

УДК 579.6

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ПОЛИМЕРНЫХ ОТХОДОВ В ПОЧВАХ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

© А.О. Каширская, А.Н. Пархоменко

Рассмотрена возможность микробного разложения полимерных отходов в Астраханской области. Выделены доминирующие формы из накопительной культуры и модельных систем на основе светло-каштановой почвы Астраханской области с внесением различных полимерных материалов. Изучены оптимальные условия для развития данных микроорганизмов и максимального действия их ферментных систем. Комплекс определяемых ферментов может максимально эффективно воздействовать на сложные связи в разветвленной молекуле полиэтилена и воздействовать на его деструкцию.

Ключевые слова: полимеры, почва, микроорганизмы, деструкция, ферменты, ферментные системы, биодеструкция.

Особую актуальность разрушающая способность микроорганизмов приобрела в последние десятилетия в связи с возрастающим количеством в биосфере устойчивых загрязнителей антропогенного происхождения. Наиболее безопасным и экологически выгодным методом очистки окружающей среды от полимерных загрязнителей является переработка полимеров с использованием биоразрушающей способности микроорганизмов, обладающих огромным разнообразием ферментных систем.

Возникла необходимость изучения возможности разложения полимерных материалов при помощи микроорганизмов и выделения микроорганизмов, способных использовать углерод, входящий в состав полимерных материалов, в процессах метаболизма, роста и размножения.

В Астраханской области не производится вторичная переработка полимерных отходов. Они собираются и вывозятся на 5 мусорных полигонов, где хранятся длительное время [1]. Астраханский полигон заполнен уже на 76%. Количество мусорных свалок в Астраханской области в 2013 г. составило бо-

лее 277, из них только 53% являются санкционированными.

В связи с этим изучение влияния условий культивирования на ферментативную активность микроорганизмов-деструкторов полимерных материалов, выделенных из почв Астраханской области, является актуальным вопросом.

Для выделения микроорганизмов-деструкторов осуществили постановку накопительной культуры (НК) на основе стерильной синтетической среды с внесением полиэтилена и почвенных модельных систем (МС) на основе светло-каштановой почвы Астраханской области с внесением различных полимерных материалов (полиэтилен, полиэтиленовая пленка, пищевая пленка). Экспозицию проводили в течении 72 месяцев. На контрольных точках (1, 2, 4, 6, 12, 18, 36, 60 и 72 месяца) в составе НК выделяли различные физиологические группы микроорганизмов (сапротрофы, олиготрофы, сахаролитики). В процессе культивирования выделены доминирующие виды микроорганизмов, предположительно относящиеся к родам: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*,

КАШИРСКАЯ Анна Олеговна, Астраханский государственный технический университет,
e-mail: kashirik_91@list.ru

ПАРХОМЕНКО Анна Николаевна – к.б.н., Астраханский государственный технический университет,
e-mail: parhoman@mail.ru

Paecilomyces, *Trichoderma*, *Pseudomonas*, *Bacillus* [2].

Для изучения влияния реакции среды на развитие чистых культур доминирующих видов микроорганизмов осуществили посевы на синтетическую среду с внесением полиэтилена. Использовали среды с различным составом для культивирования микроорганизмов в нейтральных (рН=7), кислых (рН=5) и щелочных условиях (рН=10). Контролем служили среды того же состава без внесения полимера.

Определили численность микроорганизмов на всех вариантах сред (рис. 1).

Среди нейтрофильных видов в наибольшем количестве с контрольной среды выделены микроорганизмы видов *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *Paec. carneus*, *B. polymyxa*, *B. circulans 2*, *Ps. putida*, с опытной – *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *B. circulans 2*, *Ps. putida* (рис. 1, а, б). Среди ацидофильных видов в наибольшем количестве с контрольной среды выделены микроорганизмы видов *A. fumigatus*, *Paec. Carneus*,

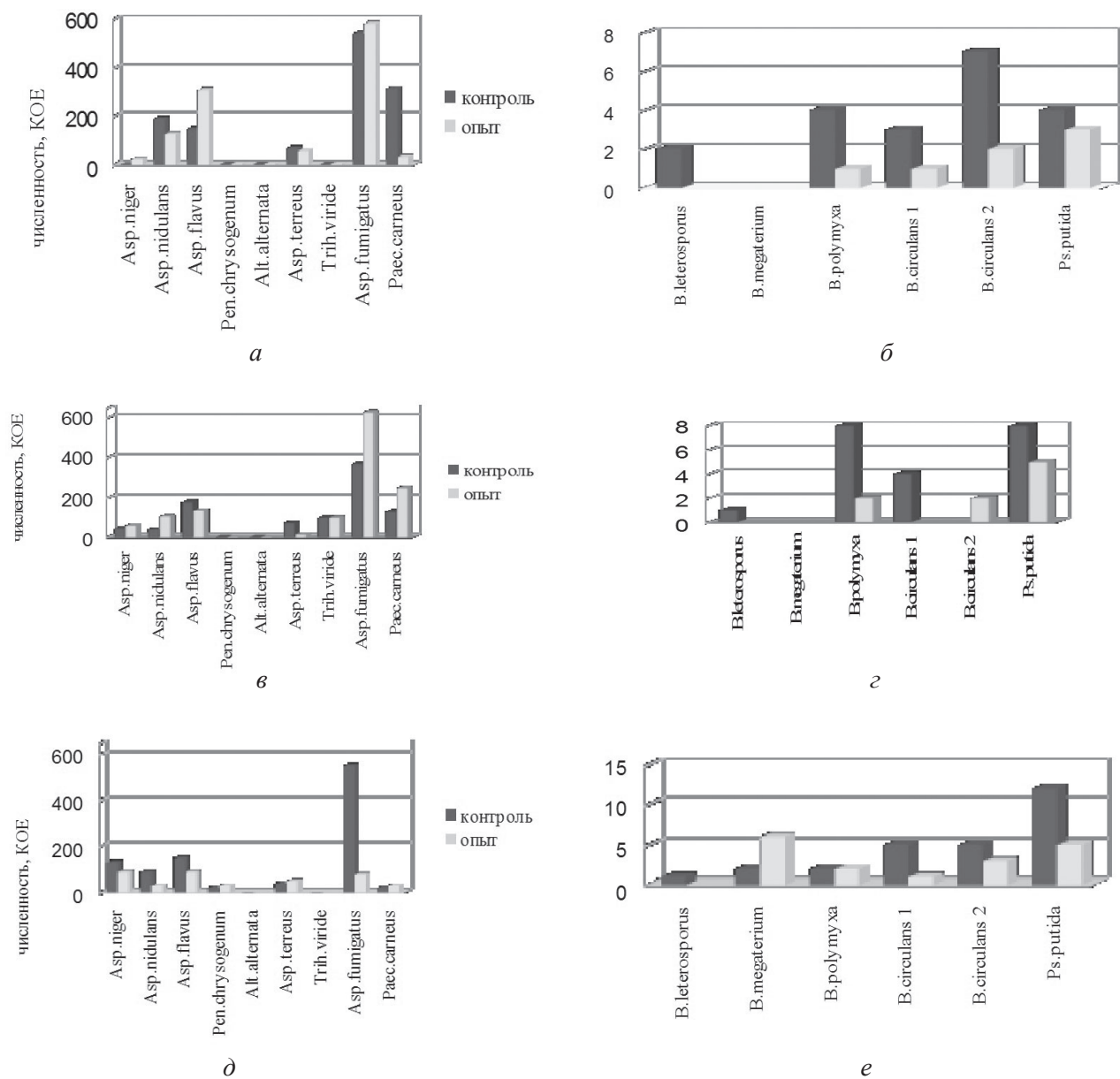


Рис. 1. Численность микроорганизмов, выделенных в различных условиях: (а, б – нейтрофилы; в, г – ацидофилы; д, е – алкалофилы) а, в, д – мицелиальные формы, б, г, е – бактериальные формы

B. polymyxa, *Ps. putida*, с опытной – *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Paec. Carneus*, *B. polymyxa*, *B. circulans 2*, *Ps. putida* (рис. 1, в, г). Среди алкалофильных видов в наибольшем количестве с контрольной среды выделены микроорганизмы видов *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *B. circulans 1*, *B. circulans 2*, *Ps. putida*, с опытной – *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *B. megaterium*, *B. circulans 2*, *Ps. putida* (рис. 1, д, е).

Изучена ферментативная активность исследуемых культур. Оценка активности производилась на 2 и 7 сутки культивирования по трехбалльной шкале: 3 – максимальная активность; 0 – отсутствие активности. Для

оценки липолитической, амилолитической, казеиназной активностей отмечали наличие зон просветления вокруг колонии микроорганизмов. Желатиназную активность определяли визуально по разжижению желатины. Наличие пектолитических ферментов определяли мацерацией ткани моркови и картофеля, целлюлозолитических – образованием продуктов разложения полиэтилена (КМЦ).

На основании полученных результатов изучали влияние условий культивирования на ферментативную активность микроорганизмов. Выявили виды микроорганизмов, которые проявили максимальную активность на среде с полиэтиленом (табл. 1).

Таблица 1

Микроорганизмы, проявившие максимальную ферментативную активность

Активн.	pH	Вид	Активн.	pH	Вид	Активн.	pH	Вид		
Амилолитическая	7	<i>A. nidulans</i>	Желатиназная	7	<i>Ps. putida</i>	Пектолитическая	7	<i>A. niger</i>		
		<i>A. flavus</i>			<i>Trih. viride</i>			<i>A. nidulans</i>		
		<i>Alt. alternata</i>		5	<i>A. fumigatus</i>			<i>A. flavus</i>		
		<i>Trih. viride</i>			<i>Ps. putida</i>			<i>Trih. viride</i>		
		<i>A. fumigatus</i>		10	<i>A. fumigatus</i>			<i>Paec. carneus</i>		
		<i>Paec. carneus</i>			<i>B. megaterium</i>			<i>Ps. putida</i>		
		<i>B. circulans 1</i>			<i>Ps. putida</i>			<i>A. niger</i>		
	<i>Ps. putida</i>	5	Казеиназная	7	<i>A. flavus</i>		5	<i>A. nidulans</i>		
	<i>A. nidulans</i>				<i>P. chrysogenum</i>			<i>A. fumigatus</i>		
	<i>A. flavus</i>				<i>Alt. alternata</i>			<i>Paec. carneus</i>		
	<i>P. chrysogenum</i>				<i>Paec. carneus</i>			<i>Ps. putida</i>		
	<i>Alt. alternata</i>				5			<i>B. circulans 1</i>	10	<i>A. niger</i>
	<i>Trih. viride</i>							<i>A. nidulans</i>		<i>A. nidulans</i>
	<i>A. fumigatus</i>							<i>P. chrysogenum</i>		<i>A. flavus</i>
	<i>Paec. carneus</i>		<i>Paec. carneus</i>	<i>P. chrysogenum</i>						
	<i>B. circulans 2</i>		<i>B. circulans 2</i>	<i>Paec. carneus</i>						
	<i>A. nidulans</i>	10		10	<i>A. nidulans.</i>		<i>B. polymyxa</i>			
	<i>A. flavus</i>				<i>P. chrysogenum</i>		<i>Ps. putida</i>			
	<i>P. chrysogenum</i>				<i>Alt. alternata</i>					
	<i>Alt. alternata</i>				<i>Paec. carneus</i>					
	<i>Trih. viride</i>				<i>B. megaterium</i>					
	<i>Paec. carneus</i>				<i>B. polymyxa</i>					
	<i>B. megaterium</i>									
	<i>B. polymyxa</i>									

Многие виды проявляли одинаковую активность по сравнению с контролем или ниже контрольной. Максимально равную целлюлолитическую активность микроорганизмы проявили при всех условиях среды.

По полученным данным различные ферментные системы микроорганизмов максимально активны в нейтральных условиях у видов: *B. circulans 1*, *Ps. putida*, в кислых – *A. flavus*, *A. fumigatus*, *B. circulans 2*, в щелочных – *P. chrysogenum*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*. Для видов *A. nidulans*, *Alt. alternata*, *Paec. carneus* реакция среды не оказывает особого влияния, максимальное действие ферментных систем происходит при росте на различных вариантах сред. В процессе изучения влияния условий культивирования на ферментативную активность микроорганизмов выяснили, что кислая и щелочная реакция среды является наиболее оптимальной для действия всех ферментных систем.

Выделенные ферменты являются агентами в деструкции различных сложных химических веществ до более простых, участвуют в разрыве связей в полимерах (коллаген, казеин, крахмал, пектиновые вещества, триглицериды, целлюлоза). Комплекс определяемых ферментов, продуцируемых исследуемыми микроорганизмами, может максимально эф-

фективно воздействовать на сложные связи в разветвленной молекуле полиэтилена и воздействовать на его деструкцию.

Загрязненные почвы, как правило, обладают щелочной реакцией среды. Исследуемые чистые культуры микроорганизмов, проявляющих максимальную ферментативную активность, по литературным данным способны участвовать в процессах биодеструкции полимерных отходов [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Яникин В.В. Экологическая обстановка в Астраханской области и планируемые мероприятия по ее оздоровлению // Рециклинг отходов. 2008. № 1 (13). С. 15–17.
2. Каширская А.О., Пархоменко А.Н. Микроорганизмы, выделенные с поверхности синтетических полимерных материалов: материалы II Международной научно-практической конференции «Проблемы современной биологии». М.: Спутник+, 2011. С. 85–87.
3. Бояндин А.Н., Прудникова А.Н. Биодegradация полигидроксиалканоатов почвенными микробиоценозами различной структуры и выявление микроорганизмов-деструкторов // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48, № 1. С. 35–44.



INFLUENCE OF CULTURING CONDITIONS ON THE ENZYMATIC ACTIVITY OF MICROORGANISMS, DESTRUCTORS OF PLASTIC WASTE IN THE SOILS OF THE ASTRAKHAN REGION

© A.O. Kashirskaya, A.N. Parhomenko

Astrakhan State technical University, Astrakhan, Russian Federation

The article considers the possibility for microbial degradation of plastic waste in the Astrakhan region. We have identified the dominant forms from accumulating culture and model systems based on light-brown soil of the Astrakhan region with the introduction of various polymeric materials and studied the optimal conditions for the development of these microorganisms and the maximum effect of enzyme systems. A set of enzymes we have determined can maximally affect the complex bonds in a branched molecule of polyethylene and influence its degradation.

Key words: polymers, soil, microorganisms, degradation, enzymes, enzymic systems, biodegradation.