

УДК 579.66.663

ОСНОВЫ ТЕХНОЛОГИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ КОНВЕРСИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ В ЭЛЕКТРОЭНЕРГИЮ ЧЕРЕЗ ПРОМЕЖУТОЧНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ БИОВОДОРОДА

© 2010 г. **А.И. Нетрусов**¹,
А.А. Карякин², **В.В. Тепляков**³, **М.Г. Шалыгин**³,
О.Г. Воронин², **С.М. Абрамов**¹, **Э.Р. Садрадинова**¹,
Т.И. Митрофанова¹,
Е.В. Глазунова¹,
А.И. Шестаков¹

¹ Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

² Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

³ Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва

Введение

По официальным данным, такой крупный мегаполис как Москва ежегодно производит до 19 млн т отходов, из которых более четверти органических. В связи с этим крайне актуальна проблема экологически безопасной их переработки. Вместе с тем,

приоритетное направление для мировой энергетики — разработка технологии получения топлива и энергии из возобновляемого сырья.

Водород считается одним из самых экологически чистых видов топлив. Он имеет наибольшую теплоту сгорания, и его сжигание не приводит к образованию парниковых газов. Один из наиболее перспективных методов получения водорода — анаэробное разложение органического сырья термофильными микроорганизмами. Особенность данного метода — присутствие в получаемом водороде таких примесей, как углекислый газ, сероводород, что не позволяет использовать его напрямую в качестве топлива. Например, в низкотемпературных топливных элементах присутствие соединений серы приводит к инактивации Pt-электродов, а их сжигание будет сопровождаться токсичными выбросами в атмосферу. Кроме того, еще не решена проблема экономически эффективной транспортировки и хранения водорода. Также серьезной проблемой производства биоводорода является ингибирование ферментации за счет повышенной концентрации водорода. Для достижения максимальной продуктивности биореактора необходимо непрерывно удалять водород из биосреды, поддерживая его концентрацию на уровне 2—5 % от мак-

Нетрусов А.И. — докт. биол. наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Тел.: (495) 939-27-43. E-mail: anetrusov@mail.ru.

Карякин А.А. — докт. хим. наук, профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Тел.: (495) 939-46-05. E-mail: aak@analyt.chem.msu.ru.

Тепляков В.В. — докт. хим. наук, профессор зав. лабораторией Института нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН. Тел.: (495) 459-43-46, 955-43-46. E-mail: tepl@ips.ac.ru.

Шалыгин М.Г. — канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник того же института. Тел.: (495) 955-42-29. E-mail: mshalygin@ips.ac.ru.

Воронин О.Г. — науч. сотрудник кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Тел.: (495) 939-46-05. E-mail: ol.voronin@gmail.com.

Абрамов С.М. — аспирант кафедры микробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Тел.: (495) 939-56-05. E-mail: abramov_sergei@inbox.ru.

Садрадинова Э.Р. — науч. сотрудник той же кафедры. Тел.: (495) 939-56-05. E-mail: sadraddinovaer@mail.ru.

Митрофанова Т.И. — канд. биол. наук, науч. сотрудник той же кафедры. Тел.: (495) 939-30-33. E-mail: timitrofanova@mail.ru.

Глазунова Е.В. — студентка той же кафедры. Тел.: (495) 939-56-05. E-mail: callysto11@rambler.ru.

Шестаков А.И. — науч. сотрудник той же кафедры. Тел.: (495) 939-56-05. E-mail: 6.ok.off@mail.ru.

симальной. Предлагаются разные технологии выведения водорода из среды ферментации, наиболее простые — барботаж инертным газом и вакуумирование. Их недостатки: получение разбавленного инертным газом водорода (и примесей), нарушение условий культивирования микроорганизмов и высокий расход энергии.

Активно ведутся исследования в области разработки и применения мембранно-абсорбционных систем для газоразделения. Такие системы могут быть также с успехом применены для десорбирования газов из жидких сред. В большинстве мембранно-абсорбционных систем применяют пористые полимерные мембраны, поскольку они обеспечивают низкое сопротивление массопереносу. Однако пористые мембраны имеют ряд недостатков, которые не позволяют их использовать в микробиологических процессах: они не обеспечивают стерильность, требуют точного контроля перепада давлений между газовой и жидкой фазами и могут достаточно быстро зарастать микроорганизмами. Для извлечения водорода из культуральной жидкости наиболее перспективно использование мембранно-абсорбционных систем на основе непористых полимерных мембран.

В данной работе были использованы непористые асимметричные мембраны из поливинилтриметилсилана (ПВТМС), обладающие высокой проницаемостью по макрокомпонентам биоводородной смеси [1].

Был создан [2, 3] ферментный топливный электрод на основе фермента гидрогеназы с рекордными характеристиками. Показано, что он может функционировать в присутствии соединений серы, монооксида углерода, кислорода в широком диапазоне pH [3, 4]. Авторами предложено интегрировать ферментный топливный электрод на основе гидрогеназы непосредственно в биореактор с водородобразующими термофильными микроорганизмами. В качестве катода топливного элемента использовали платину в кислороде. Для этого был сконструирован биореакторный топливный элемент, позволяющий вести ферментацию органического сырья и окисление выделяемого водорода в одном объеме.

В данной работе проведен скрининг микроорганизмов, способных к образованию биоводорода при росте на целлюлозосодержащем органическом субстрате, разработан мембранный модуль для извлечения биоводорода из культуральной жидкости,

а также создана установка конверсии органического сырья в электроэнергию через промежуточное образование биоводорода.

Материалы и методы. Выращивание микроорганизмов

Среда Имшенецкого для выделения анаэробных целлюлозолитических микроорганизмов с $pH = 7,0 \div 7,2$ содержит, г/л: $NaNH_4PO_4$ — 1,5; K_2HPO_4 — 0,5; KH_2PO_4 — 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,4; $NaCl$ — 0,1; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ — следы; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — следы; $CaCO_3$ — 2,0; пептон — 5,0. В качестве органического сырья использовали, г/л: бумагу (фильтровальную, газетную, журнальную — по 15,0), целлобиозу (7,5), отруби пшеничные (10,0), опилки деревьев лиственных пород (15), глюкозу (5). Для визуальной оценки степени анаэробности в среду вносили резазурин (0,15 мг/л).

Среда ($pH = 7,0 \div 7,2$) DSM для культивирования целлюлозолитических микроорганизмов, образующих водород, содержит, г/л: NH_4Cl — 0,90; $NaCl$ — 0,90; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ — 0,40; KH_2PO_4 — 0,75; K_2HPO_4 — 1,50; trypticase — 2,0; дрожжевой экстракт — 1,0; целлобиоза или целлюлоза — 1,0; цистеин — 0,15, а также раствор микроэлементов SL-10 — 1,0 мл; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ — 2,50 г; целлобиоза или целлюлоза — 1,0; цистеин — 0,15; резазурин — 0,5 мг.

Также использовали специально разработанную среду $pH = 7,0 \div 7,2$ для культивирования чистых культур микроорганизмов, г/л: KH_2PO_4 — 2,0; K_2HPO_4 — 3,0; $(NH_4)_2SO_4$ — 2,0; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ — 0,2; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ — 0,05; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,011; цистеин — 0,15; дрожжевой экстракт — 1; пептон — 5,0; глюкоза — 10; а также, мл: резазурин — 1; микроэлементы SL-10 — 0,7.

Среды стерилизовали при 50 кПа в герметично закрытых флаконах объемом 450 мл (объем среды — 100 мл), газовая фаза во флаконах — аргон. Как посевной материал (инокулят) использовали: образцы почвы, ил, листву, донные осадки, водные растения, симбионтную микробиоту животных и насекомых. В питательную среду вносили как жидкую фазу отобранных образцов, так и фрагменты органического материала. Засевали питательную среду в постоянном токе аргона. Количество инокулята как при первом пассаже, так и в процессе ведения культуры — 10 %. Флаконы с засеянными образцами культивировали на качалке «New Brunswick» 35 об/мин и в термостатах «Binder» при 60 и 70 °С. Время куль-

тивирования на среде с целлюлозой 168 ч, на среде с целлобиозой 48 ч.

Определение продуктов микробного метаболизма

Измерение водорода. Газовую фазу анализировали на хроматографе «Кристалл 2000.1» (детектор — ДТП, колонка 1000×2 мм, сорбент — активированный уголь, газ носитель — аргон). Хроматограммы обрабатывали с использованием компьютерной программы «Analytic 2.5».

Мембранный модуль на основе ПВТМС-мембраны (рис. 1) состоял из четырех двусторонних мембранных картриджей, помещенных в пластиковый контейнер. Диаметр картриджей 120 мм, в качестве элементов, поддерживающих мембраны в картридже, использовали пористые пластиковые подложки. Суммарная площадь мембран 700 см².

Мембранный модуль был объединен с лабораторным ферментером (объемом 1,5 л), в котором происходила анаэробная микробная конверсия органических целлюлозосодержащих отходов в водород. Общий вид лабораторной установки показан на рис. 2.

Для исследования процессов получения электроэнергии при ферментации органического сырья был разработан прототип топливной ячейки, состоящий из биоферментера (объемом 500 мл) с водородным и кислородным электродами, а также системой кон-

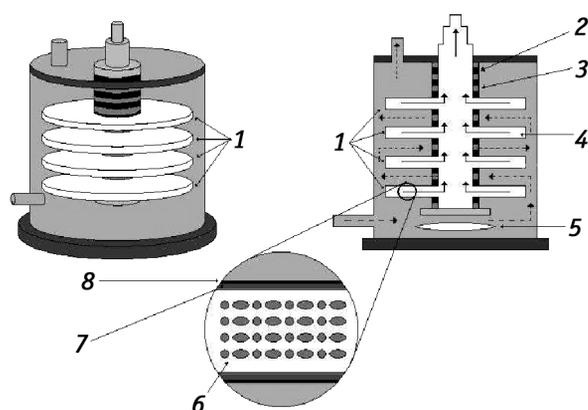


Рис. 1. Мембранный модуль: 1 – мембранный картридж; 2 – резиновая, 3 – пластиковая прокладки; 4 – межмембранное пространство мембранного картриджа; 5 – магнитная мешалка; 6 – пористая пластиковая подложка; 7 – пористый слой мембраны; 8 – селективный (непористый) слой мембраны. Потоки: → газа, ---> жидкости

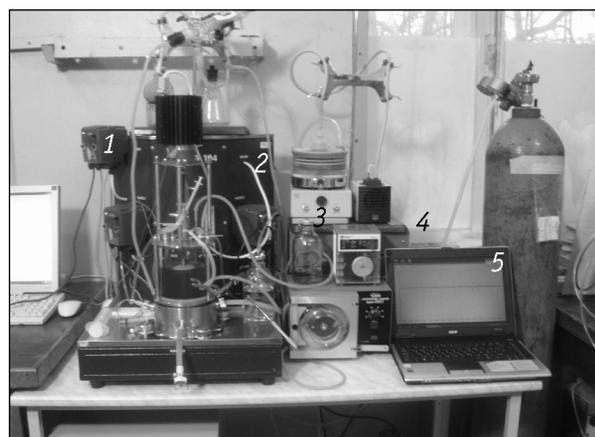


Рис. 2. Лабораторный стенд для исследования работы ферментера с интегрированным мембранным модулем: 1 – анаэробный ферментер; 2 – мембранный модуль; 3 – перистальтический насос; 4 – вакуумный насос; 5 – персональный компьютер с программным контролем процесса ферментации

троля избыточного давления. Внутренний объем кислородного электрода был отделен от внутреннего объема культивационного сосуда протонпроницаемой мембраной «Нафион». Избыточное давление внутри биоферментера удерживали на уровне 150 кПа. Как показали экспериментальные данные, избыточное давление более 160 кПа приводит к разрыву мембраны «Нафион».

Гидрогеназный электрод представлял углеродную ткань с иммобилизованным ферментом гидрогеназой из *Thiocapsa roseopersicina*. Методика иммобилизации описана в [3–5].

В качестве кислородного электрода использовали Pt-электроды для ТЭ, изготовленные в Институте водородной энергетики и плазменных технологий РНЦ «Курчатовский институт». Внутренний объем кислородного электрода барботировали воздухом.

Подготовленную к работе ячейку помещали в термостат, поддерживающий температуру 60 °С.

Электрохимические измерения проводили с использованием универсальных электрохимических приборов, сопряженных с компьютером: «Solartron Shlumberger Model 1286» (Великобритания) и «Autolab micro 3» (Нидерланды). В качестве потенциометра задействовали двухканальный USB-осциллограф «Disco» (Россия). Поляризационные кривые записывали гальваностатическим и потенциодинамическим методом с подключением по двухэлектродной схеме. Для исследования генерируемой мощности использовали магазин сопротивлений.

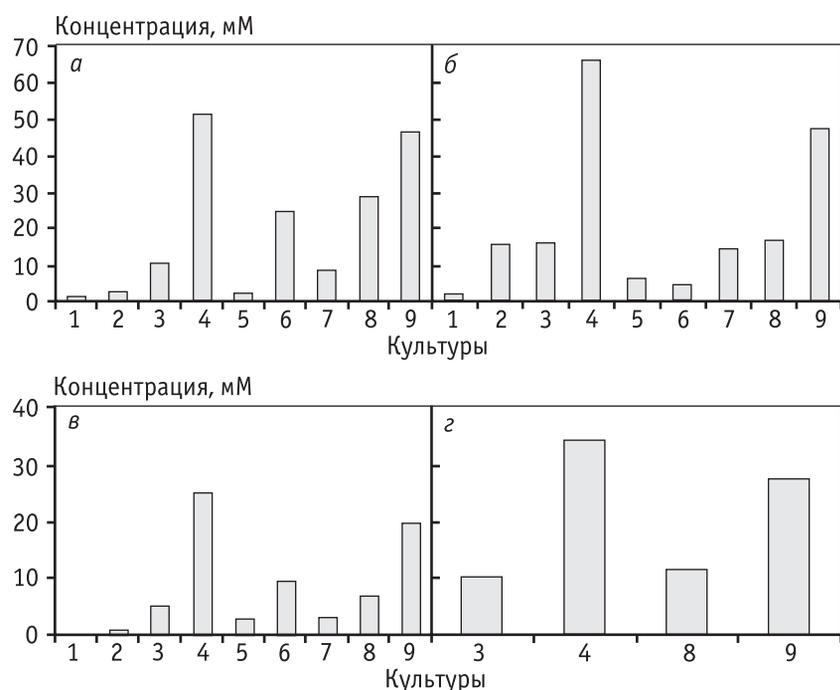


Рис. 3. Накопление водорода целлюлозолитическими сообществами при росте: *a, в* – на целлюлозе, *б, г* – на целлобиозе; температура культивирования: *a, б* – 60 °С, *в, г* – 70 °С; время культивирования: *a, в* – 168 ч, *б, г* – 48 ч; культуры: 1 – анаэробный ил, 2 – жом винограда, 3 и 5 – донные осадки соответственно пресноводного и заболоченного водоемов, 4, 6, 7 и 8 – химусы кишечника соответственно коровы, антилопы, жирафа и пони, 9 – влажный лиственный опад

Результаты и обсуждения

В процессе скрининга природных микробных сообществ, способных к эффективной переработке целлюлозы, были отобраны наиболее активные продуценты водорода (рис. 3, *a*), а также проведена оценка образования водорода при росте отобранных культур на целлобиозе (рис. 3, *б*). Для изучения возможности ферментации целлюлозы и целлобиозы при строго термофильных условиях исследовали выделение водорода при 70 °С (рис. 3, *в, г*).

Согласно представленным диаграммам наибольшее образование водорода отмечено у культур 4 и 9. Максимальная продукция водорода у данных образцов была как при разных температурах роста (60 и 70 °С), так и при росте на разных источниках органического сырья (целлюлоза, целлобиоза). При этом выход водорода на целлобиозе был выше чем на целлюлозе как при 60 °С так и при 70 °С культивирования. Так как целлобиоза — промежуточное звено при ферментативной деструкции целлюлозы, такое повышение продукции водорода можно объяснить недостаточно эффективным процессом фермента-

тивного расщепления целлюлозы до целлобиозы для данных образцов, выделенных из принципиально разных экотопов. Если микробное сообщество образца 4 выделено из содержимого кишечника коровы, то сообщество 9 выделено из образцов сильно деградированной листвы.

Проведены эксперименты по оценке выделения водорода при росте на фильтровальной бумаге и опилках лиственных пород деревьев. В данных экспериментах использовали образец с максимальным выходом водорода (4), культивирование проводили при разных концентрациях исходного субстрата (рис. 4). Как видно из представленной диаграммы, образование водорода возрастало при повышении концентрации фильтровальной бумаги, однако при росте на опилках повышение количества опилок выше 10 г/л не способствовало большему выделению водорода. Это может быть связано с тем, что древесина со-

держит ряд веществ, способных ингибировать рост микроорганизмов (гликозиды, терпеноиды, дубильные вещества и др.)

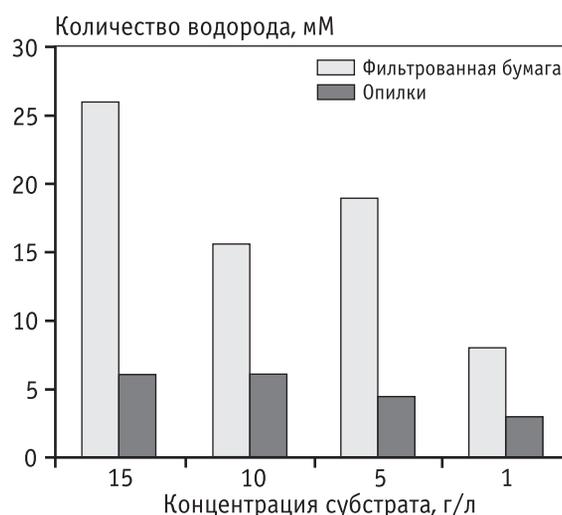


Рис. 4. Продуктивность сообщества 4 на разных типах субстрата (целлюлоза и опилки) при 60 °С в течение 168 ч культивирования

В процессе работы было исследовано воздействие перемешивания на выделение водорода микробным сообществом (рис. 5). Как видно на диаграмме, образцы культур 9 и 8 снижали образование водорода при росте в стационарных условиях, тогда как образец 4 вдвое увеличил продукцию водорода при культивировании в стационарных условиях. Это может быть связано со структурой целлюлозного ферментного комплекса, с помощью которого целлюлозолитические бактерии прикрепляются к субстрату и осуществляют его деструкцию. Для образца культуры 4, возможно, структура данного комплекса нестабильна и при культивировании в режиме перемешивания не позволяет прочно закрепляться на поверхности целлюлозы.

Прослежено образование водорода сообществом микроорганизмов 4 при росте на разных источниках целлюлозы — газетной, журнальной бумаге с цветной и черно-белой печатью (рис. 6). Выделение водорода на глянцевой журнальной бумаге выше, чем на газетной. Это может быть связано с добавками, которые применяют при производстве глянцевой бумаги, например, мела, что, по-видимому, увеличивает буферную емкость среды и не позволяет быстро снижать рН культуральной жидкости.

Далее, отобранное сообщество 4 культивировали в непрерывном режиме. При этом производительность по водороду составила 20 мМ (H_2)/(л·ч). Интегрирование биореактора с мембранным де-

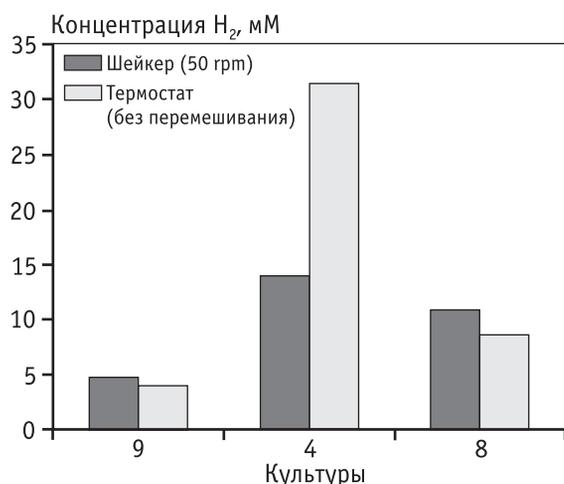


Рис. 5. Накопление водорода целлюлозолитическими сообществами при росте на целлюлозе в стационарном режиме и режиме перемешивания, температура культивирования 60 °С; время культивирования 168 ч; культуры 4, 8, 9 – см. подрисуночную к рис. 3

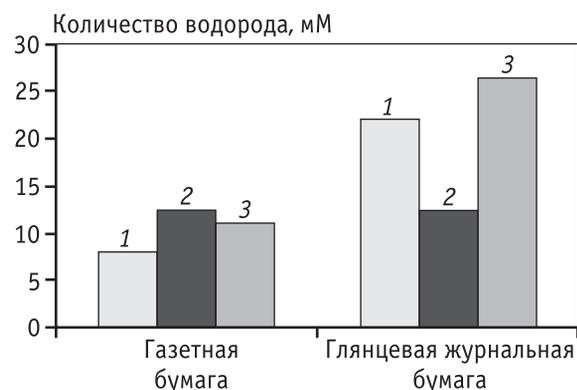


Рис. 6. Накопление водорода целлюлозолитическим сообществом при росте на разных видах газетной и журнальной бумаги: 1 – белой, 2 – черно-белой печатью, 3 – с цветной печатью; температура культивирования 60 °С; время культивирования 168 ч

сорбером позволило повысить его продуктивность до 68 мМ (H_2)/(л·ч). Такое значительное увеличение продуктивности было достигнуто вследствие непрерывного извлечения из жидкой фазы водорода, повышенная концентрация которого ингибировала активность клеток [6].

На следующем этапе отобранное сообщество микроорганизмов использовали для отработки прототипа топливной ячейки.

Эксперименты по ферментации в прототипе биореакторного топливного элемента проводили в периодическом режиме культивирования в течение 3 сут. при использовании в качестве источника углерода глюкозы. Максимальное количество водорода выделялось уже после 24 ч культивирования и составляло 77 мМ H_2 с 200 мл среды (концентрация в газовой фазе 18–24 %). При этом уже после 24 ч культивирования рН в топливной ячейке опускался с 7,2–7,0 до 4,5. Такое низкое значение рН приводило к ингибированию активного функционирования сообщества микроорганизмов.

После внесения инокулята в среду и смены газовой фазы измеряли потенциал разомкнутой цепи. Снижение его — показатель появления в среде водорода. На рис. 7 представлено изменение потенциала разомкнутой цепи (отн. Ag/AgCl) во времени после посева. Снижение потенциала разомкнутой цепи обусловлено постепенной активацией иммобилизованной гидрогеназы [2].

Практически полную активацию наблюдали в среднем через 12–16 ч после внесения инокулята. При этом потенциал менее, чем на 100 мВ отличается от потенциала обратимого водородного

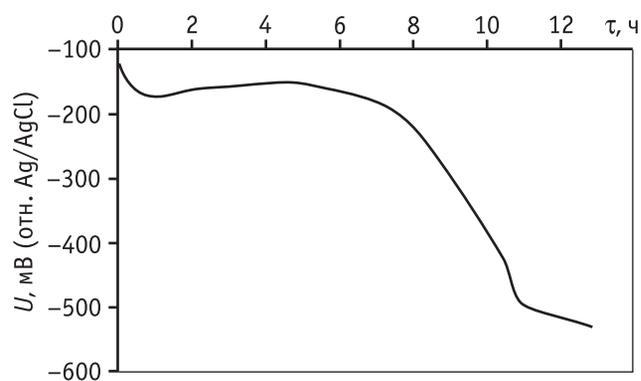


Рис. 7. Зависимость потенциала разомкнутой цепи от времени в биореакторе с бактериальным консорциумом

электрода (-640 мВ отн. Ag/AgCl при pH = 7), свидетельствуя, что реакция окисления водорода на ферментных электродах идет практически с той же эффективностью, как и на платине. В дальнейшем все эксперименты по изучению реакции окисления водорода на ферментных электродах проводили не менее, чем через 15 ч после внесения инокулята.

Полную вольтамперную характеристику ТЭ снимали через сутки при одновременном контроле pH и концентрации водорода в газовой фазе; pH, как правило, 4,0–4,5, концентрация водорода в газовой фазе 18–24 %. Вольтамперная характеристика для электрода, погруженного в среду культивирования микроорганизмов, при максимальной продукции водорода представлена на рис. 8, а.

Отличие потенциала разомкнутой цепи от нуля объясняется двумя факторами:

- снижением pH бактериальной среды до 5, что приводит к снижению активности гидрогеназы;
- относительно низкой активностью платины в реакции восстановления кислорода при pH = 5.

Максимальная мощность ТЭ составила 200 мкВт, что достигается при 400 мВ. Зависимость мощности от потенциала представлена на рис. 8, б.

Показано, что ферментный электрод на основе гидрогеназ может быть успешно использован для конверсии в электроэнергию водорода из среды культивирования термофильных целлюлозолитических микроорганизмов без каких либо дополнительных стадий. Максимальная мощность составила 200–250 мкВт/см². Топливный элемент сохраняет не менее 70 % первоначальной активности в течение не менее 72 ч. При этом значительная часть потери активности обусловлена сниже-

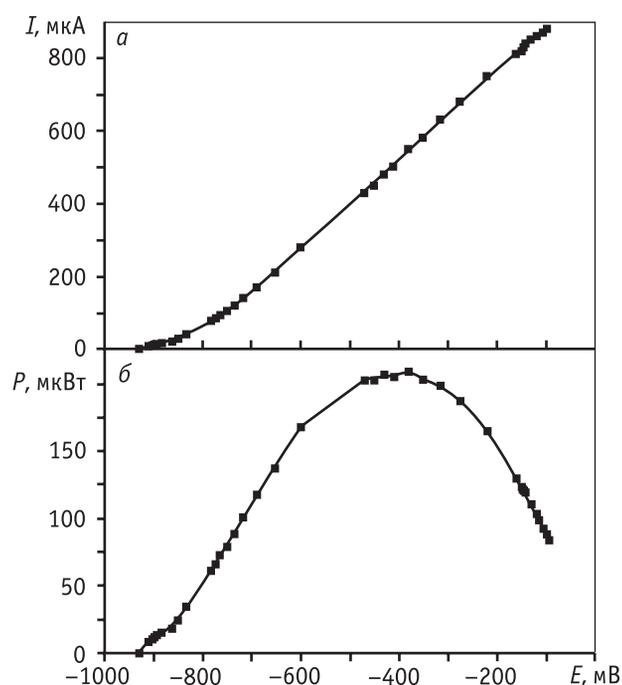


Рис. 8. Вольтамперная характеристика (а) и зависимость мощности от перенапряжения (б) водород-кислородного ТЭ, совмещенного с биореактором с гетеротрофным консорциумом (содержание водорода в газовой фазе 21,5 %, температура 60 °С)

нием pH. При возвращении pH до оптимального значения (7,0) электроды восстанавливали на 90 % первоначальную активность. Следовательно, для увеличения операционной стабильности необходимо добиться pH-стабилизации культуральной среды.

Заключение

В данной работе показана возможность микробной переработки органического сырья и отходов в биоводород. Выбраны культуры для осуществления данного процесса с максимальной эффективностью. Показана возможность интенсификации выделения водорода вследствие дегазирования культуральной жидкости с помощью ПВТМС-мембраны. Осуществлена конверсия биоводорода в электричество непосредственно в среде действия микроорганизмов. Максимальная мощность разработанного водород-кислородного реакторного топливного элемента составила 200–250 мкВт/см².

Работа проведена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 — 2013 годы. Государственные контракты №П558 и №П756.

Литература

1. *Тепляков В.В.* Прогнозирование газоразделительных свойств полимерных мембран // Журнал ВХО им. Д.И. Менделеева. 1987. Т. XXXII. №. 6. С. 693.
2. *Karyakin A.A., Morozov S.V., Voronin O.G.* et al. The Limiting Performance Characteristics in Bioelectrocatalysis of Hydrogenase Enzymes // *Angewandte Chemie*. 2007. № 119. P. 7382.
3. *Морозов С.В., Воронин О.Г., Карякина Е.Е., Карякин А.А.* Водородные топливные электроды на основе ферментов // *Нано- и микросистемная техника*. 2006. №. 5. С. 9.
4. *Morozov S.V., Voronin O.G., Karyakina E.E.* et al. Tolerance to oxygen of hydrogen enzyme electrodes // *Electrochemistry Communications*. 2006. № 8. P. 851.
5. *Voronin O.G., van Haaster D.J., Karyakina E.E.* et al. Direct Bioelectrocatalysis by NADP-Reducing Hydrogenase from *Pyrococcus furiosus* // *Electroanalysis*. 2007. Vol. 19. № 21. P. 2264.
6. *Netrusov A., Abramov S., Sadraddinova E.* et al. Membrane-assisted separation of microbial gaseous fuels from renewable sources // *Desalination and Water Treatment*. 2010. № 14. P. 252.

УДК 602.4.582.28.582.28.577.114

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ НОВОГО БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА

© 2010 г. **Я.Э. Сергеева**¹,
Л.А. Галанина¹, **В.В. Лунин**²,
Е.П. Феофилова¹

¹ Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва

² Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

XXI век выдвинул перед человечеством новую проблему — замену нефтяного топлива, вызванную уменьшением мировых запасов нефти и выделением экологически вредных газов, образующихся при работе двигателей. Значимость решения указанной проблемы связана с тем, что по оценке специалистов к 2030 г. потребление энергии в мире вырастет на 60 %, для чего необходимо значительное увеличение запасов топлив, которые к тому времени могут быть достаточно исчерпаны. Поэтому в последние годы

усилия мирового сообщества направлены на поиск альтернативных видов топлив.

Один из видов биотоплива — биодизельное — метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК). Для получения МЭЖК используются растительные масла, метанол и щелочь (в качестве катализатора).

Наиболее широко применяется биодизельное топливо на основе масел сельскохозяйственных культур: сои (США, Бразилия), рапса (до 80 % от всего биодизельного топлива, произведенного в Европе), подсолнечника (ряд стран Европы, в том числе Франция, Италия). Число исследований возможности получения биодизельного топлива из разных возобновляемых природных источников неуклонно растет. Эти исследования касаются, главным образом, растительных масел (кокосового, соевого, рапсового, оливкового, арахисового). Животные жиры, хотя и упоминаются в некоторых работах, по сравнению с растительными маслами изучены в меньшей степени. В качестве исходного сырья для получения биодизельного топлива в ряде работ рассмотрены

Сергеева Я.Э. — канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник Учреждения Российской академии наук Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН. Тел.: (499) 135-01-69. E-mail: yapaes2005@yandex.ru.

Галанина Л.А. — канд. биол. наук, науч. сотрудник того же института. Тел.: (499) 135-01-69.

Лунин В.В. — академик РАН, профессор, декан химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Тел.: (495) 939-35-71. E-mail: vvlunin@kge.msu.ru.

Феофилова Е.П. — докт. биол. наук, профессор, зав. лабораторией экспериментальной микологии Учреждения Российской академии наук Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН. Тел.: (499) 135-75-42. E-mail: feofilov@inmi.host.ru.