

Д. Р. Абдулина¹, Ж. П. Коптева¹, А. Е. Коптева¹,
М. Я. Вортман²

¹Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Заболотного, 154, 03143, Киев, Украина,
тел.: +38(044) 526 34 79, e-mail: adara@ukr.net

²Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины,
Харьковское шоссе, 48, 02160, Киев, Украина

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМЕРНЫХ И РЕЗИНОТЕХНИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ НА УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ

Полимерные материалы широко используют в строительстве и разных отраслях промышленности, в связи с чем их устойчивость к микробной деградации привлекает внимание исследователей. **Цель.** Определение влияния пенополиэтилена, этиленвинилацетата и резины углеводородокисляющие бактерии *Pseudomonas pseudoalcaligenes* 109, *Rhodococcus erythropolis* 102, *Bacillus subtilis* 138, выделенные из поврежденных защитных покрытий газопроводов. **Методы.** Изменение химического состава исследуемых материалов изучали методом инфракрасной Фурье-спектроскопии. Спектры регистрировали методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) на приставке ATR в спектральной области 400–4500 см⁻¹ на спектрофотометре «TENSOR-37» (Bruker Optik, Германия). Количество клеток бактерий определяли методом предельных разведений; коэффициент деградации – гравиметрически по потере веса образцов; ферментативную активность – спектрофотометрически на приборе КФК-3; изменения в компонентном составе материалов инфракрасной Фурье-спектроскопии на приборе TENSOR-37. **Результаты.** Показано, что в присутствии исследованных материалов как единственных источников углерода каталазная активность понижалась у *P. pseudoalcaligenes* 109, *R. erythropolis* 102 в 1,5–3,2 и 2,8–3,9 раза, соответственно, а у *B. subtilis* 138 – повышалась в 1,4–2,5 раза, по сравнению с контролем. Липазная активность *B. subtilis* 138 и *R. erythropolis* 102 в присутствии испытуемых материалов снижалась в 1,2–3,8 раза. Изучение компонентного состава полимерных и резинотехнических материалов после воздействия бактерий (методом инфракрасной спектроскопии) показало, что происходило разрушение функциональных карбонильных и эфирных связей. За 90 суток экспозиции коэффициент биодеструкции резины составил 0,4–0,6% (потеря по массе 10±0,9 и 16,6±2,6 мг в зависимости от культуры бактерий); пенополиэтилена и этиленвинилацетата был незначительный – 0,1% (потеря массы не превышала 0,9±0,01 мг). **Выводы.** Присутствие в среде пенополиэтилена, этиленвинилацетата, резины, как единственных источников углерода и энергии, способствовало понижению каталазной активности у *R. erythropolis* 102 и *P. pseudoalcaligenes* 109 и липазной активности у *R. erythropolis* 102 и *B. subtilis* 138.



Ключевые слова: биостойкость, углеводородокисляющие бактерии, полимерные и резинотехнические материалы, ферментативная активность, инфракрасные спектры.

Одной из причин снижения защитных свойств изоляционных материалов является жизнедеятельность микроорганизмов, способных инициировать или стимулировать деструкционные процессы. Микробное сообщество с разнообразными трофическими и физиологическими функциями, поселившись на материале, способствует его деградации [2, 6, 13]. Как известно, деградация защитных материалов – результат взаимодействия бактерий-деструкторов и разрушаемого материала. Микроорганизмы действуют на изоляционные покрытия продуктами своего метаболизма, в частности органическими и неорганическими кислотами, а также ферментами [5].

На сегодня в литературе встречаются единичные сведения о ферментативной активности бактерий-деструкторов защитных материалов. Приводятся данные, в основном, об активности окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов у микромицетов, повреждающих строительные материалы, пенопласты, резину и прочее. Однако, липолитическая и каталазная активности бактерий остаются малоизученными. В результате действия указанных выше групп ферментов происходит микробная деструкция материалов, уменьшается их прочность и эластичность. [6, 10].

Целью данной работы было определение влияния пенополиэтилена, этиленвинилацетата и резины на углеводородокисляющие бактерии *Pseudomonas pseudoalcaligenes* 109, *Rhodococcus erythropolis* 102, *Bacillus subtilis* 138, выделенные из поврежденных защитных покрытий газопроводов. Эти материалы используют в разных отраслях промышленности, особенно в строительстве, благодаря высоким тепло- и звукоизоляционным качествам, прочностным свойствам и относительно невысокой стоимости.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования был процесс микробной деструкции полимерных и резинотехнических материалов. В качестве тест-культур использованы углеводородокисляющие бактерии *Pseudomonas pseudoalcaligenes* 109, *Rhodococcus erythropolis* 102, *Bacillus subtilis* 138, выделенные и идентифицированные нами ранее из поврежденных защитных покрытий газопроводов [6]. Штаммы бактерий хранятся в коллекции отдела общей и почвенной микробиологии Института микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины.

Материалами исследования были: пенополиэтилен (ППЭ – производитель группа компаний SANPOL), этиленвинилацетат (ЭВА – производитель IZOLON) и резина (производитель Гниванский шиноремонтный завод).

Бактерии культивировали в жидкой среде Таусона с добавлением 20 мл на 100 мл мясопептонного бульона (МПБ) как источника азота и углерода, при температуре 28 ± 2 °C. Образцы испытуемых материалов размером 20x20x2 мм взвешивали на электронных весах (ANG-200, AXIS), стерилизовали 72% этиловым спиртом (30 мин), УФ-лучами с длиной волны 256 нм



(15 мин) и погружали в стерильную среду Таусона, инокулированную одним из вышеуказанных штаммов бактерий в количестве 10^6 кл/мл. Контрольными были варианты с питательной средой Таусона, инокулированной отдельными штаммами тест-культур бактерий, без добавления материалов. Исследуемые образцы инкубировали в среде Таусона с добавлением МПБ и без МПБ, где исследованные материалы были единственным источником углерода. Продолжительность экспозиции материалов составляла 150 суток. В динамике через 8, 30, 90 и 150 суток испытываемые образцы извлекали из культуральной жидкости, промывали несколько раз дистиллированной водой, высушивали на воздухе, затем взвешивали.

Коэффициент деструкции образцов определяли по формуле: [12]

$$K_D = \left(\frac{m_0}{m_1} - 1 \right) \times 100,$$

где m_0 – масса образца до начала эксперимента,

m_1 – масса образца в конце эксперимента.

Количество бактерий в культуральной жидкости определяли методом десятикратных предельных разведений [8]. Культуральные жидкости бактерий центрифугировали 20 минут при 2,0 g на центрифуге Eppendorf с ротором 5810R (Германия). В надосадочной жидкости определяли спектрофотометрически на приборе КФК-3 (Россия) липолитическую активность по реакции с *n*-нитрофенилпальмитатом [1], каталазную активность – с использованием 0,03% пероксида водорода, который образовывал с 4%-м раствором молибденортофосфата стойкий окрашенный комплекс [7]. Белок в культуральной жидкости определяли по общепринятому методу Лоури. Удельную активность исследованных ферментов рассчитывали по формулам, указанным в работах [1, 7] и выражали в ед \times мг $^{-1}$ белка.

Изменение химического состава исследуемых материалов изучали методом инфракрасной Фурье-спектроскопии. Спектры регистрировали методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) на приставке ATR в спектральной области 400–4500 см $^{-1}$ на спектрофотометре «TENSOR-37» (Bruker Optik, Германия) [4]. Образцы исследовали в виде эластичных пленок, повторность трёхкратная. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ MS Excel 2010 и Origin Pro 2016 (ver. b 9.3.226. www.originlab.com/)

Результаты исследований и их обсуждение

Взятые в опыт культуры углеводородокисляющие бактерии восстанавливают Fe(III), нитраты и окисляют углеводороды, что свидетельствует об их высокой метаболической активности [2]. В полноценной питательной среде Таусона (с добавлением МПБ), инокулированной исследуемыми штаммами бактерий и без добавления материалов наблюдали увеличение численности углеводородокисляющих бактерий до 10^9 клеток/мл в первые 8 суток эксперимента, в последующие сроки их количество уменьшалось. Количество бактерий в среде Таусона с добавлением МПБ и исследуемых материалов в течение 8 суток повышалось на 2–3 порядка относительно начального титра (таблица).



Таблица

**Количество бактерий в среде Таусона в присутствии исследованных материалов,
1×10ⁿ клеток в 1 мл культуральной жидкости**

Table

**Bacteria titers in Tauson medium in the presence of studied materials, 1×10ⁿ cells in 1 ml
of cultural fluid**

Вариант опыта		Длительность экспозиции, сутки			
		8	30	90	150
Контроль (с МПБ)	<i>B. subtilis</i> 138	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵
	<i>P. pseudoalcaligenes</i> 109	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶
	<i>R. erythropolis</i> 102	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵
Пенополиэтилен	<i>B. subtilis</i> 138 +МПБ	10 ¹⁰	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁵
	<i>B. subtilis</i> 138	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵
	<i>P. pseudoalcaligenes</i> 109+МПБ	10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷
	<i>P. pseudoalcaligenes</i> 109	10 ²	10 ¹	10 ¹	10 ¹
	<i>R. erythropolis</i> 102+МПБ	10 ¹⁰	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁴
	<i>R. erythropolis</i> 102	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵
Этиленвинилацетат	<i>B. subtilis</i> 138 +МПБ	10 ¹⁰	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵
	<i>B. subtilis</i> 138	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵
	<i>P. pseudoalcaligenes</i> 109+МПБ	10 ⁹	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴
	<i>P. pseudoalcaligenes</i> 109	10 ²	10 ¹	10 ¹	10 ¹
	<i>R. erythropolis</i> 102+МПБ	10 ¹⁰	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶
	<i>R. erythropolis</i> 102	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁵
Резина	<i>B. subtilis</i> 138 +МПБ	10 ¹⁰	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁵
	<i>B. subtilis</i> 138	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶
	<i>P. pseudoalcaligenes</i> 109+МПБ	10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷
	<i>P. pseudoalcaligenes</i> 109	10 ⁸	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁵
	<i>R. erythropolis</i> 102+МПБ	10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷
	<i>R. erythropolis</i> 102	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁶

На среде Таусона, где ППЭ, ЭВА и резина внесены в качестве единственных источников энергии и углерода в период от 8 до 30 суток эксперимента, количество бактерий было меньше на 1–3 порядка в сравнении с их числом на среде с МПБ и материалами. На протяжении 90–150 суток численность бактерий на среде с МПБ в присутствии испытуемых материалов составляла 10⁴–10⁸ клеток/мл, а на среде без МПБ 10⁵–10⁷ клеток/мл. Необходимо отметить, что штамм *P. pseudoalcaligenes* 109 на среде с ППЭ и ЭВА без дополнительного источника азота и углерода рос слабо, количество бактерий



составляло – 10^1 – 10^2 клеток/мл. Исключение составляет вариант с экспозицией резины, где титр этих бактерий на протяжении опыта (8–150 суток) был высоким 10^5 – 10^8 кл/мл. Внесение в среду испытуемых материалов как дополнительных источников углерода и азота способствовало увеличению численности бактерий.

Как известно, микроорганизмы синтезируют большое количество ферментов, основная функция которых состоит в ускорении и регуляции всех химических реакций, необходимых для бактериальной клетки [5, 6, 9]. Культуры бактерий в присутствии исследованных материалов проявляли разную ферментативную активность в зависимости от вида материала.

Каталазная активность в контроле (инокулированная бактериями среда с МПБ без внесения материалов) была выше, чем в присутствии материалов. Среди исследуемых штаммов бактерий наиболее высокая каталазная активность выявлена на 8-е сутки культивирования *R. erythropolis* 102, она составляла $16,7 \pm 2,6$ ед./мг белка, но в присутствии резины, ППЭ и ЭВА она уменьшалась в 1,4–2,0 раза (рис. 1).

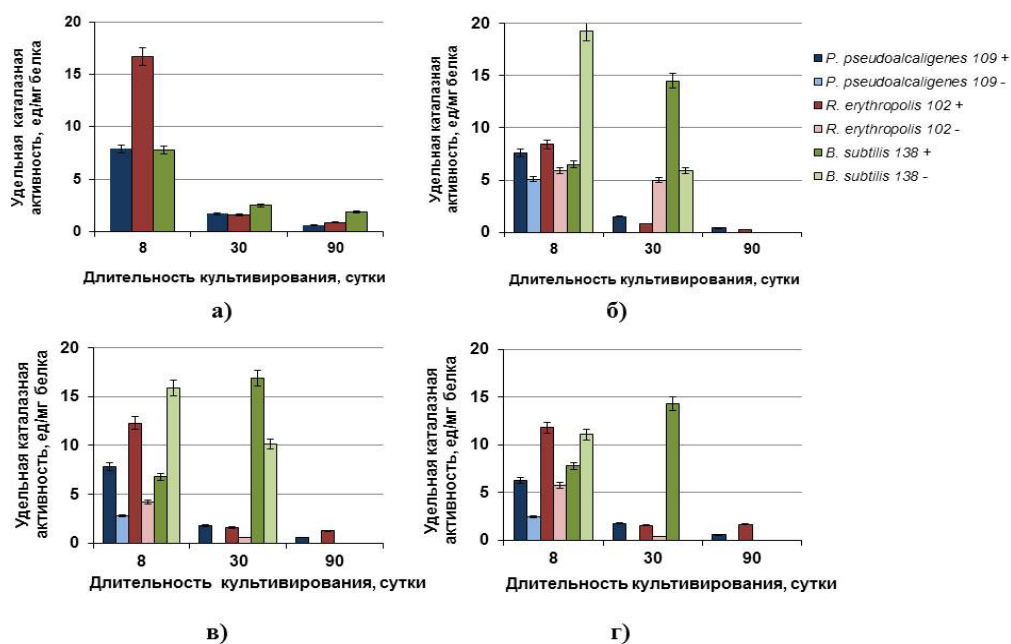


Рис. 1. Каталазная активность углеводородокисляющих бактерий при культивировании с полимерными и резинотехническими материалами

Примечания: а) контроль (без внесения материала); б) пенополиэтилен; в) этиленвинилацетат; г) резина. «+» – питательная среда с внесением источника углерода, «-» – питательная среда без источника углерода

Fig. 1. Specific catalase activity of hydrocarbon-oxidizing bacteria during cultivation with polymeric and rubber materials

Notes: a) control (without materials); b) foamed polyethylene; c) ethylene vinyl acetate; d) rubber. «+» – cultivation media with carbon source, «-» – cultivation media without carbon source



Удельная каталазная активность в присутствии исследуемых материалов понижалась у штаммов *P. pseudoalcaligenes* 109, *R. erythropolis* 102 в 1,5–3,2 и 2,8–3,9 раза, соответственно. Для штамма *B. subtilis* 138 внесение в среду ППЭ, ЭВА и резины, как единственного источника углерода, способствовало повышению каталазной активности в 1,4–2,5 раза (рис. 1). Следует отметить, что с увеличением длительности экспозиции до 90 суток каталазная активность существенно снижалась, по сравнению с активностью на 8-е сутки эксперимента.

На полноценной среде без внесения материалов высокая липолитическая активность, также как и каталазная, обнаружена у *R. erythropolis* 102 (37,1±2,1 ед/мг белка) по сравнению с другими культурами бактерий (рис. 2).

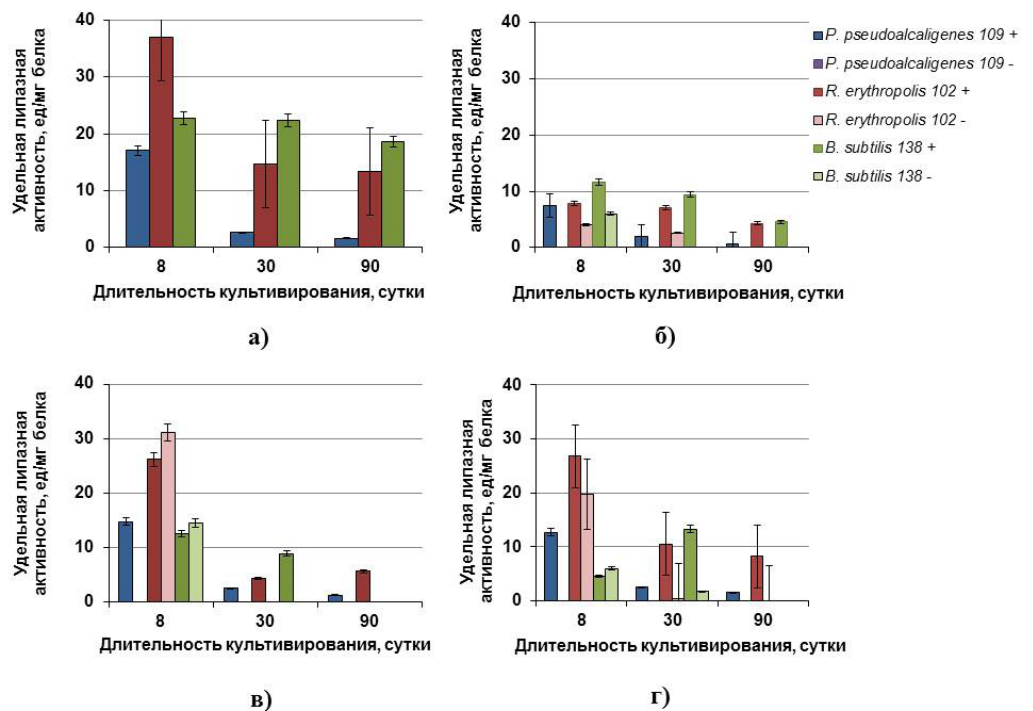


Рис. 2. Липолитическая активность углеводородокисляющих бактерий при культивировании с полимерными и резинотехническими материалами
 Примечания: а) контроль (без внесения материала); б) пенополиэтилен; в) этиленвинилацетат; г) резина; «+» – питательная среда с внесением источника углерода, «-» – питательная среда без источника углерода

Fig. 2. Specific lipase activity of hydrocarbon-oxidizing bacteria during cultivation with polymeric and rubber materials

Notes: a) control (without materials); b) foamed polyethylene; c) ethylene vinyl acetate; g) rubber; «+» – cultivation media with carbon source, «-» – cultivation media without carbon source

В присутствии исследованных материалов она уменьшалась в 1,4–4,7 раза. Удельная липазная активность *P. pseudoalcaligenes* 109 при внесении в среду полимерных материалов понижалась в 2,3 раза относительно контроля.



В присутствии ППЭ липазная активность исследуемых бактерий была значительно меньшей ($7,4 \pm 0,4$ – $6,0 \pm 0,3$ ед./мг белка), в сравнении с другими материалами. Внесение в питательную среду ЭВА и резины, как единственных источников углерода и энергии, также снижало липазную активность бактерий: в этих условиях она составляла $14,5 \pm 1,3$ – $31,1 \pm 1,5$ и $6,0 \pm 0,9$ – $19,7 \pm 0,3$ ед./мг белка, соответственно. В ходе наблюдений во всех вариантах опыта самая высокая липазная активность отмечена на 8-е сутки эксперимента, с увеличением продолжительности экспозиции до 90-и суток она снижалась.

Известно, что оксидоредуктазы ускоряют окислительно-восстановительные процессы, протекающие в клетках бактерий. В частности, в присутствии каталазы происходит реакция распада пероксида водорода на воду и кислород, а также окисление гидроксильных групп. Роль каталазы состоит в защите микроорганизмов от токсического действия пероксида водорода, который образуется при биологическом окислении. Встречаются данные о том, что коррозионная опасность грунтов связана с активностью каталазы. Снижение её активности достоверно характеризует более высокую степень разрушения металла. Коррозия развивается при снижении активности каталазы, нейтрализующей пероксид водорода, выделяющейся в процессах микробного метаболизма [12]. Кроме того установлено, что значительное снижение внеклеточной каталазной активности культуры *Candida lipolytica* на углеводородсодержащих субстратах характеризует её как эффективного нефтеструктора [9]. Одним из показателей интенсивности процессов окисления органического вещества служит изменение активности каталазы [3]. Выявлена тесная корреляционная связь между степенью снижения каталазной активности штаммов-деструкторов и эффективностью потребления нефти и нефтепродуктов. Для бактерий – активных деструкторов характерно увеличение численности и снижение каталазной активности при контакте с нефтепродуктами. Отмечено, что у штаммов бактерий, не использующих нефтепродукты в качестве единственного источника углерода и энергии, численность и каталазная активность практически не меняются в процессе эксперимента, оставаясь на уровне, близком к исходному. По мнению О.А. Гоголевой [3], каталазная активность отражает интенсивность процесса микробной деструкции, что позволяет предложить её использование в качестве индикатора при отборе эффективных штаммов-деструкторов нефти и нефтепродуктов [3]. В наших исследованиях мы наблюдали, что у штаммов *R. erythropolis* 102 и *P. pseudoalcaligenes* 109 каталазная активность на среде, где единственным источником углерода служили исследуемые материалы, снижалась, и только у *B. subtilis* 138 она повышалась.

Согласно данным некоторых авторов, углеводороды активизируют липолитическую активность почв, при этом параллельно с активацией липолиза наблюдается увеличение численности углеводородокисляющих бактерий и уменьшение количества нефтепродуктов [5]. Почвы, загрязненные нефтью, содержат значительное количество битумов, которые стимулируют активность липаз. Поэтому предлагают использовать липазную активность как один из показателей биодеструкции нефти и нефтепродуктов [5]. Следует



полагать, что одним из механизмов биоповреждения защитных материалов является синтез коррозионно-активными бактериями гидролаз, в частности, липазы, которая разрушает сложные эфирные связи, отщепляя атомы водорода от $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ групп с образованием $-\text{C}=\text{C}-$ связей, т.е. происходит дегидрирование углеродных цепей и преобразование насыщенных соединений в ненасыщенные, которые могут быть агрессивными по отношению к материалам.

Важным аспектом проблемы биоповреждения разных материалов является утилизация отходов последних после окончания сроков их использования. Показателем деградации материалов является потеря массы образцов под действием бактерий. Через 90 суток эксперимента потеря массы образцов резины на среде с МПБ под влиянием *R. erythropolis* 102 составляла $2,7 \pm 0,1$ мг (KD= 0,11%) при исходной массе 2,41 г. В варианте опыта, где резина была внесена как единственный источник углерода, потеря массы образца под действием *R. erythropolis* 102 и *B. subtilis* 138 составила $10 \pm 0,9$ и $16,6 \pm 2,6$ мг соответственно (KD= 0,37% и 0,6%) при исходной массе 2,69 и 2,71 г, соответственно. Для ППЭ и ЭВА коэффициент деструкции был незначительный.

Поскольку, потеря массы образцов в результате действия бактерий оказалась незначительной, но отмечено интенсификацию ферментативной активности бактерий, целесообразно было проведение ИК-спектроскопии исследованных материалов.

Так, интенсивность полос 2920 см^{-1} (валентные ассиметричные колебания метильных и метиленовых групп), 2800 см^{-1} , (валентные симметричные колебания метильных и метиленовых групп) ИК-спектров пенополиэтилена в варианте с *B. subtilis* 138 за 90-о суток изменилась незначительно (рис. 3).

На 8-е сутки воздействия бактерий в ИК-спектрах образцов появлялась полоса 1050 см^{-1} колебания $\begin{array}{c} | \quad | \\ -\text{C}-\text{O}-\text{C}- \\ | \quad | \end{array}$ групп, которая отсутствовала в контроле (стерильная среда Таусона с пенополиэтиленом). Затем, интенсивность полосы уменьшалась и через 150 суток наблюдался только след полосы в сравнении с контролем. Аналогичные изменения в спектре полос поглощения исследуемых материалов происходили под действием *R. erythropolis* 102.

В спектре ППЭ появлялась полоса 1100 см^{-1} колебания $\begin{array}{c} | \quad | \\ -\text{C}-\text{O}-\text{C}- \\ | \quad | \end{array}$ групп. За период до 150 суток её интенсивность значительно уменьшалась. Кроме того, появлялась полоса 2400 см^{-1} , которая через 150 суток практически исчезала (рис. 3).

В спектре образца ЭВА, который экспонировался в культуре *B. subtilis* 138, начиная с 8 суток, появлялась полоса поглощения 1000 см^{-1} колебания

$\begin{array}{c} | \quad | \\ -\text{C}-\text{O}-\text{C}- \\ | \quad | \end{array}$ групп, но к концу экспозиции (150 суток) остался только след полосы (рис. 4).



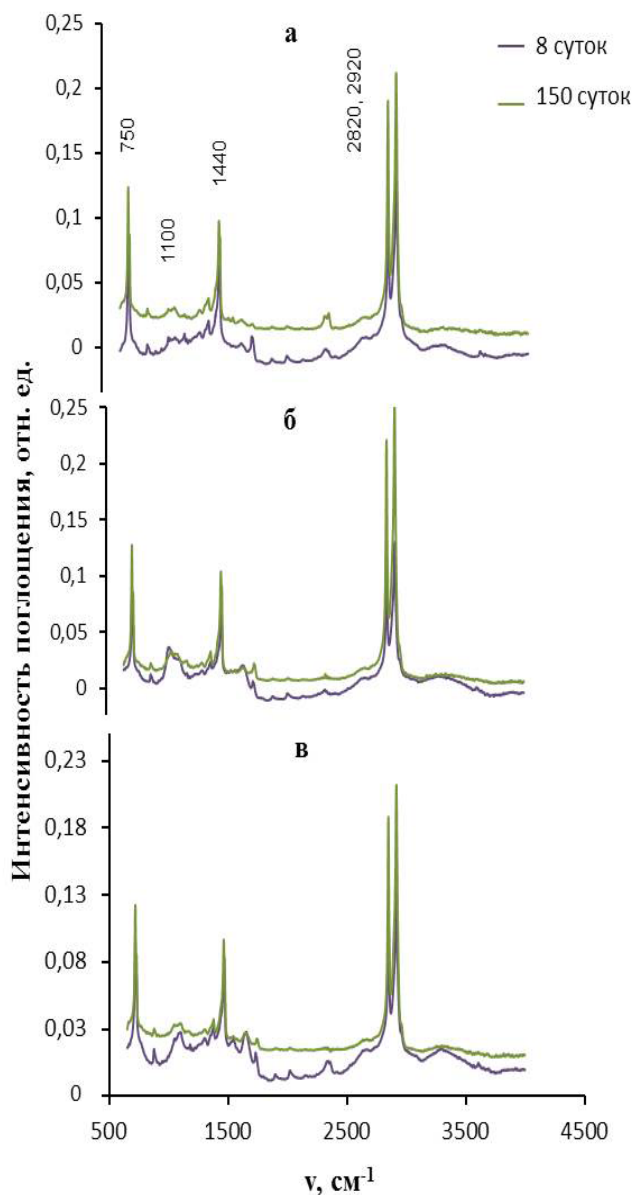


Рис. 3. ИК-спектры образцов пенополиэтилена (ППЭ) при культивировании с углеводородокисляющими бактериями
 Примечания: а) – контроль среда Таусона; б) – *B. subtilis* 138; в) – *R. erythropolis* 102

Fig. 3. IR-spectrum of foamed polyethylene (FPE) at the cultivation with hydrocarbon-oxidizing bacteria

Notes: a) – control Tauson media; б) – *B. subtilis* 138; в) – *R. erythropolis* 102

Следует отметить, что в течение всего опыта не обнаружены изменения полос поглощения ИК-спектров резины под действием углеводородокисляющих бактерий в сравнении с контролем.

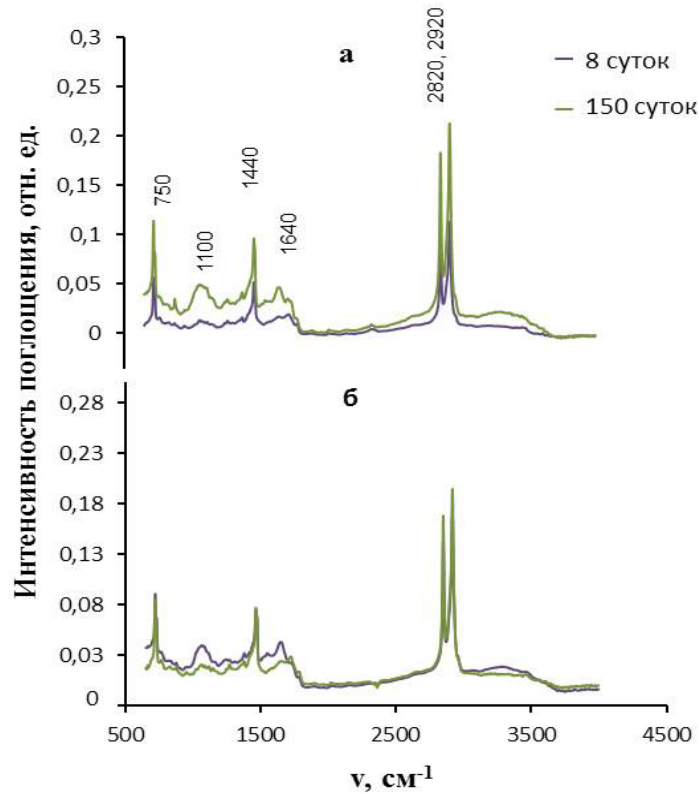


Рис. 4. ИК- спектры образцов этиленвинилацетата (ЭВА) при культивировании с углеводородокисляющими бактериями
Примечания: а) – контроль среда Таусона; б) – *B. subtilis* 138

Fig. 4. IR-spectrum of ethylenevinylacetate (EVA) at the cultivation with hydrocarbon-oxidizing bacteria
Notes: а) – control Tauson media; б) – *B. subtilis* 138

Согласно спектральным данным, в химической структуре ППЭ, ЭВА и резины, которые поддавались воздействию углеводородокисляющих бактерий, происходило частичное разрушение функциональных карбонильных

и эфирных связей сополимера этиленвинилацетата, что может приводить к разрыву олигомерных цепей полимера и, как следствие, к уменьшению прочности материалов. Также в среде с испытуемыми материалами, возможно, происходили окислительно-восстановительные процессы, о которых свидетельствовали изменения в каталазной активности бактерий.

Таким образом, проведённые исследования показали, что присутствие в среде пенополиэтилена, этиленвинилацетата, резины, как единственных источников углерода и энергии, способствовало понижению каталазной активности у *R. erythropolis* 102 и *P. pseudoalcaligenes* 109 и липазной активности у *R. erythropolis* 102 и *B. subtilis* 138.



Д. Р. Абдуліна¹, Ж. П. Коптєва¹, Г. Є. Коптєва¹,
М. Я. Вортман²

¹Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України,
вул. Заболотного, 154, Київ, Україна, 03143, e-mail: adara@ukr.net

²Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України,
Харківське шосе, 48, Київ, Україна, 02160

ВПЛИВ ПОЛІМЕРНИХ І ГУМОТЕХНІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ НА ВУГЛЕВОДЕНЬОКИСНЮВАЛЬНІ БАКТЕРІЇ

Реферат

Полімерні матеріали широко використовуються у будівництві і різних галузях промисловості, в зв'язку з чим їх стійкість до мікробної деструкції привертає увагу дослідників. **Мета.** Визначення впливу пінополіетилену (ППЕ), етиленвінілацетату (ЕВА) та гуми на вуглеводеньокиснювальні бактерії: *Pseudomonas pseudoalcaligenes* 109, *Rhodococcus erythropolis* 102, *Bacillus subtilis* 138, що виділені із пошкоджених захисних покриттів газопроводів. **Методи.** Кількість клітин бактерій розраховували методом граничних розведень, коефіцієнт деструкції – гравіметрично за втратою маси зразків, ферментативну активність – спектрофотометрично на приладі КФК-3, зміни у компонентному складі матеріалів методом інфрачервоної Фур'є-спектроскопії на приладі TENSOR-37. **Результати.** Показано, що за присутності досліджуваних матеріалів як єдиного джерела карбону каталазна активність зменшувалася у *P. pseudoalcaligenes* 109, *R. erythropolis* 102 в 1,5–3,2 та 2,8–3,9 рази, відповідно, а у *B. subtilis* 138 – підвищувалася в 1,4–2,5 рази, порівняно із контролем (середовище Таусона, інокульоване бактеріями без внесення матеріалів). Ліпазна активність *B. subtilis* 138 та *R. erythropolis* 102 за присутності досліджуваних матеріалів зменшувалася в 1,2–3,8 рази порівняно із контролем. Вивчення компонентного складу полімерних та гумотехнічних матеріалів після впливу бактерій (методом інфрачервоної спектроскопії) показало, що склад матеріалів хімічно не змінювався. За 90 діб експозиції коефіцієнт біодеструкції гуми складав 0,4 0,6% (втрата маси $10 \pm 0,9$ та $16,6 \pm 2,6$ мг залежно від культури бактерій); пінополіетилену та етиленвінілацетату був незначний 0,1% (втрата маси не перевищувала $0,9 \pm 0,01$ мг). **Висновки.** Внесення в середовище Таусона досліджуваних матеріалів, як єдиних джерел вуглецю та енергії, сприяло зниженню каталазної активності у *R. erythropolis* 102 та *P. pseudoalcaligenes* 109, а також зниженню ліпазної активності у *R. erythropolis* 102 та *B. subtilis* 138.

Ключові слова: біостійкість, вуглеводеньокиснювальні бактерії, полімерні і гумотехнічні матеріали, ферментативна активність, інфрачервоні спектри.



**D. R. Abdulina¹, Zh. P. Kopteva¹, A. E. Kopteva¹,
M. Ya. Vortman²**

¹D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine,
154, Acad. Zabolotny str., Kyiv, Ukraine, 03143, e-mail: adara@ukr.net

² Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine,
48, Kharkivske shosse, Kyiv, Ukraine, 02160

INFLUENCE OF POLYMERIC AND RUBBER MATERIALS ON HYDROCARBON-OXIDIZING BACTERIA

Summary

*Polymeric materials are widely used in buildings and various industrial branches and consequently their persistence to microbial remediation draws scientist's attention. **Aim.** To determine the influence of foamed polyethylene, ethylenevinylacetate and rubber on hydrogen-oxidizing bacteria: *Pseudomonas pseudoalcaligenes* 109, *Rhodococcus erythropolis* 102, *Bacillus subtilis* 138, isolated from damaged protective gas pipeline coatings. **Methods.** Bacterial quantity was determined by the serial dilution method; destruction index – gravimetrically for the weight loss; enzymatic activity – by the spectrophotometry on the KFK-3; changes in the chemical compound – by the IR Fourier spectroscopy on the TENSOR-37. **Results.** It was shown that in the presence of the studied materials as a sole carbon source catalase activity of *P. pseudoalcaligenes* 109, *R. erythropolis* 102 were decreased in 1.5–3.2 and 2.8–3.9, respectively, and in *B. subtilis* 138 were increased in 1.4–2.5 times than in control (Tauson media inoculated with bacteria and without material). Lipase activity of *B. subtilis* 138 and *R. erythropolis* 102 under the presence of studied materials were decreased in 1.2–3.8 times than in control. The study (by the IR-spectroscopy) of the polymeric and rubber materials components after the bacterial influence have shown that content of materials was not chemically changed. During 90 days of exposition the destruction coefficient of rubber was 0.4–0.6% (weight loss 10±0.9 and 16.6±2.6 mg depend on bacterial culture). For foamed polyethylene and ethylenevinylacetate destruction coefficient was not significant (weight loss up to 0.9±0.01 mg). **Conclusions.** Studied materials had been put in Tauson media as a sole carbon and energy source promoted the decrease of catalase activity in *R. erythropolis* 102 and *P. pseudoalcaligenes* 109, as well as lipolytic activity decreasing in *R. erythropolis* 102 and *B. subtilis* 138.*

Key words: bioresistance, hydrocarbon-oxidizing bacteria, polymeric and rubber materials, enzymatic activity, IR- spectra.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айзенберг В. Л., Карпель В. И., Сырчин С. А., Седина С. А., Капичон А. П. Апробация количественного метода определения липолитической активности с использованием хромогенного субстрата // Микробиол. журн. – 1995. – 57, № 5. – С. 84–89.
2. Андреюк К. И., Козлова И. П., Коптева Ж. П., Пилишенко-Новохатний А. И., Заніна В. В., Пуриш Л. М. Мікробна корозія підземних споруд. Київ: Наукова думка. – 2005. – 258 с.



3. Гоголева О. А. Каталазная активность углеводородокисляющих бактерий. Автореф. дис. канд. биол. наук. Оренбург. 2012. – 18 с.

4. Деев И. А., Буриндин А. Н., Ельцов О. С. Сравнение степени кристалличности полиэтилена и пенополиэтилена // Вестник Казанского университета. – 2012. – С.14–17.

5. Киреева Н. А., Тарасенко Е. М., Шамаева А. А., Новоселова Е. Н. Влияние нефти и нефтепродуктов на активность липазы серой лесной почвы // Почвоведение. – 2006. № 8. – С. 1005–1011.

6. Коптева Ж. П., Занина В. В., Борецкая М. А., Коптева А. Е., Козлова И. А. Влияние липолитической и каталазной активности гетеротрофных бактерий на физико-механические свойства покрытия Поликен 980-25 // Микробиол. журн. – 2013. – Т. 75, № 1. – С.41–47.

7. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майоров И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. 1. – С. 16–18.

8. Практикум по микробиологии / под ред. А.И. Нетрусова. Москва: Издательский центр «Академия». – 2005. – 608 с.

9. Рябцева Н. Д., Никитина В. С., Абдуллин М. И., Багаутдинов Р. Ф., Кадиров А. А. Изучение каталитических процессов микробного окисления нефтяных углеводородов // Вестник Башкирского университета. – 2016. Т. 21, № 2. – С. 308–313.

10. Тугай Т. І., Жданова Н. М., Бузарова О. І. Вплив іонізуючого випромінювання низької інтенсивності на активність каталази та супероксиддисмутазі *Normosconis resinosa* // Мікробіол. журн. – 2009. – Т. 71, № 1. – С. 16–21.

11. Ямпольская Т. Д. Природа и условия развития биокоррозии биоповреждений в северных регионах (на примере г. Сургута) // Автореф. дис. канд. биол. наук. Санкт-Петербург. Пушкин. 2005. – 20 с.

12. ISO 846:2019. Plastics – Evaluation of the action of microorganisms. Pub. date. 03.2019; 26p.

13. Teeraphatpormchai T., Nakajima-Kambe T., Shigeno-Akutsu Y., Nakayama M. et al. Isolation and characterization of a bacterium that degrades various polyester – based biodegradable plastics // Biotechnol Lett. – 2003. – 25. N 1. – P. 23–28.

References

1. Aizenberg VL, Karpel VI, Syrchin SA, Sedina SA, Kapichon AP. Testing a quantitative method for determining lipolytic activity using a chromogenic substrate. Mikrobiol. Zhurn. 1995; 57(5):84-89. (In Russian)

2. Andreyuk KI, Kozlova IP, Kopteva ZhP, Pilyashenko-Novokhatny AI, Zalina VV, Purish LM. Microbial corrosion of underground structures. Kyiv: Naukova dumka; 2005. 258. (In Ukrainian)

3. Gogoleva O.A. Catalase activity of hydrogen-oxidizing bacteria. Avtoref. cand biol. Sci. Orenburg. 2012. 20. (In Russian)

4. Deev IA, Burdynin AN, El'tsov OS. Sravnenye stepeni krystalichnosti polyethylena i penopolyethylena. Vesnyk Kazanskogo Universiteta. 2012:14-17.

5. Kireeva NA, Tarasenko EM, Shamaeva AA, Novoselova EN. The effect of oil and oil products on the activity of lipase of the gray forest soil. Soil Science.



2006; 8:1005-1011. *(In Russian)*

6. Kopteva ZP, Zanina VV, Boretskaya MA, Kopteva AE, Kozlova IA. Influence of lipolytic and catalase activity of heterotrophic bacteria on the physic-mechanical properties of Polyken 980-25 coating. Mikrobiol. zhurn. 2013; 75(1):41-47. *(In Russian)*

7. Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorov IG, Tokarev VE. Method for the determination of catalase activity. Laboratory work. 1988; 1: 16-18. *(In Russian)*

8. Netrusov AI, Egorova MA, Zakharchuk LM, Kolotilova NN. Practice in microbiology. Moscow: Academia Publishing; 2005. 608. *(In Russian)*

9. Ryabtseva ND, Nikitina VS, Abdullin MI, Bagautdinov RF, Kadirov AA. Study of the catalytic processes of microbial oxidation of petroleum hydrocarbons. Vestnik of the Bashkir University; 2016; 21(2): 308-313. *(In Russian)*

10. Tugay TI, Zhdanova NM, Buzarova OI. Influence of ionizing radiation of low intensity on activity of catalase and superoxide dismutase of *Hormoconis resiniae*. Mikrobiol. Zhurn. 2009;71(1):16-21. *(In Ukrainian)*

11. Yampolskaya TD. The nature and conditions for the development of biocorrosion of bio-damages in the northern regions (on the example of Surgut). PhD thesis, Saint-Petersburg. Pushkin; 2005. 20. *(In Russian)*

12. ISO 846:2019. Plastics – Evaluation of the action of microorganisms. Pub. Date 03.2019; 26.

13. Teeraphatpormchai T, Nakajima-Kambe T, Shigeno-Akutsu Y, Nakayama M. et al. Isolation and characterization of a bacterium that degrades various polyester – based biodegradable plastics. Biotechnol Lett. 2003; 25(1): 23-28.

Стаття надійшла до редакції 29.05.2019 р.

