

УДК 661:606
DOI <https://doi.org/10.32782/2663-5941/2025.3.1/33>

Міміна Н.Б.

Український державний університет науки і технологій

Міміна Ю.О.

Український державний університет науки і технологій

БІОДЕСТРУКЦІЯ ПОЛІМЕР-ПОЛІМЕРНИХ СУМІШЕЙ НА ОСНОВІ ПОЛІСАХАРИДІВ БАКТЕРІЯМИ *PSEUDOMONAS*

Сучасні полімерні матеріали широко застосовуються в різних галузях промисловості, однак їхня низька здатність до природного розкладу спричиняє серйозні екологічні проблеми. Біологічне розкладання розглядається як перспективний спосіб запобігання забрудненню навколишнього середовища полімерними відходами. Розщеплення полімерних матеріалів зумовлюється ферментативною активністю мікроорганізмів, яка призводить до руйнування полімерного ланцюга на олігомери й мономери, що полегшує подальшу біодеструкцію. Теоретично обґрунтовано авторами вибір роду *Pseudomonas* як одного з найперспективніших для біодеструкції полімерів. У статті розглянуто біодеструкцію зразків полімер-полімерних сумішей: сополімеру етилена з вінілацетатом (EVA) та хлорованого поліетилену (CPE) за участю комплексу біологічних агентів (штамів *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens* УКМ В-109, *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* УКМ-91, культури *Eisenia foetida*). Експериментально встановлено підвищення електропровідності поживного середовища у дослідних зразках, що свідчить про розщеплення зв'язків полімерних структур, вивільнення іонів та утворення розчинних продуктів біодеструкції. Зміна рН середовища від лужного до кислого підтверджує накопичення кислих метаболітів, синтезованих мікроорганізмами в процесі біодеструкції полімерних матриць CPE та EVA. Встановлено, що за наявності *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* УКМ-91 та *Eisenia foetida* максимальний рівень деструкції EVA досягає 67%, що майже вдвічі перевищує показники контрольного зразка (34,55%). Визначено, що штаму *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* УКМ-91 у складі біокомплексу в шість разів прискорює процес біодеструкції. Результати дослідження підтверджують ефективність біологічних комплексів у біодеструкції полімерних матеріалів і демонструють їх перспективність для створення екологічно безпечних технологій утилізації полімерних відходів.

Ключові слова: біодеструкція, полімер-полімерні суміші на основі полісахаридів, біологічні комплекси, бактерії *Pseudomonas*, *Eisenia foetida*, вермікультивування, екологічна безпека.

Постановка проблеми. В даний час полімерні матеріали широко використовуються в усіх аспектах людського життя завдяки низькій вартості виробництва, довговічності та високій міцності. Однак значна частина полімерних виробів не підлягає належній утилізації після їх використання. Так, у природному середовищі накопичення великої кількості полімерних відходів серйозно впливає на тварин, рослини та мікроорганізми. Управління та переробка відходів за допомогою традиційних методів утилізації полімерних відходів (захоронення, спалювання, термічна та хімічна обробка) з часом певною мірою вдосконалено. Однак такі методи можуть призвести до вторинного забруднення навколишнього середовища, зокрема спалювання полімерних відходів (без спеціальних фільтрів та інсенерації) небезпечно для людей і довкілля

(вуглекислий газ, вуглецевий пил, полівінілхлорид, хлороводень, діоксини, фуран, ізоціонати, альдегіди та ін.); при захороненні токсичні сполуки, що виділяються з відходів у ґрунти, ґрунтові води можуть споживатися організмом людини через харчовий ланцюг, загрожуючи здоров'ю людини (фталати, антипірни, моно та олігомери полімерів, ендокринні дизруптори, важкі метали та ін.). Тому, враховуючи описані недоліки існуючих методів переробки відходів полімерних матеріалів, все більшу перевагу набувають саме біологічні методи деградації. В останні роки дослідники виділили мікроорганізми зі звалищ, морської води, ґрунту, які мають значний потенціал до деградації полімерів, зокрема ідентифіковані штами-кандидати *Pseudomonas* sp., *Anabaena spiroides*, *Bacillus* sp., *Aspergillus flavus* [1]. Вченими досліджено, що

безхребетні організми також можуть руйнувати полімерні відходи, а саме *Eisenia foetida*, *Tenebrio molitor*, *Galleria mellonella*, *Achroia grisella* та *Lumbriculus variegatus*. Ферменти, що виробляються мікроорганізмами при розкладанні полімерів є дуже ефективними, не завдаючи шкоди навколишньому середовищу. Отже, деградація біологічними об'єктами має переваги: низька вартість, запобігання виділенню токсичних парів та шкідливих сполук у навколишнє середовище.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Останні дослідження демонструють значний прогрес у вивченні здатності мікроорганізмів (безхребетні організми, бактерії, гриби та мікрководорості) розкладати різні види полімерів [2].

У статті [3] авторами досліджується біодеструкція лінійного поліетилену низької щільності змішаною культурою бактерій *Pseudomonas aeruginosa* та *Brevibacterium sp.*, використовуючи його як джерело вуглецю, які здатні рости в живильному середовищі, що містить поліетилен при значеннях рН 5, 7, 9 і температурах 25, 30, 35 (°C).

Результати дослідження представлені авторами [4] демонструють, як сильно впливають умови навколишнього середовища на біодеструкцію поліетилену бактерією *Pseudomonas P. Aeruginosa*. Вплив кислого рН навколишнього середовища уповільнює біодеградацію поліетиленового пластику бактерією *Pseudomonas P. Aeruginosa*, врівноважується низькими температурами навколишнього середовища. Однак при температурах, зазвичай оптимальних для швидкості його росту, розмноження сповільнюється в результаті хімічного складу середовища, який став метаболічно менш сприятливим.

П'ять колекційних штамів бактерій, а саме *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas citronellolis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus flexus* та *Chelatococcus daeguensis* були протестовані [5] на здатність розкладати поліетиленові, поліпропіленові, полістирольні та полівінілхлоридні (ПВХ) плівки в аеробних умовах. Після 90-денної інкубації, біодеструкція відбувалася лише у випадку ПВХ-плівки в присутності *P. citronellolis* та *B. flexus*. Обидва штами діють переважно проти добавок до ПВХ плівок, демонструючи низьку швидкість біодеградації полімеру.

Дослідження науковців [6] підкреслило, що *B. Subtilis* і *B. Licheniformis* це найпоширеніші бактерії в ґрунті, які можуть бути кандидатами для біодеструкції олімерного забруднення. Багато видів бактерій, таких, як *Pseudomonas fluorescens*

і *P. aeruginosa* демонструють високу здатність розкласти поліетилен у водному середовищі з рН 7 при 30–37 °C. Вивчено авторами, що кисле середовище негативно впливає на діяльність мікроорганізмів, порівняно з лужним станом [7]. Консорціум бактерій (*Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *види Flavobacterium* і *Anabena*) також розщеплюють полімери у злегка лужних умовах з рН 7,5 при 26 °C [8].

Аналіз літературних джерел показав, що доцільно обрати для досліджень бактерії виду *Pseudomonas*, які широко присутні в природному ґрунті, як потенційні штами для розкладання полімерів. *Pseudomonas* це рід аеробних, неспороутворюючих, рухливих грам негативних бактерій, який добре відомий своєю метаболічною універсальністю, що дозволяє йому заселяти різноманітних середовищах та утилізувати надзвичайно широкий спектр полімерів. Біодеструкцію можна вважати сучасним методом очищення довкілля від полімерного забруднення.

У попередніх дослідженнях авторами було визначено ступінь деградації полімерних композицій EVA-крохмаль та СРЕ-крохмаль у середовищі біогумусу, що містить активну вермібіоту [9]. Проте вплив окремих біологічних агентів, зокрема бактерій, на ефективність деструкції залишався недостатньо вивченим. У межах цієї роботи дослід було модифіковано шляхом введення до субстрату бактеріального штаму *Pseudomonas chlororaphis subsp aureofaciens* УКМ В-109, *Pseudomonas chlororaphis subsp aurantiaca* УКМ-91, що дозволить проаналізувати їх роль у процесах біодеструкції полімерів у поєднанні з активністю *Eisenia foetida*. Такий підхід відкриває перспективи цілеспрямованої біодеструкції синтетичних полімерів за участю комплексних біологічних систем.

Постановка завдання. Метою статті є дослідження процесу біодеструкції полімер-полімерних сумішей на основі полісахаридів бактеріями *Pseudomonas* шляхом вермікультивування.

Виклад основного матеріалу. Дослідження зосереджені на використанні штамів *Pseudomonas chlororaphis subsp aurantiaca* УКМ-9, *Pseudomonas chlororaphis subsp aureofaciens* УКМ В-109 для біодеструкції полімер-полімерних сумішей: сополімеру етилена з вінілацетатом (EVA) та хлорованого поліетилену (СРЕ) (колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д. К. Заболотного

НАН України (рис. 1). Штами вирощували на м'ясо-пептонному бульйоні (рН 8,2–8,4), стерилізували в автоклаві при температурі 121 °С продовж 30 хвилин. Зважування проводили торсійними вагами типу WT-500, температуру, електропровідність, рівень рН вимірювали приладом Hanna HI 991300. Оптичним приладом Digital Microscope MM-2288-5X-BN мікроскопіювали зразки. Експеримент тривав 60 діб.



Рис. 1. Культури бактерій роду *Pseudomonas*

Для виділення мікроорганізмів з ґрунту та подальшого аналізу колоній на різних середовищах провели дослідження за загальноприйнятими методиками із використанням серійних розведень ґрунтової суспензії [10, 11]. Для проведення досліду підготовлено чотирнадцять зразків однакової ваги, їх склад наведено у таблиці 1.

Кожні 15 діб вимірювали рН у досліджуваних зразках. Динаміка рН середовища під час біодеструкції зразків полімерних сумішей з додаванням біологічних комплексів наведена на рисунку 2.

При рН середовища 6,5–7,5 мікробіологічна активність сприяла біодеструкції всіх зразків полімерів. У лужному середовищі (рН 7,6) за наявності штаму *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* УКМ В-109 рН знижувався до 6,8 у зразках (1, 9, 11), що свідчить про розщеплення вінілацетатних зв'язків з утворенням оцтової кислоти. Натомість у зразках (6, 7, 8) зі штамом *Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca* УКМ В-91 рН майже не змінювався. У контрольних зразках (13, 14) рН середовища залишався лужним, що свідчить про повільний перебіг біодеструкції полімерів.

На рисунку 3 представлено динаміку змін електропровідності середовища в процесі біодеструкції зразків полімерних матеріалів. Електропровідність у зразках змінювалася з часом, демонструючи загальну тенденцію до зростання на початкових етапах. Через 15 діб показники електропровідності більшості зразків знаходилися в діапазоні від 1500 до 2400 мкСм/см. На 30-ту добу у зразка (1) спостерігалася стабілізація, тоді як в інших зразках зафіксовано зниження електропровідності.

Таблиця 1

Склад експериментальних зразків для біодеструкції полімерів

№ зразка	Полімер	Об'єм суспензії, мл	Біологічний комплекс	
			Штам бактерій	Культура <i>Eisenia foetida</i>
1.	EVA	10	<i>Pseudomonas chlororaphis subsp aureofaciens</i>	+
2.		30	УКМ В-109	+
3.	CPE	10	<i>Pseudomonas chlororaphis subsp aureofaciens</i>	+
4.		30	УКМ В-109	+
5.	EVA	10	<i>Pseudomonas chlororaphis subsp aurantiaca</i>	+
6.		30	УКМ-91	+
7.	CPE	10	<i>Pseudomonas chlororaphis subsp aurantiaca</i>	+
8.		30	УКМ-91	+
9.	EVA	10	<i>Pseudomonas chlororaphis subsp aureofaciens</i> УКМ В-109	-
10.	CPE	10	<i>Pseudomonas chlororaphis subsp aurantiaca</i> УКМ-91	-
11.	EVA	30	<i>Pseudomonas chlororaphis subsp aureofaciens</i> УКМ В-109	-
12.	CPE	30	<i>Pseudomonas chlororaphis subsp aurantiaca</i> УКМ-91	-
13.	EVA	-	-	Контроль
14.	CPE	-	-	

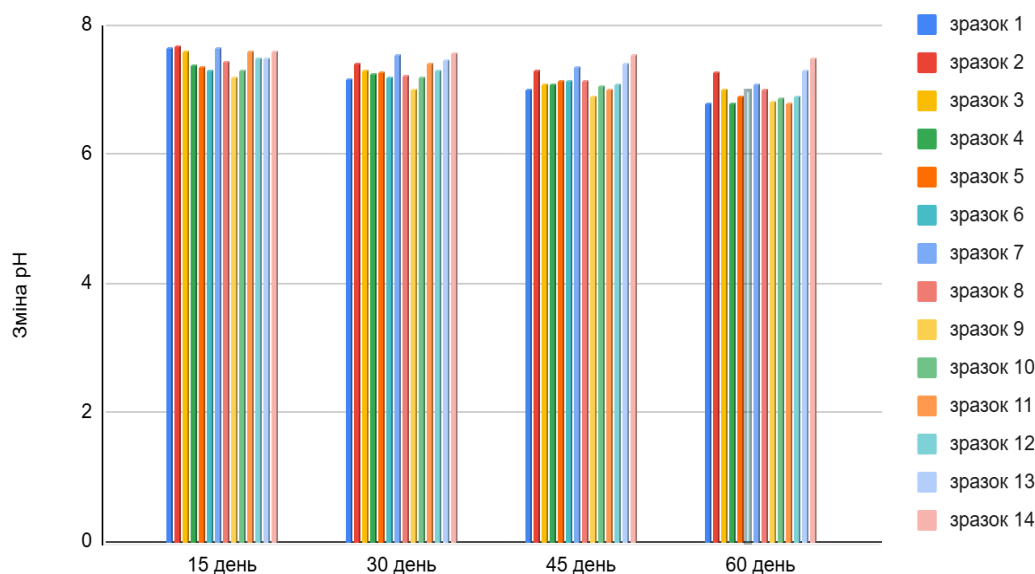


Рис. 2. Динаміка рН середовища під час біодеструкції зразків полімерних сумішей

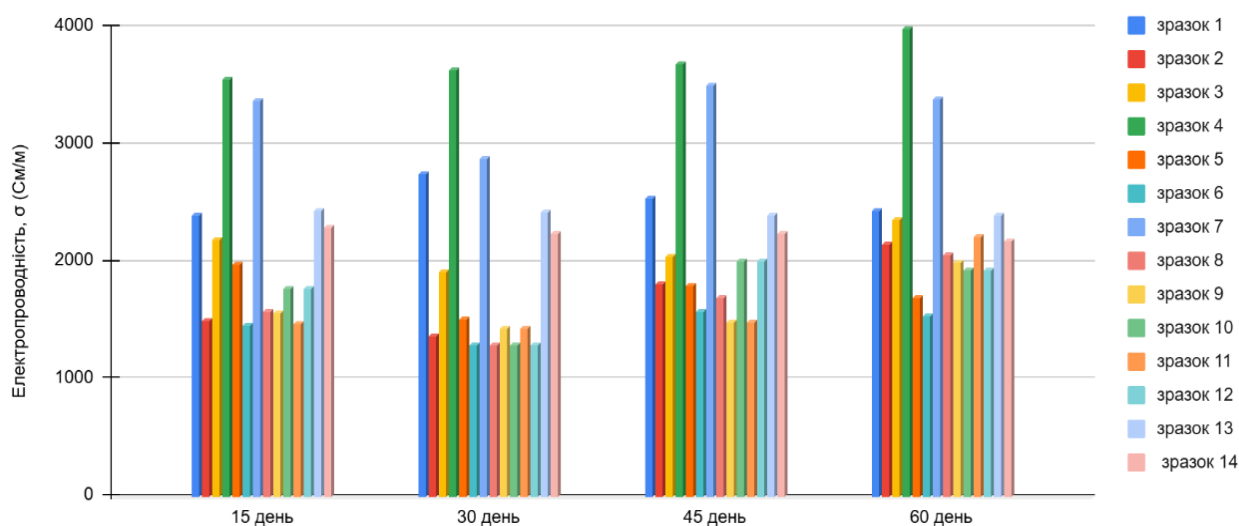


Рис. 3. Динаміка електропровідності у процесі біодеструкції

На 45-й день значення варіювалися в межах 1800–2547 мкСм/см для більшості зразків, за винятком зразка (4). На 60-й день відзначалося загальне зниження електропровідності у всіх зразках, крім зразка (4 СРЕ), електропровідність якого досягла максимального значення 3999 мкСм/см.

Висока електропровідність зразка (4) зумовлена особливостями складу хлорованого полімеру. Загалом спостерігається поступове зниження електропровідності, що може свідчити про зміну хімічного складу під час біодеструкції або про взаємодію компонентів полімерів із середовищем. У контрольних зразках (13, 14) електропровідність змінювалася незначно: з 2437 до 2180 мкСм/см.

Кожні 15 діб здійснювали оптичні дослідження зразків полімерних сумішей, що

зазнавали впливу біологічного комплексу у процесі вермікультивування (табл. 1). Результати дослідження поверхні зразків (5, 6) виготовлених із сополімеру етилену з вінілацетатом, до та після біодеструкції в присутності компонентів біологічного комплексу *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* УКМ В-109 і *Eisenia foetida* наведено на рисунку 4.

Дослідження поверхні зразків (7, 8 СРЕ) у вермікомпості в присутності об'єктів біологічного комплексу *Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca* УКМ-91 та *Eisenia foetida* наведено на рисунку 5.

Рівень біодеструкції досліджуваних зразків наочно представлено на діаграмі (рис. 6), побудованій за результатами оптичного аналізу.

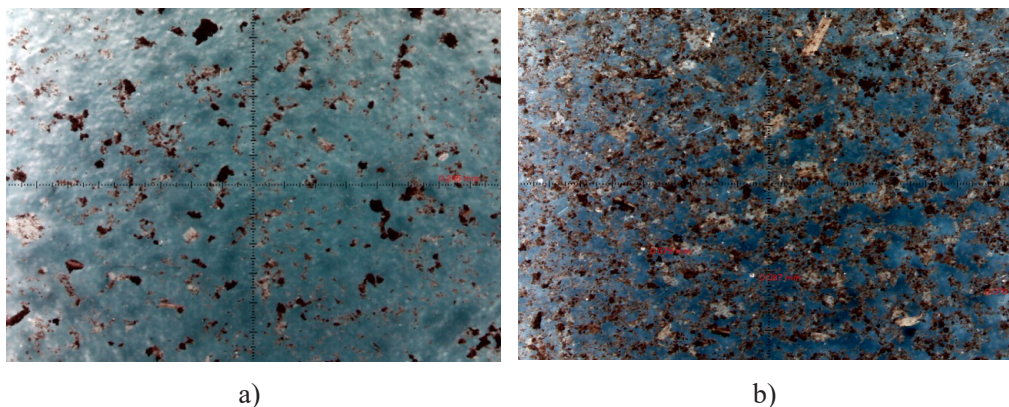


Рис. 4. Зміни поверхні зразків EVA в присутності об'єктів біологічного комплексу а) до експерименту; б) після 60 діб біодеструкції

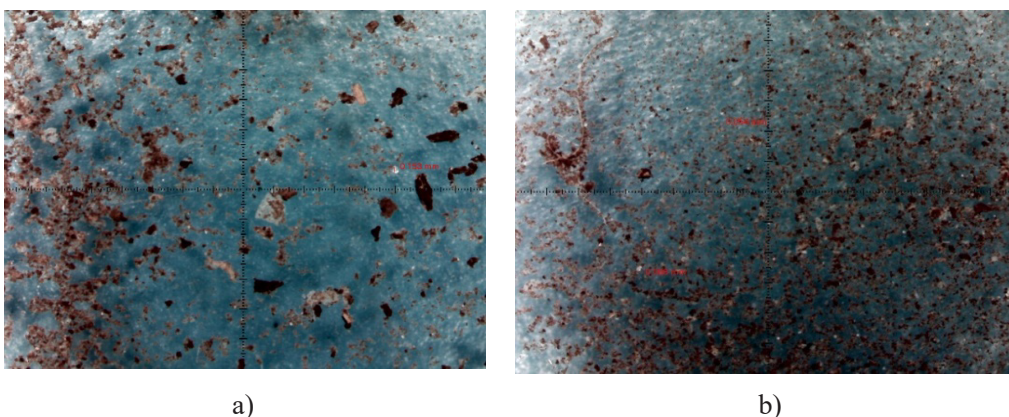


Рис. 5. Зміни поверхні зразків CPE в присутності біологічного комплексу: а) до експерименту; б) після 60 діб біодеструкції

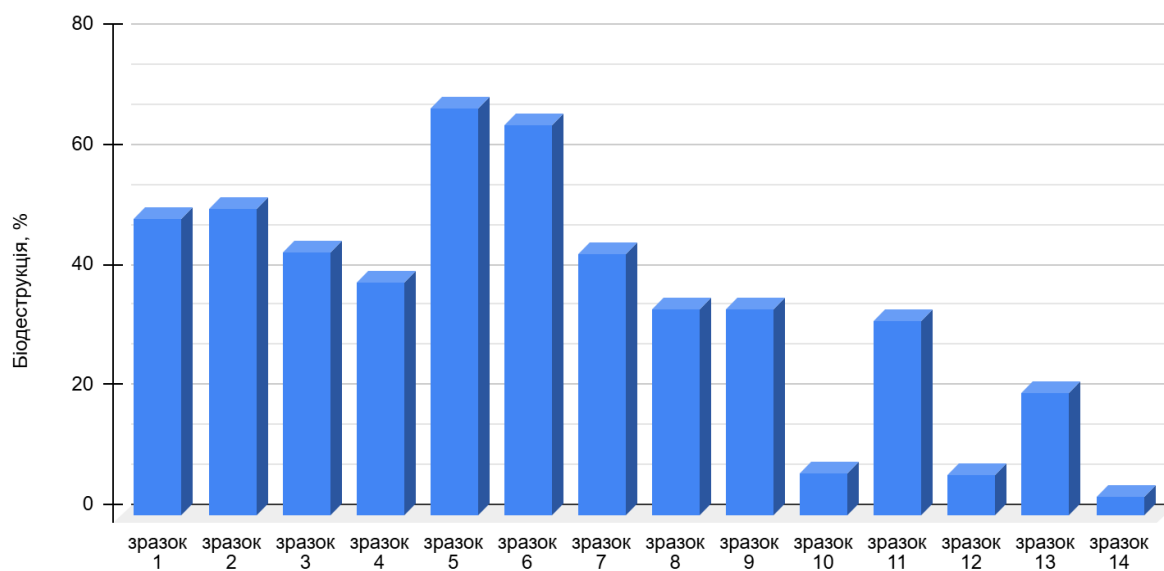


Рис. 6. Біодеструкція полімерних зразків під дією штамів *Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca* UKM B-91 та *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* UKM B-109

Для зразка CPE встановлено, що у складі біокомплексу *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* UKM B-109 та *Pseudomonas*

chlororaphis subsp. aurantiaca UKM B-91 рівень біодеструкції становив 43%. Дослідження розкладання полімер-полімерної суміші EVA

(зразок 5) показало, що за наявності *Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca* УКМ В-91 ступінь біодеструкції досягав 67%. Таким чином, біодеструкція EVA у присутності цього штаму була ефективнішою на 32,45% порівняно з СРЕ. Зразок СРЕ (7, 8) зазнав біодеструкції на 43,70% за участі біокомплексу з *Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca* УКМ В-91, тоді як у контрольному середовищі ступінь розкладання становив лише 7,14%. Вплив мікробіоти біокомплексу сприяв підвищенню ефективності деструкції зразків СРЕ на 36,56%. Отже, у зразках, що містили біокомплекс *Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca* УКМ В-91 та *Eisenia foetida*, швидкість біодеструкції полімерів СРЕ і EVA (рис. 6) перевищувала контрольне середовище у шість разів

Висновки. У результаті дослідження біодеструкції полімер-полімерних сумішей (EVA та СРЕ) встановлено, що штами *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* УКМ В-109 та

Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca УКМ В-91 здатні ефективно розкласти дані матеріали за рахунок ферментативної активності. Зниження рН середовища до кислих значень свідчить про утворення метаболітів, зокрема органічних кислот, у процесі біодеструкції, що підтверджує біологічну активність штамів щодо розщеплення полімерних зв'язків. Підвищення електропровідності середовища у зразках з бактеріальними штамами свідчить про вивільнення іонів та розчинних продуктів біодеградації, що підтверджує активний процес розщеплення полімерних матеріалів. Найвищий рівень біодеструкції (67%) спостерігався у зразках EVA за участі біокомплексу *Pseudomonas chlororaphis subsp. aurantiaca* УКМ В-91 та *Eisenia foetida*, що у шість разів перевищує ефективність у контрольному середовищі. Отримані результати вказують на перспективність використання біокомплексів у розробці екологічно безпечних технологій утилізації полімерних відходів.

Список літератури:

1. Переробка полімерних відходів вермикультивуванням / Мітіна Н.Б., Мініна Ю.О. / Науковий журнал «Вчені записки ТНУ імені В.І. Вернадського. Серія: Технічні науки». Том 36 (75) № 1, 2025. 205 с.
2. Goldman E. Practical Handbook of Microbiology / E. Goldman, L. Green. – Third Edition. Boca Raton: CRC Press, 2015. 1055 p.
3. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія / В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Л.М. Токмакова та ін.; за ред. В.В. Волкогона. К.: Аграрна наука, 2010. 464 с.
4. Chia W.Y., Ying Tang D.Y., Khoo K.S., Kay Lup A.N., Chew K.W. Nature's Fight against Plastic Pollution: Algae for Plastic Biodegradation and Bioplastics Production. Environ. Sci. Ecotechnology. 2020;4:100065. DOI: 10.1016/j.ese.2020.100065.
5. Dwicania, E., Rinanti, A., & Fachrul, M. F. (2019). Biodegradation of LLDPE plastic by mixed bacteria culture of *Pseudomonas aeruginosa* and *Brevibacterium* sp. Journal of Physics: Conference Series, 1402, 022105. DOI:10.1088/1742 6596/1402/2/022105
6. Edith B. Mouafo Tamnou, Antoine Tamsa Arfao, Mireille E. Nougang, Claire S. Metsopkeng, Olive V. Noah Ewoti, Luciane M. Mounang, Paul A. Nana, Linda-Rose Atem Takang-Etta, Fanny Perrière, Télésphore Sime-Ngando, Moïse Nola, Biodegradation of polyethylene by the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* in acidic aquatic microcosm and effect of the environmental temperature, Environmental Challenges, Volume 3, 2021, 100056, ISSN 2667-0100, <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100056>.
7. Giacomucci, L., Raddadi, N., Soccio, M., Lotti, N., & Fava, F. (2019). Polyvinyl chloride biodegradation by *Pseudomonas citronellolis* and *Bacillus flexus*. New Biotechnology. DOI:10.1016/j.nbt.2019.04.005
8. Yao, Z., Seong, H.J. & Jang, YS. Degradation of low density polyethylene by *Bacillus* species. Appl Biol Chem 65, 84 (2022). <https://doi.org/10.1186/s13765-022-00753-3>
9. Дослідження умов біодеградації полімер-полімерних сумішей в процесі вермикультивування / Мініна Ю.О., Мітіна Н.Б., Третяков А.О. / Науковий журнал «Вчені записки ТНУ імені В.І. Вернадського. Серія: Технічні науки». Том 35 (74) № 1 2024. 113 с.
10. International Organization for Standardization. (2009). ISO 10381-6:2009 – Soil quality – Sampling – Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in soil. ISO.
11. ISO 4833-1:2013. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique. International Organization for Standardization, 2013.

Mitina N.B., Minina Yu.O. BIODEGRADATION OF POLYMER-POLYMER BLENDS BASED ON POLYSACCHARIDES BY PSEUDOMONAS BACTERIA

Modern polymeric materials are widely used in various industries, but their low biodegradability causes serious environmental problems. Biodegradation is seen as a promising way to prevent environmental pollution from polymer waste. The breakdown of polymeric materials is caused by the enzymatic activity of microorganisms, which leads to the destruction of the polymer chain into oligomers and monomers, which facilitates further biodegradation. The authors theoretically substantiate the choice of the genus *Pseudomonas* as one of the most promising for polymer biodegradation. The article deals with the biodegradation of samples of polymer-polymer mixtures: ethylene vinyl acetate copolymer (EVA) and chlorinated polyethylene (CPE) with the participation of a complex of biological agents (*Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens* strain UCM B-109, *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* strain UCM-91, *Eisenia foetida* culture). An increase in the electrical conductivity of the culture medium in the experimental samples was experimentally established, indicating the breakdown of polymer bonds, the release of ions, and the formation of soluble biodegradation products. The change in the pH of the medium from alkaline to acidic confirms the accumulation of acidic metabolites synthesized by microorganisms in the process of biodegradation of CPE and EVA polymer matrices. It was found that in the presence of *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* UCM-91 and *Eisenia foetida*, the maximum level of EVA destruction reaches 67%, which is almost twice as high as that of the control sample (34.55%). It was determined that the strain of *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* UCM-91 as part of the biocomplex accelerates the biodegradation process six times. The results of the study confirm the effectiveness of biological complexes in the biodegradation of polymeric materials and demonstrate their prospects for the creation of environmentally friendly technologies for the utilization of polymeric waste.

Key words: biodegradation, polymer-polymer mixtures based on polysaccharides, biological complexes, *Pseudomonas* bacteria, *Eisenia foetida*, vermiculture, environmental safety.