

Е. В. Стабникова, Н. Н. Грегирчак, Т. О. Тараненко

Киев. технол. ин-т пищ. пром-сти

ОСОБЕННОСТИ ФЛОТАЦИИ КЛЕТОК И СПОР БАЦИЛЛ

*Исследовали изменение гидрофобности поверхности клеток бацилл и их способности к флотации в процессе периодического культивирования. Показано, что в ходе периодического культивирования *Bacillus thuringiensis*, *B. licheniformis* и *B. megaterium* повышается гидрофобность поверхности клеток. Гидрофобность спор указанных культур значительно выше, чем вегетативных клеток. Повышение гидрофобности клеток бацилл положительно коррелирует с их способностью к флотации. Поэтому возможно использование флотации для возрастного фракционирования клеток бацилл: в пене концентрируются споры, в то время как вегетативные клетки остаются в культуральной жидкости.*

Ключевые слова: поверхностные свойства, флотация микроорганизмов, бациллы

Известно, что взаимодействие клеток бактерий с поверхностью раздела жидкость — газ зависит от гидрофобных свойств клеточной поверхности [10, 15]. Бактерии, обнаруженные в поверхностном слое морской воды, более гидрофобны, чем бактерии, свободно живущие в водной толще [9]. Вероятно, способность клеток микроорганизмов к флоатации (адгезии на пузырьках газа, продуваемого через суспензию клеток) и концентрации в пенном слое зависит от гидрофобности

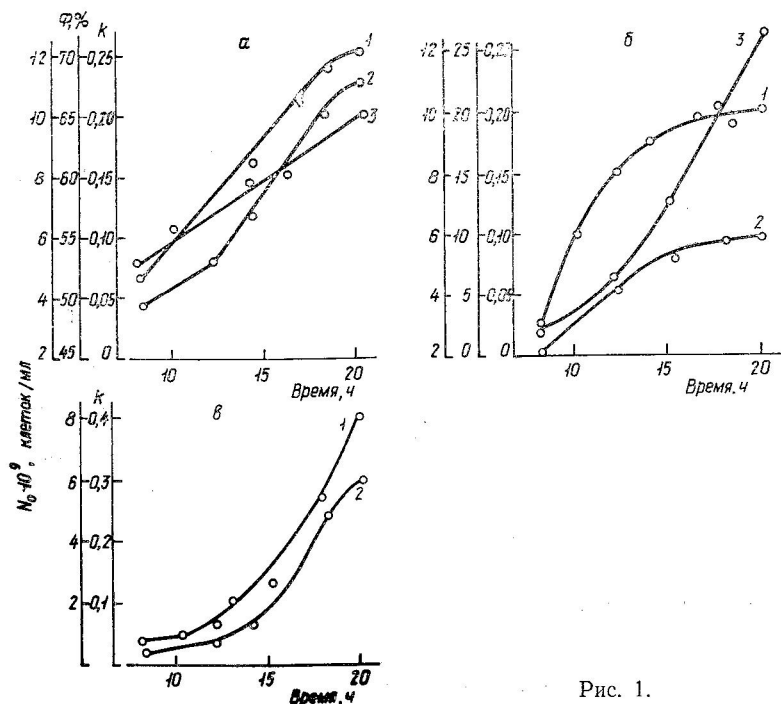


Рис. 1.

клеточной поверхности. Для дрожжевых культур нами отмечена линейная корреляция между степенью гидрофобности клеток и скоростью их флоатируемости [6]. Представляло интерес установить аналогичную зависимость для бактерий.

В некоторых работах [8, 11] показано возрастание гидрофобности поверхности клеток *Serratia marcescens* и *Staphylococcus aureus* по мере старения культур. У спорообразующих бактерий это явление может дополняться образованием спор в стационарной фазе роста периодической культуры, так как известно, что споры различных видов бацилл (*Bacillus anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*) обладают повышенной (в 4,1—16,7 раза) гидрофобностью по сравнению с вегетативными клетками [13]. Эта же закономерность отмечена и для *Bacillus megaterium* [12].

Цель работы заключалась в исследовании корреляции между гидрофобностью поверхности клеток бацилл и способностью их к флоатационному выделению в процессе периодического роста культур.

Материал и методы. Объектами исследования служили культуры бактерий рода *Bacillus* — *B. thuringiensis* Н₁₄, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. cereus* и *B. subtilis*, полученные из коллекции Института микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного АН УССР.

Периодическое культивирование бактерий проводили в аппарате АНКУМ-2М (СКБ БП АН СССР, Пушино) с рабочим объемом 1 л, расход на аэрацию составлял 0,5—1,0 л/л·мин, интенсивность перемешивания — 500 об/мин. *B. thuringiensis* Н₁₄ и *B. megaterium* выращивали при 30 °С и рН 7,0—7,2 соответственно на среде, описанной в работе Крепких [3], и буферной среде [7]. *B. licheniformis* культивировали при 37 °С и рН 7,2 на среде, описанной в работе Бугайчука [1].

Выращивание *B. cereus* и *B. subtilis* проводили в колбах на качалках в течение 24 ч при 30 °С и рН 6,0 на среде Гаузе [4] с использованием в качестве источника углерода галактозы (10 г/л).

Флотационную обработку культуральной жидкости проводили в периодическом режиме на лабораторной установке [2]. Гидрофобность клеточной поверхности оценивали по методу, основанному на распределении клеток между гексадеканом и водой [14]. Концентрацию клеток в суспензии до и после добавления гексадекана определяли с помощью счетчика частиц (счетчика Коултера) ZBG (Франция) и долю клеток, перешедших в углеводородную фазу, использовали в качестве показателя гидрофобности. Флотирруемость (Ф) оценивали по доле клеток, удаленных за 10 мин флотации из суспензии в пену, по уравнению:

$$\Phi = \frac{N_0 V_0 - N_k V_k}{N_0 V_0},$$

где N_0 и N_k — концентрации клеток в суспензии до и после флотационной обработки; V_0 и V_k — объемы суспензии до и после флотационной обработки.

Результаты и их обсуждение.

Исследовали изменение концентрации (N_0 —1), гидрофобности (k —2)

и флотирруемости (Ф—3) клеток бацилл при их периодическом культивировании (рис. 1, а — *B. thuringiensis* Н₁₄, б — *B. licheniformis*, в — *B. megaterium*). При периодическом культивировании *B. thuringiensis*

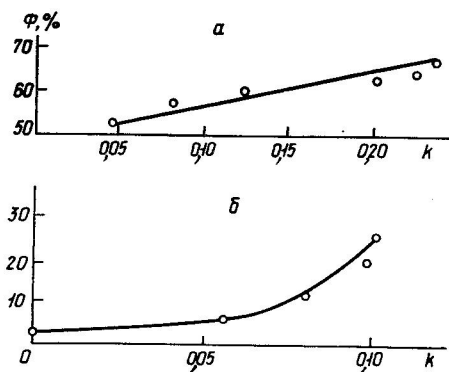


Рис. 2.

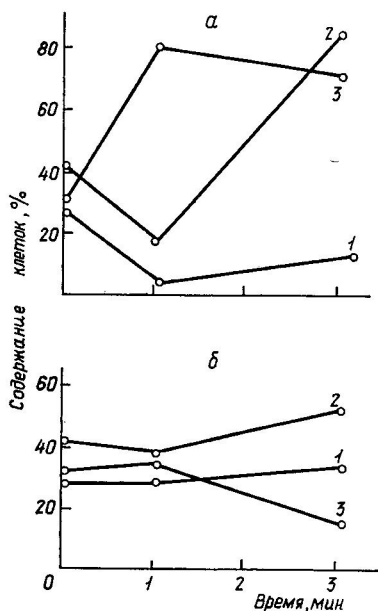


Рис. 3.

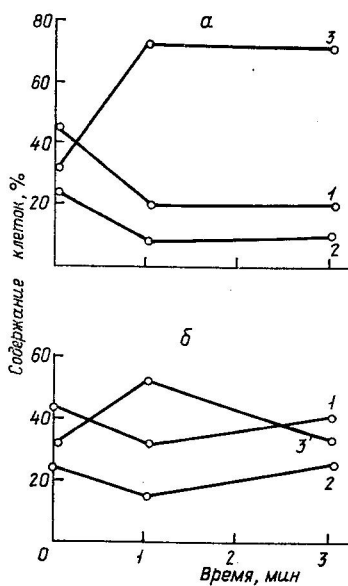


Рис. 4.

Н₁₄, *B. licheniformis* и *B. megaterium* в течение 8—20 ч наблюдали повышение показателя гидрофобности клеток: у *B. thuringiensis* Н₁₄ — с 0,045 до 0,225, у *B. licheniformis* — с 0 до 0,10, у *B. megaterium* — с 0,03 до 0,3. Показатель гидрофобности спор указанных культур (через 30 ч роста) составлял соответственно 0,594; 0,428 и 0,619.

Как показали исследования, флотирруемость клеток *B. thuringiensis* Н₁₄ и *B. licheniformis* возрастала за время культивирования от 53 до

65 % и от 3 до 27 % соответственно. Зависимость флотированности клеток бацилл от степени гидрофобности поверхности представлена на рис. 2. Коэффициент корреляции составляет 0,97 для *B. thuringiensis* Н₁₄ (а) и 0,85 — для *B. licheniformis* (б).

Различие в гидрофобных свойствах клеток и спор бацилл является одной из причин, обуславливающих возможность их флотационного разделения. Нами представлены результаты флотационного фракционирования суспензии клеток *B. cereus* (рис. 3) и *B. subtilis* (рис. 4) (а — погашенная пена, б — суспензия во флотаторе; 1, 2, 3 — содержание во фракциях вегетативных клеток, спор и спор соответственно). Флотационная обработка суспензий клеток *B. cereus* и *B. subtilis* приводит к быстрому (в течение 1 мин) обогащению пены спорами и обеднению ее вегетативными клетками и спорами по сравнению с исходной суспензией (рис. 3, а и 4, а). Содержание спор в суспензии, находящейся во флотаторе, уменьшается, однако содержание вегетативных клеток и спор изменяется незначительно в связи с небольшим объемом фракции погашенной пены (рис. 3, б и 4, б).

Таким образом, полученные данные показывают, что при повышении гидрофобности поверхности клетки бацилл усиливается их адгезия на поверхности раздела жидкость — газ. Флотационная обработка суспензии клеток бацилл позволяет проводить их возрастное фракционирование: пена обогащается спорами, в то время как в культуральной жидкости остаются вегетативные клетки. Это может найти применение для получения концентрата спор, содержащего небольшое количество вегетативных клеток и спор. Как показывают теоретические расчеты [5], путем многоступенчатой флотации содержание спор в концентрате можно довести почти до 100 %.

О. В. Стабникова, Н. Н. Грегирчак, Т. О. Тараненко

Київ. технол. ін-т харчової пром-сті

ОСОБЛИВОСТІ ФЛОТАЦІЇ КЛІТИН ТА СПОР БАЦИЛ

Резюме

Досліджували зміну гідрофобності поверхні клітин бацил та їх здатність до флотації в процесі періодичного культивування. Показано, що в ході періодичного культивування *Bacillus thuringiensis*, *B. licheniformis* та *B. megaterium* підвищується гідрофобність поверхні клітин. Гідрофобність спор зазначених культур значно вища, ніж вегетативних клітин. Підвищення гідрофобності клітин бацил позитивно корелює з їх здатністю до флотації. Тому можливе використання флотації для вікового фракціонування клітин бацил: у піні концентруються спори, в той час як вегетативні клітини залишаються в культуральній рідині.

E. V. Stabnikova, N. N. Gregirchak, T. O. Taranenko

Kiev Technological Institute of Food Industry

PECULIARITIES OF FLOTATION OF BACILLAR CELLS AND SPORES

Summary

Variations in hydrophobicity of the surface of bacillary cells and their capacity to flotation in the process of batch cultivation have been studied. It is shown that hydrophobicity of the cell surface increases in the course of batch cultivation of *Bacillus thuringiensis*, *B. licheniformis* and *B. megaterium*. Hydrophobicity of spores of the mentioned cultures is

considerably higher than that of the vegetative cells. The increase of hydrophobicity of bacillary cells positively correlated with their capacity to flotation. That is why the use of flotation for the age fractionation of bacillary cells is possible: spores are concentrated in the foam while vegetative cells remain in the culture liquid.

Key words: surface properties, flotation of microorganisms, bacilli.

The author's address: E. V. Stabnikova
Kiev Technological Institute of Food Industry;
68, Vladimirska St., 17, Kiev, 252017, Ukr. SSR.

1. Бугайчук Ю. Д., Звенигородский В. И., Жданов В. Т. Условия образования и регенерации к бациллярной форме протопластов *Bacillus licheniformis* // Микробиология.—1981.—50, № 3.— С. 494—496.
2. Иванов В. Н., Кузьмин О. С., Седина С. А., Шкоп Я. Я. Разделение клеток дрожжевой популяции по их возрасту с помощью флотации // Там же.—1984.—53, № 1.— С. 68—74.
3. Крепких Л. И. Некоторые физиолого-биохимические свойства энтомопатогенных микроорганизмов // Микроорганизмы в борьбе с вредителями лесного хозяйства.— М.: Наука, 1966.—205 с.
4. Смирнов В. В., Резник С. Р., Сорокулова И. Б. Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий рода *Bacillus* из организма человека и животных.— Киев: АН УССР, Минздрав УССР, 1983.—49 с.
5. Стабникова Е. В. Теоретический анализ периодического флотационного разделения двухкомпонентных клеточных суспензий // Микробиол. журн.—1989.—51, № 5.— С. 32—34.
6. Стабникова Е. В., Полятевич Е. В., Иванов В. Н. Корреляция между гидрофобностью поверхности дрожжевых клеток и их флотиремостью // Там же.—1989.—51, № 5.— С. 28—31.
7. Ставская С. С., Григорьева Т. Ю., Гацбова Н. Д., Ротмистров М. Н. Бактериальная деструкция анионных поверхностно-активных веществ сульфозтоксилатов // Микробиология.—1987.—56, № 4.— С. 608—615.
8. Beck G., Puchelle E., Plotkowski C., Peslin R. Effect of growth on surface charge and hydrophobicity of *Staphylococcus aureus* // Ann. Inst. Pasteur. Microbiol.—1988.—139.— P. 655—664.
9. Danback B., Hermanson M., Kjelleberg S., Norkrans B. The hydrophobicity of bacteria — an important factor in their initial adhesion at the air—water interface // Arch. Microbiol.—1981.—128, N 3.— P. 267—270.
10. Hermanson M., Kjelleberg S., Korhonen T. et al. Hydrophobic and electrostatic characterization of surface structures of bacteria and its relationship to adhesion to air—water interface // Ibid.—1982.—131, N 4.— S. 308—312.
11. Kjelleberg S., Lagercrantz C., Larsson Th. Quantitative analysis of bacterial hydrophobicity studied by the binding of dodecanoic acid // FEMS Microbiol. Lett.—1980.—7, N 1.— P. 41—44.
12. Koshikawa T., Jamazaki M., Yoshimi et al. Surface hydrophobicity of spores of *Bacillus* spp. // Gen. Microbiol.—1989.—135, N 10.— P. 2712—2722.
13. Ronald J. Doyle, Faribors Nedjat-Haiem, Jyotis Singh. Hydrophobic characteristics of *Bacillus* spores // Curr. Microbiol.—1984.—10.— P. 329—332.
14. Rosenberg M., Rosenberg E. Bacterial adherence at the hydrocarbonwater interface // Oil and Petrochem. Pollut.—1985.—2, N 3.— P. 155—162.
15. Rosenberg M., Kjelleberg S. Hydrophobic interaction: role in bacterial adhesion // Adv. Microbiol. Ecol. / Ed. by K. C. Marshall.— New York; London: Plenum press, 1986.— P. 353—395.

Рецензент А. С. Гордиенко
Член редколлегии Подгорский

Получено 24.10.90