

ТУРЛИ ХИЛ ПОЛИЭТИЛЕН ТУРЛАРИГА МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ ТАЪСИРИНИ СКРИНИНГ ҚИЛИШ

¹Алиев З.З, ²Назирова М.М, ³Халилов И.М, ⁴Сафаров Х.Ш, ⁵Бобоқулов М.Ш,
⁶Халилова Ф.М

^{1,2,3,4,5}ЎзРФА Микробиология институти, Тошкент, Ўзбекистон, ⁶Бухоро Давлат
Университети, Бухоро, Ўзбекистон

<https://doi.org/10.5281/zenodo.11224878>

Аннотация. *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Rahnella aquatili*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter ludwigii* бактерия штамларининг LPEM2 озуқа муҳитида +28°C да ўстирилганда полиэтилен (LDPE, HDPE), полиэтилентерефталат (PET) ва поливинилтиролидон-PVP ларнинг биопарчаланиши натижасида културал суюқлигига органик моддалар ҳосил қилганлигини УБ спектрофотометр тахлиидан фойдаланилди. Културал суюқликда HDPE биодегридацияси ўрганилган штамлар орасида 275 ва 450 нм тўлқин узунликлари оралигида контролга нисбатан 13.99 баробарга энг кўп органик бирикмалар ҳосил қилиши *E. cloacae* штаммида қайд этилди. LDPE (0.4 қалинликдаги) парчаланиши ўрганилганда контролга нисбатан энг кўп органик модда ҳосил қилиши *E. cloacae* штаммида 11.42 марта кўп органик бирикмалар ҳосил қилганлиги кузатилди. PVP нинг биодегридацияси контролга нисбатан энг кўп органик модда ҳосил қилиши *E. ludwigii* штаммида 20.82 марта кўп эканлиги аниқланди. Тадқиқотлар натижаларига асосланиб танлаб олинган бактериялардан *E. cloacae* штамми HDPE, LDPE ва PET да ҳамда *E. ludwigii* штамми PVP да энг кўп органик модда ҳосил қилиши текишилди.

Калит сўзлар: полиэтилен, бактериялар, HDPE, LDPE, PET, PVP, LPEM озуқа муҳити, биодегридация, деполимеризация, УБ спектрофотометр.

Аннотация. УФ-спектрофотометр показал, что штаммы бактерий *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Rahnella aquatili*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter ludwigii* продуцируют органические вещества в культуральной жидкости в результате биодеградации полиэтилена (ПЭНП, ПЭВП), полиэтилентерефталата (ПЭТ) и поливинилтиролидона. Для анализа использовали -PVP при выращивании в питательной среде LPEM2 при +28°C. Среди изученных штаммов биодеградации ПЭВП в культуральной жидкости отмечено, что штамм *E. cloacae* продуцирует наибольшее количество органических соединений в 13,99 раза больше по сравнению с контролем в диапазоне длин волн 275 и 450 нм. При изучении разложения ПЭВП (толщина 0,4) было обнаружено, что штамм *E. cloacae* продуцирует в 11,42 раза больше органических соединений, чем контроль. Установлено, что биодегградация ПВП у штамма *E. ludwigii* в 20,82 раза выше по сравнению с контролем. По результатам исследований подтверждено, что штамм *E. cloacae* продуцирует наибольшее количество органических веществ в ПЭНД, ПЭВД и ПЭТ, а штамм *E. ludwigii* в ПВП.

Ключевые слова: полиэтилен, бактерии, HDPE, LDPE, PET, PVP, LPEM, питательная среда LPEM2, биодегградация, деполимеризация, УФ-спектрофотометр.

Abstract. A UV spectrophotometer showed that bacterial strains *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Rahnella aquatili*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter ludwigii*

produce organic substances in the culture liquid as a result of the biodegradation of polyethylene (LDPE, HDPE), polyethylene terephthalate (PET) and polyvinylpyrrolidone. -PVP was used for analysis when grown in LPEM2 nutrient medium at +28°C. Among the studied strains of HDPE biodegradation in the culture liquid, it was noted that the E. cloacae strain produces the largest amount of organic compounds, 13.99 times more compared to the control in the wavelength range of 275 and 450 nm. When studying the degradation of HDPE (0.4 thickness), the E. cloacae strain was found to produce 11.42 times more organic compounds than the control. It was found that the biodegradation of PVP in the E.ludwigii strain is 20.82 times higher compared to the control. According to the research results, it was confirmed that the E. cloacae strain produces the largest amount of organic substances in HDPE, LDPE and PET, and the E. ludwigii strain in PVP.

Keywords: polyethylene, bacteria, LDPE, LDPE, PET, PVP, LPEM nutrient medium, biodegradation, depolymerization, UV spectrophotometer.

Бугунги кунда атроф-муҳитда нефть-пластмасса чиқиндиларининг тўпланиши асосий глобал муаммодир, чунки бу материаллар табиий биодеградация жараёнларига чидамлидир. Уларнинг шаҳар чиқинди тизимларида кўп миқдорда тўпланиши натижасида микро ва нано ўлчамдаги пластик зарралар энди куруқлик ва сув экотизимларида йиғилмоқда [1].

2022-йилда синтетик пластмассаларнинг глобал ишлаб чиқарилиши 400,3 миллион тоннага етди. Бу ўтган йилга нисбатан қарийб 1,6 фоизга ўсиш демакдир [2]. Полиэтилентерефталат (ПЭТ), полиэтилен (ПЭ), полиуретан (ПУ), полистирол (ПС), полипропилен (ПП) ва поливинилхлорид (ПВХ) каби синтетик пластмассалар саноат ва маиший йўналишларнинг доирасида кенг қўлланилиб келмоқда [3].

Пластмассаларни микробиял ёки ферментатив воситалар билан деградацияси нефть-пластмасса чиқиндиларини қайта ишлаш учун мономерларга деполимеризация қилиш ёки уларни карбонат ангидрид, сув ва янги биомассага минераллаштириш, шу билан бирга юқори қийматли биомасулотлар ишлаб чиқариш учун истиқболли ишдир. ПЭ ни гидролизлашга қодир микроорганизмлар тупроқдан, денгиз сувидан, компостдан ва фаол лойдан ажратилган [4].

Abrusci ва бошқалар *Bacillus spp.* каби бактерия турлари, Fontanella ва бошқалар *Rhodococcus spp.* ни ва Rajandas ва бошқалар *Pseudomonas spp.* ни, Sahebnaazar ва бошқалар *Aspergillus* ва *Fusarium* каби замбуруғлар полимернинг углерод занжирларини биодеградацияга сезгир ҳолга келтирадиган ультрабинафша (УВ) ёки Амвала ва бошқалар термик муолажалар каби дастлабки ишлов беришнинг баъзи шаклларида сўнг ПЭ ни деполимеризация қилишлари кўрсатилган [5;6;7;8;9]. Montazer ва бошқалар *Pseudomonas putida* ИРН22, *Acinetobacter pittii* ИРН19, *Micrococcus luteus* ИРН20 каби ва Куав ва бошқалар турли хил *Pseudomonas*, *Pseudomonasa*, *Pseudomonasae* ПАО1 ва *Pseudomonas syringae*, Уооп ва бошқалар *Pseudomonas sp.* Е4 ни ва Реихото ва бошқалар *Comamonas*, *Delftia* ва *Stenotrophomonas* авлодлари бактериал штаммлар ишлов берилмаган ПЭ нинг микробиял деградацияси ҳақида хабар берилган [4;10;11;12].

Тажриба учун соф култура ҳолатдаги *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Rahnella aquatili*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter ludwigii* штаммлари танлаб олинди. Ушбу штаммлар таъсирида LDPE, PET ва PVP бўлаклари биодеградацияси суюқ LPEM2 (900 мл дистилланган сувга NH₄NO₃-1,0 г; MgSO₄·7H₂O-0,7 г; (NH₄)₂SO₄-1,0 г;

MgSO₄·7H₂O-0,7 г; микроэлемент-1мл; (100 мл микроэлемент тайёрлаш учун NaCl-0,5 г; ZnSO₄·7H₂O -0,2 г; Fe EDDHA-0,2 г; CuSO₄·5H₂O-0,2 г; MnSO₄·H₂O -0,1 г.) қўшилади. Фосфат буфери учун 100 мл дистилланган сувга KH₂PO₄ -0,7 г; K₂HPO₄-0,7 г қўшилади; pH-6,5) озика мухитида (30 кун давомида +32°C, 180 rpm/тезликли тебратгичда) амалга оширилди.

Тажриба учун паст зичликдаги полиэтилен (LDPE), полиэтилентерефталат (PET) ва поливинилпирилодон-PVP танлаб олинди ва улар маълум ўлчамда бўлақларга бўлиниб, электрон тарози ёрдамида оғирлиги ўлчанди. Сўнгра бу бўлақлар 70% ли этанолда стерилизация қилиниб, ламинар боксда ҳаво оқими билан қуритилди. 250 мл LPEM2 озуқа мухитига *P. putida*, *P. aeruginosa*, *R. aquatili*, *E. cloacae*, *E. ludwigii* бактерия штаммлари экилди ва ҳар бир идишга биттадан пластик бўлақлари солиниб, +28°C 150 rpm да 30 кун давомида термотебратгичда инкубация қилинди. 30 кундан сўнг ҳар бирдан 50 мл суюқлиги олиниб центрифуга (Allegra X-30p centrifuge, 4700 rpm, 20 мин давомида) қилинди. Супернатант УБ-спектрлари Specord 210 UV-Vis (Analytik Jena, Германия) спектрофотометрида диаметри 1 см ли кварцли кюветларда қайд этилди. Сканерлаш соҳаси 190-800 нм, тирқиши 1 нм, тезлиги 5 нм/с.

Ҳозирги кунда дунё миқёсида турли хил полиэтиленлар ишлатилади. Уларнинг кимёвий таркиби ва қалинлиги ҳам турлича. Ушбу тадқиқотда HDPE, LDPE, PET ва PVP каби полиэтиленларнинг микроорганизмлар томонидан парчаланлиши кўриб чиқилди.

УБ спектрофотометр натижаларидан олинган маълумотларни математик MathCAD дастурида ҳисобланганда, агар контрол вариантда (бактериясиз озика мухитига солинган PE) PE парчаланлишини 1 тенг деб ҳисобласак, маълум бир тўлқин узунликлардаги фоизлар контролга нисбатан неча баробар кўп парчаланганлигини билдиради (1-жадвал).

Жадвалда кўриниб турибдики HDPE биодеградацияси қўлланилган штаммлар орасида 275 ва 450 нм тўлқин узунликлари оралиғида контролга

1-жадвал

Қўлланилган бактерия штамми	Ютилиш чизиғи, I, нм							
	Органик модда нисбати		275-310		310-330		330-450	
	HDPE	LDPE 0.4	HDPE	LDPE 0.4	HDPE	LDPE 0.4	HDPE	LDPE 0.4
контрол	1	1	0,61	0,63	0,21	0,27	0,18	0,1
<i>P.putida</i>	5,47	2,94	3,34	1,85	1,15	0,79	0,98	0,29
<i>P.aeruginosa</i>	9,09	6,02	5,55	3,79	1,91	1,63	1,64	0,6
<i>Rahnella sp</i>	7,77	3,52	4,74	2,22	1,63	0,95	1,4	0,35
<i>E.cloacae</i>	13,99	11,42	8,54	7,2	2,94	3,08	2,52	1,14
<i>E.ludwigii</i>	8,45	9,58	5,16	6,04	1,78	2,59	1,52	0,96

Юқори занжирли полиэтилен (HDPE) ҳамда куйи занжирли полиэтилен (LDPE 0.4) парчаланлишининг УБ спектрофотометрия натижалари нисбатан энг юқори парчаланлиш *E.cloacae* штамми (13.99 баробар кўп) эканлиги аниқланди. *P.aeruginosa* ва *E.ludwigii* штаммлари эса мос равишда контролга нисбатан 9,09 ва 8.45 баробар кўп органик бирикмалар ҳосил қилиб биопарчаланлишни кўрсатди. *P. putida* штамми HDPE нинг биопарчалаши бўйича контролга нисбатан 5.47 баробар кўп органик модда ҳосил қилиши кузатилди.

Полиэтиленнинг бошқа бир тури LDPE (0.4 қалинликдаги) ни юқорида қўлланилган штаммлар билан инкубация қилиб парчаланиши ўрганилганда, контролга нисбатан энг кўп органик модда ҳосил қилиши *E.cloacae* штаммида (11.42 баробар кўп) эканлиги аниқланди.

E. ludwigii штаммида контролга нисбатан 9.58 мартаба кўп эканлиги ўрганилди (1-жадвал). Қолган штаммларда 275 ва 450 нм тўлқин узунлигида кам миқдорда органик бирикма ҳосил қилганлиги қайд этилиб, бунда *P.aeruginosa*, *Rahnella sp.*, ва *P. putida* штаммлари контролга нисбатан мос равишда 6.02; 3.52 ва 2.94 баробар кўп фаолликни намоён этди.

Бир ой давомида PET нинг юқоридаги бешта штаммлар таъсирида парчаланиши таҳлил қилинди (2-жадвал). Бунда энг юқори парчаланиш *E.cloacae* штаммида назоратга нисбатан 18.17 баробар кўп органик модда ҳосил қилгани кузатилди. Контролга солиштириганда энг кам органик модда ҳосил қилиши *P. putida* штаммида (5.09 мартаба кўп) эканлиги аниқланди.

2-жадвалдаги PVP биодеградацияси шуни кўрсатдики, бунда полиэтиленнинг бошқа турларидан фарқ қилиб, контролга нисбатан энг кўп органик модда ҳосил қилиши *E.ludwigii* штаммида (20.82 баробар кўп) эканлиги кузатилди. *E.cloacae*, *P.aeruginosa* ва *Rahnella sp.* штаммларида мос равишда назоратга 18.81; 15.85 ва 9.15 баробар кўп органик модда ҳосил қилганлиги аниқланди.

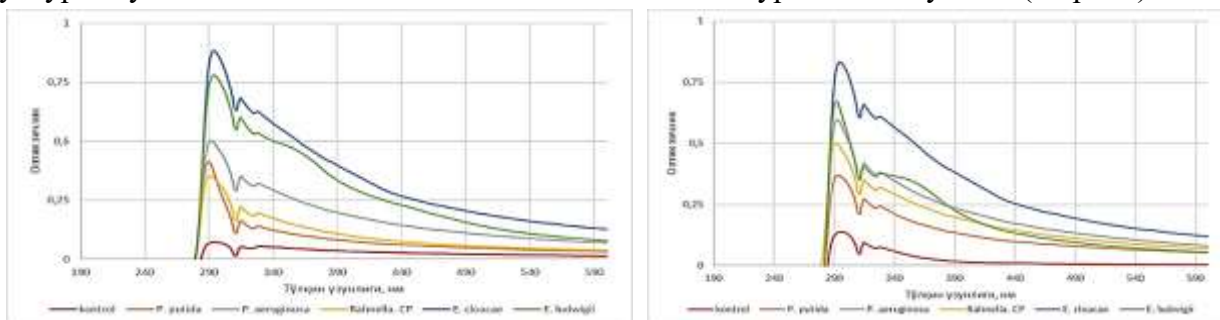
2-жадвал

Полиэтилен терефталат (PET) ва поливинилпиридон (PVP) парчаланишининг УБ спектрофотометрия натижалари

Қўлланилган бактерия штамми	Ютилиш чизиғи, I, нм							
	Органик модда нисбати		275-310		310-330		330-450	
	PET	PVP	PET	PVP	PET	PVP	PET	PVP
Контрол	1	1	0,59	0,71	0,21	0,15	0,2	0,14
<i>P.putida</i>	5,09	1,2	3	0,85	1,07	0,76	1,02	0,71
<i>P.aeruginosa</i>	15,13	15,85	8,93	11,25	3,18	2,27	3,03	2,12
<i>Rahnella sp</i>	6,61	9,15	3,9	6,49	1,39	0,99	1,32	0,93
<i>E.cloacae</i>	18,17	18,81	10,72	13,35	3,82	2,73	3,63	2,54
<i>E.ludwigii</i>	15,79	20,82	9,31	14,78	3,32	2,37	3,16	2,21

Юқорида келтирилган полиэтиленнинг барча турлари ичида энг кўп органик модда ҳосил қилиши *E.ludwigii* штамми PVP биодеградациясида назоратга нисбатан 20.82 мартаба кўп органик модда ҳосил қилганлиги тадқиқ этилди. Полиэтиленнинг қолган учта турида ҳам *E.cloacae* штамми бошқа штаммларга қараганда кўпроқ органик модда ҳосил қилган. Полиэтиленнинг парчаланиши натижасида ҳосил бўладиган органик моддалар миқдори назоратга нисбатан энг кам нисбат *P. putida* штаммида PVP парчаланиши (1.20 баробар кўп) эканлиги кузатилди.

Тадқиқот натижаларига асосланган ҳолда контролга нисбатан энг юқори спектри, 295 нм тўлқин узунлигида *E.cloacae* штаммида қайд этилди. Тўлқин узунлиги ошган сари културал суюқликнинг оптик зичлиги камайганлигини кўришимиз мумкин (1а-расм).

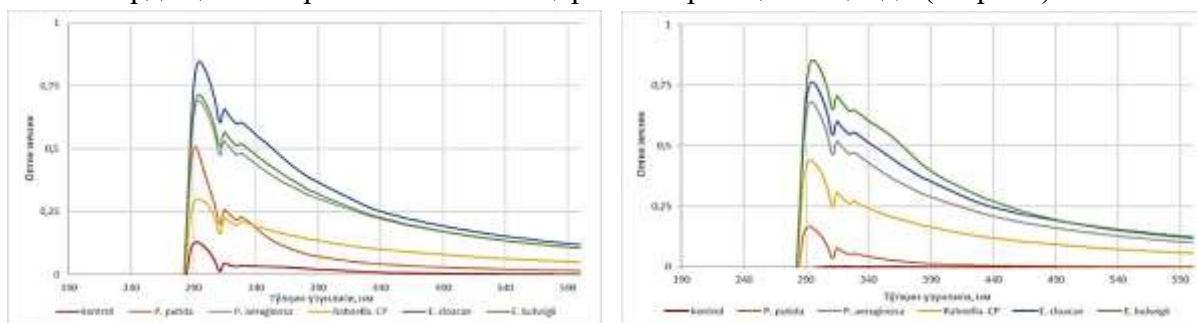


а

б

1- расм. LDPE а)-0.2 да ҳамда б) HDPE (0,4 қалинликда) да ўстирилган бактерия штамларининг органик моддалар ҳосил қилиши бўйича УБ спектри.

Нисбатан қалинроқ бўлган полиэтилен HDPE 0.4 нинг бактериялар иштирокида парчаланиши ўрганилганда, бунда спектрофотометрнинг 295нм тўлқдин узунлигида энг юқори УБ спектри *E.cloacae* штаммида эканлигини кўришимиз мумкин. Бошқа штаммларда ҳам назоратга нисбатан юқори спектрни ҳосил қилди (1б-расм).



а

б

2-расм. а) PET да ҳамда б) PVP да ўстирилган бактерия штамларининг органик моддалар ҳосил қилиши бўйича УБ спектри.

2а-расмда ҳам энг юқори спектр *E.cloacae* штаммида эканлиги аниқланди. Юқорида келтирилган уч хил полиэтилен турларининг барчасида энг юқори спектр битта *E.cloacae* штаммга тўғри келади. Бу штамм углерод манбаи сифатида фақат полиэтилендан фойдаланилган озика муҳитида ўстирилганда, културал суюқликка полиэтилен парчаланиш маҳсулотларини бошқа штаммларга қараганда кўпроқ ҳосил қилиши аниқланди.

Полиэтиленнинг бошқа тури PVP қўлланилганда бошқа турларидан фаркли ўларок *E.ludwigii* штаммида энг юқори спектрни ҳосил қилди. Ушбу тадқиқот натижаларига асосланиб *E.cloacae* ва *E.ludwigii* штаммлари бошқаларига нисбатан олганда кўпроқ полиэтиленни парчалош хусусиятига эга деган хулосага келиш мумкин (2б-расм).

Хулоса. LDPE нинг биодеградацияси учун ишлатиладиган штаммлар орасида назоратга нисбатан 275 ва 450 нм тўлқин узунлиги диапазонида энг катта ПЭ парчаланишида *E. cloacae* штаммида 13,99 марта, *P. aeruginosa* штаммида 9,09 марта ва *E. ludwigii* штамми 8 ,45 марта, шунингдек *P. putida* штамми 5,47 марта кўп органик бирикмалар ҳосил бўлган. HDPE нинг (қалинлиги 0,4 мм) парчаланишини ўрганаётганда энг кўп органик моддаларни *E. cloacae* штаммлари - 11,42 марта, *E. ludwigii* штамми - 9,58

марта, *P. aeruginosa*, *Rahnella sp* ва *P. putida* штаммларида мос равишда назоратга нисбатан - 6,02; 3,52 ва 2,94 марта кўпроқ органик бирикмалар ҳосил қилганлиги таҳлил қилинди. *E. ludwigii* штаммида PVP нинг биодеградацияси назоратга нисбатан 20,82 марта юқори эканлиги аниқланди. *E. cloacae*, *P. aeruginosa* ва *Rahnella sp.* штаммларида эса PVP ни парчаланишидан ҳосил бўлган органик бирикмалар миқдори 18,81; 15,85 ва 9,15 мартани ташкил қилди. Тадқиқот натижаларига кўра, HDPE, LDPE ва PET даги органик моддаларнинг энг катта миқдори *E. cloacae* штамми томонидан, PVP ни парчаланишидан эса *E. ludwigii* штамми томонидан ҳосил бўлиши қайд этилди.

REFERENCES

1. Alvarez-Hernández, C., Cairós, C., López-Darias, J., Mazzetti, E., HernándezSánchez, C., González-Sálamo, J., et al. (2019). Microplastic debris in beaches of Tenerife (Canary Islands, Spain). *Mar. Pollut. Bull.* 146, 26–32. <https://doi:10.1016/j.marpolbul.2019.05.064>.
2. Annual production of plastics worldwide from 1950 to 2022/ <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/>
3. Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A. A., Noman, M., et al. (2018). Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 25, 7287–7298. <https://doi:10.1007/s11356-018-1234-9>
5. Montazer, Z., Najafi, M.B.H., Levin, D.B., 2020. Challenges with verifying microbial degradation of polyethylene. *Polymers (Basel, Switz.)* 12 (1), 123. <https://doi.org/10.3390/polym12010123>
6. Abrusci, C., Pablos, J. L., Marín, I., Espí, E., Corrales, T., and Catalina, F. (2013). Comparative effect of metal stearates as pro-oxidant additives on bacterial biodegradation of thermal- and photo-degraded low density polyethylene mulching films. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 83, 25–32. <https://doi:10.1016/j.ibiod.2013.04.002>.
7. Fontanella, S., Bonhomme, S., Koutny, M., Husarova, L., Brusso, J. M., Courdavault, J. P., et al. (2010). Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives. *Polym. Degrad. Stab.* 95,1011–1021. <https://doi:10.1016/j.polymdegradstab.2010.03.009>.
8. Rajandas, H., Parimannan, S., Sathasivam, K., Ravichandran, M., and Yin, L. S. (2012). A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation. *Polym. Test.* 31, 1094–1099. <https://doi:10.1016/j.polymertesting>.
9. Sahebnaazar, Z., Shojaosadati, S. A., Mohammad-Taheri, M., and Nosrati, M. (2010). Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste medium. *Waste Manage.* 30, 396–401. <https://doi:10.1016/j.wasman.2009.09.027>
10. Ammala, A., Bateman, S., Deana, K., Petinakis, E., Sangwan, P., Wong, S., et al. (2011). An overview of degradable and biodegradable polyolefins. *Prog. Polym. Sci.* 36, 1015–1049. <https://doi:10.1016/j.progpolymsci.2010.12.002>.
11. Kyaw, B. M., Champakalakshmi, R., Sakharkar, M. K., Lim, C. S., and Sakharkar, K. R. (2012). Biodegradation of low density polythene (LDPE) by *Pseudomonas* species. *Indian J. Microbiol.* 52, 411–419. <https://doi:10.1007/s12088-012-0250-6>.

12. Yoon, M.G., Jeon, H.J., Kim, M.N., 2012. Biodegradation of polyethylene by a soil bacterium and alkB cloned recombinant cell. *J. Biorem. Biodegrad.* 3 (4), 145. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000145>.
13. Peixoto, J., Silva, L. P., and Krüger, R. H. (2017). Brazilian Cerrado soil reveals an untapped microbial potential for unpretreated polyethylene biodegradation. *J.Hazard. Mater.* 324, 634–644. <https://doi:10.1016/j.jhazmat.2016.11.037>.