

УДК 579.852.11: 666.3

## Препарат бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* для изменения технологических показателей глины

© 2018 Р.М. МАРКЕВИЧ<sup>1\*</sup>, Л.В. ЯКИМОВИЧ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>УО «Белорусский государственный технологический университет» (БГТУ), 220006 Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Республиканское проектное унитарное предприятие «МедБиоФармПроект», Минск, 220000, Беларусь

\*e-mail: marami@tut.by

Поступила 15.02.2018 г.

Принята в печать 03.07.2018 г.

В результате скрининга образцов глин белорусских месторождений был выделен изолят, который по совокупности признаков идентифицирован как бактерии *Bacillus amyloliquefaciens* Г. Подобраны питательные среды для преимущественного накопления метаболитов (органических кислот или полисахаридов); изучен количественный и качественный состав кислот и экзополисахаридов; установлена роль отдельных метаболитов в изменении дисперсности, поверхностных и технологических свойств глины; определены параметры получения бактериальных препаратов. Разработана технологическая схема бактериальной обработки глин с разными исходными свойствами. Применение препарата бактерий *B. amyloliquefaciens* Г на ОАО «Белхудожкерамика» позволило установить ряд преимуществ этих бактерий перед уже используемым препаратом *B. mucilaginosus* 4: технологические свойства шликера (текучесть, коэффициент загустеваемости) изменяются так, что становится возможным его повторное использование после набора первого черепка; отмечено снижение воздушной линейной усадки образцов после обжига и повышение их механической прочности, при этом для обработки глины требуется меньшее количество препарата бактерий *B. amyloliquefaciens* Г, по сравнению с препаратом бактерий *B. mucilaginosus* 4. Вылеживание глины, обработанной препаратом бактерий *B. amyloliquefaciens* Г положительно воздействует на пластичные свойства гончарных масс.

**Ключевые слова:** глина, *Bacillus amyloliquefaciens*, бактериальный препарат, шликер, водопоглощение, число пластичности.

doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-4-67-77

К настоящему времени накоплен значительный опыт разработки технологических процессов бактериальной обработки глинистых керамических масс и отдельных минералов [1–8]. В Германии реализован проект BIOTON, посвященный биообработке глинистых материалов в керамической промышленности. В России проведен ряд полупромышленных и промышленных испытаний биологической обработки глинистых материалов, направленной на улучшение технологических свойств и удаление примесей (включая красящие).

Установлено, что в процессе вылеживания опытных образцов белорусских глин, в которые добавлены питательные среды, их технологические показатели, существенно изменяются по сравнению со стерильными образцами, что свидетельствует об активности микроорганизмов или продуктов их метаболизма. Целесообразно выделение представителей естественной микробиоты, оказывающих положительное воздействие на технологические показатели глин при вылеживании, с целью получения бактериального препарата на их основе.

**Список сокращений:** ГЖХ – газожидкостная хроматография; КОЕ – колониеобразующая единица; ПСХ – экзополисахарид; УК – раствор уксусной кислоты.



Отмечено, что на результаты микробиологической обработки глинистых керамических масс влияют не только исходные характеристики глинистых материалов, условия обработки глины (температура и продолжительность изотермической выдержки), но также доза и состав используемого бактериального препарата (вид микроорганизмов, природа и количество метаболитов и др.).

Надо отметить, что, в отличие от традиционных (реагентных) методов обработки глины, при которых диспергация частиц и повышение пластичности неизбежно приводят к увеличению чувствительности глин к сушке, бактериальная обработка, повышая пластичность, может снижать чувствительности глин к сушке. Данный факт свидетельствует о разнонаправленном действии продуктов микробного синтеза, из которых, согласно литературным данным, наибольшая роль отводится органическим кислотам и экзополисахаридам.

Таким образом, накопленный к настоящему времени опыт не позволяет заранее предъявлять четкие требования к способам и режимам биобработки глинистого сырья, прогнозировать требуемые значения технологических показателей при бактериальной обработке глины с разными исходными характеристиками.

Цель данной работы заключалась в изучении состава метаболитов микроорганизмов, выделенных из глин белорусских месторождений, установлении их влияния на свойства глины и получении на их основе бактериального препарата, изменяющего технологические показатели глин с разными исходными свойствами (высоко- и среднечувствительных к сушке, мало- и умереннопластичных).

## УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Для вылеживания глины, выделения бактерий и бактериальной обработки применяли образцы глин белорусских месторождений: умереннопластичной глины «Гайдуковка» и среднечувствительной к сушке глины «Лукомль».

В работе использовали питательные среды № 1–5 следующего состава, г/л:

№ 1:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 0,5 («Унихром», Россия);  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  – 0,26 («Вектон», Россия);  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2 («Беллехимкомплект», Беларусь);  $\text{NaCl}$  – 0,1 (ХлоренХима», Россия);  $\text{K}_2\text{SO}_4$  – 0,1 («Унихром», Россия); сахароза – 5 («Белреахим», Беларусь); pH 7,0;

№ 2:  $\text{NaNO}_3$  – 0,5 («Унихром»);  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  – 0,26;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2;  $\text{NaCl}$  – 0,2;  $\text{K}_2\text{SO}_4$  – 0,1; сахароза – 20; pH 7,0;

№ 3:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  – 0,3 («Компонент-Реактив», Россия);  $\text{NaCl}$  – 0,2;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 0,4 («ХлоренХима»);  $\text{CaCO}_3$  – 5; сахароза – 5; pH 7,0;

№ 4: картофельный отвар;

№ 5:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  – 1,3;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1; глюкоза – 20 («Белреахим», Беларусь); pH 7,0.

Для выделения чистой культуры бактерий использовали стандартные методы получения изолированных колоний. Идентификацию выделенных бактерий проводили на основании определения морфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков, а также с применением молекулярно-генетических методов [9–11] в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси. Ветеринарно-токсикологические исследования проводили в Институте экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского с использованием общепринятых методик.

В работе были выделены изоляты бактерий из образца глины месторождения «Гайдуковка». Были проведены промышленные испытания указанных изолятов и бактерий *Bacillus mucilaginosus* 4 селекции Одесского государственного аграрного университета. Бактерии *Bacillus mucilaginosus* 4 в 1998 г. были получены из Молдавского научно-исследовательского и проектно-конструкторского института строительных материалов (МолдНИИИстромпроект), куда поступили из коллекции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии в первой половине 90-х гг.

Культуру бактерий *B. mucilaginosus* 4 и *B. amyloliquefaciens* Г выращивали в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл питательной среды (№ 1 или № 2) в условиях аэрации (200 об/мин) при температуре 30 °C на протяжении 48 ч. С целью сравнения воздействия бактерий *B. amyloliquefaciens* Г и *B. mucilaginosus* 4 на свойства глины и качество готовых изделий проводили обработку гончарных масс препаратами этих бактерий.

При установлении количества и состава органических кислот в исследуемых препаратах бактерий использовали кондуктометрическое титрование и газожидкостную хроматографию (ГЖХ) на хроматографе Hewlett Packard 4890 D (США). Для определения количества и характеристики экзополисахаридов применяли фенол-сернокислотный метод, титрование карбоксильных групп по Вильсон, ионообменную хроматографию на



колонках ДЭАЭ-целлюлозы и КМ-сефадекса и ИК-спектроскопию на ИК-Фурье спектрометре NEXSUSTM E. S. P. (Termo Nicolet, США).

Процесс вылеживания проводили следующим образом: к навескам стерильных и нестерильных образцов глины обоих месторождений (300 г), предназначенным для вылеживания, добавляли по 30 мл одной из жидких питательных сред (№ 3, № 5) или стерильной дистиллированной воды (контроль). Опытные и стерильные образцы помещали в термостат на вылеживание при температуре 30 °С. Из всех образцов через 10 и 34 сут отбирали пробы для определения основных качественных характеристик глины: числа пластичности, коэффициента чувствительности к сушке и воздушной линейной усадки.

В эксперименте по бактериальной обработке в образцы глины влажностью 50% добавляли бактериальные препараты или растворы метаболитов. Образцы выдерживали в термостате в течение 72 ч при температуре 30 °С. Аналогичным образом инкубировали образец, в который добавляли воду (контроль). Определение пластичности глинистого сырья проводили по методу Васильева-Аттенберга на приборе Васильева по ГОСТ 21216.1–93. Воздушную линейную усадку и коэффициент чувствительности к сушке определяли методом З.А. Носовой по ГОСТ 24816–81. Адсорбционно-десорбционные свойства исследуемых глин и удельную поверхность по азоту изучали на приборе «NOVA 2200». Гранулометрический состав глины устанавливали на лазерном анализаторе дисперсности «Analysette 22» NanoTec (Fritsch, Германия) в диапазоне длины волны от 0,1 до 100 мкм.

Производственные испытания включали две серии экспериментов. В первой серии керамические изделия изготавливали методом литья из биообработанного формовочного шликера, вторая серия экспериментов заключалась в получении готовых изделий на гончарных кругах после вылеживания биообработанной гончарной массы.

Для определения необходимого количества параллельных опытов при выполнении исследований принимали допустимую величину случайной ошибки, равную 5% от среднего значения показателя (доверительная вероятность 95%). Число параллельных опытов составляло не менее пяти.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время при получении керамических изделий, как в производственных условиях, так и в гончарных мастерских, глинистое сырье

перед использованием рекомендуется выдерживать в теплом помещении не менее 5 сут для активизации деятельности естественной микробиоты. Действие микроорганизмов позволяет изменить также свойства фарфоровых масс, сокращая длительность их вылеживания, что показано в работах Масленниковой Г.Н. [1]. Эти факты убедительно доказывают, что помимо действия физико-химических факторов существенная роль в изменении свойств глинистого сырья принадлежит микроорганизмам.

В наших образцах в результате вылеживания изменялись технологические показатели глины. Если добавление воды приводило к незначительному увеличению пластичности образцов и чувствительности их к сушке, то внесение питательных сред способствовало существенному изменению технологических показателей (рис. 1, 2), что доказывает участие в процессе микроорганизмов либо продуктов их метаболизма.

Наибольшее увеличение пластичности (на 10% по сравнению со стерильным образцом) достигалось для умереннопластичной глины месторождения «Гайдуковка» при добавлении питательной среды № 3 после 34 сут вылеживания. Максимальное снижение чувствительности к сушке и воздушной линейной усадки (на 62% и 46%, соответственно), по сравнению со стерильным образцом, наблюдалось для глины месторождения «Лукомль».

Согласно полученным данным, для существенного изменения технологических параметров недостаточно даже 10 сут вылеживания, что в условиях многотоннажного производства неприемлемо. Для ускорения процесса, по-видимому, целесообразно применение препаратов, полученных на основе микроорганизмов в условиях, благоприятствующих синтезу определенных метаболитов, например, препаратов на основе чистой культуры микроорганизмов, выделенной непосредственно из образцов глины, обработанных готовым препаратом и некоторое время (до 3 сут) выдержанных.

Чистые культуры микроорганизмов выделяли из образцов глины заявленных месторождений. Количество выделенных жизнеспособных клеток составляло  $(3,0–4,5) \cdot 10^5$  КОЕ на 1 г глины месторождения «Гайдуковка» и  $(1,5–3,0) \cdot 10^5$  КОЕ на 1 г глины месторождения «Лукомль».

Из используемых образцов глины выделены колонии пяти морфотипов. Количественно преобладали непрозрачные колонии цвета топленого молока с выпуклой шероховатой поверхностью и



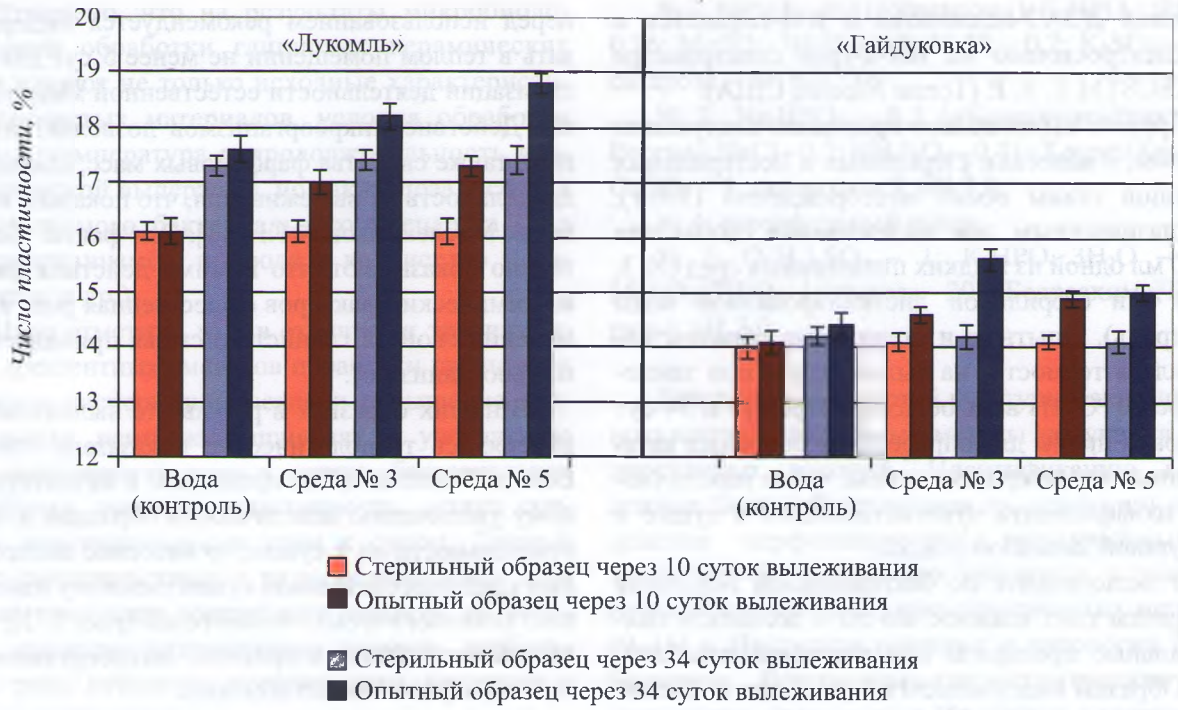


Рис. 1. Влияние условий вылеживания на пластичность образцов глины месторождений «Лукомль» и «Гайдуковка»

Fig. 1. Effect of lying conditions on plasticity of clay samples from Lukoml' and Gaidukovka deposits

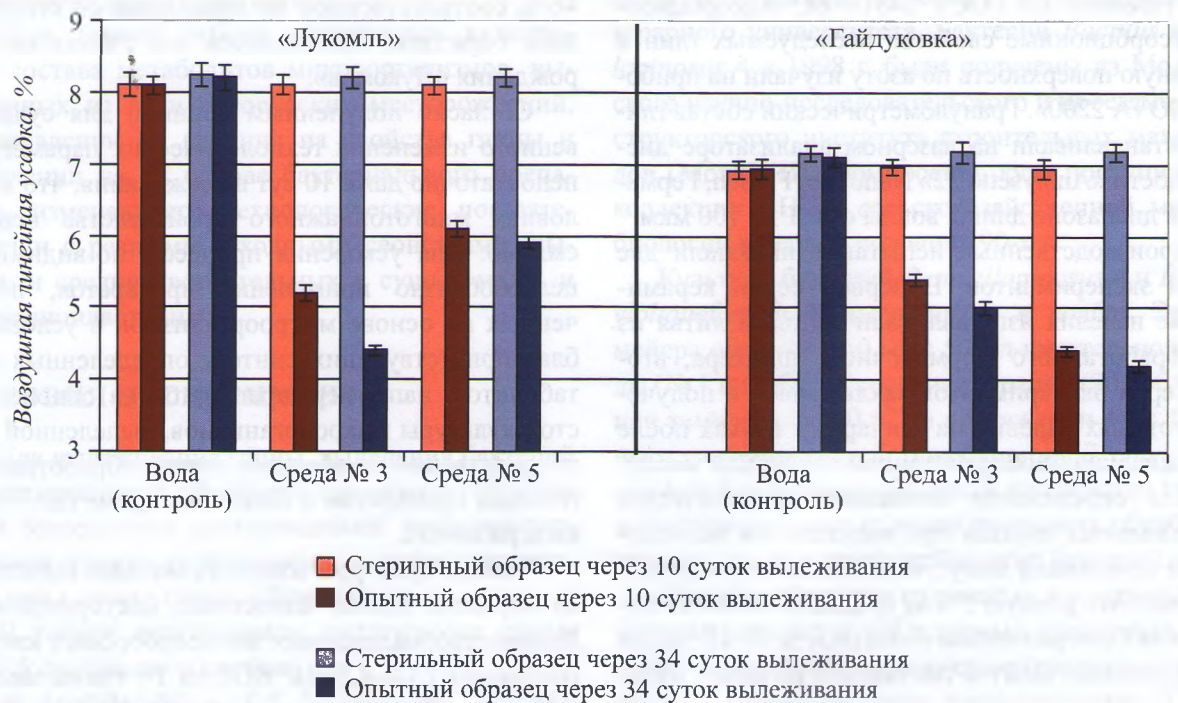


Рис. 2. Влияние условий вылеживания на воздушную линейную усадку образцов глины месторождений «Лукомль» и «Гайдуковка»

Fig. 2. Effect of lying conditions on air linear shrinkage of clay samples from Lukoml' and Gaidukovka deposits



фестончатыми краями, диаметр которых не превышал 4 мм. Их доля в общем количестве выделенных микроорганизмов для разных образцов составляла от 94% до 96%. Кроме того, выделены микроорганизмы, которые образовывали круглые непрозрачные колонии размером до 2 мм белого, бежевого, желтого (только для месторождения «Гайдуковка») и коричневого цветов.

Далее проводили скрининг бактерий каждого морфотипа по способности улучшать технологические показатели глины, отличающихся по свойствам. Для каждого вида глины отобрано по десять изолятов доминирующих колоний и по три изолята, образующих белые, бежевые и коричневые колонии каждого из двух месторождений и 3 изолята, образующих колонии желтого цвета только для месторождения «Гайдуковка». Таким образом, для микробиологической обработки глины в подобранных ранее условиях использовали 41 чистую культуру бактерий.

Наибольшей способностью изменять технологические свойства глины среди отобранных микроорганизмов отличался изолят Г: пластичность глины с разными исходными свойствами увеличилась на 11–16,9%, коэффициент чувствительности к сушке снизился на 26,1–30,3% за 72 ч. Отобранные бактерии представляют собой одиночные подвижные клетки бациллярной формы размером (4,0–5,5)×(0,6–0,8) мкм, которые к 48 ч культивирования в жидкой среде образуют большие скопления. При культивировании на агаризованных средах формируются колонии доминирующего морфотипа, описанные выше. Исследуемый штамм образует капсулы, является грамположительным аэробом, размножается при 20–50 °C и pH от 3,7 до 9,0. Оптимальный рост отмечен при температуре 35–37 °C и pH 7,0–7,2. В качестве единственного источника углерода усваивает глюкозу, фруктозу, маннозу, сахарозу, галактозу и растворимый крахмал. Культура обладает каталазной активностью, способна к кислотообразованию, разжижает желатину. В соответствии с вышеперечисленными морфологическими, культуральными и физиолого-биохимическими признаками изолят Г отнесен к р. *Bacillus*.

В результате проведения секвенирования были определены нуклеотидные последовательности генов 16S рДНК исследуемого изолята Г размером 1432 п.о. что было достаточно для проведения Blast-поиска (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) и филогенетического анализа. Родовая идентификация на основании Blast-поиска нуклеотидных последовательностей 16S рДНК со-

впала с идентификацией на основании фенотипических признаков у изолята Г. По результатам Blast-анализа исследуемый изолят Г оказался наиболее близок к подгруппе видов *Bacillus subtilis* (*B. velezensis* (*B. amyloliquefaciens*), *B. amyloliquefaciens*, *B. vallismortis*, *B. subtilis*). Гомология с типовыми штаммами подгруппы *B. velezensis* варьировала в пределах 99,4–99,9%.

Для подтверждения результатов Blast-анализа и уточнения результатов генотипической идентификации был проведен дополнительно филогенетический анализ на основании сравнения 16S рДНК исследуемого изолята, типовых и референтных штаммов родственных видов. Результаты филогенетического анализа представлены на рис. 3.

Дерево построено по методу Neighbor-Joining [11]. Блок сравнения содержит 1344 нуклеотидов. Значения бутстрапа вычислены на основании анализа 1000 деревьев. В скобках приведены номера доступа последовательностей в GenBank.

Как видно из рис. 3, изолят Г принадлежит к роду *Bacillus* и входит в кластер, образуемый бактериями группы подвидов вида *B. subtilis*. Уровень гомологии последовательностей 16S рДНК внутри кластера *B. subtilis* превышает 99,5%, что затрудняет точную видовую идентификацию. Тем не менее, можно надежно разграничить подвиды группы *B. subtilis* на две подгруппы: *B. subtilis* и *B. velezensis*. При этом изолят Г образует с типовыми штаммами *Bacillus velezensis* и *Bacillus amyloliquefaciens* единую группу (значение бутстрапа (67)), к которой примыкает типовой штамм *B. vallismortis*. Судя по результатам анализа, виды *B. velezensis* и *B. amyloliquefaciens* достоверно неразличимы по последовательности 16S рДНК. На сегодняшний день, в отличие от ранее полученных данных [12], на основании высокой степени гомологии геномной ДНК референтных штаммов *B. amyloliquefaciens* и *B. velezensis* предложено объединить эти бактерии в единый вид *Bacillus amyloliquefaciens* [13]. Таким образом, на основании анализа последовательностей 16S рДНК, бактерия Г была отнесена к виду *Bacillus amyloliquefaciens*.

Изучение ветеринарно-токсикологических свойств штамма Г бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* показало, что он не является патогенным, токсичным и токсигенным и может использоваться в микробиологическом производстве.

Следующий этап исследований заключался в подборе состава питательных сред для оценки влияния метаболитов бактерий на свойства глины и керамических смесей на их основе.



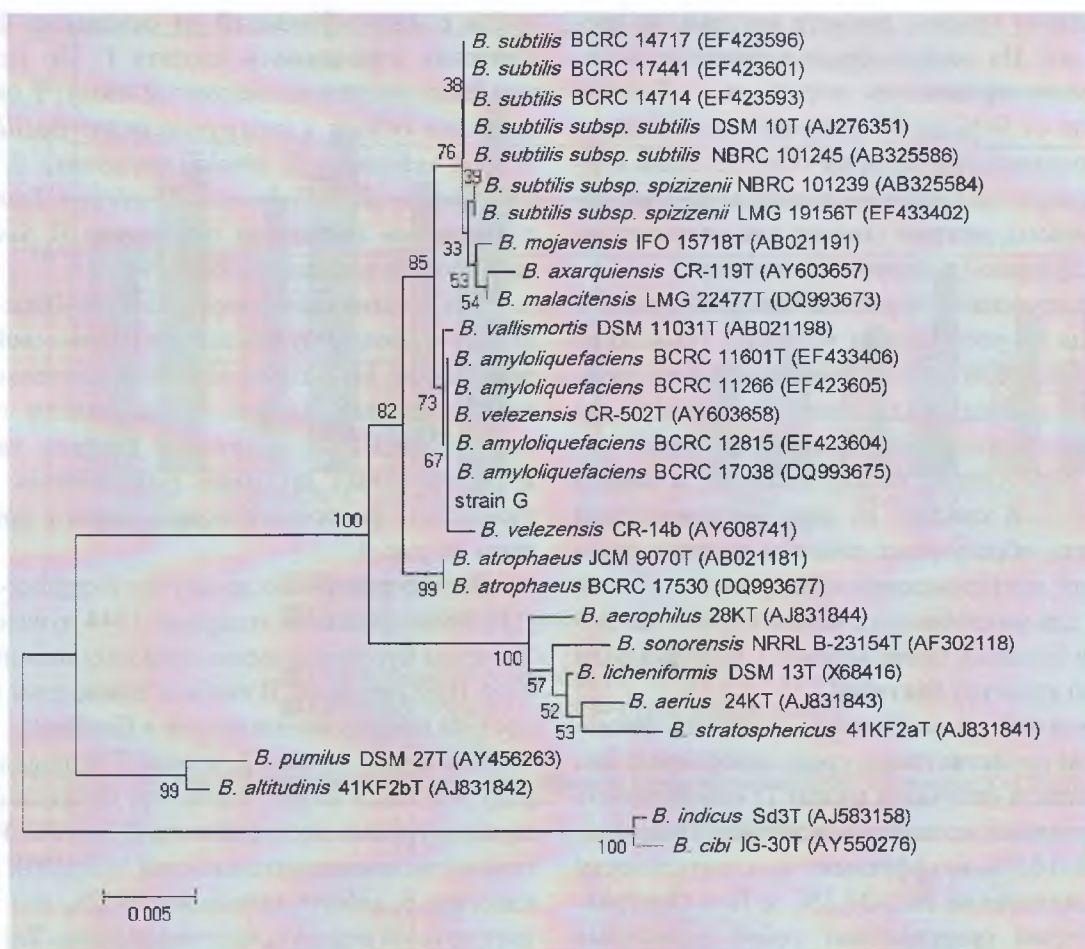


Рис. 3. Филогенетическое родство исследуемого изолята Г и референтных штаммов группы подвидов *Bacillus subtilis*. Линейка соответствует 0,005 заменам на нуклеотидную позицию

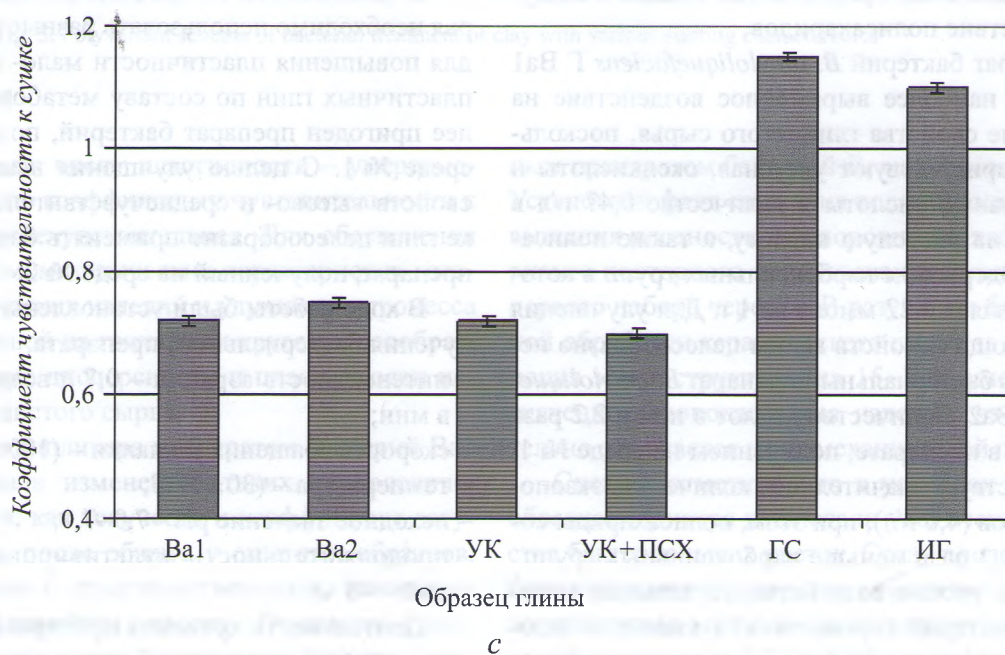
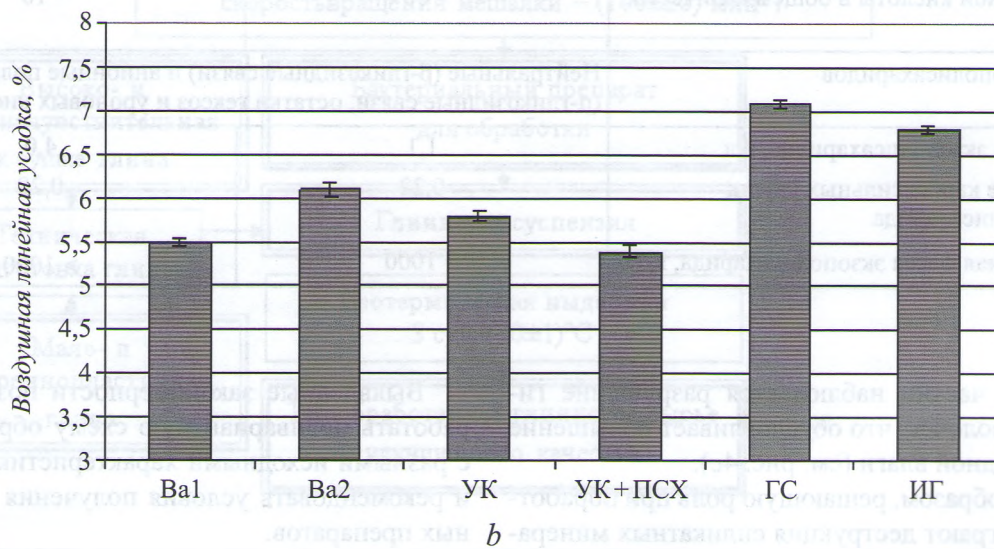
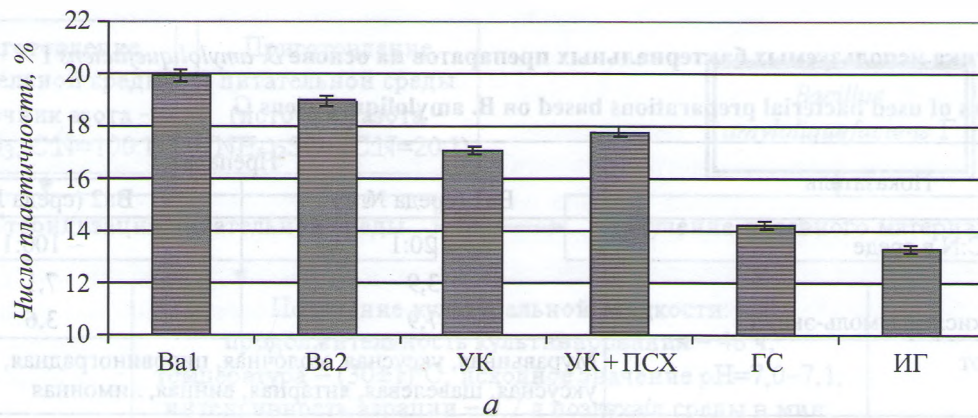
Fig. 3. Phylogenetic relationship of studied isolate G and reference strains of *Bacillus subtilis* subspecies group. Measuring segment corresponds to 0.005 substitutions per nucleotide position

Для накопления органических кислот в бактериальном препарате при культивировании исследуемых бактерий выбрана среда № 1 с аммонийным источником азота и отношением углерода к азоту 20:1, а для продукции экзополисахаридов – среда № 2 с нитратным источником азота и отношением углерода к азоту 100:1. Состав и свойства продуктов метаболизма бактерий, прежде всего органических кислот и экзополисахаридов, приведены в таблице 1.

Для установления роли отдельных компонентов в изменении технологических свойств глины при обработке использованы не только препараты бактерий *B. amyloliquefaciens* Г, различающиеся составом органических кислот и экзополисахаридов, но и растворы метаболитов этих бактерий в концентрациях, соответствующих их содержанию в препаратах (раствор уксусной кислоты 19,8 мг/л (УК); раствор уксусной кислоты 19,8 мг/л + экзополисахарид 4,2 г/л (УК+ПСХ)).

Обработка образцов умереннопластичной глины месторождения «Гайдуковка» позволила установить, что органические кислоты и микробные полисахариды, содержащие карбоксильные группы, способствуют дезагрегации и повышению дисперсности частиц глины, что приводит к увеличению на 20,4–40,1% пластичности глинистого сырья в зависимости от варианта обработки метаболитами. Присутствие экзополисахарида, содержащего карбоксильные группы, в смеси с раствором уксусной кислоты ведет к дополнительному возрастанию пластичности на 5,3% (рис. 4а). Бактериальные полисахариды связывают часть влаги в глинистой суспензии, в результате чего при сушке линейная усадка образцов на 14,2% меньше, чем у образцов обработанных только раствором уксусной кислоты (см. рис. 4б). При этом уменьшается чувствительность глины к сушке, поскольку под воздействием уксусной кислоты вследствие изменения величины заряда





**Рис. 4.** Влияние обработки бактериальными препаратами и их метаболитами на пластичность (a), воздушную линейную усадку (b) и коэффициент чувствительности к сушке (c) образцов глины месторождения «Гайдуковка». ИГ – образец исходной глины, ГС – образец глиняной суспензии

**Fig. 4.** Effect of treatment by bacterial preparations and their metabolites on plasticity (a), air linear shrinkage (b) and coefficient of sensitivity to drying (c) of clay samples from Gaidukovka deposit. ИГ, original sample; ГС, clay suspension sample



Характеристика используемых бактериальных препаратов на основе *B. amyloliquefaciens* ГCharacteristics of used bacterial preparations based on *B. amyloliquefaciens* G

Показатель	Препарат	
	Ba1 (среда № 1)	Ba2 (среда № 2)
Отношение C:N в среде	~ 20:1	~ 100:1
Значение pH	3,9	7,1
Количество кислот, ммоль-экв./л	7,9	3,6
Состав кислот	Муравьиная, уксусная, молочная, пировиноградная, шавелево-уксусная, шавелевая, янтарная, винная, лимонная	
Доля уксусной кислоты в общем количестве кислот, %	~ 60	~ 10
Состав экзополисахаридов	Нейтральные (β-гликозидные связи) и анионные полисахариды (α-гликозидные связи, остатки гексоз и уроновых кислот)	
Количество экзополисахаридов, г/л	1,1	4,0
Содержание карбоксильных групп, ммоль/г полисахарида	0,22	0,20
Молекулярная масса экзополисахарида, кДа	> 1000	> 1000

глинистых частиц наблюдается разрушение гидратных оболочек, что обуславливает повышение доли свободной влаги (см. рис. 4с).

Таким образом, решающую роль при обработке глины играют деструкция силикатных минералов под действием органических кислот и связующее действие полисахаридов.

Препарат бактерий *B. amyloliquefaciens* Г Ba1 проявляет наиболее выраженное воздействие на пластичные свойства глинистого сырья, поскольку в нем присутствуют уксусная, оксикислоты и многоосновные кислоты в количестве 0,47 г/л в пересчете на уксусную кислоту, а также полисахариды, содержание карбоксильных групп в которых составляет 0,22 ммоль на 1 г. Для улучшения влагоотдающих свойств глины целесообразно использовать бактериальный препарат *B. amyloliquefaciens* Г, Ba2. Количество кислот в нем в 2,2 раза ниже, чем в препарате, полученном на среде № 1, но присутствует значительное количество экзополисахаридов (4,0 г/л); при этом, полисахариды содержат в 1,1 раза меньше карбоксильных групп.

Итак, с учетом воздействия отдельных метаболитов бактерий (органических кислот и экзополисахаридов) путем оптимизации условий получения бактериальных препаратов возможно направленное изменение свойств глинистого сырья, т. е. условия получения препаратов бактерий для обработки глины должна определяться характеристиками исходного глинистого сырья.

Выявленные закономерности позволили разработать поливариантную схему обработки глин с разными исходными характеристиками (рис. 5) и рекомендовать условия получения бактериальных препаратов.

В зависимости от показателей исходного сырья необходимо использовать разные препараты – для повышения пластичности мало- и умеренно-пластичных глин по составу метаболитов наиболее пригоден препарат бактерий, полученный на среде № 1. С целью улучшения влагоотдающих свойств высоко- и среднечувствительных к сушке глин целесообразно применять бактериальный препарат, полученный на среде № 2.

В ходе работы были установлены условия получения бактериального препарата:

- интенсивность аэрации – 0,7 л воздуха/л среды в мин;
- скорость вращения мешалки –  $(100 \pm 20)$  мин<sup>-1</sup>;
- температура –  $(30 \pm 1)$ °C;
- исходное значение pH = 7,0–7,1;
- продолжительность культивирования бактерий – 48 ч.

Длительность хранения препарата при температуре 4–6 °C составляет 2 мес.

Производственные испытания препарата бактерий *B. amyloliquefaciens* Г проводили на ОАО «Белхудожкерамика» [14]. Основное сырье предприятия – глина белорусского месторождения «Гайдуковка», которая классифицируется как



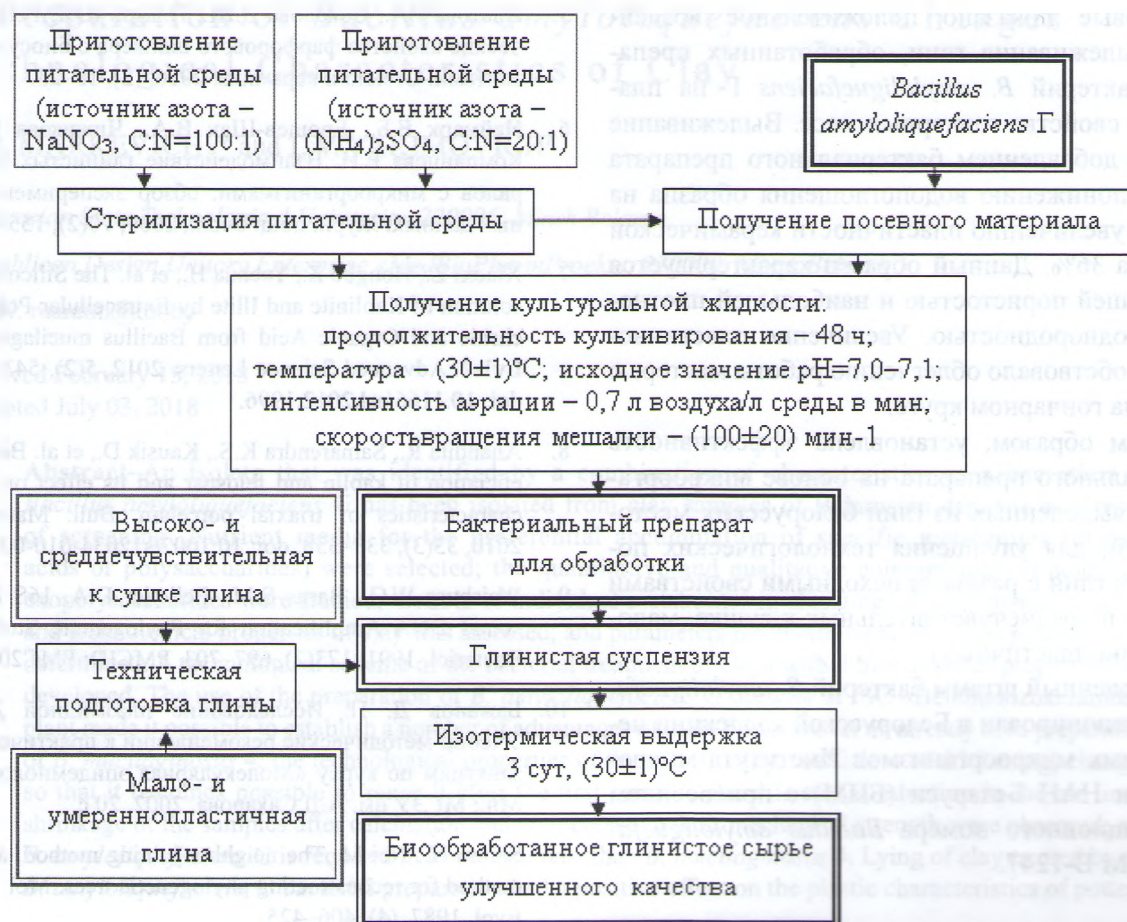


Рис.5. Поливариантная схема бактериальной обработки глин с разными исходными характеристиками

Fig. 5. Polyvariant scheme of bacterial treatment of clay with various starting characteristics

дисперсная, по числу пластичности – умеренно-пластичная, по коэффициенту чувствительности к сушке – среднечувствительная. Для обеспечения высоких термомеханических характеристик готовых керамических изделий и улучшения процесса работы с глиной на гончарном круге целесообразно повышение дисперсности и пластичности исходного глинистого сырья.

Обработка шликера препаратом бактерий *Ba1* способствовала изменению таких технологических свойств, как текучесть и коэффициент загустеваемости, после обжига у опытных образцов, по сравнению с производственными, снижалась воздушная линейная усадка. Отмечено существенное уменьшение количества наколов (особенно наглядно это отображается на небольших по размеру изделиях), что значительно снижает процент брака. Показана возможность снижения в 2 раза препарата бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* Г, по сравнению с ранее использован-

ным препаратом бактерий *B. mucilaginosus* 4 [15]. Установлен факт снижения водопоглощения и повышения плотности и однородности изделий в варианте повторного использования шликера после первого набора черепка. В результате бактериальной обработки керамического сырья за счет изменения микроструктуры на 15–18% уменьшилось значение водопоглощения изделий, что положительно отражается на их механической прочности.

Следует отметить, что в условиях выдержки образцов шликера наблюдали увеличение количества бактериальных клеток. Сразу после внесения бактериальных препаратов концентрация клеток, определенная методом последовательных разведений, составляла  $3,7 \cdot 10^6$  КОЕ на 1 г. Наряду с бактериями *B. amyloliquefaciens* Г в образцах отмечен рост других бактериальных колоний. По истечении времени выдержки (72 ч) концентрация клеток составила  $1,2 \cdot 10^7$  КОЕ на 1 г, при значительном преобладании внесенных бактерий.



Впервые показано положительное воздействие вылеживания глин, обработанных препаратом бактерий *B. amyloliquefaciens* Г на пластичные свойства гончарных масс. Вылеживание глины с добавлением бактериального препарата ведет к понижению водопоглощения образца на 13% и к увеличению пластичности керамической массы на 36%. Данный образец характеризуется наименьшей пористостью и наибольшей плотностью и однородностью. Увеличение пластичности способствовало облегчению работы мастера с глиной на гончарном круге.

Таким образом, установлена эффективность бактериального препарата на основе микроорганизмов, выделенных из глин белорусских месторождений, для улучшения технологических показателей глин с разными исходными свойствами (высоко- и среднечувствительных к сушке, мало- и умереннопластичных).

Выделенный штамм бактерий *B. amyloliquefaciens* Г депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси (БИМ) с присвоением регистрационного номера *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1247.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Масленникова Г.Н., Платов Ю.Т., Халилуллова Р.А. и др. Влияние микроорганизмов на свойства фарфоровых масс при вылеживании. Стекло и керамика. 1999, (10), 15–22.
2. Платова Р.А. Чернышов А.Н. Масленникова Г.Н. Биологическая обработка глинистых материалов и керамических масс: основные направления, способы и опыт применения (обзор). Стекло и керамика. 2012, (7), 15–22.
3. Каравайко Г.И. Микробная деструкция силикатных минералов. Сб. науч. тр. Ин-т микробиологии. 2004, (12) (Юбилейный сборник к 30-летию института), 172–196.
4. Какошко Е.С. Повышение качественных характеристик полиминерального глинистого сырья путем его биологической обработки: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.17.11 / Е.С. Какошко; Белорус. гос. техн. ун-т. – Минск, 2008, 20 с.
5. Платова Р.А., Соколова Д.Ш., Платов Ю.Т. Реологические свойства фарфорового шликера с биосурфактантами. Стекло и керамика. 2016, (2), 18–23.
6. Наймарк Е.Б., Ерошев-Шак В.А., Чижилова Н.П., Компанцева Е.И. Взаимодействие глинистых минералов с микроорганизмами: обзор экспериментальных данных. Журн. общ. биол., 2009, 70(2), 155–167.
7. Xiaoxi Z., Hongbo Z., Yuehua H., et al. The Silicon Dissolution of Kaolinite and Illite by Extracellular Polysaccharide and Organic Acid from *Bacillus mucilaginosus* Lv1-2. Advanced Science Letters. 2012, 5(2), 543–546. doi: 10.1166/asl.2012.1996.
8. Anandita R., Samarendra K.S., Kausik D., et al. Biobeneficiation of kaolin and feldspar and its effect on fired characteristics of triaxial porcelain. Bull. Mater.Sci. 2010, 33(3), 333–338. doi: 10.1007/s12034-010-0078-9
9. Weisburg W.G., Barns S.M., Pelletier D.A. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. J. Bacteriol. 1991, 173(2), 697–703. PMID: PMC207061
10. Бажанов Д. П. Исследование плазмидной ДНК: Учебно-методические рекомендации к практическим занятиям по курсу «Молекулярная эпидемиология». Мн.: МГЭУ им. А.Д.Сахарова, 2002, 20 с.
11. Saitou N.; Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 1987, (4), 406–425. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.
12. Ruiz-Garcia C., Bejar V., Martinez-Checa F., et. al. *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Velez in Malaga, southern Spain. Int. J. Sys. Evol. Microbiol. 2005. 55, 191–195. doi: 10.1099/ijs.0.63310-0
13. Wang L-T, Lee F-L, Tai C-J, Kuo H-P. *Bacillus velezensis* is a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*. Int. J. Sys. Evol. Microbiol. 2008, 58, 671–675. doi: 10.1099/ijs.0.65191-0
14. Якимович Л.В., Маркевич Р.М., Свистунова Л.В. Изготовление опытных изделий из биообработанных керамических масс в производственных условиях ОАО «Белхудожкерамика». Труды БГТУ. 2015, 177(4). 229–233.
15. Куис Л.В., Маркевич Р.М., Дятлова Е.М., Какошко Е.С. Биотехнологическая обработка глин. Наука и инновации. 2009, (10), 38–41.



# A Preparation of *Bacillus amyloliquefaciens* Changes Technological Characteristics of Clay

R.M. MARKEVICH<sup>1,\*</sup> and L.V. YAKIMOVICH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State Technological University, 220006, Minsk Belarus

<sup>2</sup>Republican Design Unitary Enterprise «MedBioPharmProekt», 220000, Minsk Belarus

e-mail: marami@tut.by

Received February 15, 2018

Accepted July 03, 2018

**Abstract**—An isolate that was identified by a combination of characteristics as a bacterium of *Bacillus amyloliquefaciens* G has been isolated from clay samples of Belarusian deposits as a result of screening. Nutrient media for the preferential accumulation of specific metabolites (organic acids or polysaccharides) were selected; the quantitative and qualitative compositions of acids and exopolysaccharides were studied; the role of individual metabolites in changing of the dispersity, surface and technological properties of clay was assessed; and parameters for obtaining bacterial preparation were determined. A technological scheme of the bacterial treatment of clays with different initial properties was developed. The use of the preparation of *B. amyloliquefaciens* G bacteria at JSC «Belkhudozhkeramika» plant made it possible to establish a number of advantages of these bacteria over an already used preparation of *B. mucilaginosus* 4: the technological properties of the slip (fluidity, coefficient of thickening) changed so that it becomes possible to reuse it after the first ceramic shard is set; a reduction in the air linear shrinkage of the samples after calcination and an increase in their mechanical strength were observed; and *B. amyloliquefaciens* G is required in lower amounts than *B. mucilaginosus* 4. Lying of clay treated by the *B. amyloliquefaciens* G bacterial preparation had a positive effect on the plastic characteristics of pottery.

**Key words:** clay, *Bacillus amyloliquefaciens*, bacterial preparation, ceramic slurry, water absorption, plasticity number.

doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-4-67-77