



УДК 579.695+573.6

<https://doi.org/10.26516/2073-3372.2022.40.66>

***Bacillus megaterium* МК64-1 как биоагент для микробных топливных элементов**

С. А. Коваленко^{1,2}, А. Б. Купчинский², А. А. Этингова², Е. И. Гавлик¹,
Д. В. Черкасов¹, Б. Н. Огарков^{1*}

¹Иркутский государственный университет, г. Иркутск, Россия

²Байкальский музей СО РАН, пос. Листвянка, Россия

Аннотация. Оценена способность штамма *Bacillus megaterium* МК64-1 к генерированию биоэлектричества в процессе утилизации органического субстрата в микробном топливном элементе (МТЭ). Впервые представлены экспериментально полученные данные о динамике электрохимических показателей МТЭ при культивировании клеток *B. megaterium* в анодной камере. Сделан вывод о перспективности данного штамма для использования в качестве биоагента в биологических топливных элементах.

Ключевые слова: *Bacillus megaterium*, микробный топливный элемент, удельная мощность.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Немецкого научно-исследовательского сообщества в рамках научного проекта № 21-54-12022.

Для цитирования: *Bacillus megaterium* МК64-1 как биоагент для микробных топливных элементов / С. А. Коваленко, А. Б. Купчинский, А. А. Этингова, Е. И. Гавлик, Д. В. Черкасов, Б. Н. Огарков // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2022. Т. 40. С. 66–72. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2022.40.66>

Short communication

***Bacillus megaterium* МК64-1 as a Bioagent in a Microbial Fuel Cell**

S. A. Kovalenko^{1,2}, A. B. Kupchinsky², A. A. Etingova², E. I. Gavlik¹,
D. V. Cherkasov¹, B. N. Ogarkov¹

¹Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

²Baikal Museum SB RAS, Listvyanka, Russian Federation

Abstract. Alternative energy and the disposal of pollutants are important areas of development in the field of applied ecology. Microbial fuel cell technology uses pollutants as substrates with a negative energy cost. The electrochemical characteristics of microbial fuel cells (current strength, voltage, power density) were studied to assess the prospects for using *Bacillus megaterium* МК64-1 (the strain was deposited with VKPM under registration number B-7998) as a bioagent in them. Two nutrient media were used in the experiment – synthetic wastewater and Ashby medium. The volume of the anode chamber of the involved microbial fuel cells is 120 ml, the volume of the cathode chamber is 150 ml. The experiment was set up under aseptic conditions. The total microbial count of the working solution was 4×10^5 CFU/ml. The experiment included three biological and three analytical replicates. The duration of monitoring the dynamics of fuel cell performance was twelve days.

Stabilization of the output voltage was recorded on the fourth day of the experiment. In Ashby medium, starting from the seventh day, electrical indicators continued to grow. The value of external resistance is revealed, at which the highest value of the MFC power is observed - 1 k Ω . The maximum value of the specific power of individual MFC was noted at the level of 14.1 mW/m² in Ashby medium and 13.2 mW/m² in synthetic wastewater. The difference in the composition of nutrient media did not have a significant effect on the dynamics of electrochemical parameters. It is concluded that the studied strain is promising for use in biological fuel cells.

Keywords: *Bacillus megaterium*, microbial fuel cell, power density.

For citation: Kovalenko S.A., Kupchinsky A.B., Etingova A.A., Gavlik E.I., Cherkasov D.V., Ogarkov B.N. *Bacillus megaterium* МК64-1 as a Bioagent in a Microbial Fuel Cell. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*, 2022, vol. 40, pp. 66-72. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2022.40.66> (in Russian)

Сегодня в прикладной экологии особую важность придают разработкам по двум направлениям – утилизации поллютантов и альтернативной энергетике. В микробных топливных элементах (МТЭ) сточные воды и различные отходы используются как возобновляемые источники энергии. Более того, выработка электричества в МТЭ сопровождается биодеградацией загрязнителей [Current advances ... , 2022]. Невысокая производительность МТЭ компенсируется их экологичностью, наличием условий для длительной автономной работы (использование поллютантов в качестве субстратов, отсутствие агрессивных сред и подвижных элементов в структуре устройств) [Математическое моделирование ... , 2016]. Цель данной работы – оценка перспективности использования штамма *Bacillus megaterium* МК64-1 как биоагента в МТЭ на основе полученных электрических характеристик.

В работе использовали штамм *B. megaterium* МК64-1 (МК64-1 R), выделенный из грунта Курил. Штамм депонирован в Национальном биоресурсном центре Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика под регистрационным номером ВКПМ В-7998. Бактерии *B. megaterium* культивировали на мясопептонном агаре [Практикум по микробиологии, 2005]. Для экспериментов применяли суспензию *B. megaterium* (ОМЧ 48·10⁶ КОЕ/мл), которую получали смывом бактерий с агаризованной среды физиологическим раствором в условиях стерильного бокса. В качестве питательных сред для *B. megaterium* в МТЭ использовали синтетическую сточную воду (ССВ)¹ и среду Эшби [Там же]. Среды и растворы для данного исследования подвергали стерилизации насыщенным паром под давлением 1 атм при 121 °С в течение 20 мин.

МТЭ состоял из двух камер, разделённых протонообменной мембраной МФ-4СК («Пластполимер», Россия) с рабочей площадью 8,75 см². Объём анодной камеры – 120 мл, объём катодной камеры – 150 мл. Катодная камера была открыта для доступа кислорода, анодная – герметизирована. Электроды были изготовлены из углеродной ткани «Урал Т 22 Р» («СветлогорскХимволокно», Республика Беларусь) [New Designs ... , 2017; Acidophilic Microorganisms ... , 2020]. Электроды стерилизовали сухим жаром при 160 °С в течение 2,5 ч. Стерилизация МТЭ проводилась погружением в 10%-ный раствор пе-

¹ ГОСТ Р 50595-93. Вещества поверхностно-активные. Метод определения биоразлагаемости в водной среде. Введ. 1993-09-28. М., 1994. 39 с.

рекиси водорода на 1 ч с последующим ополаскиванием стерильной дистиллированной водой в асептических условиях. Катодные камеры заполняли стерильной дистиллированной водой. В условиях стерильного бокса в анодные камеры вводили равные объёмы суспензии *B. megaterium* (по 10 мл, ОМЧ рабочего раствора $4 \cdot 10^5$ КОЕ/мл), заполняли питательной средой (ССВ или Эшби), проводили необходимые измерения, герметизировали. В анодные камеры контрольных МТЭ суспензию микроорганизмов не инокулировали.

Напряжение и силу тока МТЭ регистрировали с помощью цифрового мультиметра DT-838 (XTL TESH, Китай). Напряжение и силу тока МТЭ с нагрузкой измеряли с помощью двух цифровых мультиметров DT-838 с включением во внешнюю цепь магазина сопротивления P33 («Росток-Прибор», Украина).

Расчёт удельной мощности МТЭ проводили согласно формуле [Биоанод для микробного ... , 2014]

$$P = \frac{U \cdot I}{S},$$

где P – удельная мощность, Вт/м²; U – напряжение с нагрузкой, В; I – сила тока с нагрузкой, А; S – площадь анода, м².

Опыт поставлен в трёх биологических и трёх аналитических повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с помощью компьютерных программ Past 3 и Microsoft Excel 2016. Достоверность результатов определяли по критерию Стьюдента с уровнем значимости $p < 0,05$. Результаты представлены в виде средних арифметических величин.

Наибольший прирост напряжения (рис. 1, *a*) и силы тока (рис. 1, *б*) наблюдался в первые 4 сут. эксперимента. Затем электрические показатели стабилизировались.

Начиная с седьмых суток опыта электрические показатели МТЭ со средой Эшби продолжили рост. Возможно, это объясняется значительно большей концентрацией солей и органического субстрата в среде Эшби по сравнению с ССВ. Максимальные значения напряжения отдельных ячеек, достигнутые в данном опыте, составили 536 мВ в ССВ и 502 мВ в среде Эшби. Наибольшая сила тока зафиксирована на уровне 382 мкА в ССВ и 468 мкА в среде Эшби.

На четвёртые сутки опыта электрические показатели МТЭ измерили в широком диапазоне значений внешнего сопротивления (рис. 2), что позволило выявить величину внешнего сопротивления (1 кОм), при котором наблюдается наибольшее значение мощности МТЭ.

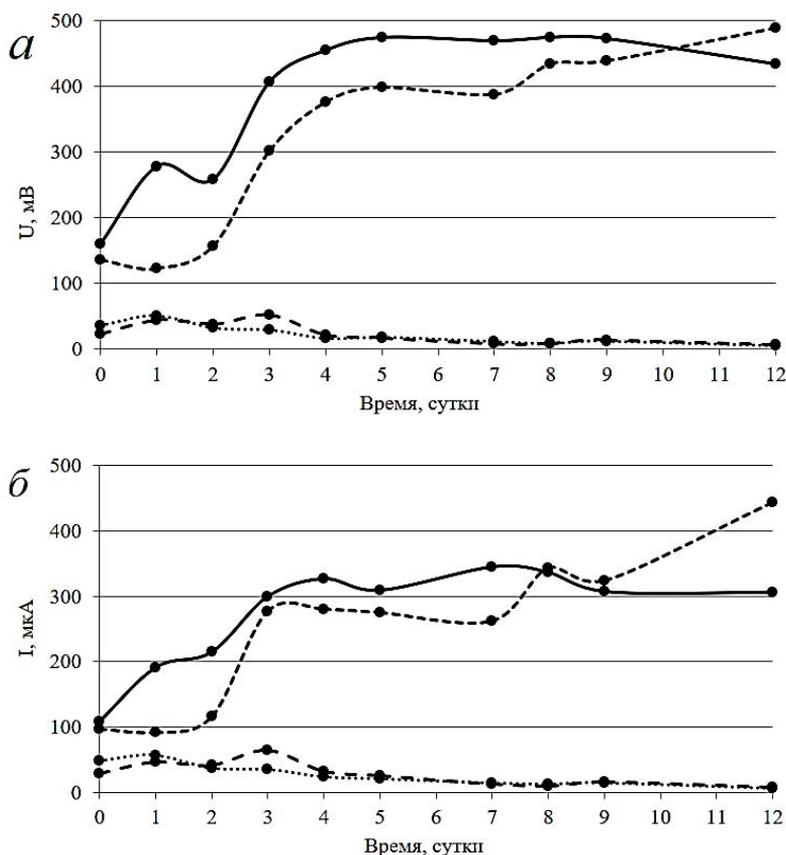


Рис. 1. Динамика напряжения (а) и силы тока (б) МТЭ при отсутствии внешнего сопротивления (среды – ССВ и Эшби, субстраты – пептон и сахара соответственно, биоагент – *Bacillus megaterium* МК64-1). Результаты представлены в виде средних арифметических величин. Условные обозначения для рис. 1 и 3: —●— — ССВ (опыт); -●- - среда Эшби (опыт); -●- - ССВ (контроль);●..... — среда Эшби (контроль)

Существенных различий между значениями мощности при использовании разных сред не было выявлено. Так, в ССВ наибольшие значения мощности МТЭ составили $13,2 \text{ мВт/м}^2$, а в среде Эшби – $14,1 \text{ мВт/м}^2$ (рис. 3).

Электрогенная активность в МТЭ бактерий вида *Bacillus* другого штамма показана в работе Le-Xing You [Flavins mediate ... , 2018]. Однако в указанном эксперименте при использовании штамма *B. megaterium* LLD-1 достигнуты максимальные значения мощности в два раза ниже, чем в нашем опыте со штаммом *B. megaterium* МК64-1.

Результаты проведённого экспериментального исследования демонстрируют перспективность штамма *Bacillus megaterium* МК64-1 для использования в микробных топливных элементах в качестве биоагента.

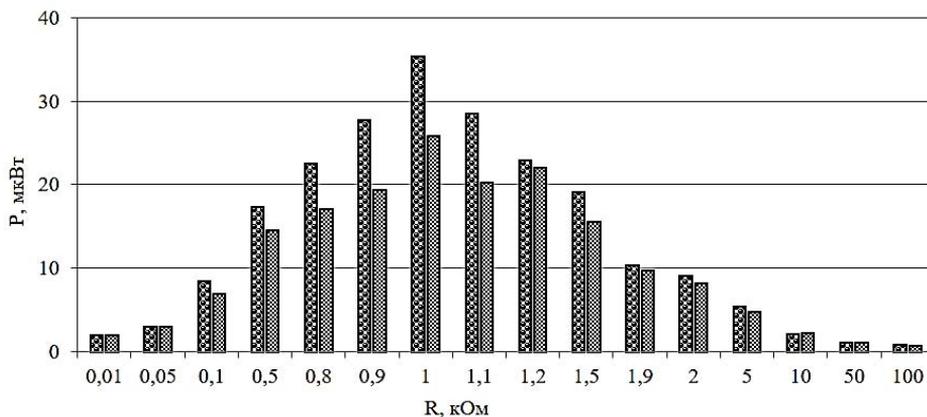


Рис. 2. Мощность МТЭ на четвёртые сутки опыта при различных значениях внешнего сопротивления (среды – ССВ и Эшби, субстраты – пептон и сахара соответственно, биоагент – *Bacillus megaterium* МК64-1). Результаты представлены в виде средних арифметических величин. Условные обозначения: – ССВ; – среда Эшби

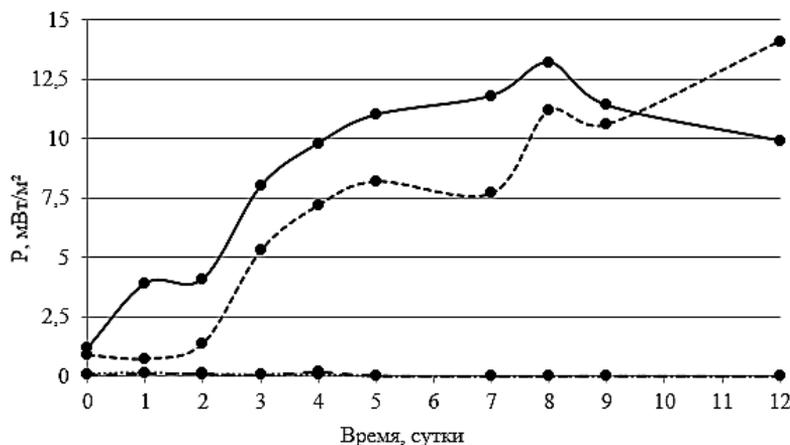


Рис. 3. Динамика удельной мощности МТЭ при внешнем сопротивлении 1 кОм (среды – ССВ и Эшби, субстраты – пептон и сахара соответственно, биоагент – *Bacillus megaterium* МК64-1). Результаты представлены в виде средних арифметических величин. – ССВ (опыт); – среда Эшби (опыт)

Список литературы

Биоанод для микробного топливного элемента на основе бактерий *Gluconobacter oxidans*, иммобилизованных в полимерную матрицу / С. В. Алферов, П. Р. Минайчева, В. А. Арляпов, Л. Д. Асулян, В. А. Алфёров, О. Н. Понаморёва, А. Н. Решетиллов // Прикладная биохимия и микробиология. 2014. Т. 50, № 6. С. 570–577.

Математическое моделирование процессов в микробном топливном элементе мембранного типа / М. И. Дроботенко, Н. Н. Волченко, А. А. Самков, А. А. Свидлов // Экологический

вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества. 2016. Т. 13, № 4. С. 47–51.

Практикум по микробиологии / под ред. А.И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.

Acidophilic Microorganisms *Leptospirillum* sp., *Acidithiobacillus* sp., *Ferroplasma* sp. as a Cathodic Bioagents in a MFC / D. I. Stom, G. O. Zhdanova, O. B. Kalashnikova, A. G. Bulaev, A. V. Kashevskii, A. B. Kupchinsky, N. S. Vardanyan, O. N. Ponamoreva, S. V. Alferov, M. N. Saksonov, A. N. Chesnokova, M. Y. Tolstoy // *Geomicrobiology Journal*. 2020. Vol. 38, Is. 4. P. 340–346.

Current advances in microbial fuel cell technology toward removal of organic contaminants – A review / R. Suresh, S. Rajendran, P.S. Kumar, K. Dutta, D-V. N. Vo // *Chemosphere*. 2022. Vol. 287, Part 2. Art. N 132186.

Flavins mediate extracellular electron transfer in Gram-positive *Bacillus megaterium* strain LLD-1 / L-X. You, L-D. Liu, Y. Xiao, Y-F. Dai, B-L. Chen, Y-X. Jiang, F. Zhao // *Bioelectrochemistry*. 2018. Vol. 119. P. 196–202.

New Designs of Biofuel Cells and Their Work Testing / D. I. Stom, G. O. Zhdanova, A. V. Kashevskii // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. Chelyabinsk : Institute of Physics Publ., 2017. P. 012219.

References

Alferov S.V., Minaicheva P.R., Arlyapov V.A., Asulyan L.D., Alferov V.A., Ponamoreva O.N., Reshetilov A.N. Bioanod dlya mikrobnogo toplivnogo elementa na osnove bakterii *Gluconobacter oxydans*, immobilizovannykh v polimernuyu matritsu [Bioanode for a microbial fuel cell based on *Gluconobacter oxydans* bacteria immobilized in a polymer matrix]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2014, vol. 50, no. 6, pp. 570-577.

Drobotenko, M.I., Volchenko, N.N., Samkov, A.A., Svidlov, A.A. Matematicheskoe modelirovanie protsessov v mikrobnom toplivnom elemente membrannogo tipa [Mathematical modeling of processes in a microbial fuel cell of a membrane type]. *Ecological Bulletin of Research Centers of the Black Sea Economic Cooperation*, 2016, vol. 13, no. 4, pp. 47-51.

Netrusov A.I. (ed.). *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on Microbiology]. Moscow, Akademiya Publ., 2005, 608 p.

You L-X., Liu L-D., Xiao Y., Dai Y-F., Chen B-L., Jiang Y-X., Zhao F. Flavins mediate extracellular electron transfer in Gram-positive *Bacillus megaterium* strain LLD-1. *Bioelectrochemistry*, 2018, vol. 119, pp. 196-202.

Stom D.I., Zhdanova G.O., Kalashnikova O.B., Bulaev A.G., Kashevskii A.V., Kupchinsky A.B., Vardanyan N.S., Ponamoreva O.N., Alferov S.V., Saksonov M.N., Chesnokova A.N., Tolstoy M.Y. Acidophilic Microorganisms *Leptospirillum* sp., *Acidithiobacillus* sp., *Ferroplasma* sp. as a Cathodic Bioagents in a MFC. *Geomicrobiology Journal*, 2020, vol. 38, iss. 4, pp. 340-346.

Stom D.I., Zhdanova G.O., Kashevskii A.V. New Designs of Biofuel Cells and Their Work Testing. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, Chelyabinsk, Institute of Physics Publ., 2017, 012219.

Suresh R., Rajendran S., Kumar P.S., Dutta K., Vo D-V.N. Current advances in microbial fuel cell technology toward removal of organic contaminants: A review. *Chemosphere*, 2022, vol. 287, part. 2, art. no. 132186.

Сведения об авторах

Коваленко Светлана Анатольевна
лаборант-исследователь
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
аспирант
Байкальский музей СО РАН
Россия, 664520, п. Листвянка,
ул. Академическая, 1
e-mail: kovsvan@gmail.com

Information about the authors

Kovalenko Svetlana Anatolievna
Research Assistant
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
Postgraduate
Baikal Museum SB RAS
1, Academicheskaya st., Listvyanka settl.,
664520, Russian Federation
e-mail: kovsvan@gmail.com

Купчинский Александр Борисович

кандидат биологических наук, директор
Байкальский музей СО РАН
Россия, 664520, пос. Листвянка,
ул. Академическая, 1
e-mail: albor67@mail.ru

Kupchinsky Alexander Borisovich

Candidate of Sciences (Biology), Director
Baikal Museum SB RAS
1, Academicheskaya Str. Listvyanka Settl.,
664520, Russian Federation
e-mail: albor67@mail.ru

Этингова Анна Альбертовна

кандидат биологических наук,
научный сотрудник
Байкальский музей СО РАН
Россия, 664520, пос. Листвянка,
ул. Академическая, 1
e-mail: maritui@mail.ru

Etingova Anna Albertovna

Candidate of Sciences (Biology),
Research Scientist
Baikal Museum RAS
1, Academicheskaya Str. Listvyanka Settl.,
664520, Russian Federation
e-mail: maritui@mail.ru

Гавлик Елизавета Игоревна

студент
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: lizagavlik@mail.ru

Gavlik Elizaveta Igorevna

Student
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: lizagavlik@mail.ru

Черкасов Данила Витальевич

аспирант
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: chercasovdanila@mail.ru

Cherkasov Danila Vitalievich

Postgraduate
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: chercasovdanila@mail.ru

Огарков Борис Никитович

доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой, заведующий
лабораторией
Иркутский государственный университет
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1
e-mail: bornik@bk.ru

Ogarkov Boris Nikitovich

Doctor of Sciences (Biology), Professor,
Head of Department, Head of Laboratory
Irkutsk State University
1, K. Marx st., Irkutsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: bornik@bk.ru

Статья поступила в редакцию **25.01.2022**; одобрена после рецензирования **29.03.2022**; принята к публикации **14.04.2022**
Submitted **January, 25, 2022**; approved after reviewing **March, 29, 2022**; accepted for publication **April, 14, 2022**