



## ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА БИОРАЗЛОЖЕНИЕ ПЛАСТИКОВ БАКТЕРИЯМИ *PSEUDOMONAS*

В.А. БАГИЯН, Н.Л. КАЗАНЧЯН, М.А. КИНОСЯН

Центр депонирования микробов НПЦ “Армбиотехнология” НАН РА  
valbeg@mail.ru

Статья посвящена обзору исследований способности бактерий рода *Pseudomonas* разлагать и метаболизировать различные синтетические полимеры, а также факторам, которые способствуют или препятствуют процессу биodeградации.

*Pseudomonas* – синтетические полимеры – пластиковые отходы – биоразложение –  
окружающая среда

Հոդվածը հետազոտությունների ակնարկ է՝ նվիրված *Pseudomonas* ցեղի բակտերիաների ունակությանը՝ բալթայելու և մետաբոլիզացնելու սինթետիկ պոլիմերները, ինչպես նաև կենսաբալթայման գործընթացը խթանող կամ խոչընդոտող գործոններին:

*Pseudomonas* – սինթետիկ պոլիմերներ – պլաստիկ թափոններ – կենսաբալթայում –  
շրջակա միջավայր

The article is devoted to a review of studies on the ability of *Pseudomonas* species to degrade and metabolize various synthetic plastic polymers, as well as factors that promote or hinder the biodegradation process.

*Pseudomonas* – synthetic polymers – plastic waste – biodegradation – environment

За последние 50 лет новые пластиковые материалы в различных областях применения постепенно заменили традиционные металл, дерево, кожу. По иронии судьбы, наиболее предпочтительное свойство пластмассы – долговечность, представляет собой серьезную угрозу для окружающей среды. Синтетические пластики, которые широко применяются в материалах повседневного использования, являются повсеместными и медленно разлагающимися полимерами в экологических отходах. Переработка практически не обеспечивает безопасного решения по утилизации пластиковых отходов (только 5% из 1 триллиона пластиковых пакетов, ежегодно производимых только в США, перерабатываются). Наиболее используемым пластиком является полиэтилен (около 140 миллионов тонн в год), поэтому любое сокращение накопления одних только отходов полиэтилена будет иметь большое влияние на общее сокращение пластиковых отходов в окружающей среде [21]. Поскольку полиэтилен считается практически инертным, предпринимаются усилия по выделению уникальных микроорганизмов, способных утилизировать синтетические полимеры. Результаты проводимых исследований показывают, что биоразложение пластиковых отходов с помощью выбранных микробных штаммов

стало жизнеспособным решением [37]. Особый интерес представляют способности микроорганизмов ускорять их деградацию. Представители метаболически разнообразного рода *Pseudomonas* представляют особый интерес из-за их способности разлагать и метаболизировать синтетические пластмассы. Установлено, что виды *Pseudomonas*, выделенные из экологических матриц, разлагают полиэтилен, полипропилен, поливинилхлорид, полистирол, полиуретан, полиэтилентерефталат, полиэтиленисукцинат, полиэтиленгликоль и поливиниловый спирт с различной степенью эффективности, что зависит от целого комплекса факторов. В экологических матрицах разложение этих синтетических пластиков происходит очень медленно. Эту устойчивость к деградации можно обойти с помощью физико-химических факторов окружающей среды и микробных способностей [8]. Длительное воздействие солнечных лучей и физическое истирание способствуют образованию микропластика (<5 мм). Микропластики могут подвергаться дальнейшему разложению микроорганизмами. Следовательно, биологическая деградация и последующий метаболизм могут привести к удалению пластика из загрязненной окружающей среды [15].

Виды рода *Pseudomonas*, которые широко распространены как в водной, так и в наземной среде, применяются для биоочистки сырой нефти, простых углеводородов, нафталина, толуола и других гидрофобных полимеров [7, 39, 42, 47]. Кроме того, виды *Pseudomonas* признаны ценной платформой для биотехнологии [22, 24, 40, 47]. Благодаря своим разнообразным метаболическим возможностям и генетической пластичности виды *Pseudomonas* привлекательны для синтетической биологии [9, 22]. Путем генетических манипуляций создан штамм *Pseudomonas* sp., способный окислять ароматические, алифатические, терпеновые и полиароматические углеводороды [10]. Что касается разложения пластика, виды рода *Pseudomonas* являются одними из наиболее цитируемых разлагателей различной степени для широкого спектра пластиковых полимеров. Полное биологически опосредованное удаление пластиковых полимеров сначала требует расщепления полимера на более мелкие олигомеры и, в конечном счете, на мономеры, которые могут проходить через клеточную мембрану с последующей ассимиляцией и последующим внутриклеточным метаболизмом [15, 17, 36].

Полиэтилен, который является наиболее широко производимым синтетическим пластиком, используется в пластиковых пакетах, бутылках для воды и молока, пищевой упаковке и игрушках [29, 32]. Длинноцепочечный полимер полиэтилена, насыщенный этиленовыми связями, обладает высокой гидрофобностью. Когда полиэтилен имеет разветвленные цепи, препятствующие плотной упаковке в кристаллическую структуру, он характеризуется как полиэтилен низкой плотности. С другой стороны, когда разветвлений практически нет, а молекулы могут укладываться друг на друга и образовывать сильные межмолекулярные силы, полиэтилен считается полиэтиленом высокой плотности. Из 15 видов бактерий, разлагающих полиэтилен высокой плотности, выделенных из морской экосистемы, штаммы *Pseudomonas* sp. оказались наиболее эффективными [2]. Выявлено, что добавление прооксидантных добавок повышает гидрофильность длинноцепочечного полимера полиэтилена, что приводит к разрыву цепи полимера и образованию карбонильных функциональных групп и компонентов с низкой молекулярной массой [5]. После предварительной обработки азотной кислотой штамм *P.aeruginosa* разлагает 0,25 г полиэтилена низкой плотности до 50% за 2 месяца [25]. Таким образом, степень биodeградации полиэтилена и родственных ему пластиков зависит как от структурного устройства пластикового полимера, так и от вида штаммов *Pseudomonas*. Особый интерес для стратегий биоремедиации полиэтилена представляют механизмы, с помощью которых эти штаммы могут разлагать полиэтилен-содержащие пластмассы без предварительной обработки.

Пластмассы со структурой, аналогичной полиэтилену, но с более гидролизуемыми функциональными группами, включают поливиниловый спирт, полиэтиленсукцинат и полиэтиленгликоль. Поливиниловый спирт, который имеет такие же углеродные связи, что и полиэтилен, более растворим в воде, чем полиэтилен, из-за присутствия гидроксильной функциональной группы. В результате поливиниловый спирт легче разлагается, чем полиэтилен. Большинство известных штаммов бактерий, разлагающих поливиниловый спирт, принадлежат к роду *Pseudomonas* [35]. Пластиковый полимер полиэтиленсукцинат (обычно содержится в сумках для покупок и сельскохозяйственных пленках) считается более поддающимся биоразложению, благодаря наличию в структуре гидролизуемых сложноэфирных связей [43]. Штамм *Pseudomonas* sp.AKS2 может максимально расщеплять полиэтиленсукцинат со скоростью 1,65 мг/день [42]. Помимо поливинилового спирта и полиэтиленсукцината, полиэтиленгликоль также более биоразлагаем, чем полиэтилен, благодаря наличию эфирных связей и концевой гидроксильной группе. Хотя полиэтиленгликоль используется не так часто, как полиэтилен, он по-прежнему широко распространен в таких продуктах, как фармацевтические препараты и косметика [11].

Полистирол, одновременно легкий и жесткий, служит эффективной теплоизоляцией в одноразовых стаканчиках, упаковочных материалах и лабораторном оборудовании. Структура полистирола характеризуется фенильными функциональными группами вдоль углеводородной цепи. Хотя сообщения о биодеградации полистирола немногочисленны, полимер полистирола в конечном итоге может быть расщеплен на такие соединения, как стирол, толуол и бензол, которые метаболизируются *Pseudomonas* sp. [8].

Полиуретаны, которые характеризуются уретановыми связями, образованными в результате конденсации полиизоцианата и полиола, имеют различную структуру (ароматический, алифатический, поликапролактоновый, полиэфирный полиуретан) в зависимости от их использования. Наличие карбаматных связей в полиуретане делает его нерастворимым в обычных растворителях, включая ацетон и этанол. Кроме того, долговечные свойства полиуретана снижают влияние температуры, pH, химических веществ и микроорганизмов на деградацию полимера [4]. Несмотря на эти характеристики полиуретана, препятствующие биоразложению, несколько видов *Pseudomonas*, включая *P.fluorescens*, *P.aeruginosa*, *P.cepacia*, *P.protegens* и *P.chlororaphis*, идентифицированы как разлагающие полиуретан [6]. Так штамм *P.aeruginosa* AKS9 может использовать импранил DLN, коммерческую разновидность полиэфирного полиуретана, в качестве единственного источника углерода [19]. Кроме того, обнаружено, что штамм *P.aeruginosa* MZA-85 разлагает и метаболизирует полиэфирный полиуретан [33].

Полимерами с наименьшим количеством сообщений о биоразложении видами *Pseudomonas* являются полипропилен, поливинилхлорид и полиэтилентерефталат. Полипропилен используется в крышках для бутылок, во флаконах для лекарств, в одноразовых шприцах и является вторым наиболее производимым пластиком после полиэтилена. Поливинилхлорид является третьим по объемам производства пластиком и обычно используется в бутылках, садовых шлангах и подошвах для обуви. Полипропилен и поливинилхлорид обладают высокой гидрофобностью и устойчивостью к химическому истиранию [32]. Полиэтилентерефталат, который также термически и химически стабилен, имеет структуру, пригодную для использования в бутылках для воды и газированных напитков, электронике и текстильных волокнах. Мировое производство полиэтилентерефталата растет и составляет примерно 50% синтетических пластиковых изделий [46]. Как с химической предварительной обработкой, так и без нее полипропилен трудно поддается биологическому разложению. Липазы *Pseudomonas* также не очень эффек-

тивны для биодеградаций полиэтилентерефталата, поскольку не могут катализировать разложение данного полимера [1].

В совокупности вышеупомянутые исследования подчеркивают разнообразные способности видов *Pseudomonas* разлагать и метаболизировать различные синтетические пластиковые полимеры. При биотехнологическом применении этих видов для полного биоразложения синтетических пластиков необходимо учитывать различные факторы. Эти факторы включают в себя прикрепление к клеточной поверхности в биопленках, каталитические ферменты, участвующие в окислении или гидролизе пластикового полимера, метаболические пути, ответственные за поглощение и ассимиляцию фрагментов пластика и химические факторы, которые способствуют или препятствуют процессу биодеградаций.

**Образование биопленки.** Способность бактериальных клеток прикрепляться к пластиковым полимерам и разлагать их зависит от структуры поверхности полимера. Добавление гидрофильных функциональных групп к пластиковым полимерам часто требуется для обеспечения прикрепления к клеточной поверхности из-за типичной гидрофильной природы клеточных поверхностей, которая ухудшает притяжение к гидрофобным полимерам. Следовательно, большая шероховатость поверхности и гидрофильность полимера способствуют как усиленному прикреплению бактериальных колоний, так и доступу секретлируемых внеклеточных ферментов к поверхности полимера [20, 30, 45]. В случае пластиковых полимеров, включая полиэтилен, которые обладают высокой гидрофобностью и молекулярной массой, образование биопленки требует либо изменения полимера в результате реакций окисления, либо добавления химических веществ для увеличения взаимодействия поверхности с бактериальными клетками [32, 37]. Образующие биопленки виды рода *Pseudomonas* с относительно высокой гидрофобностью клеточной поверхности лучше прикрепляются к немодифицированным пластиковым полимерам на клеточной поверхности [8, 44]. Так клетки штамма *Pseudomonas* sp.AKS2 обладают большей гидрофобностью клеточной поверхности и способностью разлагать полиэтилен низкой плотности, чем клетки штаммов плактонных видов *Pseudomonas* sp.[41]. Установлено также, что клетки в биопленках секретруют экзополисахариды, которые помогают прикрепляться к пластиковому полимеру и способствуют деградации полиэтилена низкой плотности [45]. Однако, эта способность разлагать полиэтилен низкой плотности не может быть применена к другим пластиковым полимерам из-за их структурных различий[41].

Кроме того, питательная среда может влиять на степень образования биопленки [37]. Состав внеклеточных полимерных матриц может меняться в зависимости от условий роста и может играть важную роль в свойствах прикрепления бактерий [30]. Низкое содержание глюкозы и высокие концентрации сульфата аммония приводили к наибольшей гидрофобности клеточной поверхности штамма *Pseudomonas* sp.AKS2, выращенного на полиэтиленисукцинате [44]. И наоборот, в присутствии богатых органическим углеродом морских отложений образование биопленки уменьшалось, а деградация полиэтилена минимальна или отсутствует [20]. Следовательно, условия окружающей среды и питания, способствующие образованию биопленок на пластиковых полимерах, являются важными стимулами для разложения синтетических пластиков видами *Pseudomonas* sp.

**Каталитические ферменты.** В общем, ферментативная деградация включает два важных процесса, которые можно измерить по потере веса и добавлению функциональных групп. Снижение молекулярной массы полимера делает возможным каталитическое действие ферментов, которые могут воздействовать только на более мелкие молекулы, и облегчает транспорт более мелких молекул через клеточную мембрану [32]. Химические или биологические реакции окисления час-

то необходимы для повышения гидрофильности полимера за счет образования функциональной группы, такой как спиртовые или карбонильные группы, которые могут усиливать прикрепление и деградацию бактерий [1, 17]. Продукты деградации с карбонильными функциональными группами могут метаболизироваться внутри клетки посредством  $\beta$ -окисления и цикла трикарбоновых кислот [26, 32].

Внеклеточные ферменты, такие как деполимеразы и гидролазы, воздействуют на большие пластиковые полимеры, расщепляя их на более мелкие молекулы [32]. Гидролитическое расщепление может происходить либо на конце полимерной цепи (экзоатака), либо где-то вдоль полимерной цепи (эндоатака). Два разных режима атаки создают разные продукты. Экзоатака приводит к образованию небольших олигомеров или мономеров, которые бактерии могут ассимилировать в клетку. С другой стороны, эндоатака в первую очередь снижает молекулярную массу полимера, в результате чего полученные продукты вряд ли будут усваиваться без дальнейшего разложения.

Эстеразы, липазы и кутиназы являются гидролазами, которые играют важную роль в разложении пластика [18, 23, 29]. Гидролазы важны для ферментативного расщепления полимера, при котором сложноэфирные связи разрываются посредством нуклеофильной атаки на карбонильные атомы углерода, созданные в результате предыдущих реакций окисления [8]. Разложению полиэтиленсукцината *Pseudomonas* sp. AKS2 в биоаугментированной почве способствовала гидролазная и дегидрогеназная активность штамма [41]. Эстеразы могут гидролизовать сложные эфиры, либо уже присутствующие в полимере, либо полученные в результате реакций окисления, в спирты, фенолы и кислоты. Например, эстераза штамма *Pseudomonas* sp. AKS2 была способна разорвать эфирные связи в полиэтиленсукцинате с образованием янтарной кислоты, метаболита цикла трикарбоновых кислот [42]. Считается, что ферменты, разлагающие полиуретан, в первую очередь представляют собой внеклеточные эстеразы или протеазы, которые либо связаны с мембраной, либо секретируются внеклеточно [6, 19, 33]. На данный момент показано, что внеклеточный фермент из *P. chlororaphis* с эстеразной и протеазной активностью успешно расщепляет полиэфирный полиуретан [28]. Полиуретан значительно разлагался *Pseudomonas* sp. липазой, но лишь частично расщепляется рекомбинантной эстеразой из *P. Fluorescens* [4]. Производство большого количества внеклеточных эстераз и липаз у *P. aeruginosa* способствует разложению ароматически-алифатических полиэфиров и полиэфирамидов [23]. Внеклеточная кутиназа из *P. mendocina*, при воздействии на полиэтилентерефталатную пленку продуцировала терефталевую кислоту и этиленгликоль в качестве единственных продуктов [3,27]. Эти продукты впоследствии могут включаться во внутриклеточный метаболизм. В настоящее время многое остается неизвестным относительно того, что происходит внутри клетки с усваиваемыми пластиковыми олигомерами или мономерами после их транспорта через бактериальную клеточную мембрану, поскольку предыдущие исследования были сосредоточены на внеклеточных ферментах, в первую очередь участвующих на первых этапах разложения пластика.

**Метаболические пути.** Внутриклеточный метаболизм продуктов, связанных с пластиком, еще до конца не изучен. После распада пластиковых полимеров на более мелкие соединения некоторые из этих соединений потенциально могут подвергаться бактериальному метаболизму, чтобы в конечном итоге минерализоваться в виде  $\text{CO}_2$  или использоваться для биосинтеза ценных продуктов посредством метаболических путей [8, 29, 32]. Так, предполагается, что деградация полиэтилена приводит к образованию уксусной кислоты, которая может быть переработана в цикле трикарбоновых кислот [26]. У штамма *P. Aeruginosa* MZA-85 связанные с клетками эстеразы гидролизуют сложноэфирные связи в полиуретане с образованием адипиновой кислоты и 1,4-бутандиола, которые могут использоваться

в качестве единственных источников углерода путем подачи в цикл трикарбоновых кислот [33]. После первоначального гидролиза полиэтилентерефталата с помощью кутиназы из *P.mendocina* продуцируемые терефталевая кислота и этиленгликоль могут транспортироваться в клетку [27]. Оказавшись внутри клетки, терефталевая кислота может затем расщепляться внутриклеточно. Разложение поливинилового спирта хорошо изучено, и было предложено множество путей разложения спирта для различных бактерий в том числе и видов *Pseudomonas* [13]. Эти пути обычно включают расщепление основной полимерной цепи внеклеточной дегидрогеназой или оксидазой с последующими реакциями альдозы и гидролазы для модификации соединений в продукты, такие как уксусная кислота и гидроксил жирные кислоты, которые могут быть в конечном итоге включены в цикл трикарбоновых кислот и  $\beta$ -окисление соответственно [13, 35].

В отличие от предыдущих пластиков, которые подвергаются начальной внеклеточной деградации, считается, что полиэтиленгликоль проникает непосредственно в периплазматическое пространство через поры с последующим внутриклеточным окислением полиэтиленгликоль-дегидрогеназой штамма *P.stutzeri* JA1001. Этот каталитический механизм производит глиоксильную кислоту, которая может быть задействована в метаболизме через глиоксилатный шунт в цикле трикарбоновых кислот.

Важным следующим шагом в выяснении метаболизма продуктов разложения пластика у *Pseudomonas* sp. является изучение метаболической сети, необходимой для внутриклеточной обработки различных продуктов деградации.

**Факторы, ингибирующие биodeградацию пластиков.** Основные ограничения биоразложения пластика включают такие характеристики полимера, как высокая молекулярная масса, отсутствие благоприятных функциональных групп и кристалличность [8]. Высокая молекулярная масса является одним из самых сильных факторов, препятствующих биodeградации, поскольку пластмассовые полимеры с высокой молекулярной массой менее восприимчивы к микробной атаке, что приводит к меньшему выходу олигомеров или мономеров, необходимых для последующего разложения или метаболизма [32, 36, 48]. Пластиковые полимеры с длинной цепью также обычно не могут проходить через клеточную мембрану и должны сначала подвергаться воздействию внеклеточных ферментов. Например, полиэтилен с молекулярной массой 500 Да считается максимальным весом, который может пройти через клеточную мембрану [48]. Кроме того, синтетические пластики обычно обладают высокой гидрофобностью и содержат стабильные функциональные группы, такие как алкан и фенил. Следовательно, окисление и гидролиз этих полимеров необходимы для повышения гидрофильности перед микробной атакой [32]. Кроме того, аморфные области пластика с большей разветвленной структурой более подвержены микробному воздействию, чем кристаллические пластиковые полимеры с более жесткой формой [36].

На степень биоразложения могут влиять такие абиотические факторы, как pH, температура и влажность [11]. Высокая влажность и температурные условия могут способствовать микробно-опосредованному гидролизу [8]. Кроме того, для реакций ферментов, разлагающих пластик, требуются благоприятные условия [17]. Исследовано, что фермент двойного действия штамма *P.chlororaphis*, расщепляющий полиуретан, имеет оптимальный pH 8,5 для эстеразной активности, но для протеазной активности оптимум pH равен 7 [28]. Также на биоразложение пластмасс влияет наличие других источников углерода, которые могут мешать метаболизму синтетических полимеров. Так, присутствие глюкозы оказывает репрессивное действие на ферменты, разлагающие полиэтиленисукцинат, из *Pseudomonas* sp. AKS2. В отсутствие глюкозы пленка полиэтиленисукцината теряла 45% веса, тогда как при добавлении 0,25% глюкозы потеря веса снижалась только до 25% [42].

Точно так же штамм *P. protegens* Pf-5 больше не проявлял гидролиз импранила при выращивании в среде, содержащей глюкозу. Катаболическая репрессия также наблюдалась, но в меньшей степени, когда штамм *P. protegens* Pf-5 выращивали в присутствии пирувата, фруктозы, глюконата, маннита и глицерина [12]. Таким образом, с целью создания оптимальных условий для биоразложения различных типов пластика следует лучше понять ингибирующее действие альтернативных субстратов.

**Предварительная обработка пластиков.** Пластиковые полимеры могут разлагаться десятилетиями без предварительной обработки для повышения гидрофильности поверхности полимера. Дegradaция пластмасс усиливается после предварительной обработки термическим окислением, фотоокислением под действием УФ-излучения, химическими окислителями или поверхностно-активными веществами. Фотодеградация может вызвать разрыв цепи молекул пластика с помощью механизмов, опосредованных свободными радикалами, которые создают молекулы меньшего размера, которые могут быть поглощены микроорганизмами [8]. Кроме того, анализ полипропилена с помощью инфракрасной спектроскопии показал, что предварительная обработка коротким УФ-излучением привела к появлению кетокarbонильных пиков, тогда как предварительная термическая обработка привела к появлению пиков сложноэфирных карбониллов. Возможно сложноэфирные связи полипропилена могут быть атакованы *P. stutzeri*, потому что полипропилен, предварительно обработанный термическим окислением, имеет более высокую потерю веса по сравнению с полипропиленом, предварительно обработанным коротким УФ-излучением. Напротив, ни ультрафиолетовая, ни термическая предварительная обработка не повышает способность *P. azotoformans* разлагать полипропилен [1]. Окислительные химические вещества, такие как серная кислота, азотная кислота, соляная кислота и перекись водорода, также успешно создавали радикалы гидроксильных групп, которые окисляют поверхности полимеров [31]. Азотная кислота является распространенным методом предварительной обработки, который окисляет полимер и устанавливает карбонильные группы и двойные связи в основной цепи [25]. Так же выявлено, что добавление прооксидантных добавок увеличивает гидрофильность длинноцепочечного полимера полиэтилена за счет введения карбонильных функциональных групп и образования компонентов с более низкой молекулярной массой [5, 36]. В дополнение к химическим окислителям поверхностно-активные вещества используются для стимулирования микробных атак за счет повышения гидрофильности поверхности полимера. Неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как Tween 80, использовались для повышения адгезии *P. aeruginosa* к полиэтилену низкой плотности. Однако в случае *Pseudomonas* sp. AKS2, обладающий естественной высокой гидрофобностью клеточной поверхности, Tween 80 снижает прикрепление клеток к полиэтилену низкой плотности и его деградацию, в то время как минеральное масло, которое способствует гидрофобным взаимодействиям, увеличивает прикрепление клеток и способность к деградации [45]. Следовательно, предварительная обработка оказывает влияние на вид и должна быть адаптирована к каждому сценарию деградации.

Добавление альтернативных субстратов может стимулировать способность к деградации *Pseudomonas* sp. Биodeградацию можно усилить добавлением биоразлагаемой добавки, такой как крахмал, который является источником питательных веществ, легко усваиваемых бактериальными клетками [36]. Так, полиэтиленовая пленка, смешанная с гидроксипропилированным крахмалом, демонстрировала более высокую деградацию штаммом *P. aeruginosa* ATCC 13388 по сравнению с несмешанными полиэтиленовыми пленками. Однако этот тип сахар-

ной добавки к структуре полимера может снизить механическую прочность и удобство использования пластика [14]. Следовательно, предпочтительно, чтобы стимулятор питательных веществ присутствовал снаружи пластикового полимера, а не смешивался с полимерной структурой. Внешнее усиление деградации полиуретана *P. protegens* Pf-5 происходило при добавлении цитрата или сукцината в питательную среду [12].

Микроэлементы также могут способствовать расщеплению и усвоению пластика, влияя на эффективность и функцию метаболических ферментов. Кроме того, марганец и железо могут действовать как прооксиданты полимеров [36]. Однако некоторые микроэлементы, такие как кобальт и никель, действуют как ингибиторы ферментов, участвующих в деградации поливинилового спирта штаммом *Pseudomonas* sp. O-3 [38]. Эти исследования подчеркивают важность манипулирования доступностью питательных веществ и составом продуктов метаболического переполнения для улучшения прикрепления между бактериальными клетками и пластиковыми поверхностями.

Симбиотический бактериальный консорциум может быть более эффективным в разложении пластмасс. Консорциум двух известных разрушителей полиуретана, *Bacillus subtilis* MZA-75 и *P. aeruginosa* MZA-85, привели к наибольшей потере веса 250 мг пленки полиэфирного полиуретана и самой высокой активности эстеразы по сравнению с отдельными штаммами [34]. Микробные взаимодействия в консорциуме также могут способствовать деградации. Так *P. putida* VM15A и *Pseudomonas* sp. VM15C не могут использовать поливиниловый спирт по отдельности в качестве единственного источника углерода. Вместе *P. putida* VM15A и *Pseudomonas* sp. VM15C смогли симбиотически расти на поливиниловом спирте. Это было достигнуто за счет синтеза штаммом *P. putida* VM15A фактора роста пирролохинолинхинона, что, в свою очередь, способствовало метаболизму поливинилового спирта *Pseudomonas* sp. VM15C [16, 35]. В другом симбиотическом примере *Flavobacterium* sp. был способен разлагать полиэтиленгликоль при совместном культивировании с *Pseudomonas* sp., который удаляет токсичные побочные продукты разложения полиэтиленгликоля, продуцируемые *Flavobacterium* sp. [11].

Таким образом, виды *Pseudomonas*, которые исторически рекламировались как средства для устранения загрязнений из-за их способности разлагать нефтяные загрязнители, также могут разлагать и метаболизировать пластиковые отходы. Биоразложение пластмасс с различной структурой и связанных с ними побочных продуктов зависит от вида из-за необходимого набора ферментов. Всестороннее понимание ферментов, участвующих в разложении различных пластиков, а также идентификация их внеклеточной и внутриклеточной локализации будет способствовать биоинженерным подходам к оптимизации биоразложения пластика. Потенциальные ингибирующие эффекты побочных продуктов разложения пластика на виды *Pseudomonas* еще предстоит полностью понять. Полное выяснение путей разложения пластмасс от начальных реакций окисления и гидролиза до конечного образования  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  посредством внутриклеточного метаболизма важно для определения стадий, ограничивающих скорость. Более того, идентификация промежуточных соединений, блокирующих дальнейший метаболизм, остается в значительной степени неизвестной. Эти различные фрагменты информации также могут помочь в разработке пластиков, которые более подвержены деградации при попадании в окружающую среду.

Многие бактериальные кандидаты из окружающей среды, которые были проверены на способность разлагать пластик, были генетически классифицированы на уровне видов. Однако несколько штаммов *Pseudomonas* sp. способные разлагать и метаболизировать пластмассы еще предстоит охарактеризовать. Для



промышленного применения биоремедиации пластика необходимы более точные генетические характеристики и наличие эффективных биодеструкторов.

Особый интерес представляют будущие исследования, которые сосредоточены на выяснении новых механизмов усиления бактериальной атаки на наиболее часто используемые пластмассы, которые обладают высокой устойчивостью и вряд ли разлагаются естественным образом в окружающей среде. С этой целью перспективны следующие четыре направления исследований для использования возможностей видов *Pseudomonas* разлагать и метаболизировать синтетические пластмассы:

- взаимодействия между молекулами и наноразмерами, важные для прикрепления клеточной поверхности к пластиковым поверхностям внутри биопленок;
- каталитические механизмы ферментов, ответственных за окисление или гидролиз пластиковых полимеров внеклеточно;
- метаболические пути, которые опосредуют поглощение и начальный катаболизм фрагментов пластика внутриклеточно;
- развитие внедрения усиливающих факторов, таких как предварительная обработка, микробные консорциумы и доступность питательных веществ при минимизации воздействия сдерживающих факторов, таких как альтернативные источники углерода и ингибирующие побочные продукты.

Проведенный обзор исследований биоразложения пластиков бактериями рода *Pseudomonas* позволяет сделать следующие выводы:

- биоразложение пластиковых отходов с помощью штаммов бактерий рода *Pseudomonas* является жизнеспособным решением;
- виды *Pseudomonas* являются ценной платформой для биотехнологии, благодаря их метаболическим возможностям и генетической пластичности, способности разлагать и метаболизировать синтетические пластмассы;
- устойчивость синтетических пластиков к деградации можно обойти с помощью физико-химических факторов окружающей среды и микробных способностей;
- условия окружающей среды и питания, способствующие образованию биопленок на пластиковых полимерах, являются важными стимулами для разложения синтетических пластиков видами *Pseudomonas*;
- основные ограничения биоразложения пластика включают такие характеристики полимера, как высокая молекулярная масса, отсутствие благоприятных функциональных групп и кристалличность;
- деградация пластмасс усиливается после предварительной обработки термическим окислением, фотоокислением под действием УФ-излучения, химическими окислителями или поверхностно-активными веществами;
- симбиотические бактериальные консорциумы видов *Pseudomonas* более эффективны в разложении пластиков, поскольку по отдельности виды не могут использовать соединения синтетических полимеров в качестве единственного источника углерода;
- полное биологически опосредованное удаление пластиковых полимеров сначала требует расщепления полимера на более мелкие олигомеры и, в конечном счете, на мономеры, которые могут проходить через клеточную мембрану с последующей ассимиляцией и последующим внутриклеточным метаболизмом.

В совокупности вышеупомянутые исследования подчеркивают разнообразные способности видов *Pseudomonas* разлагать и метаболизировать различные синтетические пластиковые полимеры. При биотехнологическом применении этих видов для полного биоразложения синтетических пластиков необходимо учитывать различные факторы. Эти факторы включают в себя прикрепление к клеточной поверхности в биопленках, каталитические ферменты, участвующие в окислении

или гидролизе пластикового полимера, метаболические пути, ответственные за поглощение и ассимиляцию фрагментов пластика и химические факторы, которые способствуют или препятствуют процессу биodeградации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Arkatkar A., Juwarkar A., Bhaduri S., Uppara P., Doble M. Growth of *Pseudomonas* and *Bacillus* biofilms on pretreated polypropylene surface. *Int. BiodeteriorBiodegrad.*, 64, p.530-536, 2010.
2. Balasubramanian V., Natarajan K., Hemambika B., Ramesh N., Sumathi C., Kottaimuthu R., Rajesh Kannan V. High-density polyethylene (HDPE)-degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. *Lett.Appl. Microbiol.*, 51, p.205-211, 2010.
3. Barth M., Honak A., Oeser T., Wei R., Belisario-Ferrari M.R., Then J. Schmidt J. A dual enzyme system composed of a polyester hydrolase and a carboxylesterase enhances the biocatalytic degradation of polyethylene terephthalate films. *Biotechnol. J.*, 11, p.1082-1087, 2016.
4. Biffinger J., Barlow D., Pirlo R., Babson D., Fitzgerald L., Zingarelli S., Nadeau L., CrookesGoodson W. A direct quantitative agarplate based assay for analysis of *Pseudomonas* protegens Pf5 degradation of polyurethane films. *Int. BiodeteriorBiodegrad.*, 95, p.31-319, 2015.
5. Chiellini E., Corti A., D'Antone S.,Baciu R. Oxo-biodegradable carbon backbone polymers – oxidative degradation of polyethylene under accelerated test conditions. *Polym. Degrad. Stab.*, 91, p.2739-2747, 2006.
6. Cregut M., Bedas M., Durand M., Thouand G. New insights into polyurethane biodegradation and realistic prospects for the development of a sustainable waste recycling process. *Biotechnol. Adv.*, 31, p.1634-3647, 2013.
7. Dash H., Mangwani N., Chakraborty J., Kumari S., Das, S. Marine bacteria: potential candidates for enhanced bioremediation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, p.561-571, 2013.
8. Devi R., Kannan V., Natarajan K., Nivas D., Kannan K., Chandru S., Antony A. The role of microbes in plastic degradation. In *Environ.Waste Manag.*, p. 341-370. 2016.
9. Dos Santos V., Heim S., Moore E., Stratz M., Timmis K. Insights into the genomic basis of *Journal of Applied Microbiology*, 123, p.582-593, 2004.
10. Friello D., Mylroie J.,Chakraborty A. Use of genetically engineered multi-plasmid microorganisms for rapid degradation of fuel hydrocarbons. *Int. Biodeterior Biodegrad.*, 48, p.233-242, 2001.
11. Gu J. Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *Int. Biodeterior Biodegrad.*, 52, p.6991, 2003.
12. Hung C., Zingarelli S., Nadeau L., Biffinger J., Drake C., Crouch A., Barlow D., Russell J. Carbon catabolite repression and imranil polyurethane degradation in *Pseudomonas* protegens strain Pf-5. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82, p.6080-6090, 2016.
13. Kawai F., Hu X. Biochemistry of microbial polyvinyl alcohol degradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 84, p.227-237, 2009.
14. Kim M. Evaluation of degradability of hydroxypropylated potato starch/polyethylene blend films. *Carbohydr. Polym.*, 54, p.173-181, 2003.
15. Kolvenbach B., Helbling D., Kohler H.,Corvini P. Emerging chemicals and the evolution of biodegradation capacities and pathways in bacteria. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 27, p.8-14, 2014.
16. Latha K., Lalithakumari D. Transfer and expression of a hydrocarbon-degrading plasmid pHCL from *Pseudomonas putida* to marine bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 17, p.523-528, 2001.
17. Lucas N., Bienaime C., Belloy C., Queneudec M., Silvestre F., Nava-Saucedo J. Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques – a review. *Chemosphere.*, 73, p.429-442, 2008.
18. Mohan A., Sekhar V., Bhaskar T., Nampoothir, K. Microbial assisted shigh impact polystyrene (HIPS) degradation. *BioresourTechnol.*, 213, p.204-207, 2016.

19. Mukherjee K., Tribedi P., Chowdhury A., Ray T., Joardar A., Giri S., Sil A. Isolation of a *Pseudomonas aeruginosa* strain from soil that can degrade polyurethane diol. *Biodegradation*, 22, p.377-388, 2011.
20. Nauendorf A., Krause S., Bigalke N., Gorb E., Gorb S., Haeckel M., Wahl M., Treude T. Microbial colonization and degradation of polyethylene and biodegradable plastic bags in temperate fine-grained organic-rich marine sediments. *Mar. Pollut. Bull.*, 103, p. 168-178, 2016.
21. Neufeld L., Stassen F., Sheppard R., Gilman T. The new plastics economy: rethinking the future of plastics. In *World Economic Forum.*, p. 23-25, 2016.
22. Nikel P., Chavarria M., Danchin A., de Lorenzo V. From dirt to industrial applications: *Pseudomonas putida* as a synthetic biology chassis for hosting harsh biochemical reactions. *Curr Opin. Chem. Biol.*, 34, p.20-29, 2016.
23. Novotny E., Erbanov P., Sezimov H., Malachov K., Rybkov Z., Malinov L., Prokopov, Brozek J. Biodegradation of aromatic-aliphatic copolyesters and polyesteramides by esterase activity-producing microorganisms. *Int. Biodeterior Biodegrad.*, 97, p.25-30, 2015.
24. Poblete-Castro I., Becker J., Dohnt K., dos Santos V., Wittmann C. Industrial biotechnology of *Pseudomonas putida* and related species. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 93, p.2279-2290, 2012.
25. Rajandas H., Parimannan S., Sathasivam K., Ravichandran M., Su Yin L. A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of lowdensity polyethylene biodegradation. *Polym. Test.*, 31, p.10941099, 2012.
26. Restrepo-Florez J., Bassi A., Thompson M. Microbial degradation and deterioration of polyethylene – a review. *Int. Biodeterior Biodegrad.*, 88, p.83-90, 2014.
27. Ronkvist A., Xie W., Lu W., Gross R. Cutinase-catalyzed hydrolysis of poly(ethylene terephthalate). *Macromolecules.*, 42, p.5128-5138, 2009.
28. Ruiz C., Main T., Hilliard N., Howard G. Purification and characterization of two polyurethanase enzymes from *Pseudomonas chlororaphis*. *Int. Biodeterior Biodegrad.*, 43, p.43-47, 1999.
29. Sangale M., Shah Nawaz M., Ade A. A review on biodegradation of polythene: the microbial approach. *J Bioremediation Biodegrad.*, 3, p.1-9, 2012.
30. Sanin S., Sanin F., Bryers J. Effect of starvation on the adhesive properties of xenobiotic degrading bacteria. *Process Biochem.*, 38, p. 909-914, 2003.
31. Sen S., Raut S. Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE). *J. Environ. Chem., Eng.*, 3, p.462-473, 2015.
32. Shah A., Hasan F., Hameed A., Ahmed S. Biological degradation of plastics. *Biotechnol. Adv.*, 26, p.246-265, 2008.
33. Shah Z., Hasan F., Krumholz L., Atkas D., Shah A. Degradation of polyester polyurethane by newly isolated *Pseudomonas aeruginosa* strain MZA-85 and analysis of degradation products by GC-MS. *Int. Biodeterior Biodegrad.*, 77, p.114-122, 2013.
34. Shah Z., Gulzar M., Hasan F., Sha A. Degradation of polyester polyurethane by an indigenously developed consortium of *Pseudomonas* and *Bacillus* species isolated from soil. *Polym. Degrad. Stab.*, 134, p. 349-356, 2016.
35. Shimao M. Biodegradation of plastics. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 12, p.242-247, 2001.
36. Singh B., Sharma N. Mechanistic implications of plastic degradation. *Polym. Degrad. Stab.*, 93, p.561-584, 2008.
37. Sivan A. New perspectives in plastic biodegradation. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 22, p.422-426, 2011.
38. Suzuki T. Purification and some properties of polyvinyl alcohol-degrading enzyme produced by *Pseudomonas* O-3. *Agric. Biol. Chem.*, 40, p.497-504, 1976.
39. Timmis K. *Pseudomonas putida*: a cosmopolitan opportunist par excellence. *Env. Microbiol.*, 4, p.779-781, 2002.
40. Tiso T., Wierckx N., Blank L. Non-pathogenic *Pseudomonas* as platform for industrial biocatalysis. In *Industrial Biocatalysis* ed. Grunwald., p.323-372, 2015.
41. Tribedi P., Das Gupta A., Sil A. Adaptation of *Pseudomonas* sp. AKS2 in biofilm on low-density polyethylene surface: an effective strategy for efficient survival and polymer degradation. *Bioresour Bioprocess.*, 2, p.1-10, 2015.

42. Tribedi P., Sarkar S., Mukherjee K., Sil A. Isolation of a novel *Pseudomonas* sp. from soil that can efficiently degrade polyethylene succinate. *Env. Sci. Pollut. Res.*, 19, p. 2115-2124, 2012.
43. Tribedi P., Sil A. Bioaugmentation of polyethylene succinate-contaminated soil with *Pseudomonas* sp. AKS2 results in increased microbial activity and better polymer degradation. *Env. Sci. Pollut. Res.*, 20, p.1318-1326, 2013a.
44. Tribedi P., Sil A. Cell surface hydrophobicity: a key component in the degradation of polyethylene succinate by *Pseudomonas* sp. AKS2. *J. Appl. Microbiol.*, 116, p.295-303, 2013b.
45. Tribedi P., Sil A. Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm. *Env. Sci. Pollut. Res.*, 20, p.4146-4153, 2013.
46. Webb H., Arnott J., Crawford R., Ivanova E. Plastic degradations and its environmental implications with special references to poly(ethylene terephthalate). *Polymers.*, 5, p.1-18, 2013.
47. Wierckx N., Prieto M., Pomposiello P., de Lorenzo V., O'Connor K., Blank, L.M. Plastic waste as a novel substrate for industrial biotechnology. *Microb. Biotechnol.*, 8, p. 900-903, 2015.
48. Yoon M., Jeong Jeon H., Nam Kim M. Biodegradation of polyethylene by a soil bacterium and AlkB cloned recombinant cell. *J. Bioremediat. Biodegrad.*, 3, p.1-8, 2012.

Поступила 01.04.2022