

Л. В. Куис, аспирант; Р. М. Маркевич, доцент; Е. С. Какошко, инженер; Е. М. Дятлова, доцент

НОВЫЙ ШТАММ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* И ЕГО ВОЗДЕЙСТВИЕ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЛИНЫ

The aim of the research work consists in isolating bacteria from clays of the Belarusian deposits, studying cultural liquids of these bacteria received on different nutrient mediums, and also in identifying the isolated bacteria. We have isolated and described microorganisms from sample clays of deposits "Lukomle" and "Gyidukovka". There is accumulation of acids and polysaccharides at cultivation of bacteria which are contained in the samples of clays on synthetic medium and natural medium, as well as at incubation of *Bacillus mucilaginosus*. We have carried out identification of bacteria, established the range of features of the isolated culture. Thus, having estimated the received results, it is possible to draw a conclusion, that the isolated culture belongs to genus of *Bacillus*.

Ведение. К настоящему времени показано, что многие микроорганизмы принимают участие в деструкции минералов [1]. Большое число публикаций посвящено влиянию *Bacillus mucilaginosus*, причем из различных почв и горных пород выделены штаммы этих бактерий, имеющие морфолого-культуральные и физиолого-биохимические особенности [2, 3]. Ранее нами было показано, что изменение технологических характеристик глин происходит при вылеживании образцов, вероятно, под действием естественной микробиоты, активность которой увеличилась благодаря оптимальным условиям (температура, добавленная питательная среда) [4].

В этой связи представляет интерес выделение бактерий из образцов глин белорусских месторождений. Мы предположили, что можно добиться значительного улучшения показателей сырья, используя для этого обработку культуральной жидкостью выделенных

Основная часть. Цель работы заключалась в получении чистой культуры, изучении свойств этих микроорганизмов и их воздействия на технологические характеристики глин.

Для получения нового штамма бактерий использовали образцы глины белорусских месторождений. В качестве питательной среды был выбран картофельный агар.

Выделение бактерий производили в следующем порядке:

- каждую навеску глины массой 10 г растирали в ступке с 30 мл стерильной водопроводной воды в течение 20 мин;
- под вакуумом отфильтровывали суспензию глины;
- готовили 10^{-2} и 10^{-4} разведение фильтрата в стерильном физиологическом растворе;
- разведенный фильтрат высевали на картофельный агар для получения изолированных колоний методом Коха.

Чашки с посевами помещали в термостат с температурой 30°C на 48 ч. Обработку результатов проводили путем описания каждого вида колоний.

В результате выделения на плотной среде было получено большое количество морфоло-

гически однородных бактерий. При выращивании на поверхности плотной среды эти бактерии формировали круглые непрозрачные колонии цвета топленого молока с выпуклой шероховатой поверхностью, с фестончатыми краями. Диаметр колоний составлял до 4 мм. Количество таких колоний превышало 90% от общего количества микроорганизмов. В небольшом количестве присутствовали более мелкие матовые или пигментированные колонии.

Для дальнейшего исследования был выбран штамм, выделенный из образца глины месторождения «Гайдуковка» (штамм Г).

Дальнейшее изучение бактерий проводили с использованием синтетической среды (№ 1) и картофельного отвара (№ 2). Состав среды № 1: сахароза – 5 г/л; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5 г/л; K_2HPO_4 – 0,2 г/л; MgSO_4 – 0,2 г/л; NaCl – 0,1 г/л; K_2SO_4 – 0,1 г/л и агар-агар – 15 г/л.

Для характеристики культуральной жидкости штамма Г проводили измерение значения pH, экстинкции, определяли содержание полисахаридов и кислот. При выращивании выделенных бактерий на синтетической среде уже через 12 ч значение pH культуральной жидкости снизилось до 4,16, в то время как на натуральной картофельной среде происходило увеличение значения pH и к концу процесса составило 8,64. Вместе с тем результаты кондуктометрического титрования показывают, что и в этом случае образуются кислые продукты, которые, вероятно, находятся в связанном виде. Полисахаридов на среде № 1 синтезируется в 4 раза больше [5].

Для осуществления идентификации штамма Г до рода использовали совокупность биологических и физиолого-биохимических признаков [6].

К изучению биологических свойств относятся описание роста исследуемой культуры на плотной и в жидкой среде, а также анатомических особенностей. Анатомические особенности определяли по результатам следующих анализов:

- окраска бактерий по методу Грамма;
- определение подвижности;
- окраска бактериальных спор;

– кислотоустойчивость по методу Циля – Нильсена;

– окраска бактериальных капсул.

Для описания физиолого-биохимических свойств необходимо было определить:

– наличие каталазы;

– отношение к кислороду;

– способность к кислотообразованию и продукции ацетилметилкарбинола.

В табл. 1 приведены методы, по которым определяли анатомические и физиолого-биохимические свойства бактерий.

Таблица 1

Методы идентификации выделенных бактерий

Свойство	Метод
Подвижность	Реакция с фенолом
Строение клеточной стенки	Окраска бактерий по методу Грама
Способность к образованию эндоспор	Окраска бактериальных спор по методу Шеффера – Фултона
Кислотоустойчивость	По методу Циля – Нильсена
Наличие капсулы	По методу Гинса – Бурри По методу Антони
Содержание каталазы	Реакция с перекисью водорода
Отношение к кислороду	Засев столбиков агара
Способность к кислотообразованию	Применение среды Кларка
Способность к продукции ацетилметилкарбинола	Реакция Фогес – Проскауэра

При микроскопировании наблюдали палочковидные клетки правильной формы с закругленными краями, которые часто располагались парами (рис. 1).

К концу процесса культивирования (48 ч) выделенные бактерии образуют большие скопления клеток (рис. 2).

В соответствии с определенными анатомическими и физиолого-биохимическими признаками выделенные бактерии могут быть отнесены к роду *Bacillus* [7].

Ранее проведенными исследованиями было показано, что микробиологическая обработка глин белорусских месторождений культуральной жидкостью *Bacillus mucilaginosus* приводит к существенному изменению их качественных показателей: пластичности, коэффициента чувствительности к сушке, воздушной линейной усадки [8].

Для изучения влияния культуральных жидкостей выделенного штамма Г на качественные показатели сырья обработали образцы шликера на основе глины месторождения Гайдуковка.

Это легкоплавкая глина, минералогический состав ее представлен каолинитом и гидрослюдой, присутствует монтмориллонит. В качестве примесных минералов преобладает кварц в количестве 32–37%, имеются полевой шпат и кальцит, общее содержание которых составляет 5–7%. 100 г сухого вещества глины обрабатывали 2 мл культуральной жидкости штамма Г, влажность шликера составляла 50%. Обработанные образцы выдерживали при температуре 30°C в течение 5 сут.

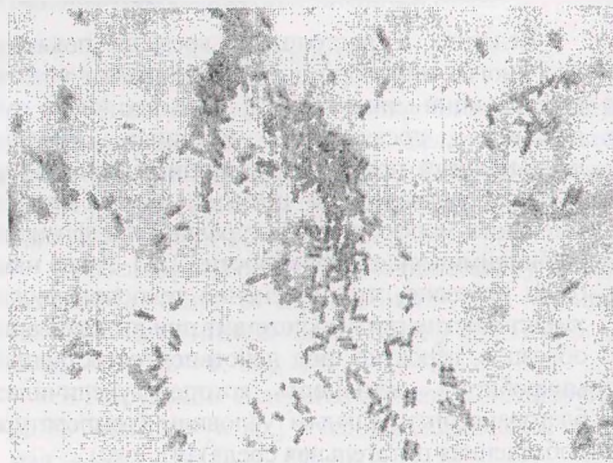


Рис. 1. Бактерии, выделенные из образца глины месторождения «Гайдуковка», культивируемые в синтетической среде

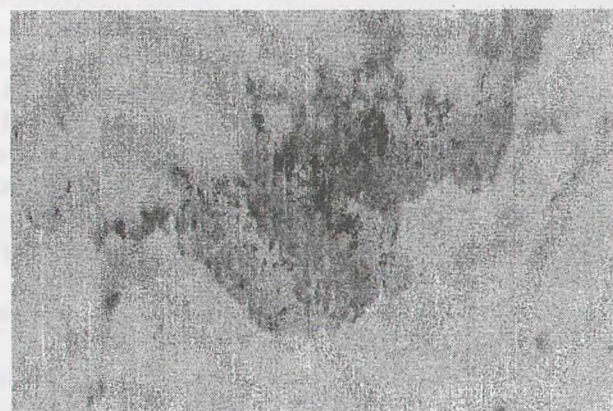


Рис. 2. Скопления выделенных бактерий

Результаты обработки представлены в табл. 2. Образцы шликера, обработанные культуральной жидкостью, полученной на картофельном отваре, имеют более высокую пластичность и менее чувствительны к сушке, чем исходные образцы и образцы, обработанные культуральной жидкостью, полученной на синтетической среде. Вместе с тем эти образцы дают большую линейную усадку при сушке и обжиге, а после обжига имеют меньшую пористость и водопоглощение. Вероятно, таким образом сказывается совместное действие метаболитов (кислот и полисахаридов), которых при выращива-

нии бактерий на синтетической среде накапливается больше, чем на картофельном отваре [5].

Таблица 2

Качественные характеристики глины месторождения «Гайдуковка» до и после обработки культуральной жидкостью бактерий (штамм Г)

Основные свойства	Образцы шликера		
	Н	О1	О2
Число пластичности	13,2	17,8	21,0
Коэффициент чувствительности к сушке	1,1	0,9	0,75
Воздушная линейная усадка, %	6,0	5,6	7,3
Водопоглощение, %	16,2	14,8	13,8
Пористость, %	28,3	26,6	25,0
Усадка огневая, %	5,8	5,6	7,3

Примечание. Н – необработанный шликер; О1 – образцы шликера, обработанные культуральной жидкостью, полученной на синтетической среде; О2 – образцы шликера, обработанные культуральной жидкостью, полученной на картофельном отваре.

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод, что выделенные из глины бактерии (штамм Г) относятся к роду *Bacillus*. При обработке глины местного происхождения культуральной жидкостью, полученной при выращивании этих бактерий как на синтетической среде, так и на картофельном отваре, наблюдается изменение ее основных свойств. При этом пластичность глины возрастает более существенно, чем при вылеживании, и находится примерно на таком же уровне, как и при обработке глины культуральной жидкостью *Bacillus mucilaginosus* [4, 8].

Литература

1. Каравайко, Г. И. Микробная деструкция силикатных минералов / Г. И. Каравайко // Сб.

науч. тр. / Ин-т микробиологии им. Виноградского. – М., 2004. – Вып. 12: Юбилейный сборник к 30-летию института. – С. 172–196.

2. Шелоболова, Е. С. Описание нового вида слизиобразующих бактерий *Bacillus edaphicus* sp. nov. и подтверждение таксономического статуса *Bacillus mucilaginosus* с использованием данных фенотипического и генотипического анализов / Е. С. Шелоболова, З. А. Авакян, Г. И. Каравайко // Микробиология. – 1997. – Т. 66, № 4. – С. 813–822.

3. Подгорский, В. С. Биологические особенности штамма *Bacillus mucilaginosus*, выделенного из дерново-подзолистых почв УССР / В. С. Подгорский, Е. Н. Громозова, А. И. Болдарева // Микробиология. – 1991. – Т. 60, № 6. – С. 709–712.

4. Изменение микробиологического состава образцов глин в процессе вылеживания / Р. М. Маркевич [и др.] // Труды БГТУ. Сер. IV, Химия и технология орган. в-в. – 2003. – Вып. XI. – С. 138–142.

5. Куис, Л. В. Изучение свойств бактерий, выделенных из глин белорусских месторождений / Л. В. Куис, Р. М. Маркевич // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: материалы Междунар. науч. конф. Минск-Раков, 1–2 июня 2006 г. – Минск, 2006. – С. 263–265.

6. Желдакова, Р. А. Выделение и идентификация микроорганизмов: учеб.-метод. пособие / Р. А. Желдакова. – Минск: БГУ, 2003 – 56 с.

7. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / под ред. Дж. Хоулта [и др.]. – М.: Мир, 1997. – Т. 1. – 432 с.; Т. 2. – 368 с.

8. Влияние условий микробиологической обработки глинистого сырья Беларуси на его качественные характеристики / Р. М. Маркевич [и др.] // Материалы. Технологии. Инструменты. – 2005. – Т. 10, № 4. – С. 86–89.