

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-91

**ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ДЕПОЛИМЕРИЗУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ
МИКРОБНОГО КОНСОРЦИУМА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ПОЛИМЕРНОГО ИСТОЧНИКА**

**EVALUATION OF POTENTIAL DEPOLYMERIZING ACTIVITY OF MICROBIAL CONSORTIUM
ISOLATED FROM POLYMERIC SOURCE**

А. С. Коснырев, А. В. Петров, Р. В. Юсупов, В. В. Ульянова

Казанский (Приволжский) федеральный университет

A. S. Kosnyrev, A. V. Petrov, R. V. Yusupov, V. V. Ulyanova

Kazan Federal University

 s_kosnyrev@mail.ru

Аннотация

Проблема утилизации пластмасс актуальна из-за недостатка биосовместимых подходов. Данное исследование нацелено на поиск микроорганизмов, разлагающих полимеры. Из системы водоснабжения изолирован консорциум микробов из семейства *Bacillaceae*. По данным эллипсометрии, инкубация консорциума с полимерными изделиями на минимальной среде привела к снижению толщины части образцов, что отражает потенциальную деполимеризующую активность бактерий.

Abstract

Plastic utilization remains the relevant problem due to the lack of biocompatible approaches. This work is aimed at the search of polymer-degrading microorganisms. A microbial consortium from *Bacillaceae* family was isolated from the water supply system. According to ellipsometry, incubation of consortium with polymeric products on the minimal medium decreased the thickness of some samples, which demonstrates the potential depolymerizing activity of bacteria.

Загрязнение окружающей среды пластмассами — одна из основных проблем современности, выражаяющаяся не только в нанесении ущерба экосистемам, но и в создании экономической нагрузки на инфраструктуру. Существующие методы утилизации и переработки полимеров имеют ограниченный круг применения, поэтому актуальной становится разработка подходов, основанных на использовании микроорганизмов — деструкторов полимерных материалов, в связи с этим целью данной работы стало определение потенциальной способности к разрушению пластмасс у микробного консорциума, выделенного с поверхности полимерного материала.

В качестве источника микроорганизмов была выбрана силиконовая трубка из системы водоснабжения с признаками микробного загрязнения на внутренней поверхности. Смыв с полученного образца обогащали на среде LB и затем пересевали в соотношении 1 : 50 на минеральную среду M9, в которой источниками углерода выступали прозрачные пленки массой 20 мг из различных видов пластмасс: полиэтилентерефталата (ПЭТ), полипропилена (ПП) и полиэтилена высокой плотности (ПЭВП), в качестве контроля использовали неинокулированную стерильную среду с образцами пленок. Инкубацию образцов проводили при 37 °C и 160 об/мин в течение 4 недель с заменой среды спустя 2 недели после инокуляции. После инкубации пленки очищали от микробного налета однократным промыванием 1%-м додецилсульфатом натрия в течение 5 мин, однократным промыванием дистиллированной водой в течение 5 мин, трехкратным промыванием 70%-м этанолом в течение 5 мин и однократным промыванием дистиллированной водой в течение 5 мин, а затем высушивали на воздухе в течение суток. Для оценки степени разрушения полимеров определяли толщины отмытых пленок на эллипсометре Woollam VASE (J.A. Woollam Co., Inc., США) путем измерения интенсивности отраженного от пленок света как функции угла падения в диапазоне от 39° до 53° на длине волны 800 нм. В измеренных зависимостях проявлялась последовательность максимумов и минимумов, обусловленная интерференцией отраженных от двух поверхностей пленок компонент. Далее определялись углы, соответствующие интерференционным максимумам, и с использо-

ванием известного выражения $d = \frac{\lambda}{2(\sqrt{n^2 - \sin^2 \alpha} - \sqrt{n^2 - \sin^2 \beta})}$ вычислялась толщина пленки и оценивалась

погрешность полученного значения. В представленном выше выражении d — толщина пленки в мкм, λ — длина волны в мкм, n — показатель преломления материала при заданной длине волны, α и β — углы двух соседних

интерференционных максимумов. Из полученных значений для набора пар соседних интерференционных максимумов брали среднее арифметическое и вычисляли изменение толщины относительно контроля по формуле

$$\frac{d_o - d_k}{d_k} \times 100, \text{ где } d_o \text{ — толщина обработанной микроорганизмами пленки, } d_k \text{ — толщина контрольного образца.}$$

Для предварительного определения систематической принадлежности микроорганизмов в консорциуме были получены чистые культуры путем серийных разведений, затем изоляты окрашивали методом Грама и Шеффера — Фултона и микроскопировали на увеличении 1600 \times , также был проведен каталазный тест. Таксономическую принадлежность определяли согласно справочнику Бёрджи по бактериологической систематике.

Было установлено, что инкубация консорциума с пленками из ПЭТ и ПЭВП уменьшает их толщину на 5 и 4 % соответственно, в то время как толщина пленки из ПП, наоборот, была увеличена на 3,9 %. Из исследуемого консорциума были выделены 4 изолята, микроскопия показала, что микроорганизмы являются грамположительными спорообразующими палочками, каждая из которых обладала каталазной активностью, что позволяет отнести их к семейству *Bacillaceae*. Таким образом, было показано, что консорциум, выделенный из источника с признаками микробного загрязнения, обладает потенциалом к биодеструкции по отношению к некоторым видам пластмасс и представляет интерес в качестве платформы для дальнейшей разработки средств утилизации труднодоступных соединений.