

**ВЫЯСНЕНИЕ ОСНОВНЫХ ПАРАМЕТРОВ КОАГУЛЯЦИИ И ПУТЕЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ  
ГУМАТА КАЛИЯ С ЭКЗОБЕЛКОМ МИКРОМИЦЕТА****В.Н.Шевкопляс, Н.В.Дорошкевич\*****ELUCIDATION OF BOTH BASIC PARAMETERS OF THE COAGULATION AND WAYS OF INTERACTION  
BETWEEN POTASSIUM HUMATE AND MYCROMICETE EXSOPROTEINE****V.N.Shevkoplyas, N.V.Doroshkevich\***

*Институт физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко, Донецк, v-shevkoplyas@ukr.net  
\*Объединенный институт ядерных исследований, Дубна*

Показано, что экзобелок (далее биологический коагулянт, БК), который микромицет продуцирует в среду культивирования, способен взаимодействовать с гуматом калия (ГК) и в дальнейшем коагулировать и осаждаться в виде комплексов. Скорость и время взаимодействия ГК с БК зависит от их соотношения в растворе. Установлено, что при соотношении 2,37:1 (ГК+БК) или 0,00141 г/мл ГК+12,73 мкг/мл БК происходит полное осаждение ГК. Проанализирована взаимосвязь между соотношением ГК+БК в растворе и эффективностью осаждения ГК. Определена скорость осаждения, время и изменение pH-среды от количества БК в растворе. Проанализированы пути взаимодействия ГК с БК с использованием метода ИК-спектроскопии.

**Ключевые слова:** экзобелок (БК), гумат калия (ГК), коагуляция/осаждение, взаимосвязь, ИК-спектроскопия, пути взаимодействия

**Для цитирования:** Шевкопляс В.Н., Дорошкевич Н.В. Выяснение основных параметров коагуляции и путей взаимодействия гумата калия с экзобелком микромицета // Вестник НовГУ. Сер.: Технические науки. 2021. №4(125). С. 77-82. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.4\(125\).77-82](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.4(125).77-82)

The work shows that exoprotein (hereinafter biological coagulant, BC), which the micromycete produces in the cultivation medium, can interact with the potassium humate (PH) and subsequently coagulate and sediment in the form of complexes. The rate and time of interaction between PH and BC depend on their ratio in solution. It has been found that when using 2.37:1 (PH+BC) or 0.00141 g/ml PH+12.73 mcg/ml BC, complete sedimentation of PH occurs. The interrelation between the PH+BC in solution and the efficiency of PH sedimentation has been analyzed. The sedimentation rate, time and the change in the pH of the medium on the amount of BC in the solution have been determined. The ways of interaction of PH with BC have been analyzed using the method of IR spectroscopy.

**Keywords:** exoprotein (BC), potassium humate (PH), coagulation/sedimentation, interrelation, IR spectroscopy, interaction ways

**For citation:** Shevkoplyas V.N., Doroshkevich N.V. Elucidation of both basic parameters of the coagulation and ways of interaction between potassium humate and mycromicete exsoproteine // Vestnik NovSU. Issue: Engineering Sciences. 2021. №4(125). P.77-82. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.4\(125\).77-82](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.4(125).77-82)

**Введение**

В настоящее время в мире интенсивно ведутся работы научного и прикладного значения по использованию биологического способа переработки и утилизации природных углеродсодержащих соединений как альтернативного уже существующим способам. Преимущество биологического способа переработки состоит в том, что это энергоемкий процесс, не требует больших капитальных затрат, проводится в аппаратах-ферментерах без повышенных давлений и при низких температурах и не оказывает негативного влияния на окружающую среду. Такой подход позволяет получать из углеродсодержащих соединений различные продукты, имеющие практическое применение: белки, аминокислоты, витамины, лекарственные препараты и биологически активные вещества. Для достижения поставленной цели используются различные виды бактерий и грибов [1]. На сегодня биоконверсия твердых топлив и их отходов осуществляется по следующим направлениям:

1. Окисление метана, выделяющегося из угольных пластов в подземных забоях при их выемке, метанотрофными бактериями до безопасных концентраций, что позволяет работать шахте в нормальном режиме [2].

2. Биогазификация твердых топлив метанобразующими анаэробными бактериями [3], что позволяет получать из угля метан и водород в смеси с другими летучими углеводородами.

3. Биовыщелачивание как способ удаления питательной и органической серы из углей и отходов обогащения тионовыми и термофильными бактериями [4] или как метод окисления сульфидов металлов бактериями находит применение в горнодобывающей промышленности для извлечения мелкорассеянных благородных металлов из руд [5].

4. Растворение/оживление органической массы твердых топлив, которое подразумевает способность микроорганизмов метаболизировать природные углеродсодержащие соединения [6].

Перспективным направлением исследований является вовлечение в процессы конверсии гумино-

вых веществ — соединений, извлекаемых из торфа и бурых углей щелочной экстракцией, как для изучения механизма биотрансформации твердых топлив, так и получения на их основе новых веществ, обладающих рядом полезных физико-химических свойств [7-8]. На сегодня в ряде работ [9-10] было показано, что структурная модификация гуминовых кислот путем целенаправленного введения новых химических функций позволяет получить новые ПАВ, полимерные материалы, комплексообразующие агенты, средства защиты растений или новые лекарственные препараты.

Целью данной работы было использование на примере ГК модельных соединений для определения основных параметров процесса коагуляции/осаждения ГК экзобелком (БК), который микромицет продуцирует в среду культивирования; применение ИК-спектроскопии для полуквантитативной оценки основных путей взаимодействия ГК с БК.

### Экспериментальная часть

Водорастворимые структуры бурого угля ( $C^{daf} = 66,8\%$ ) — гуматы калия (ГК) получали по методике [11], согласно которой навеску угля обрабатывали 1%-м раствором NaOH при температуре  $80^\circ\text{C}$  в течение 2 часов. Затем раствор ГК охлаждали и центрифугировали в течение 15 мин при частоте 2000 об/мин. Далее насыщенный водный раствор ГК был высушен при  $105^\circ\text{C}$  до твердокристаллического состояния, в котором ГК и являлся исходным материалом для проведения исследований по биоконверсии.

Для наработки КЖ с заданным количеством экзобелка (биологический коагулянт — БК) был использован микромицет *Penicillium* sp.8-98, выращенный на сусловой среде в течение 5 месяцев при температуре  $22^\circ\text{C}$ . Отработанную культуральную жидкость (КЖ) фильтровали, а общее количество БК ( $C$ ) определяли на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 595 нм методом Бредфорда [12]. Для подсчета  $C$  была использована формула:  $C = d/3,2 \cdot 10^{-4}$ , где  $d$  —

оптическая плотность раствора;  $3,2 \cdot 10^{-4}$  — коэффициент, константа. Согласно предложенной методике, содержание БК в КЖ составляло 42,9 мкг/мл.

Методика проведения эксперимента состояла в следующем. В пробирку с КЖ ( $20 \text{ см}^3$ ), содержащую заданное количество БК (мкг/мл), добавляли 0,2%-й раствор ГК и затем определяли скорость и время коагуляции/осаждения ГК. Для получения более достоверной информации о процессе взаимодействия ГК с БК в эксперименте использовался широкий спектр соотношений ГК÷БК от 50:1 (избыток ГК) до 1:20 (избыток БК), чтобы найти необходимое количество БК, способное выявить минимальный порог коагуляции ГК и последующее его осаждение. Для всех опытов фиксировалось время коагуляции и осаждения ГК и определялась эффективность процесса. Исходная величина pH 0,2%-го раствора ГК составляла 5,85, а КЖ (далее раствор) — 2,65.

Запись ИК-спектров исследуемых образцов проводили на спектрофотометре UR-20 в области спектра  $3600\text{--}400 \text{ см}^{-1}$ . Анализ ИК-спектров выполняли методом базовой линии [13]. Интерпретацию полюс поглощения ли по данным работ [14-15].

### Результаты и обсуждение

Экспериментальные данные по взаимодействию ГК с БК представлены в табл. 1. Было установлено, что коагуляция ГК начинается сразу после введения БК в пробирку с ГК, однако время осаждения ГК зависит от количества БК в растворе. Определено (табл. 1, опыт. 10), что скорость и время коагуляции/осаждения зависит от соотношения ГК÷БК в исследуемом растворе. При соотношении 2,37:1 (ГК÷БК) или 0,00141 г/мл ГК÷12,73 мкг/мл БК происходит полное осаждение ГК. Это данные были взяты за основу для расчета необходимого и реального количества БК в растворе для связывания ГК, а также отсюда была определена эффективность осаждения ГК для каждого конкретного опыта.

Таблица 1

Экспериментальные данные по коагуляции/осаждению ГК (0,002 г/мл) БК (49,2 мкг/мл)

| Опыт | ГК÷БК  | Количество ГК в растворе, г/мл | Количество БК в растворе, мкг/мл | Необходимое кол-во БК, мкг/мл | Реальное кол-во БК, мкг/мл | Эффективность осаждения, % |
|------|--------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1    | 50:1   | 0,00196                        | 0,841                            | 17,7                          | -16,86                     | 4,8                        |
| 2    | 25:1   | 0,00192                        | 1,650                            | 17,33                         | -15,68                     | 9,5                        |
| 3    | 20:1   | 0,00191                        | 2,043                            | 17,15                         | -15,11                     | 11,9                       |
| 4    | 15:1   | 0,00188                        | 2,681                            | 16,97                         | -14,29                     | 15,8                       |
| 5    | 10:1   | 0,00182                        | 3,900                            | 16,43                         | -12,53                     | 23,7                       |
| 6    | 5:1    | 0,00167                        | 7,150                            | 15,08                         | -7,93                      | 47,4                       |
| 7    | 4:1    | 0,00160                        | 8,580                            | 14,45                         | -5,87                      | 59,4                       |
| 8    | 3:1    | 0,00150                        | 10,725                           | 13,57                         | -2,81                      | 79,2                       |
| 9    | 2,5:1  | 0,00143                        | 12,730                           | 12,82                         | 0,56                       | 95,6                       |
| 10   | 2,37:1 | 0,00141                        | 14,300                           | 12,73                         | 0                          | 100,0                      |
| 11   | 2:1    | 0,00133                        | 17,160                           | 12,01                         | +2,29                      | 119,1                      |
| 12   | 1,5:1  | 0,00120                        | 21,450                           | 10,83                         | +6,33                      | 162,5                      |
| 13   | 1:1    | 0,00100                        | 28,600                           | 9,03                          | +12,42                     | 237,5                      |
| 14   | 1:2    | 0,00067                        | 30,640                           | 60,5                          | +22,55                     | 472,7                      |
| 15   | 1:2,5  | 0,00057                        | 32,175                           | 5,15                          | +25,49                     | 595,0                      |
| 16   | 1:3    | 0,00050                        | 34,320                           | 4,51                          | +27,67                     | 718,5                      |
| 17   | 1:4    | 0,00040                        | 34,320                           | 3,61                          | +30,71                     | 950,7                      |
| 18   | 1:5    | 0,00033                        | 35,730                           | 2,98                          | +32,75                     | 1199,0                     |
| 19   | 1:10   | 0,00018                        | 39,000                           | 1,64                          | +37,36                     | 2378,0                     |
| 20   | 1:20   | 0,00095                        | 40,857                           | 0,86                          | +40,00                     | 4751,2                     |

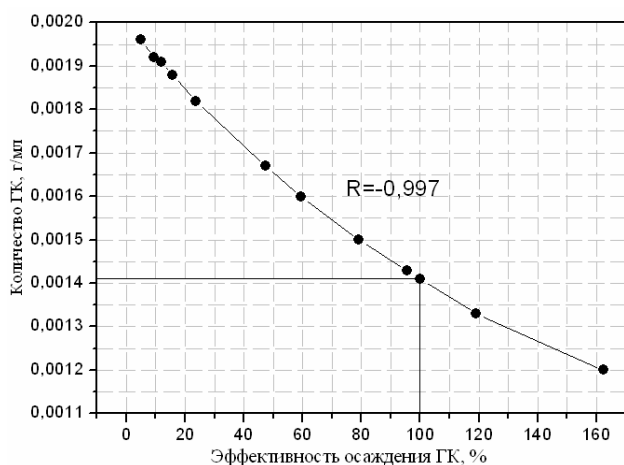


Рис.1. Эффективность осаждения ГК от его количества в растворе в диапазоне соотношений от 20:1 (ГК÷БК) до 1:1 (ГК÷БК)

На рис.1 показана эффективность осаждения ГК в зависимости от его количества в растворе в диапазоне соотношений от 20:1 до 1:1 (ГК÷БК), которая хорошо описывается уравнением линейной регрессии с высоким коэффициентом  $R = 0,997$ .

На основании экспериментальных данных были получены кривые, позволяющие проследить за процессом коагуляции/осаждения ГК в широком диапазоне значений ГК÷БК. Согласно рис. 2, время осаждения ГК существенно зависит от содержания БК в растворе. Наиболее интенсивно процесс протекает в интервале значений БК от 15 до 10,5 мкг/мл. Избыточное количество БК в растворе существенно не влияет на осаждение ГК.

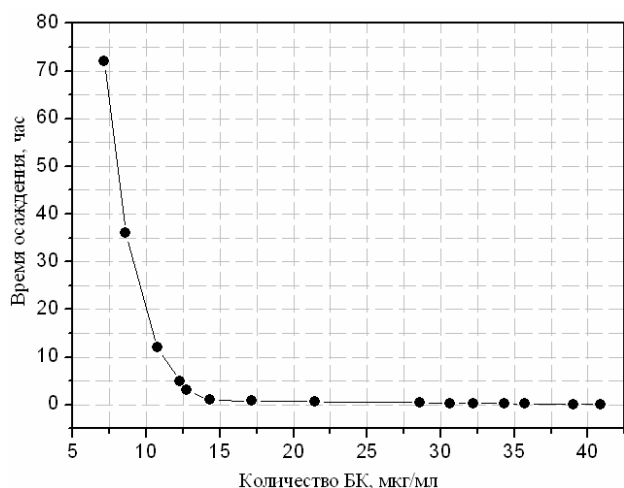


Рис.2. Время осаждения ГК от количества БК в растворе

Одновременно с повышением содержания БК в растворе интенсивно снижается величина pH от значений 5,8 до 2,75 и в дальнейшем повышение количества БК в растворе не оказывает существенного влияния на изменение pH (рис.3).

Следовательно, можно заключить, что эффективность осаждения ГК значительно увеличивается вследствие повышения количества БК в растворе, который проявляет комплексообразующие свойства кислотной природы.

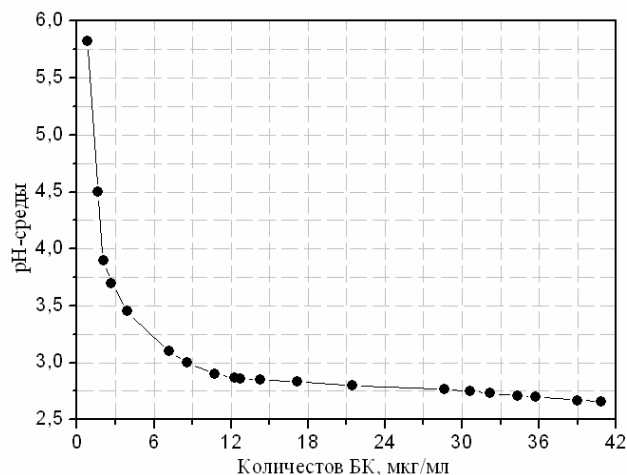


Рис.3. Изменение pH-среды в зависимости от количества БК в растворе

Для получения дополнительной информации по механизму коагуляции/осаждению ГК была проведена ИК-спектроскопия исходных ГК и БК, а также проанализированы их спектры после проведения эксперимента.

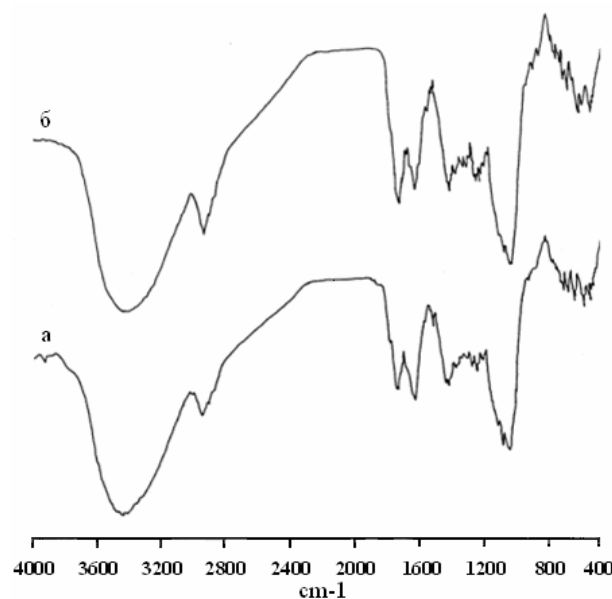


Рис.4. ИК-спектр БК: а — исходный (контроль); б — после коагуляции с ГК (эксперимент)

На рис.4 приведены ИК-спектры БК до (контроль) и после коагуляции с ГК (эксперимент). Согласно табл.2, после проведения эксперимента в структуре БК снижается интенсивность полос поглощения в области 3600-3200 см<sup>-1</sup> (ОН- группы фенольных), при 1720-1700 см<sup>-1</sup> (C=O связь карбонильной группы) и 1270-1220 см<sup>-1</sup> (C-O связь ОН- групп фенолов, карбоновых кислот и эфиров) и при 1090-1040 см<sup>-1</sup> (протяженность C-O связи), которые характеризуют наличие в БК структур, содержащих кислород, а при 1660-1630 см<sup>-1</sup> могут указывать на деформационные колебания в аминах (NH), нитратах (N=O) и амидах (C=O). Наличие полос при 630-540 см<sup>-1</sup> могут указывать на снижение C-S связи или характери-

зуют изменения в складчатой структуре (1,3- и 1,2,3-замещения в ароматическом кольце) БК после эксперимента. Можно предположить, что после взаимодействия с ГК в структуре БК снижено количество структур, в состав которых входит активный кислород.

Таблица 2  
Данные ИК-спектроскопии БК до (контроль)  
и после коагуляции с ГК (эксперимент):  
соотношение 2:1 (ГК÷БК)

| Интенсивность полос поглощения, $\text{см}^{-1}$ | Образец  |             |
|--------------------------------------------------|----------|-------------|
|                                                  | Контроль | Эксперимент |
| 3430                                             | 0,91     | 0,71        |
| 2940                                             | 0,19     | 0,10        |
| 1720–1700                                        | 0,35     | 0,24        |
| 1660–1630                                        | 0,31     | 0,28        |
| 1440–1400                                        | 0,32     | 0,24        |
| 1270–1200                                        | 0,30     | 0,22        |
| 1120                                             | 0,50     | 0,39        |
| 1090                                             | 0,58     | 0,46        |
| 630–540                                          | 0,16     | 0,10        |

Согласно рис.5 и табл.3 видно, что наибольшие изменения в структуре ГК происходят в области  $1660\text{--}1550\text{ см}^{-1}$  и  $1310\text{--}1120\text{ см}^{-1}$ . Появление новой полосы при  $1660\text{--}1640\text{ см}^{-1}$  и при  $1550\text{ см}^{-1}$  указывает на наличие  $\text{C}=\text{O}$  связи карбонила в металлосодержащих солях органических кислот. Увеличение интенсивности полосы при  $1040\text{ см}^{-1}$  при одновременном исчезновении полосы при  $1600\text{ см}^{-1}$  у ГК (контроль) подтверждает наличие окисленных структур в составе ГК ( $\text{C}=\text{O}$  связь хинона) с последующим образованием водородной связи между окисленными фрагментами. Появление новых полос при  $1310$  и  $1270\text{--}1220\text{ см}^{-1}$  (эксперимент) может указывать на окисление  $\text{C}=\text{C}$  алифатической связи с образованием эпоксида или окисление концевых  $\text{CH}_2$  и  $\text{CH}_3$ - групп. Снижение интенсивности полос при  $1450$  и  $1380\text{ см}^{-1}$  может указывать на уменьшение длины алифатической цепи при разрыве  $\text{C}\text{--}\text{C}$  связи в структуре ГК.

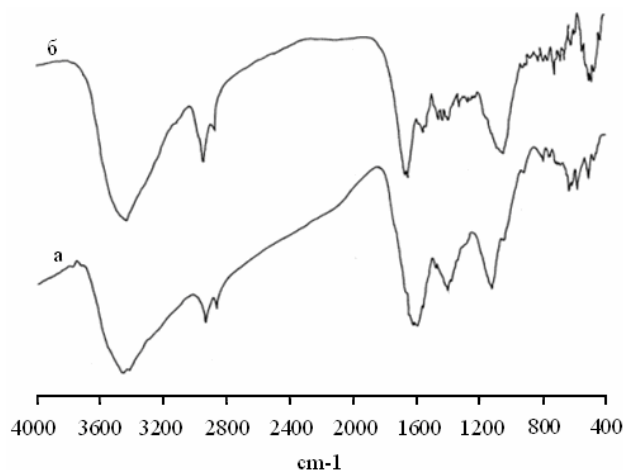


Рис.5. ИК-спектр ГК: а — исходный (контроль); б — после коагуляции с БК (эксперимент)

Таблица 3  
Данные ИК-спектроскопии ГК до и после  
коагуляции БК

| Интенсивность полос поглощения, $\text{см}^{-1}$ | Образец  |             |
|--------------------------------------------------|----------|-------------|
|                                                  | Контроль | Эксперимент |
| 3450                                             | 0,35     | 0,49        |
| 2940                                             | 0,11     | 0,17        |
| 1660–1640                                        | —        | 0,35        |
| 1600                                             | 0,37     | —           |
| 1550                                             | —        | 0,21        |
| 1450–1425                                        | —        | 0,18        |
| 1310                                             | —        | 0,16        |
| 1270–1250                                        | —        | 0,14        |
| 500–470                                          | 0,07     | 0,12        |

Примечание: ГК после взаимодействия с БК был отмыт в дистиллированной воде и высушен при н.у.

Согласно рис. 6 и табл. 4 можно предположить, что при соотношении ГК÷БК (5:1) в растворе находится недостаточное количество БК для связывания ГК полностью. Однако при соотношении ГК÷БК (1:5) на спектре ГК появляется новая полоса при  $1330\text{ см}^{-1}$  и одновременно происходит расщепление полосы при  $1450\text{ см}^{-1}$  на две: при  $1460$  и  $1425\text{ см}^{-1}$ , что предполагает интенсификацию взаимодействия БК с ГК и значительные изменения в его структуре.

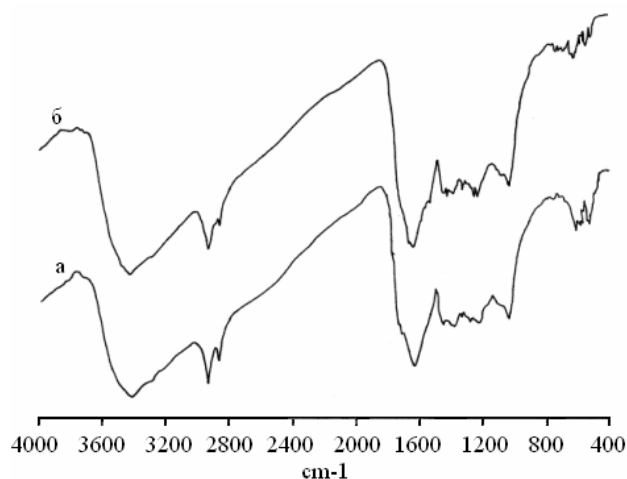


Рис.6. ИК-спектр ГК после коагуляции с БК в соотношении ГК÷БК: а — 5:1 (избыток ГК); б — 1:5 (избыток БК)

Увеличение интенсивности полос поглощения при  $3430$  и  $1630\text{ см}^{-1}$  может указывать на повышение числа кислородсодержащих фрагментов в структуре ГК. Появление полосы при  $1330\text{ см}^{-1}$  на спектре ГК (эксперимент) может быть следствием образования водородной связи между хиноном и водородным гидроксидом фенола или карбоксидом в структуре ГК [16].

Таблица 4

Данные ИК-спектроскопии ГК после коагуляции с БК

| Интенсивность полос поглощения, см <sup>-1</sup> | ГК÷БК |      |
|--------------------------------------------------|-------|------|
|                                                  | 5:1   | 1:5  |
| 3430                                             | 0,43  | 0,56 |
| 2940                                             | 0,20  | 0,20 |
| 1720                                             | 0,31  | —    |
| 1630                                             | 0,45  | 0,52 |
| 1460                                             | —     | 0,30 |
| 1450                                             | 0,30  | —    |
| 1425                                             | —     | 0,31 |
| 1380                                             | 0,30  | 0,31 |
| 1330                                             | —     | 0,30 |

Примечание: ГК после взаимодействия с БК не отмывали, а высушивали при н.у. и затем анализировали.

На основании полученных экспериментальных данных и данных литературы был проанализирован путь взаимодействия ГК с БК. Первоначально при недостатке БК, раствор представляет собой двухкомпонентную систему, в которой свободно находятся молекулы ГК и БК.

На первой стадии (I) при повышении количества БК в растворе (избыток) взаимодействие между ГК и БК идет по месту кислородсодержащих функциональных групп ГК (–ОН, –COOH, –COO, –C=O и –OCH<sub>3</sub>) с амино- и карбоксильными группами (–NH<sub>2</sub>, –COOH) полипептидной цепи БК. Следовательно, скорость взаимодействия ГК с БК определяется количеством БК и, как следствие, величиной pH, которая усиливает комплексообразующие свойства системы ГК-БК. Дополнительно идет процесс с участием активного кислорода БК, который микробиот продуцирует в питательную среду для деструкции углеродного субстрата. Результатом является образование множественного числа структурных фрагментов с окисленными свойствами, которые также участвуют в процессе коагуляции/осаждения системы ГК-БК. Параллельно с образованием большого количества окисленных структур увеличивается число водородных связей, которые сшивают растворенные частички (коллоиды) ГК с БК и таким образом вызывают коагуляцию системы, которая характеризуется образованием множественного числа первоначальных комплексов БК-ГК. Наличие в растворе ионов натрия также усиливает комплексообразующие свойства системы.

На второй стадии (II) система укрупняется за счет интенсификации процесса взаимодействия между ГК и БК и их равномерного распределения во всем объеме раствора.

На третьей стадии (III) система начинает переходить в коллоидный раствор за счет увеличения молекулярной цепи с дальнейшим переходом системы ГК-БК до критической массы и последующим ее осаждением (стадия IV).

## Заключение

1. Показано, что экзобелок (БК) и активный кислород, которые микробиот продуцирует в среду культивирования, способны взаимодействовать с водорастворимыми экстрактами — ГК, извлекаемыми из бурого угля щелочным способом; в дальнейшем высокомолекулярные комплексы ГК-БК накапливаются в растворе и в виде коагулята осаждаются.

2. Установлено, что скорость, время коагуляции/осаждения и изменение pH-среды зависят от соотношения ГК÷БК в исследуемом растворе. При соотношении 2,37:1 (ГК÷БК) или 0,00141 г/мл ГК÷12,73 мкг/мл БК происходит полное осаждение ГК.

3. Согласно данным ИК-спектроскопии взаимодействие ГК с БК может идти по месту амино- и карбоксильных групп полипептидной цепи БК с кислородсодержащими функциональными группами ГК с образованием большого числа водородных связей, которые сшивают растворенные частички (коллоиды) ГК и таким образом вызывают коагуляцию последних. Наличие ионов калия (Na<sup>+</sup>) в структуре ГК усиливает комплексообразующие свойства системы ГК-БК.

4. Способность БК взаимодействовать с высокомолекулярными соединениями, на примере ГК, можно использовать в дальнейшем в качестве индикатора чистоты воды на наличие органических загрязнителей различной природы.

- Walber M., Meyrhn H., Felgener G.W. Biotechnological Lignite Conversion – A Large Scale Concept // Proceedings of 9<sup>th</sup> Intern. Conf. on Coal Science, Essen, Germany, 1997. Vol.3. P.1689-1692.
- Apel W.A., Dugan P.R., Wiebe M.R. Influence of kaolin on methane oxidation by Methylomonas methanica in gas phase bioreactors // Fuel. 1992. Vol.71. P.805-808.
- Shumkov S., Terehova S., Laurinovichinsk K. Coal biogasification in combined aerobic anaerobic bioreactor // Proceedings of 9<sup>th</sup> Intern. Conf. on Coal Science, Essen, Germany, 1997. Vol.3. P.1623-1626.
- Eligwe Ch. A. Microbial desulphurization of coal // Fuel. 1988. Vol.67. P.451-458.
- Rohwerder T., Schippers A., Sand W. Quantification of metal sulfide oxidation by microcalorimetry // Proceedings of 8<sup>th</sup> Intern. Conf. on Coal Science, Oviedo, Spain, 1995. Vol.3. P.1659-1662.
- Lin M.P., Premuzic E.T., Manowitz B. et al. Biodegradation of coal // Fuel. 1993. Vol.72. P.1667-1672.
- Шевкопляс В.Н. Структурно-химическая трансформация низкосортных углей микробиотами // Сб. науч. ст. «Проблемы сбора, переработки и утилизации отходов», Одесса, 2001. С.379-383.
- Камнева А.И., Платонов В.В. Теоретические основы химической технологии горючих ископаемых. М.: Химия, 1990. 288 с.
- Хилько С.Л., Семенова Р.Г. Взаимодействие гуминовых кислот с лекарственными препаратами // Химия твердого топлива. 2016. №6. С.60.
- Хилько С.Л., Рогатко М.И., Макарова Р.А., Семенова Р.Г. Особенности формирования адсорбционных слоев продуктов механохимической модификации гуминовых кислот на границе раздела жидкость–газ // Коллоидный журнал. 2020. Т. 82. №6. С.749-760.
- Тайц Е.М., Андреева И.А. Методы анализа и испытание углей. М.: Недра, 1983. 301 с.
- Дарбе А. Практическая химия белка. М.: Мир, 1989. 623 с.
- Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия. М.: Мир, 1982. 327 с.

14. Solomon P.R., Hamblen D.G., Serio M.A. et al. A characterization method and model for prediction coal conversion behaviour // *Fuel*. 1993. Vol.72. P.469-488.
  15. Landais P., Rochdi A. In situ examination of coal macerals oxidation by micro-FT-i.r. spectroscopy // *Fuel*. 1993. Vol.72. P.1393-1401.
  16. Painter P.C., Coleman M.M. Application of Fourier-transform spectroscopy to the characterization of infrared of fractionation coal liquids // *Fuel*. 1979. Vol.58. P.301-308.
- References**
1. Walber M., Meyrhn H., Felgener G.W. Biotechnological Lignite Conversion – A Large Scale Concept. Proc. 9<sup>th</sup> Intern. Conf. on Coal Science. Essen, Germany, 1997, vol. 3, pp. 1689-1692.
  2. Apel W.A., Dugan P.R., Wiebe M.R. Influence kaolin on methane oxidation by *Methylomonas methanica* in gas phase bioreactors. *Fuel*, 1992, vol. 71, pp. 805-808.
  3. Shumkov S., Terehova S., Laurinovichinsk K. Coal biogasification in combined aerobic anaerobic bioreacto. Proc. 9<sup>th</sup> Intern. Conf. on Coal Science. Essen, Germany, 1997, vol. 3, pp. 1623-1626.
  4. Eligwe Ch. A. Microbial desulphurization of coal. *Fuel*, 1988, vol. 67, pp. 451-458.
  5. Rohwerder T., Schippers A., Sand W. Quantification of metal sulfide oxidation by microcalorimetry. Proc. 8<sup>th</sup> Intern. Conf. on Coal Science. Oviedo, Spain, 1995, vol. 3, pp. 1659-1662.
  6. Lin M.P., Premuzic E.T., Manowitz B., et al. Biodegradation of coal. *Fuel*, 1993, vol. 72, pp. 1667-1672.
  7. Shevkoplyas V.N. Strukturno-khimicheskaya transformatsiya nizkosortnykh ugley mikromitsetami [Structural-chemical transformation of low-grade coals by micromycetes]. Problemy sbora, pererabotki i utilizatsii otkhodov – Problems of collection, processing and disposal of waste. Odessa, 2001, pp. 379-383.
  8. Kamneva A.I., Platonov V.V. Teoreticheskiye osnovy khimicheskikh tekhnologiy goryuchikh iskopayemykh [Theoretical foundations of the chemical technology of fossil fuels]. Moscow: Khimiya Publ., 1990. 288 p.
  9. Khilko S.L., Semenova R.G. Vzaimodeystviye guminovykh kislot s lekarstvennym preparatom [Interaction of humic acids with drugs]. *Khimiya tverdogo topliva – Chemistry of solid fuel*, 2016. no. 6, p. 60.
  10. Khilko S.L., Rogatko M.I., Makarova R.A., Semenova R.G. Osobennosti formirovaniya adsorbtsionnykh sloyev produktov mekhanokhimicheskoy modifikatsii guminovykh kislot na granitse razdela zhidkost'-gaz [Features of the formation of adsorption layers of products of mechanochemical modification of humic acids at the liquid-gas interface]. *Kolloidnyy zhurnal – Colloid Journal*, 2020, vol. 82, no. 6, pp. 749-760.
  11. Tayts Ye.M., Andreyeva I.A. Metody analiza i ispytaniye ugley [Analysis methods and testing of coals]. Moscow, Nedra Publ., 1983. 301 p.
  12. Darbe A. Practical Protein Chemistry: A Handbook. Chichester, John Wiley and Sons, 1986, 620 p. (Russ. ed.: Darbe A. Prakticheskaya khimiya belka. Moscow, Mir Publ., 1989. 623 p.).
  13. Smit A. Applied Infrared Spectroscopy. Chichester, John Wiley and Sons, 1979, 336 p. (Rus ed.: Smit A. Prikladnaya IK-spektroskopiya. Moscow, Mir Publ., 1982. 327 p.).
  14. Solomon P.R., Hamblen D.G., Serio M.A., et al. A characterization method and model for prediction coal conversion behaviour. *Fuel*, 1993, vol. 72, pp. 469-488.
  15. Landais P., Rochdi A. In situ examination of coal macerals oxidation by micro-FT-i.r. spectroscopy. *Fuel*, 1993, vol. 72, pp. 1393-1401.
  16. Painter P.C., Coleman M.M. Application of Fourier-transform spectroscopy to the characterization of infrared of fractionation coal liquids. *Fuel*, 1979, vol. 58, pp. 301-308.