в почву начинают разлагаться плесневыми грибами и бактериями. Практически не существует органических соединений, которые не усваивались бы микроорганизмами (Исследование...: Электрон. ресурс).

Исследование роста грибов для выбора оптимальной концентрации разведения осуществляли в стандартных для почвенно-микробиологических анализов условиях — на среде Чапека при температуре $+25^\circ\text{C}$, после взбалтывания на качалке. Агар Чапека разработан чешским учёным Фридрихом Чапеком в 1902 г. используется как универсальная среда для культивирования многих плесневых и сапрофитных грибов в лабораторных условиях.

Характер и продолжительность ростовых ритмов, так же как и радиальная скорость роста, зависят от систематического положения гриба, его возраста (возраста культуры), концентрации в среде основных источников питания и энергии, а также других (Романов, 1980, с. 11). Ритмы роста грибов варьируют от 4–5 часов до 7–9 суток, нескольких недель и даже лет (Шаркова, 1971, с. 491). В наших исследованиях, в зависимости от степени разведения угольной суспензии, ритм роста колоний грибов был различным, и составлял от 7 до 21 дней (см. табл. 1). Так, более короткая продолжительность фазы роста грибов наблюдалась при посеве угольной суспензии в разведении 1 : 10 (7–10 суток), общее число выросших колоний составляло $405 \pm 6,15$ в абсолютных числах. Прорастание колоний грибов в разведении 1 : 100 составляло в

среднем $59 \pm 3,51$ колоний. Рост грибов в разведениях 1:1000 и 1:10000 наступал только через определённый интервал времени, на 14-е сутки культивирования и составил от $42 \pm 1,93$ до $25 \pm 0,17$ колоний соответственно. При посеве в разведениях 1:100000 и 1:1000000 прорастания грибов в питательной среде не наблюдалось.

Таким образом, в результате изучения роста бактерий, методом посева на питательные среды из экспериментально подбираемых разведений установлено, что разведение угольной суспензии в соотношении равное 1:100 имело существенное преимущество перед остальными, поскольку обеспечивало получение заданного числа изолированных колоний бактериальных клеток и микроскопических грибов. Полученные параметры разведений угольной суспензии, могут быть рекомендованы в дальнейших микробиологических исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

- Буланкина М. А., Лысак Л. В., Звягинцев Д. Г. Микроорганизмы бурого угля // Изв. РАН. Серия биологическая. – 2007. – № 2. – С. 239–243.
- Васючков Ю.Ф., Стулишенко А.Ю. Анализ бактериальных культур для дезинтеграции угольного массива // Горный информ.-аналит. бюллетень. – 2011. – № 11. – С. 190–197.
- Иванов И.П. Основные направления биотехнологической обработки углей // Химия твёрдого топлива. – 2007. – № 1. – С. 5–13.
- Иванов И.П., Теремова М.И., Ерёмкина А.О., Головина В.В., Козлова С.А., Чесноков Н.В., Кузнецов Б.Н. Влияние аэробной биопереработки на состав и сорбционные свойства бурого угля Березовского месторождения // Журн. Сибирского федерального университета. Серия: Химия. – 2016. – № 1. – Т. 9. – С. 49–59.
- Зенова Г.М., Степанов А.Л., Лихачева А.А., Манучарова Н.А. Практикум по биологии почв: Учеб. пособие. – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 120 с.
- Романов Ю.А. Биологические ритмы на разных уровнях биологической организации // Проблемы космической биологии. – 1980. – № 4. – С. 10–25.
- Шаркова Т.С. Цитохимическая характеристика спорулирующей и вегетативной зон культуры *Trichothecium roseum* // Микология и фитопатология. – 1971. – № 6. – С. 490–493.
- Aller Á. et al. Bidesulphurisation of coal by microorganisms isolated from the coal itself // Fuel processing technology. – 2001. – № 69 (1). – P. 45–57.
- Aytar P. et al. Isolation and characterization of native microorganism from Turkish lignite and usability at fungal desulphurization // Fuel. – 2014. – № 116. – P. 634–641.
- Drobner E., Huber H. and Stetter K.O. Thiobacillus ferrooxidans, a facultative hydrogen oxidizer // Appl. Environ. Microbiol. – 1990. – № 56. – P. 2922–2923.
- Handayani I. et al. Bidesulfurization of organic sulfur in Tondongkura coal from Indonesia by multi-stage bioprocess treatments // Hydrometallurgy. – 2017. – № 168. – P. 84–93.
- Isbister J.D., Kobylinski E.A. Microbial desulfurisation of coal // Coal Sci Technol 9: Proceedings of Intern. Conf. on Processing and Utilization of High sulfur Coals (13–17.10.1985, Columbus, Ohio). – Amsterdam, 1985. – P. 627–642.
- Soleimani M., Bassi A., Margaritis A. Bidesulfurization of refractory organic sulfur compounds in fossil fuels // Biotechnol. Adv. – 2007. – № 25. – P. 570–596.
- Учёт численности микроорганизмов (КОЕ) в почве методом питательных пластин в сочетании с методом последовательных разведений [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://5rik.ru/best/best-10464.php>, свободный (дата обращения 24.07.2019).
- Исследование роста микромицетов на различных субстратах [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <https://mirznanii.com/a/7880/issledovanie-rosta-mikromitsetov-na-razlichnykh-substratakh>, свободный (дата обращения 24.07.2019).