



Биолог. журн. Армении, 2 (74), 2022

DOI:10.54503/0366-5119-2022.74.2-17

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 биодegradации.

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

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

Pseudomonas – սինթետիկ պոլիմերներ – պլաստիկ թափոններ – կենսաքայքայում –
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 углеводов, 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 биодеградации 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 биодegradации полиэтилентерефталата, поскольку не могут катализировать разложение данного полимера [1].

В совокупности вышеупомянутые исследования подчеркивают разнообразие 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 биодegradации.

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 дegradации 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 дegradация 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 дegradация 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 β -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 полиэтиленсукцината 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 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 альдолазы 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 β -окисление соответственно [13, 35].

В отличие от предыдущих пластиков, которые подвергаются начальной внеклеточной деградации, считается, что полиэтиленгликоль проникает непосредственно в периплазматическое пространство через порыны 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 полиэтиленсукцинат, из *Pseudomonas* sp. AKS2. В отсутствие глюкозы пленка полиэтиленсукцината 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 пластика. Пластиковые полимеры могут разлагаться десятилетиями без предварительной обработки для повышения гидрофильности поверхности полимера. Дegrаdация 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 кетокарбонильных 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 поверхность 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. Биодеградацию 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 поливинилово-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 CO_2 и H_2O 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.,Chakrabarty 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 imipranil 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., Chavarría 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., Shahnawaz 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. Shima 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