

Дегградация пленок из полигидроксиалканоатов в солонатоводном озере Ши́ра

Н.О. Жила^{а,б*}, С.В. Прудникова^б,
Е.С. Задереев^{а,б}, Д.Ю. Рогозин^{а,б}

^а *Институт биофизики Сибирского отделения
Российской академии наук,*

Россия 660036, Красноярск, Академгородок 50, стр. 50

^б *Сибирский федеральный университет,*

Россия 660041, Красноярск, пр. Свободный 79¹

Received 7.06.2012, received in revised form 14.06.2012, accepted 21.06.2012

Впервые исследована дегградация пленок из поли(3-гидроксибутирата) и поли(3-гидроксибутирата-со-3-гидроксивалерата) в солонатоводном озере Ши́ра на различных глубинах: 3, 9, 13 и 20 м, соответствующих горизонтам стратификации озера. Показано, что наиболее активно дегградация пленок (снижение массы пленок и молекулярной массы полимера) происходит в эпителимнионе на глубине 3 м, в наиболее прогреваемом и аэрируемом горизонте озера. Дегградация пленок зафиксирована также в хемоклине на глубине 13 м и на глубине 20 м в монимолимнионе, для которого характерно отсутствие кислорода, присутствие сероводорода и низкие температуры.

Ключевые слова: озеро Ши́ра, полигидроксиалканоаты, дегградация, молекулярная масса.

Введение

Среди активно разрабатываемых в настоящее время разрушаемых полимерных материалов представляют интерес полимеры, синтезируемые микроорганизмами, так называемые полигидроксиалканоаты (ПГА) (Волова и др., 2006; Jendrossek, Handrick, 2002, Wang et al., 2005). Одно из направлений их применения – замена синтетических полимеров, использование которых привело к

скоплениям многих миллионов тонн неразрушаемых пластиков в акватории Мирового океана, особенно в прибрежных районах. С ростом перспектив применения ПГА все большую актуальность приобретает исследование закономерностей их разрушения в природных условиях. Такие работы пока немногочисленны. Недостаточно информации о дегградации ПГА в морской воде, а также соленых и солонатоводных озерах. Из-

* Corresponding author E-mail address: nzhila@mail.ru

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

вестно только, что разрушение сополимера 3-гидроксипропириата-со-3-гидроксипропириата в морской воде происходит очень медленно (Imam et al., 1999). Низкие скорости разрушения ПГА в морской воде описаны в обзорной работе (Wang et al., 2005). Эти фрагментарные данные не позволяют прогнозировать развитие процессов деградации ПГА в природной среде в случае их применения. Имеющийся у авторов опыт исследования разрушаемости ПГА в природных пресных водоемах показал, что биодеградация зависит от состояния водной экосистемы и погодных условий, а также химической структуры ПГА (Volova et al., 2007). Исследования по деградации ПГА или иных материалов в озере Ши́ра до настоящего эксперимента не проводились. Все это позволило сформулировать цель исследования – изучение биодеградации пленок из ПГА в солонатоводном озере Ши́ра. В задачи работы входило определить характер биоразрушения образцов ПГА с учетом их химического строения на глубинах, соответствующих горизонтам стратификации озера.

Материалы и методы

Озеро Ши́ра – это солонатоводный водоем, особенностью которого является глубинная стратификация (Kalacheva et al., 2002; Zadereev, Tolomeev, 2007). Образцы ПГА двух типов – гомогенный поли-3-гидроксипропириат ПЗГБ и сополимер 3-гидроксипропириата и 3-гидроксипропириата П(ЗГБ-со-ЗГВ), включение ЗГВ 10 мол. % – в виде пленочных дисков диаметром 30 мм, массой (70 ± 5) мг были размещены в сетчатых нейлоновых ловушках на центральной станции озера на расстоянии 2 км от берега в точке с координатами 54.30.350 N, 90.11.350 E на глубинах: 3, 9, 13 и 20 м, соответствующих горизонтам стратификации озера. Глубина 3 м соответствует эпилимниону (теплые поверхностные воды,

летние температуры порядка 20 °С, кислородные процессы); глубина 9 м – гиполимниону (холодные воды, летние температуры 6 °С, кислородные процессы); глубина 13 м – хемоклину (температура 2 °С, зона перехода от кислородных к аноксигенным условиям); 20 м – монимолимниону (температура около 1 °С, неперемешивающиеся воды под хемоклином, аноксигенные процессы). Эпилимнион характеризуется высокой численностью бактериопланктона. В зоне хемоклина наблюдается максимум развития пурпурных бактерий, в придонных слоях – сообщества метаногенов и сульфатредуцирующих бактерий, играющих решающую роль в процессах терминального разложения органического вещества (Пименов и др., 2003). Эксперимент был проведен с 11 июня по 29 августа; период наблюдения – 80 суток. Анализировали изменение массы полимерных образцов с учетом температуры и химических показателей в каждом горизонте, которые измеряли погружным зондом YSI 6600 (YSI Corp, США).

Молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение полимерных пленок исследовали с использованием хроматографа для гельпроникающей хроматографии 1260 Infinity (Agilent Technologies, США) относительно полистироловых стандартов («Fluka», Швейцария, Германия). Находили средневесовую (M_w) и среднечисловую (M_n) молекулярную массу, а также полидисперсность ($PD = M_w/M_n$).

Результаты и обсуждение

В течение летнего сезона регистрировали изменение характеристик водоема. В эпилимнионе температура воды была подвержена наибольшим изменениям: в начале эксперимента она составляла 13 °С, в середине июля достигала 23–24 °С. На глубине 9 м температура была подвержена меньшим

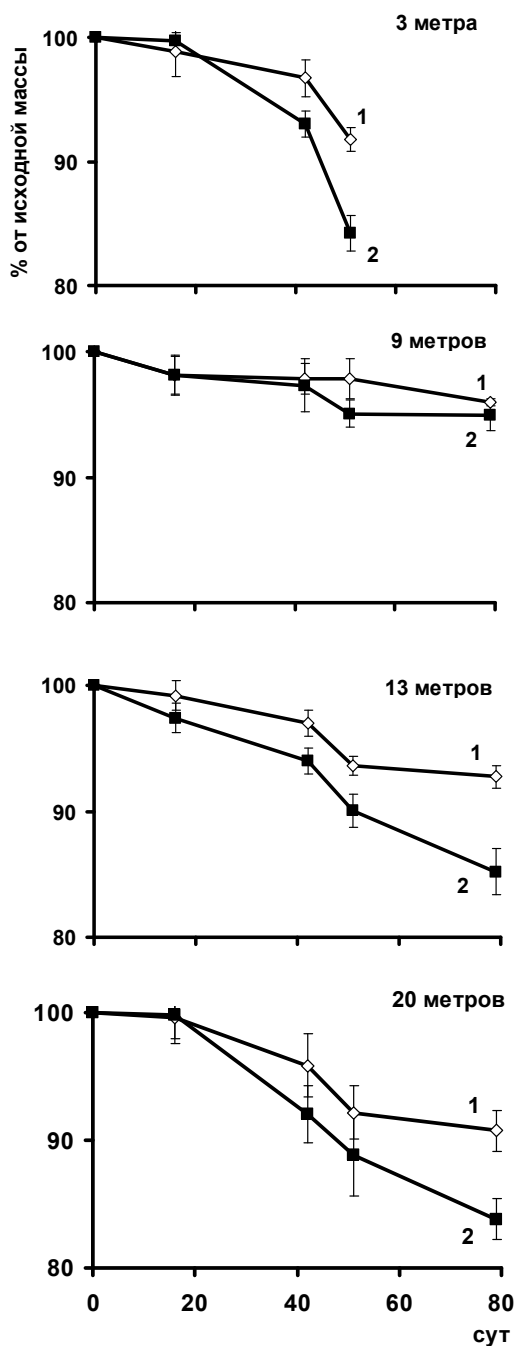


Рис. 1. Изменение массы пленок из ПГА в озере Шира, экспонированных на различных глубинах: 1 – ПЗГБ, 2 – П(ЗГБ-*co*-ЗГВ)

колебаниям – от 12 до 18 °С в течение наблюдаемого периода. В хемоклине и монимолимнионе температура воды практически не изменялась и в среднем составляла 5,0-6,0 и 1,5-2,0 °С соответственно. Соленость воды варьировала от 14-15 г/л на верхних горизонтах до 16-18 г/л – ниже хемоклина; значения pH составляли от 8,9 до 8,5.

Характер изменения массы образцов на разных глубинах озера указывал на то, что разрушение пленок происходило с различной интенсивностью (рис. 1). Практически во всех случаях имела место латентная фаза (20-40 суток), в течение которой достоверного изменения массы полимерных образцов не зафиксировано. Вероятно, требуется некоторый временной период для прикрепления бактерий к поверхности образцов, адаптации к полимерному материалу как источнику углерода для роста клеток и синтеза деполимеризующих ферментов, вызывающих деструкцию полимера на мономеры и последующую утилизацию продуктов распада полимера микробными клетками. Аналогичная ситуация была отмечена нами раньше при исследовании биоразрушения ПГА в модельных лабораторных почвенных микросомах и природных пресных водоемах (Волова и др., 1996; Volova et al., 2007).

Достоверное уменьшение массы пленок было зафиксировано только в начале августа. Наиболее активно это происходило на глубине 3 м, где через 50 суток экспонирования масса пленок из гомополимера (ПЗГБ) уменьшалась на 9,0 % от исходной, масса образцов из сополимера – на 15,8 % (рис. 1). На глубинах 13 и 20 м также зафиксировано снижение массы образцов. В хемоклине и монимолимнионе в конце периода наблюдения (80-е сутки) отмечено снижение массы ПЗГБ, соответственно, на 8,8 и 9,2 %; сополимера – несколько выше, соответственно, на 13,3 и

16,2 % от исходных величин. Вместе с тем на глубине 9 м достоверного изменения массы образцов пленок из ПГА обоих типов не обнаружено. Снижение массы пленок было более заметным для П(ЗГБ-со-ЗГВ). Это согласуется с результатами, полученными ранее в пресных водоемах (Войнова и др., 2007; Volova et al., 2007).

Как показали результаты исследования, наиболее активно разрушение пленок происходило в эпилимнионе – хорошо прогреваемом и аэрируемом горизонте озера. Известно, что в этом горизонте регистрируется высокая численность бактериопланктона (Пименов и др. 2003). Поскольку основной механизм разрушения полимера в окружающей среде связан с ферментативной активностью бактерий, вероятно, в верхних горизонтах водоема возникали благоприятные условия для деградации пленок из ПГА. На глубине 8-12 м в озере Шира находится зона активного фотосинтеза с максимальной концентрацией хлорофилла и биомассы цианобактерий и зеленых водорослей (Gaevsky et al., 2002). Отсутствие заметной убыли массы пленок на глубине 9 м объясняется преобладанием автотрофных микроорганизмов и небольшой долей деструкторов.

Примечательно, что деградация образцов зафиксирована также в хемоклине на глубине 13 м и на глубине 20 м в монимолимнионе, для которого характерно отсутствие

кислорода, присутствие сероводорода и низкие температуры. В связи с этим возрастает роль анаэробных процессов деградации ПГА в окружающей среде.

Ввиду незначительной убыли массы полимерных образцов проанализированы средневесовая (M_v), среднечисловая (M_n) молекулярная массы, а также степень полидисперсности полимера (ПД), достоверно отражающие течение процесса разрушения полимерных цепей (рис. 2). На всех горизонтах, за исключением 9 м, зафиксировано снижение M_v и M_n , при этом более значительное – на глубине 3 м, что согласуется с динамикой уменьшения массы образцов. Более заметным было снижение молекулярной массы для образцов сополимера П(ЗГБ-со-ЗГВ) по сравнению с гомополимером.

Таким образом, впервые проведены исследования деградации пленок из полигидроксиалканоатов в солоноватоводном озере Шира с учетом гидрохимических и гидробиологических характеристик озера. Показано, что поли(3-гидроксибутират) и менее кристаллический сополимер 3-гидроксибутирата с 3-гидроксивалератом разрушаются с разной интенсивностью. Максимальные убыли массы полимерных пленок и снижения M_n и M_v зарегистрированы в оксигенном эпилимнионе. Обнаружен феномен разрушения образцов полимеров в хемоклине и аноксигенном низкотемпературном монимолимнионе.

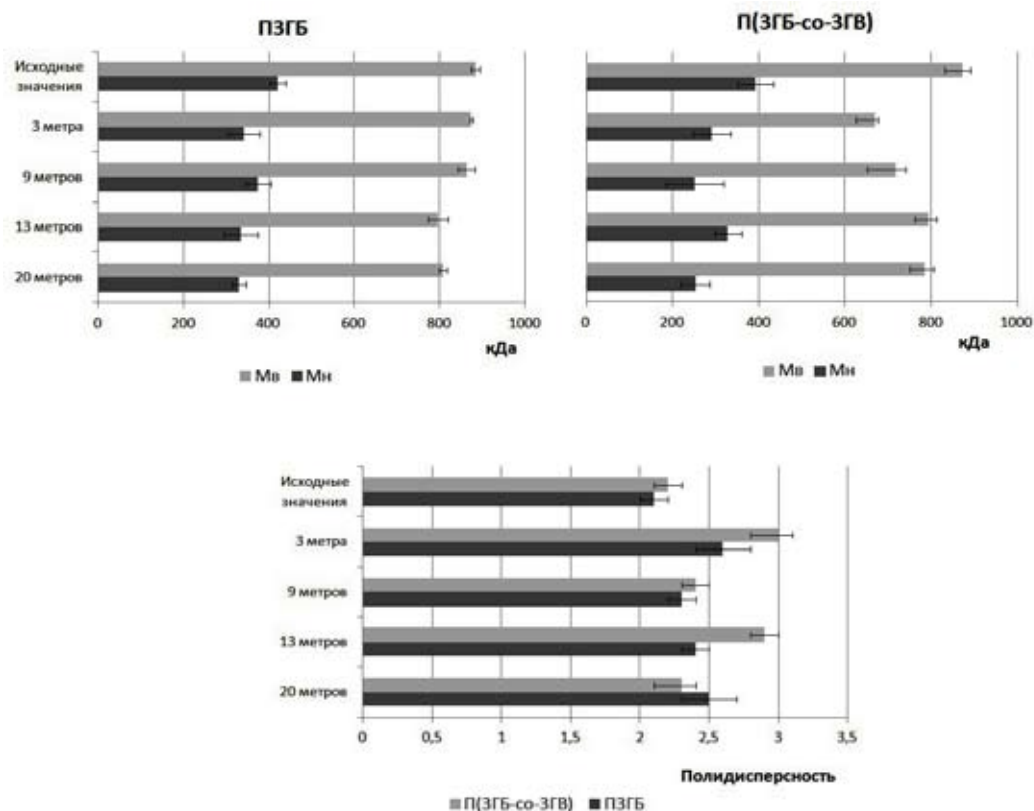


Рис. 2. Изменение средневесовой (M_v) и среднечисловой (M_n) молекулярной массы пленок из ПГА в озере Шира, экспонированных на различных глубинах

Список литературы

Войнова О.Н., Кожевникова Н.А., Гладышев М.И., Волова Т.Г. (2007) Деградация биопластиков в природных водоемах с различными экологическими характеристиками. Доклады АН. 417: 130-132.

Волова Т.Г., Беляева О.Г., Плотников В.Ф., Пузырь А.П. (1996) Исследование разрушаемости микробного полиоксиданканоатов. Доклады АН 350: 707-711.

Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И. (2006) Полиоксиданканоаты – биоразрушаемые полимеры для медицины. Красноярск: Платина, 287 с.

Пименов Н.В., Русанов И.И., Карначук О.Н., Рогозин Д.Ю., Брянцева И.А., Лунина О.Н., Юсупов С.К., Парначев В.В., Иванов М.В. (2003) Микробные процессы циклов углерода и серы в озере Шира (Хакасия). Микробиология. 72(2): 259-267.

Gaevsky N.A., Zotina T.A, Gorbaneva T.B. (2002) Vertical structure and photosynthetic activity of Lake Shira phytoplankton. Aquatic Ecology. 36: 165–178.

Imam S.H., Gordon S.H., Shogren R.L. (1999) Degradation of starch–poly(β -hydroxybutyrate-co- β -hydroxyvalerate) bioplastic in tropical coastal waters. Appl. Environ. Microbiol. 65: 431-437.

Jendrossek D., Handrick R. (2002) Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates. Annu. Rev. Microbiol. 56: 403-432.

Kalacheva G.S., Gubanov V.G., Gribovskaya I.V., Gladchenko I.A., Zinenko G.K., Savitsky S.V. (2002) Chemical analysis of Lake Shira water (1997-2000). *Aquatic Ecology*. 36: 123-141.

Volova T.G., Gladyshev M.I., Trusova M.Y., Zhila N.O. (2007) Degradation of polyhydroxyalkanoates in eutrophic reservoir. *Polym. Degrad. Stabil.* 92: 580-586.

Wang S., Song C., Mizuno W. (2005) Estimation on biodegradability of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHB/V) and numbers of aerobic PHB/V degrading microorganisms in different natural environments. *J. Polym. Environ.* 13: 39-45.

Zadereev E.S., Tolomeyev A.P. (2007) The vertical distribution of zooplankton in brackish meromictic lake with deep-water chlorophyll maximum. *Hydrobiologia*. 576: 69-82.

Degradation of Polyhydroxyalkanoate Films in Brackish Lake Shira

**Natalia O. Zhila^{a,b}, Svetlana V. Prudnikova^b,
Egor S. Zadereev^{a,b} and Denis Yu. Rogozin^{a,b}**

^a Siberian Federal University,

41 Svobodny, Krasnoyarsk, 660041 Russia

*^b Institute of Biophysics of Siberian Branch
of Russian Academy of Science,*

50/50 Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036 Russia

The degradation of polyhydroxyalkanoate films was firstly studied in brackish Lake Shira at different depths, 3, 9, 13 and 20 meters, those corresponded to the layers of stratification. It is found that poly (3-hydroxybutyrate) and copolymer poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) with less crystallinity are destroyed with varying intensity. The maximum mass loss of polymer films and decrease in polymer molecular weight were registered at 3 m, in oxygenic epilimnion where temperature is the highest. The phenomenon of polymer films destruction were also found in the chemocline and anoxic low-temperature monimolimnion, at 20 m depth.

Keywords: Lake Shira, stratification, polyhydroxyalkanoates, degradation, molecular mass.
