



УДК: 54.066

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ТВЕРДЫХ
ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ ХИМИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ**
**CHEMICAL SYSTEM FOR FREE RADICAL ACTIVITY DETERMINATION
OF SOLIDS**

Е.А. Тарасенко, Е.А. Гудкова
E.A. Tarasenko, E.A. Gudkova

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет,
Россия, 309015, г. Белгород, ул. Победы, 85*

Belgorod State National Research University, 85 Pobedy St, Belgorod, 308015, Russia

E-mail: Gudkova@bsu.edu.ru

Аннотация. Проведены исследования способности твердых материалов инициировать свободнорадикальный распад пероксида водорода. На основе полученных данных разработана тестовая система химических реагентов, позволяющая определить потенциальную опасность исследуемых образцов.

Résumé. The ability of solids to initiate free radical decomposition of hydrogen peroxide was investigated. On the basis of this data, it was developed a system of chemical reagents, which is able to measure the potential biological hazard of the samples according to their ability to generate free radicals.

Ключевые слова: свободные радикалы, хемилюминесценция, асбест, хризотил, крокидолит.

Key words: free radical, chemiluminescence, asbestos, chrysotile, crocidolite.

Введение

В настоящее время большая роль в патогенном воздействии на организм отводится свободнорадикальным процессам. Известно, что свободные радикалы – это активные частицы, имеющие неспаренный электрон и обладающие высокой реакционной способностью. Свободные радикалы взаимодействуют с другими молекулами, разрушая их. Тем самым свободные радикалы могут способствовать развитию в организме различных патологических состояний. В настоящее время общепризнано, что некоторые патологические процессы в организме инициируются действием непосредственно свободных радикалов [Владимиров, Проскурина, 2009]. Таким образом, было выдвинуто предположение, что скорость и интенсивность протекания свободнорадикального процесса можно использовать для оценки биологической опасности выбранных образцов.

В современных медико-биологических исследованиях для оценки свободнорадикальной активности различных материалов широко применяются методики с использованием биологических объектов. Самый распространенный метод основан на измерении собственной хемилюминесценции различных биологических субстратов (плазмы, сыворотки или суспензии форменных элементов крови) после добавления к ним солей двухвалентного железа и пероксида водорода [Владимиров, 2002]. Другой метод основан на применении люминесцентного бактериального теста. В ходе эксперимента фиксируют изменение интенсивности билюминесценции генно-инженерного штамма при воздействии токсичных веществ, присутствующих в анализируемой пробе, по сравнению с контролем [Минздрав России, 2000].

К недостаткам этих методов можно отнести необходимость использования биологических субстратов и объектов, использование которых является трудозатратным, требует значительных финансовых вложений и не всегда гуманно. Исходя из этого, была разработана тестовая система для определения свободнорадикальной активности твердых материалов на основе химических реагентов.

Объекты и методы исследования

В работе использовались минералы с известной канцерогенной активностью.

Хризотил-асбест – товарный, марки А-5-65 Баженовского месторождения, как наиболее распространенный в асбестоцементной промышленности; природный образец представлен в основном волокнами и единичными изометрическими частицами (рис. 1а). Крокидолит-асбест, месторождения Южно-Африканской Республики, выбран в виду своей высокой канцерогенной активности для сравнения с ним экологической опасности хризотил-асбеста. Минерал представлен волокнистыми агрегатами с незначительным содержанием изометрических частиц (рис. 1б). Лизардит Баженовского месторождения использовали для установления роли формы кристаллов в проявлении экологической опасности минералов. Лизардит, как и хризотил-асбест, является минералом группы серпентина, но в отличие от последнего имеет кристаллы зернистой формы (рис. 1в).

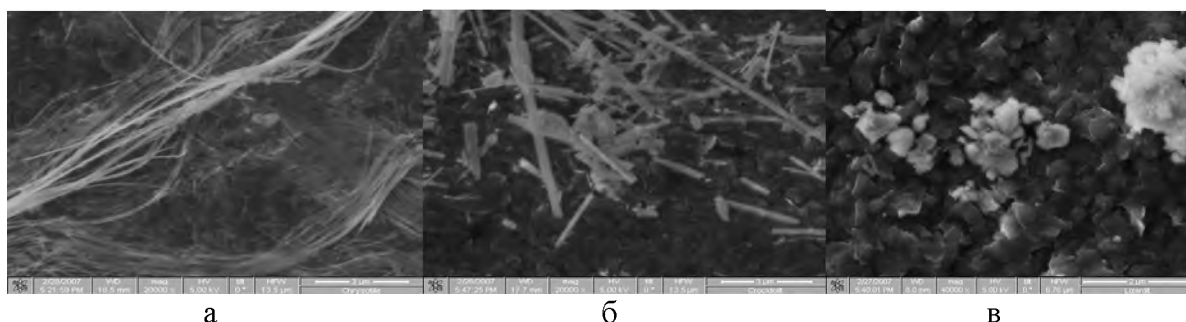


Рис 1. Электронномикроскопические фотографии исследуемых образцов:
а – хризотил-асбест; б – крокидолит-асбест; в – лизардит
Fig. 1. Electron Microscopic images of the samples

Некоторые характеристики образцов, использованных в работе, приведены в таблице 1.

Таблица 1
Table 1

Характеристика исследованных минералов, обладающих канцерогенной активностью Characterization of minerals having carcinogenic activity

Образец	Химический состав	Кристаллическая структура	Удельная поверхность, м ² /г	Содержание железа в пересчете на Fe ₂ O ₃ , мг/г
Крокидолит	$Na_2Mg_3^{2+}Fe_2^{3+}(OH)_2[Si_8O_{22}]$	Слоистый	10.30	124.9
Хризотил	$Mg_6(OH)_8[Si_4O_{10}]$	Волокнистый	15.72	76.8
Лизардит	$Mg_6(OH)_8[Si_4O_{10}]$	Зернистая форма кристаллов	2.16	60.1

Способность вызывать свободнорадикальный распад пероксида водорода изучали методом регистрации хемилюминесценции с помощью системы, состоящей из навески образца, с известной канцерогенной активностью, пероксида водорода. В качестве активатора хемилюминесценции использовали люминол (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазиндион).

Для приготовления тестовой системы использовали люминол и пероксид водорода (реактивы марки «чда»). Точное значение концентрации пероксида водорода определяли методом косвенного окислительно-восстановительного титрования тиосульфатом натрия в кислой среде. Люминол растворяли в 0.5*N* растворе гидроксида натрия (марки «чда»).

Массу навески исследуемого образца подбирали исходя из данных о его удельной поверхности.

Изменения, происходящие в тестовой системе в присутствии образца, регистрировали методом хемилюминесценции на универсальном анализаторе Флюорат 02 АБЛФ-Т с течение 125 минут (7500 секунд).

Обсуждение результатов

Сравнительная характеристика значений хемилюминесценции различных образцов приведена в таблице 2.

Таблица 2
Table 2

Хемилюминесцентная активность образцов исследованных минералов
Chemiluminescent activity of samples of research minerals

Образец	Суммарная ХЛ за 125 минут, ОЕ	Начало ХЛ, (с)	Время достижения максимума, (с)
Крокидолит	207321±18593	1500	5500–7000
Хризотил	73915±7442	1500–2000	4000–5000
Лизардит	62128±11410	1500	5000–5500

Из представленных данных видно, что наибольшую свободнорадикальную активность проявляет крокидолит. Интенсивность хемилюминесценции в 2.8 раза выше, чем у хризотила. Интенсивность хемилюминесценции лизардита в 3.3 раза меньше, чем у крокидолита и в 1.2 раза меньше, чем у хризотила.

На рисунке 2 представлены типичные кривые кинетики хемилюминесценции исследуемых образцов.

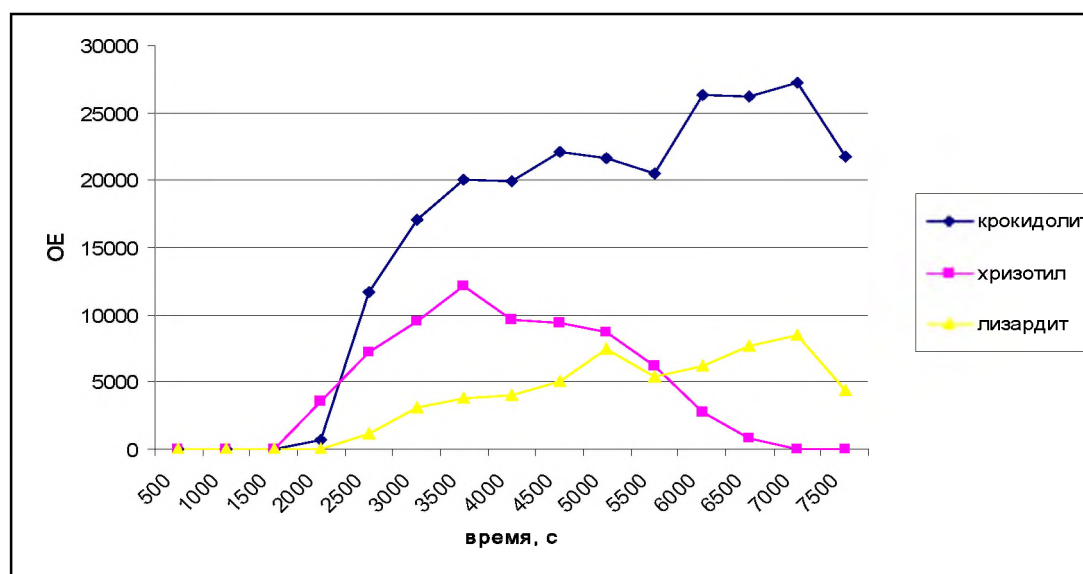


Рис. 2. Кривые кинетики хемилюминесценции исследуемых образцов
Fig. 2. Chemiluminescence kinetic curves of the samples

В литературе приводятся данные о канцерогенной активности исследуемых материалов. Так, по данным [Пылев и др., 1982] хризотил асбест способен вызывать патологические новообразования у подопытных животных в 19–65% случаев; крокидолит – в 90–95% [Duffus, 1997]. Данные о канцерогенности лизардита в литературных источниках не представлены.

По данным, полученным в ходе различных исследований, в представленных образцах минералов содержатся ионы металлов переменной валентности. Так, в крокидолите Fe^{2+} и Fe^{3+} входят в состав кристаллической решетки. В хризотиле, по данным мессбуаэровской спектроскопии, ионы Fe^{2+} могут замещать позиции Mg^{2+} , а ионы Fe^{3+} могут встраиваться в октаэдрические и тетраэдрические позиции структуры волокна. В тоже время, в качестве примесей обнаруживаются различные металлы переменных валентностей. Можно сделать предположение, что при взаимодействии этих металлов с пероксидом водорода, в ходе фентоноподобных реакций, образуются радикальные формы пероксида водорода, а люминол является простым индикатором, позволяющим установить их наличие и концентрацию [Бабко и др., 1966].

Таким образом, можно сделать вывод, что в основе патогенного действия на организм исследуемых образцов лежит их способность инициировать реакции свободнорадикального распада.

Заключение

Установлено, что разработанная тестовая система для определения свободнорадикальной активности образцов служит источником объективных данных, которые соответствуют результатам, полученным в ходе медико-биологических исследований. Другими словами, система химических реагентов в ряде случаев может стать альтернативой использованию биологического материала.

Таким образом, в данной работе показана целесообразность использования хемилюминесцентного метода для исследования способности генерировать свободные радикалы и оценки биологической опасности твердых материалов.

Список литературы

References

1. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В., 2009, Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция. Успехи биологической химии, 49: 341–388.
Vladimirov Y.A., Proskurina E.V. 2009. Free radicals and cells' chemiluminescence. *Advances of Biological Chemistry*, 49: 341–388. (in Russian)
2. Владимиров Ю.А. 2002. Свободные радикалы в биологических системах. Соросовский образовательный журнал, 6 (12): 13–19. (in Russian)
Vladimirov Y.A. 2002. Free radicals in biological systems. *Soros Educational Journal*, 6 (12): 13–189. (in Russian)
3. Минздрав России. 2000. Методические рекомендации. Определение токсичности химических соединений, полимеров, материалов и изделий с помощью люминесцентного бактериального теста. М., 18.
Russian Ministry of Health. 2000. Guidelines. Determination of the toxicity of chemical compounds, polymers, materials and products by the luminescent bacteria test. Moscow, 18. (in Russian)
4. Пылев Л.Н., Васильева Л.А., Кулагина Т.Ф. 1982. Экспериментальное изучение канцерогенного действия асбеста. Экспериментальная онкология, 4 (4): 3–7.
Pylev L.N., Vasylieva L.A., Kulagina T.F. 1982. Experimental study of the carcinogenic effects of asbestos. *Experimental oncology*, 4 (4): 3 – 7. (in Russian)
5. Duffus J.H. 1997. *Carcinogenicity of Inorganic Substances: Risks From Occupational Exposure*, Cambridge, UK, The Royal Society of Chemistry, 286.
6. Бабко А.К., Дубовенко Л.И., Луковская Н.М. 1966. Хемилюминесцентный анализ. Киев, 60.
Babko A.K., Dubovenko L.I., Lukovskaya N.M. 1966. *Hemiljuminiscentnyj analiz [Chemiluminescence analysis]*. Kiev, 60.



УДК: 579.24

**ВЛИЯНИЕ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS*
В БЕНТОНИТЕ НА ЕГО ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ****THE INFLUENCE OF *BACILLUS SUBTILIS* BACTERIA'S VITAL ACTIVITY
IN BENTONITE ON IT'S CHEMICAL COMPOSITION****А.Л. Даудова, В.Х. Межидов
A.L. Daudova, V.H. Mezhidov**

Грозненский государственный нефтяной технический университет им. акад. М.Д. Миллионщикова,
НИЦКП Нанотехнологии и наноматериалы, Россия, 361051, г. Грозный, ул. К. Цеткин, 14/53

Grozny State Oil Technical University acad. M.D. Millionshtchikova,
SRCCU Nanotechnologies and Nanomaterials, 14/53 Clara Zetkin St, Grozny, 361051, Russia

E-mail: nizkp@mail.ru

Аннотация. На поверхности твердой фазы, полученной после испарения воды из тонкодисперсной водной суспензии бентонита, обнаружены микроорганизмы *Bacillus subtilis*. Получены фотографии основных стадий их жизни в указанных активных коллоидах: прорастание спор, морфология клеток, их деление, образование спор, самосборки спор и бактерий, виды колоний.

Установлено решающее влияние дисперсности частиц этой глины в воде на популяцию микроорганизмов в бентоните. Показано существенное изменение химического состава бентонита колониями бактерий в следствие увеличения ими концентрации углерода. При этом микроорганизмы *Bacillus subtilis* способны снизить потребительские свойства гидроизоляционных слоев и буровых растворов, в которых длительное время взаимодействуют бентонит и вода. Указанное увеличение численности не патогенных бактерий *Bacillus subtilis* возможно при очистке воды и вин, а также в фармакологических и косметических препаратах, где бентонит обычно используется в качестве адсорбента.

Résumé. On a surface of the solid phase received after evaporation of water from a fine-grained aqueous slurry of bentonite, microorganisms *Bacillus subtilis* are found. Photos of the basic stages of their life in the specified active colloids are received: intergrowth of spores, morphology of cells, their division, formation of spores, self-assemblies of spores and bacteria, kinds of colonies.

In the specified experiences it is not possible to observe a bacterium if bentonite is replaced with other food – starch and sugar. It follows from this that in our experiments a bacterium does not arrive in the investigated sample from atmosphere or with water. The same result takes place, if bentonite particles in suspension have the dimensions of more than 5 microns. However, at the dimensions of these particles within 120–500 nanometers it is possible to observe all stages of life of microorganisms. We explain such defining influence of dispersity of particles of this clay on population of microorganisms to that the surface of spores of bacteria is densely occluded by the bentonite having the high adsorptivity and astringencies. Thus, growth of specific surface of a solid phase raises probability of that spore in diameter less than one microgauge will appear in a dispersion medium and its intergrowth will begin. Essential change of chemical composition of bentonite by bacterial clumps in a consequence of biological efflorescence of a mineral montmorillonit with the subsequent augmentations of concentration of Carboneum is shown in the table. Thus, microorganisms *Bacillus subtilis* are capable to reduce consumer properties of waterproofing courses and chisel solutions in which a long time bentonite and water interreact. The specified augmentation of number of not pathogenic bacteriums *Bacillus subtilis* is possible at water treatment and wines, and also in pharmacological preparations and cosmetics where bentonite is routinely used as adsorbent.

Ключевые слова: бентонитовая глина, суспензии, активные коллоиды, микроорганизмы, самосборка, колонии, химический состав.

Key words: bentonite clay, suspensions, colloids, active microorganisms, self-assembly, colony, chemical composition.

Введение

Ежегодное мировое потребление бентонита превышает 10 миллионов тонн [ИнфоМайн, Москва, 2014]. Его большая набухаемость использована для производства буровых растворов, строительных гидроизоляционных матов и шнуров, а вяжущие свойства – для изготовления металлургических окатышей и литейных форм [Кононенко, 2009, Крупин, Трофимова 2010, Кубал, 2012]. На основе высоких адсорбционных свойств бентонита созданы катализаторы, лекарственные и косметические препараты [Акимбаева, Ергожин, 2007, Семененко, 2008, Везенцев, 2010, Кормош и др., 2011, Акимхан, 2013].

Указанные уникальные свойства обусловлены наноструктурой минерала монтмороллонит, который является основной составляющей этой глины [Овчаренко, 1961]. Нами обнаружены бактерии рода *Bacillus* в процессе экспериментов в тонкодисперсных водных суспензиях бентонита. Такие системы находятся в неравновесном состоянии и являются активными коллоидами [Арансон, 2013]. Учитывая обширное применение этого наноструктурного материала в различных отраслях, авторами данной работы ставится задача определить источник этих микроорганизмов, их морфологию, превращения на различных стадиях жизни и возможные при этом изменения химического состава и потребительских свойств бентонита.

Объекты и методы исследования

Бентонитовую глину использовали месторождения Катаяма (Чеченская республика). К одному килограмму кусковой глины добавляли 10 литров дистиллированной воды и отстаивали в течение суток, периодически перемешивая. Затем водную суспензию пропускали через сито 80мкм и сушили 3.5 часа при температуре ~120°C. При этом получали пластины бентонита, их размалывали на шаровой мельнице Retsch PM 100 (Германия).

Активацию бентонита проводили в одно молярном растворе хлорида натрия и затем получали 1% водную суспензию, которую кипятили 10 минут в стеклянном лабораторном реакторе LENZ (Германия) при температуре 110°C. Далее суспензию охлаждали и центрифугировали при 2700 об/м на приборе CM-70M-09. После этого частицы бентонита имели размеры ~500 нм и более. Вторичным центрифугированием на приборе ЦЛМН-Р10-02 с более высоким фактором разделения (9 тыс. об/м.) получали тонкодисперсную суспензию с размерами частиц бентонита от 120 до 450 нм (рис. 1). Распределение частиц бентонита по размерам в водной суспензии исследовали методом фотонной корреляционной спектроскопии на приборе Horiba LB 550 (Япония). Концентрацию твердой фазы определяли на рефрактометре ИРФ-454Б2М. В работе использовались стерилизованная посуда и инструменты. Бентонит, использованный в опытах, имел индекс набухания 22 мл/2г и катионную обменную емкость 56.3 мг-экв/100 г.

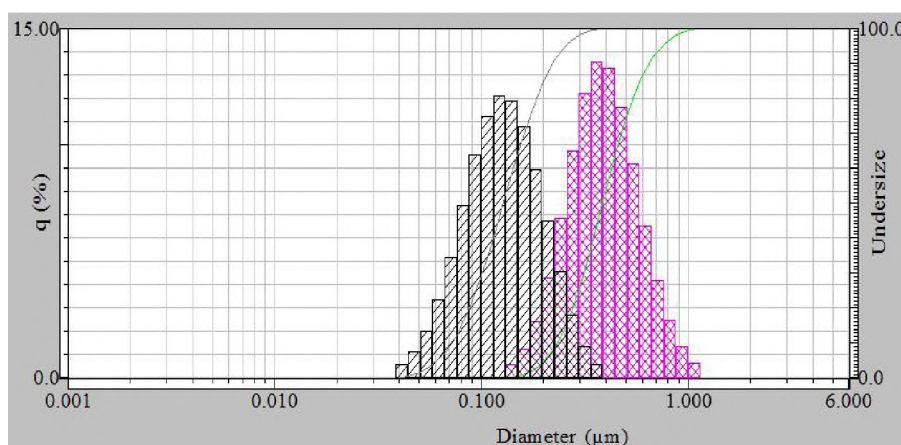


Рис. 1. Распределение частиц бентонита по размерам в суспензиях и интервал средних значений их диаметров
 Fig. 1. Distribution of particle sizes of bentonite in the suspensions, and the interval average value of their diameters

Суспензию известной концентрации и размеров частиц микропипеткой DV 100 заливали в ячейку 2.0×2.0×1.0 см, на дне которой в качестве подложки располагали покровное стекло. Такие образцы коллоидов располагали в камере с заданной температурой. В них со временем в нижней части ячейки осаждались наночастицы бентонита, а над ними формировался слой воды. Далее происходит испарение воды с повышением концентрации растворенных солей и гелеобразованием из наночастиц бентонита. При этом катионный обмен между раствором и гелем увеличивает набухание наночастиц и повышает вероятность доступа раствора к спорам бактерий, о которых будет сказано ниже. За столбиком воды в этом активном коллоиде начинается испарение влаги из геля. После завершения процессов испарения воды доставали стекло – подложку, на которой сформировалась твердая фаза. Исследовали морфологию и химический состав полученного поверхностного слоя образца с помощью растрового электронного микроскопа Quanta 3D 200i, оснащённого системой энергодисперсионного микроанализа Genesis Apex 2 EDS от EDAX (США).

Результаты и их обсуждение

При исследовании методами растровой электронной микроскопии образцов бентонита природных, или приготовленных после отмывки примесей, на их поверхностях не обнаруживаются частицы, напоминающие микроорганизмы. Оказалось, что редкие одиночные палочки, подобные бактериям, наблюдаются на поверхности слоя бентонита, который несколько недель был смочен водой и затем высушен. В питательной среде без участия бентонита, то есть состоящей только из крахмала, сахара и дистиллированной воды, прошедшей все указанные выше процессы подготовки образца, после испарения влаги при 25°C палочки не обнаруживаются. Из этого следует, что в процессе подготовки нами образцов суспензий бентонита не происходит поступление бактерий рода *Bacillus* из воды или атмосферы. Аналогичный результат дают водные суспензии без сахара и крахмала, в которых размер частиц бентонита более 10 мкм. Такая же суспензия, измельченная до 120–500 нанометров, после испарения воды, на оставшейся твердой поверхности имеет бактерии рода *Bacillus*. По литературным данным, размер спор этих бактерий менее одного микрона [Емцев, Мищустин, 2014]. Их поверхность может быть плотно закрыта бентонитом, так как он обладает хорошими адсорбционными и вяжущими свойствами. Указанные обстоятельства, видимо, осложняют индикацию спор в бентоните. Очевидно, в тонкодисперсной суспензии частицы бентонита имеют большую удельную поверхность. Это увеличивает вероятность того, что на поверхности частиц бентонита и в дисперсионной среде окажется некоторое количество, из возможных в глине, спор микроорганизмов. Концентрация солей *Na*, *Ca*, *K* и других в суспензии определяется химическим составом бентонита и его катионной обменной емкостью. По мере испарения воды из опытного образца концентрация солей в суспензии увеличивается. Это ведет к набуханию и к дальнейшему диспергированию частиц бентонита с увеличением вероятности появления в растворе новых спор. При этом, если в бентоните есть споры, то должен начаться процесс их прорастания вследствие активного синтеза белка и рибонуклеиновой кислоты (РНК). Такие частицы под действием архимедовой силы всплывают на поверхность воды и формируют различные фигуры самосборки.

На рисунке 2а представлена микрофотография диска, который сформировался на поверхности воды в процессе её испарения из образца и затем опустился на гель. В начале опыта столбик суспензии бентонита имел высоту 4 мм, средний размер частиц глины 300 нм, концентрацию менее 1% и температуру 25°C. Вокруг диска и под ним расположились на твердой поверхности бентонита микрокристаллы, выросшие из солей, которые обычно присутствуют в этой глине. На рисунке 2б показан фрагмент полученного диска. Видно, что диск образован в процессе самосборки прорастающих спор. По нашим данным, приведенным выше, источником спор является бентонит. В стадии прорастания спор происходит активный синтез белка и рибонуклеиновой кислоты, что приводит к увеличению их размеров до одного микрометра и более [Емцев, Мищустин, 2014]. На фотографии (см. рис. 2б), встречается немало спор, деформированных внутренним давлением, что указывает на наличие пленки, защищающей содержимое в объеме диска, где идет процесс прорастания бактерий [Мальцев, Мансурова, 2011]. Их питание прекратилось вследствие испарения воды до завершения лизиса или разрыва оболочки с выходом из неё ростовой трубки. Это состояние колонии спор зафиксировал и сохранил твердеющий гель тонкодисперсной суспензии. Как видно, использованный нами метод позволяет реализовать, и зафиксировать стадии жизни микроорганизмов.

На рисунке 2 представлен результат самосборки (в) и его увеличенный фрагмент (г), полученные при испарении воды из суспензии с размером частиц 400 нм и высотой столба 4 мм при температуре 30°C. Ветвистые самосборки образованы беспорядочным скоплением бактерий и наложением их друг на друга. Они также беспорядочно рассеяны на всей поверхности твердой фазы между скоплениями. На фрагменте (рис. 2г) хорошо видны палочковидные бактерии *Bacillus subtilis* с закругленными концами. Длина их 5–7 мкм, диаметр ~1 мкм, на одном конце палочки имеются тонкие (~20 нм) жгутики длиной в два–три раза большей, чем сами палочки. Вращательное движение жгутика обеспечивает движение клетки. Микроорганизмы всплывают на поверхность воды и начинают выделять межклеточный матрикс для создания биопленки с микрофлорой более устойчивой в условиях воздействия неблагоприятных факторов внешней среды. Одновременно с этим, в экспериментальном образце поверхность воды с колонией микроорганизмов, вследствие испарения, медленно опускается на гель бентонита, который, теряя воду, затвердевает и надежно фиксирует размеры, форму, ориентацию, положение каждого микроорганизма и

всей колонии. При этом колония в процессе осаждения повторяет кривизну рельефа твердой поверхности бентонита. Из представленного следует, что в природном бентоните имеются споры микроорганизмов, которые способны, при наличии питания, прорасти.

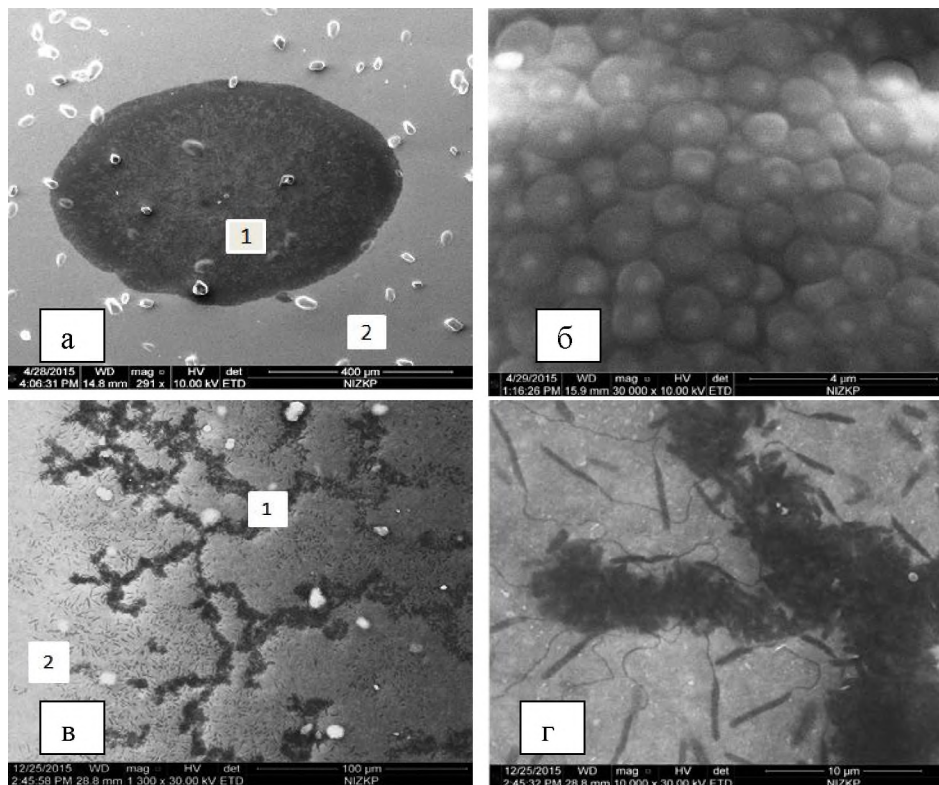


Рис. 2. Колонии бактерий и их спор на поверхности геля бентонита при различных увеличениях
 Fig. 2. Colony of bacteria and it's disputes at different magnification

В таблице представлен химический состав товарного (улучшенного активацией) бентонита до и после появления колоний микроорганизмов, а также самих колоний, указанных на рисунке 2а и в.

Таблица
 Table

Химический состав в % массы поверхностей твердой фазы бентонита с бактериями и без них
The chemical composition in mass % of solids surfaces with bacterias and without its

Химические элементы	Активный бентонит	Рисунок 2а		Рисунок 2в	
		Область 1 (со спорами бактерий)	Область 2 (без спор бактерий)	Область 1 (с активными бактериями)	Область 2 (без активных бактерий)
C	0.56	32.59	0.51	6.27	0.91
O	47.8	35.10	44.17	53.49	51.65
Na	1.27	2.96	2.84	3.30	3.20
Mg	1.37	0.37	1.43	1.84	1.57
Al	11.33	5.98	12.32	9.05	9.86
Si	25.7	14.59	27.63	19.2	25.43
P	-	0.81	0.29	0.7	0.20
Cl	0.40	1.09	1.30	0.58	0.8
K	3.09	1.79	2.80	1.41	1.91
Ca	0.83	0.20	0.32	1.02	1.12
Ti	0.57	0.23	0.47	0.14	0.29
Fe	6.85	3.90	5.42	2.43	2.72
Co	0.23	0.20	0.36	0.21	0.28

Из приведенного в таблице следует, что дискообразная фигура, образованная самосборкой спор в процессе их прорастания, имеет концентрацию углерода на 32% выше

по сравнению с остальной поверхностью опытного образца и товарным бентонитом. Повышение концентрации углерода до 6,3% наблюдается и в области скопления бактерий (рис. 2 в). Это указывает на то, что деятельность микроорганизмов в бентоните способна существенно изменить химический состав, а значит и его уникальные свойства.

На увеличенном изображении фрагмента (рис. 3б) диска, образованного палочками *Bacillus subtilis* (см. рис. 3а) видно, что в процессе опыта выросли палочки, и они начали делиться. Слабые силы взаимодействия между данными частицами, по сравнению с прорастающими спорами, располагают их на больших расстояниях друг от друга. Поэтому количество частиц на единице площади не высокое и круг, образованный ими, слабо обозначен. Следует отметить, что в наших экспериментах дискообразные самосборки бактерий встречаются часто, но они являются не единственными. На рисунке 3 представлены фотографии колоний в виде полосы (в) и фронта распространения (г) клеток *Bacillus subtilis* в стадии деления.

Повышение концентрации углерода для областей с бактериями, указанными на рис. 3 в, составило 4% для области 1, а на рис. 3 г – 3,6% для области 1 и 21% для области 3. Эти изменения химического состава бентонита происходили за сутки его взаимодействия с водой.

На рисунке 4 представлены две стадии формирования спор бактерий *Bacillus subtilis*. На микрофотографии 4а споры находятся в оболочке материнской клетки, и они имеют близкие диаметры, а представленные на – 4б смещены к концам клеток, которые деформированы или исчезли вследствие лизиса.

Механизм формирования колониями микроорганизмов различных фигур представляет самостоятельный физико-химический и биологический интерес.

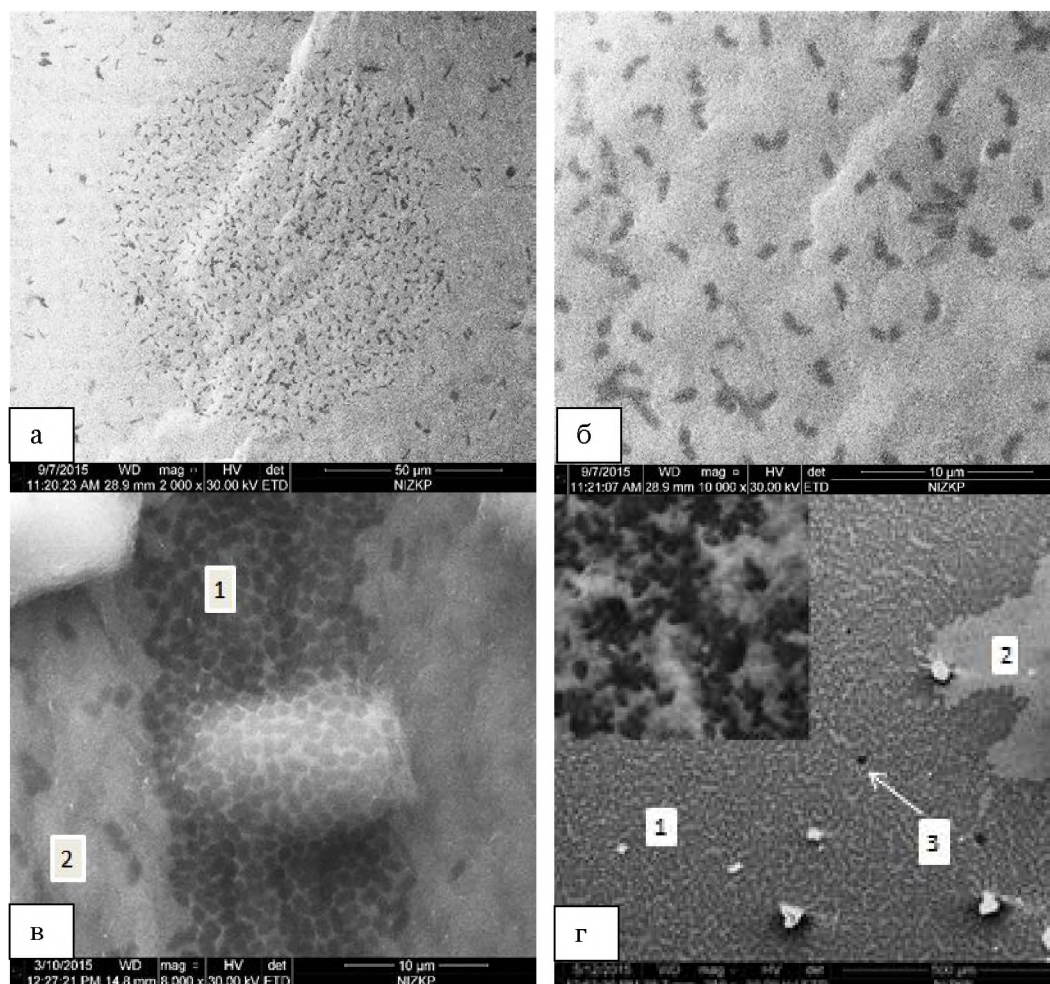


Рис. 3. Колонии бактерий в виде диска, полосы и фронта роста их численности
Fig. 3. Colonies of bacteria as a disc, strip and the front of growth of their size

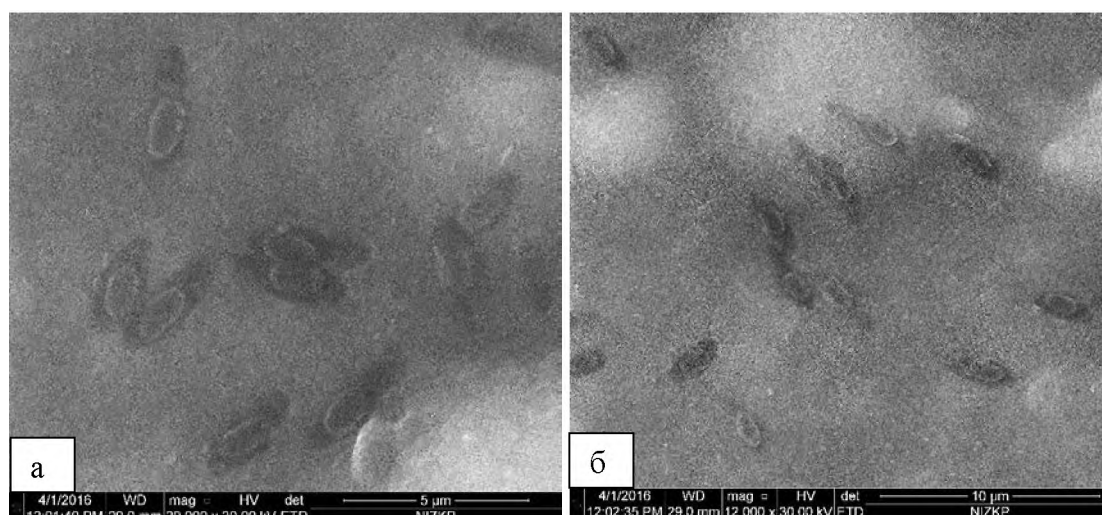


Рис. 4. Стадии формирования спор бактерий *Bacillus subtilis*
 Fig. 4. Stages of formation of spores of bacteria *Bacillus subtilis*

Заклучение

Для рассматриваемой задачи важным является установленный в данной работе факт наличия в бентоните спор бактерий *Bacillus subtilis*, способных при наличии воды в этой глине, прорасти, делиться, формировать колонии. В этих процессах идет активный синтез высокомолекулярных органических соединений (белков, РНК), матрикса. Он ведет к увеличению концентрации углерода в образце бентонита, так как в состав клеток микроорганизмов входит 50% углерода от массы сухого вещества [Емцев, Мишустин, 2014]. При недостатке питания наблюдается процесс спорообразования. Этот жизненный цикл микроорганизмов завершается существенным увеличением в бентоните концентрации углерода и незначительным изменением в нём концентрации других химических элементов, в том числе тех, которые являются источниками обменных катионов и влияют на адсорбционные и коллоидные свойства бентонита. Увеличение концентрации углерода в бентоните, на три десятка процентов, обусловленное синтезом микроорганизмами высокомолекулярных органических соединений (см. табл.), способно существенно изменить его потребительские свойства, используемые в различных областях.

Гидроизоляционные маты, шнуры и прочие слои бентонита в рабочем состоянии всегда имеют одну поверхность, смоченную водой. В ней будет десятилетиями происходить прораствание спор, размножение бактерий и снижение со временем гидроизоляционных свойств, определяемых набухаемостью глины, примесями к воде и её температурой. Аналогичный процесс снижения набухаемости и потребительских свойств будет протекать в буровых растворах, где дисперсионной средой является вода.

Медицинские и косметические препараты, созданные для использования высоких адсорбционных свойств бентонита, при взаимодействии с водой, могут вызвать прораствание спор и рост бактерий *Bacillus subtilis*, которые способны подавлять патогенные микроорганизмы. Это может обеспечить дополнительный лечебный эффект препаратов, содержащих бентонит.

Список литературы References

1. Акимбаева А.М., Ергожин Е.Е. 2007. Оценка структурных и сорбционных характеристик активированного бентонита. Коллоидный журнал, 69 (4): 437–443.
 Akimbaeva A.M., Ergozhin E.E. 2007. Assessment structural and the sobtsionnykh of characteristics of the activated bentonite. Kolloidnyi Zhurnal [Colloid Journal], 69 (4): 437–443. (in Russian)
2. Акимхан А.М. 2013. Адсорбция полиакриловой кислоты и полиакриламида на монтмориллоните. Журнал физической химии, 87 (11): 1898–1903.



Akimkhan A.M. 2013. Adsorption of the poly(acrylic acid) and polyacrylamide on montmorillonite. Zhurnal Fizicheskoi Khimii [Russian Journal of Physical Chemistry A: Focus on Chemistry], 87 (11): 1898–1903. (in Russian)

3. Арансон И.С. 2013. Активные коллоиды. Успехи физических наук, 183 (1): 87–101.

Aranson I.S. 2013. The fissile colloids. Uspekhi fizicheskikh nauk [Advances in Physical Sciences], 183 (1): 87–101. (in Russian)

4. Везентцев А.И., Королькова С.В., Буханов В.Д. 2010. Текстуальные характеристики и сорбционные свойства природной и магнием-замещенной монтмориллонит содержащей глины. Научные ведомости БелГУ. Естественные науки, 11 (9): 119–123.

Vezentsev A.I., Korol'kova S.V., Bukhanov V.D. 2010. Textural characteristics and getter properties natural and a magnesium – the containing clay replaced montmorillonite. Nauchnye vedomosti BelGU. Estestvennyye nauki [Belgorod State University Scientific Bulletin. Natural sciences], 11 (9): 119–123. (in Russian)

5. Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. 2014. Микробиология. Москва, 432.

Emtsev V.T., Mishustin E.N. 2014. Mikrobiologiya [Microbiology]. Moscow, 432. (in Russian)

6. Кононенко С.А. 2009. Технологические основы модифицирования бентонита Тарасовского месторождения для формовочных смесей. Дис. ... канд. тех. наук. Новочеркасск, 114.

Kononenko S.A. 2009. Tekhnologicheskie osnovy modifitsirovaniya bentonita Tarasovskogo mestorozhdeniya dlya formovochnykh smesey [Technological bases of modifying of bentonite of the Tarasovsky field for forming mixes]. Diss. ... cand. tech. sciences. Novocherkassk, 114. (in Russian)

7. Кормош Е.Б., Алябьева Т.М., Погорелова А.Г. 2011. Химико-минералогические аспекты возможности использования глин белгородской области в разработке сорбентов для очистки сточных вод. Фундаментальные исследования, (8): 131–136.

Kormosh E.B., Alyab'eva T.M., Pogorelova A.G. 2011. Chemical and mineralogical aspects of a possibility of use of clays of the Belgorod region in development of sorbents for a sewage disposal. Fundamentalnye issledovaniya [Fundamental research], (8): 131–136. (in Russian)

8. Крупин С.В., Трофимова Ф.А. 2010. Коллоидно-химические основы создания глинистых суспензий для промышленного дела. Казань, 411.

Krupin S.V., Trofimova F.A. 2010. Kolloidno-khimicheskie osnovy sozdaniya glinistykh suspenziy dlya promyshlennogo dela [Colloid and chemical bases of creation of clay suspensions for the production business]. Kazan, 411. (in Russian)

9. Майкл Т. Кубал. 2012. Гидроизоляция зданий и конструкций: справочник строителя. Москва, Техносфера, 592.

Maykl T. Kubal. 2012. Gidroizolyatsiya zdaniy i konstruksiy: spravochnik stroitelya [Waterproofing of buildings and designs: reference book of the builder]. Moscow, Tehnosfera, 592. (in Russian)

10. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. 2011. Что такое биопленка? Практическая медицина. Педиатрия, 5 (53): 7–10.

Mal'tsev S.V., Mansurova G.Sh. 2011. What is a biofilm? Prakticheskaya meditsina. Pediatriya [Applied medicine. Pediatrics], 5 (53): 7–10. (in Russian)

11. Исследовательская группа ИнфоМайн. 2010. Обзор рынка бентонитовой глины и глинопорошка в СНГ. Москва, 190.

Issledovatel'skaya gruppa InfoMayn 2010. Obzor rynka bentonitovoy gliny i glinoporoshka v SNG [The review of the market of bentonite clay and a dry mud in the CIS]. Moscow, 190. (in Russian)

12. Овчаренко Ф.Д. 1961. Гидрофильность глин и глинистых минералов. Киев, 275.

Ovcharenko F.D. 1961. Gidrofil'nost' glin i glinistykh mineralov [Hydrophylic nature of clays and clay minerals]. Kiev, 275. (in Russian)

13. Семененко М.П. 2008. Фармакология и применение бентонитов в ветеринарии. Автореф. дис. ... докт. вет. наук. Краснодар, 48.

Semenenko M.P. 2008. Farmakologiya i primeneniye bentonitov v veterinarii: avtoref [Pharmacology and use of bentonites in a veterinary medicine]. Abstract. diss. ... doct. vet. sciences. Krasnodar, 48. (in Russian)