

СПОСОБНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *BACILLUS* ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ К ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ БИОАККУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

В данной статье представлены результаты изучения избирательной биоаккумуляции тяжелых металлов пробиотическими штаммами микроорганизмов рода *Bacillus*. Полученные данные свидетельствуют о высоком уровне сорбции свинца, цинка и железа из питательных сред и незначительном накоплении магния, кобальта и кадмия.

Ключевые слова: пробиотики, *Bacillus*, тяжелые металлы, фазы роста, биоаккумуляция.

Некоторые тяжелые металлы обнаруживаются в организме в небольших концентрациях, так как необходимы для поддержания метаболизма. Однако при более высоких концентрациях они вызывают тяжелые нарушения в организме. Так, например свинец, попадая в организм человека, вызывает свинцовую интоксикацию нарушая при этом деятельность нервной системы.

Особенностью металлов по сравнению с другими элементами является тенденция к их биоаккумуляции. Известно, что способность концентрировать металлы, в том числе и тяжелые, очень широко распространена в природе среди различных организмов. Большой интерес вызывает изучение данной способности среди микроорганизмов, входящих в состав пробиотических препаратов, в частности у бактерий рода *Bacillus*, являющихся самоэлеминирующимися антагонистами. Пробиотические препараты обладают такими свойствами, как ярко выраженная антагонистическая активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, высокая ферментативная активность, иммуностимулирующее действие. Но помимо этого важным свойством является антитоксическое действие пробиотиков, проявляющееся в накоплении и активном выведении тяжелых металлов из организма. Из этого следует, что важным вопросом является оценить эффективность применения пробиотиков на основе рода *Bacillus* при отравлении тяжелыми металлами [1], [2], [3], [4].

Интерес к микроорганизмам рода *Bacillus* в отношении их способности к накоплению ионов тяжелых металлов возник в связи с данными,

которые были получены на кафедре микробиологии Университета Порт-Харкорт в Нигерии, где были проведены исследования по изучению аккумуляции бактерий тяжелых металлов (кадмия, свинца, цинка и никеля) тремя видами бактерий (*Bacillus*, *Staphylococcus* и *Pseudomonas*), которые использовались в качестве сорбентов тяжелых металлов в речной воде с целью их очистки. По результатам исследований доля накопления тяжелых металлов микроорганизмами *B.subtilis*, *S.albus* и *Pa.aeruginosa* после 24 часов воздействия составила: никеля – до 68,6%, 58,4% и 28,3%; свинца – до 94,5%, 85,7% и 90,8%; цинка – до 91,6%, 68,1% и 52,9%; кадмия – до 71,6%, 72,1% и 77,0% соответственно. Таким образом, наилучшим сорбентом оказался род *Bacillus* [5].

В связи с этим целью нашего исследования является изучение способности бактерий рода *Bacillus*, входящих в состав пробиотических препаратов, к избирательному накоплению тяжелых металлы в условиях *in vitro*.

Материалы и методы

В работе использовались три пробиотических препарата: «Споробактерин жидкий», «Биоспорин» и «Бактисубтил». Основу выбранных препаратов составляют бактерии рода *Bacillus*. В качестве регулирующих факторов в работе использовались соли тяжелых металлов: $FeSO_4$, $ZnSO_4$, $Pb(NO_3)_2$, $MnSO_4$, $CoSO_4$, $CdSO_4$. При выборе металлов исходили из того, что они являются наиболее распространенными загрязнителями окружающей среды и в повышенных концентрациях способны вызывать токсический эффект.

Для решения поставленной цели нами использовались следующие методы:

1. Метод выделения и идентификации чистой культуры. Использование данного метода было связано с тем, что препарат «Биоспорин» является бинарным и содержит в своей основе два штамма бактерий рода *Bacillus* (*B.subtilis* 534 и *B.licheniformis*).

2. Метод последовательных разведений был использован для определения минимальных подавляющих концентраций солей тяжелых металлов на рост бактерий рода *Bacillus*.

3. Фотоэлектроколориметрический метод. Для определения оптической плотности бактериальной суспензии с целью дальнейшего построения кривой роста в периодической культуре нами был использован фотоэлектроколориметр (ФЭК-КФК-2) [6].

4. Атомно-адсорбционный метод. Метод основан на свойстве атомов химических элементов, образующихся при распылении зольных растворов в пламя ацетилен-воздух, поглощать свет определенной длины волны. В качестве атомно-абсорбционного спектрофотометра использовался прибор типа ААС-1 (ГДР) с набором спектральных ламп [6].

Результаты и обсуждение

Особенностью микроорганизмов при взаимодействии с ионами металлов является не только способность к их аккумуляции, но и способность к избирательности при их накоплении.

Определение избирательности в накоплении микроорганизмов осуществлялось с помощью атомно-абсорбционного метода. С этой целью в среду для культивирования одновременно вносились все исследуемые металлы в рабочих концентрациях, а также в сроках культивирования. Время культивирования для данного эксперимента определялось путем изучения динамики роста исследуемых микроорганизмов в присутствии всех используемых металлов и установления времени наступления стационарной фазы роста.

Полученные данные свидетельствуют о том, что продолжительность лаг-фазы у исследуемых штаммов составляет примерно 3 часа. Длительность экспоненциальной фазы роста для *B.cereus*, *B.subtilis* 534 и *B.subtilis* 3 составляет 21 час, а для *B.licheniformis* – 24 часа культивирования. Наступления стационарной фазы роста для *B.cereus*, *B.subtilis* 534 и *B.subtilis* 3 происхо-

дит через 24 часа культивирования, для *B.licheniformis* – 27 часов.

В результате, мы получили, что присутствие ионов анализируемых металлов не оказывает значительного влияния на динамику роста исследуемых штаммов, а данные по времени наступления и продолжительности фаз роста совпадают с данными, полученными в контрольных образцах.

В связи с этим, при определении избирательности в накоплении тяжелых металлов, количественное определение анализируемых металлов для *B.cereus*, *B.subtilis* 534 и *B.subtilis* 3 осуществлялось через 24 часа, для *B.licheniformis* через 27 часов культивирования.

В результате проведенного эксперимента были получены данные, из которых следует, что в присутствии всех используемых нами металлов все исследуемые микроорганизмы избирательно аккумулируют ионы свинца. При этом степень накопления ионов железа и цинка ниже, чем у ионов свинца, но значительно выше, чем у ионов марганца, кобальта и кадмия.

Проведение расчета корреляционной зависимости показателей накопления ионов металлов для исследуемых микроорганизмов показала, что наблюдается разная степень их зависимости.

Так, расчет данного критерия для *B.subtilis* 534 показал, что наблюдается сильная положительная зависимость между показателями накопления ионов свинца, железа, цинка и кобальта, слабая положительная зависимость между показателями накопления кадмия с другими металлами и отрицательная зависимости между ионами марганца и других металлов. При этом положительная зависимость свидетельствует о том, что накопление одного металла ведет к накоплению другого, а отрицательная зависимость свидетельствует об обратном.

Схожая закономерность отмечается для штамма *B.subtilis* 3 и *B.cereus* IP 5832. Исключения составляют показатели зависимости накопления ионов марганца с ионами других металлов, они характеризуются отрицательной зависимостью в отличие от данных показателей у *B.subtilis* 534. Также наблюдаются различия в показателях зависимости накопления ионов железа и кобальта (в случае *B.cereus* IP 5832) от других металлов, которые характеризуются обратной зависимостью.

В случае *B.licheniformis* не наблюдается положительной зависимости между показателями накопления всех исследуемых металлов, а в случае показателей зависимости накопления ионов кобальта с другими металлами отмечается ее отсутствие.

Заключение

В ходе проведенного исследования было установлено, что всеми исследуемыми штаммами избирательно в высоких концентрациях аккумулируется свинец, железо и цинк и практически не аккумулируется кобальт, кадмий и марганец.

27.08.2013

Список литературы:

1. Савельева Т. А. Спорообразующие аэробные бактерии, используемые для получения пробиотиков [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.blagovesta.su>. – 7.10.09.
2. Сизенцов А.Н. Применение пробиотических препаратов при интоксикации свинцом // Вестник ветеринарии. – 2012. Т. 63. №4. С. 147-148.
3. Сизенцов А.Н. Эффективность применения пробиотических препаратов при интоксикации цинком // Вестник ветеринарии. 2013. Т. 65. №2. С. 34-36.
4. Сизенцов, А. Н. Экологические аспекты аккумуляции свинца и цинка пробиотическими препаратами на основе бактерий рода *Bacillus* / А.Н. Сизенцов, А.И. Вишняков, А.Е. Новикова // Вестник ОГУ. – 2011. – №4, – С. 7-9.
5. Green-Ruiz, C. Mercury (II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus* sp. from a tropical estuary // Bioresource Technology. 2006. V. 97. №10. P. 1907-1911.
6. Сизенцов, А. Н. Влияние тяжелых металлов на рост пробиотических штаммов *E. coli* M-17, *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* LB-51 и бактерий рода *Bacillus* в условиях *in vitro* / А.Н. Сизенцов, Э.М. Нугаманова, С.А. Пешков // Вестник ОГУ. – 2011. – №131, – С. 358-360.

Сведения об авторе:

Сизенцов Алексей Николаевич, доцент кафедры микробиологии
Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, тел. (3532) 372481, e-mail: asizen@mail.ru

UDC 579.62

Sizentsov A.N.

Orenburg state university, e-mail: asizen@mail.ru

THE ABILITY OF MICROORGANISMS OF BACILLUS OF PROBIOTIC PREPARATIONS TO THE ELECTION OF BIOACCUMULATION OF HEAVY METALS IN VITRO

This article presents the results of a study of the selective bioaccumulation of heavy metals by probiotic strains of microorganisms of the genus *Bacillus*. The data indicate a high level of sorption of lead, zinc and iron from the culture media and a slight accumulation of magnesium, cobalt and cadmium.

Key words: probiotics, *Bacillus*, heavy metals, growth phase, bioaccumulation.

Bibliography:

1. Savelieva, T.A. spore-forming aerobic bacteria, used to get probiotics [electronic resource]. Access mode: <http://www.blagovesta.su>. -7.10.09.
2. Sizentsov, A. N. Application of probiotic preparations with lead intoxication//Journal of veterinary medicine. – 2012. – Vol. 63. – No. 4, – P. 147-148.
3. Sizentsov, A. N. Efficacy of probiotic preparations with zinc intoxication//Journal of veterinary medicine. – 2013. – Vol. 65. – No. 2, – P. 34-36
4. Sizentsov, A. N. Ecological aspects of accumulation of lead and zinc pro-biotic preparations on the basis of sort *Bacillus* bacteria / A.N Sizentsov, A.I.Vishnyakov, A.E.Novikova // Messenger of the Orenburg state university. – 2011. – No. 4, – P. 7-9.
5. Green-Ruiz, C. Mercury (II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus* sp. from a tropical estuary // Bioresource Technology. 2006. V. 97. №10. P. 1907-1911.
6. Sizentsov, A. N. Vliyaniye of heavy metals on growth of pro-biotic strains of *E. coli* M-17, *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* LB-51 and sort *Bacillus* bacteria in the conditions of *in vitro* / A.N. Sizentsov, E.M.Nugamanova, S.A.Peshkov // Messenger of the Orenburg state university. – 2011. – No. 131, – P. 358-360.