

ДОСЛІДЖЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ БІОДЕГРАДАЦІЇ ЦЕЛЮЛОЗОВІСНИХ МАТЕРІАЛІВ В ҐРУНТАХ РІЗНОГО ТИПУ

О.Л. Матвєєва, канд. техн. наук, проф.; **І.Л. Трофімов**, канд. техн. наук, доц., **Є.В. Муравицька**

Національний авіаційний університет

E-mail: egenie2009@mail.ru, mol@nau.edu.ua, troffi@ukr.net

У статті наведено експериментальні дані про процес розкладу целюлозовмісних матеріалів у ґрунтах різного типу. Наведено графічні залежності тривалості біорозкладу від типу ґрунту, а також розраховано час повного розкладу досліджуваних матеріалів.

Ключові слова: біодеградація, целюлоза, ґрунт, активність, вологість.

The article presents experimental investigations of the process of decomposition of waste materials containing cellulose in soils of various types. Is described the time of full decomposition of investigated materials.

Keywords: biodegradation, cellulose, soil, activity, humidity.

Вступ

Целюлоза – головна складова частина рослинної речовини, на частку якої припадає 40-70% від щорічно утворюваної на планеті органічної речовини. Розкладання целюлози являє собою найбільший за масштабами природний деструкційний процес, основну роль у якому відіграють ґрунтові мікроорганізми.

В умовах сучасної сільськогосподарської діяльності людини кількість стресових для навколишнього середовища, а особливо для ґрунту, факторів безперервно зростає [1]. Ґрунт – це живий органо-мінеральний субстрат із характерною зональністю та індивідуальним складом мікроорганізмів, різних рівнів організації, які повністю його заселяють. Ґрунтові мікроорганізми виконують ключову роль у формуванні родючості, трансформуючи органічні рештки та забезпечуючи синтез гумусних речовин ґрунту [2].

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Як відомо, ферментативний гідроліз целюлози здійснюється комплексом ферментів, які різняться між собою субстратною специфічністю. За статистичними даними 50% усіх твердих побутових відходів становлять харчові та паперові відходи [2].

На сьогодні, проблема утилізації та переробки відходів широко досліджується вітчизняними та закордонними вченими [1-4].

Заслужують на увагу дослідження російських вчених Саловарова В.П. та Козлова Ю.П. [2], які дослідили процес розкладання целюлози в ґрунтах різного складу. Досліджували ґрунт трьох типів: перегнійно-торф'яний, дерново-підзолистий

суглинний і дерново-підзолистий супіщаний. Показано, що максимальний вміст гумусу спостерігався у перегнійно-торф'янистому ґрунті, а розкладання целюлози найбільш інтенсивно проходило в перегнійно-торф'янистому ґрунті. Через 22 дні ступінь розкладу склав 64 %, а ще через 29 днів зразок був розкладений повністю. Динаміка розкладу, таким чином, розрізнялася в ґрунтах різного складу. Вплив на інтенсивність розкладання целюлози мала також глибина ґрунтового горизонту.

Метою вищевказаних досліджень було також визначення впливу різних факторів (стимулювання біологічної активності мінеральними речовинами або мікробіологічними добривами) на розкладання целюлози у ґрунті на прикладі чорнозему звичайного. Дослідження показало, що внесення азоту в ґрунт разом з субстратом, що містить органічний вуглець, і використання мікробіологічних добрив значно підвищують активність ґрунтової мікрофлори (інтенсивність дихання збільшується в десятки разів, ферментативна активність змінюється по-різному, залежно від досліджуваного субстрату), що сприяє якнайшвидшому розкладанню органічних речовин з її допомогою. Внесення азотно-фосфорного добрива разом з азотфіксуючими бактеріями підвищує ефективність розкладання паперу на 22 %, нафти на 2 %, спільно нафти і паперу на 14 %. Внесення тільки мінерального добрива підвищує ефективність біодеградації паперу на 12%, нафти і паперу на 18 %, для нафти, навпаки, знижує ефективність біодеградації до 10%. Внесення тільки мікробіологічного добрива знижує ступінь розкладу до 9% у випадку з

папером, до 2% у випадку з нафтою, але підвищує ефективність у разі спільного внесення паперу і нафти на 10%. Якщо вносити мікробіологічні добрива спільно з азотно-фосфорними, то процеси розкладання значно інтенсифікуються. Також, досить ефективним виявилось застосування мінерального добрива для прискорення біодеградації целюлози.

Цікавими, на наш погляд, є дослідження американських та ізраїльських вчених, які в режимі реального часу простежили за тим, як ферменти грибів і бактерій розкладають волокна целюлози – основи рослинної біомаси, і дійшли висновку, що гриби можуть впоратися з цим завданням швидше і ефективніше, ніж їх конкуренти [3, 4]. У ролі піддослідних вчені обрали двох представників конкуруючих царств живих істот: бактерію *Clostridium thermocellum* і гриб *Trichoderma reesei*. За словами біологів, ці організми дотримуються абсолютно різних стратегій розкладання целюлози. Так, бактерії використовують для розщеплення її молекул целюлозому – набір з декількох взаємодіючих білків, а гриби – кілька невеликих і незалежних один від одного молекул ферментів-целюлаз. Як стверджують вчені, грибні целюлази приблизно в п'ять разів швидше розщеплювали ланцюжки біополімеру, ніж це робили їхні бактеріальні конкуренти. За словами вчених [4], подібні ферменти можуть в теорії досягти практично 100% розкладання біомаси, в тому випадку, якщо вона не буде містити лігніну. У той час, як полімеризація мономерів і створення клітковини з глюкози властиві майже виключно вищим рослинам, її деградація, розклад до мономерів відбувається лише за допомогою мікроорганізмів.

Українські вчені розробили корисну модель, що належить до біотехнології очищення промислових та побутових стічних вод і стосується виділення нового штаму, призначеного для деструкції целюлози [5]. Було одержано новий штам, який характеризується високою деструктивною активністю по відношенню до целюлози паперу, стійкістю при довготривалому культивуванні в лабораторних умовах та росте на мінімальних поживних середовищах. Штам бактерій *Cellulomonas sp. 3-1 IMB B-7303* активно деструктує целюлозу і придатний до застосування в складі консорціуму мікроорганізмів для очищення побутових і промислових систем каналізації від паперу, компостування рослинних

відходів. Основною особливістю штаму є його висока активність до розкладу целюлози в присутності жирів та білків, штам не потребує наявності в поживному середовищі тіаміну та біотину, на відміну від відомого штаму *Cellulomonas flavigena* та його здатність росту на мінімальних поживних середовищах.

Постановка проблеми

Для успішного проведення процесу біодеградації целюлозовмісних залишків є важливим дослідження та створення оптимальних умов природного середовища з використанням мікроорганізмів-деструкторів целюлози.

Одним з завдань роботи є вивчення процесу розкладу целюлози в ґрунтах різних типів. У дослідженні використано ґрунти трьох типів: цілинний, луговий і підзолистий (дерновий). Зразки були відібрані в Полтавській області в літній період.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень були целюлозовмісні матеріали, що піддаються біорозкладу:

- папір (фільтрувальний папір, маса золи – 0,00019 г на один диск, вміст жирів – 0,05% на один диск);
- вата;
- серветка паперова;
- пакет поліетиленовий з еко-добавкою dw2.

Досліджувані зразки висушували в сушильній шафі 1 годину при температурі 120 °С, потім зважували і поміщали в ґрунт для всебічного контакту з природною ґрунтовою мікрофлорою. Термін перебування дисків в ґрунті становив 45 діб при температурі 22 °С і доведеній вологості ґрунту до рівня 60% від повної вологості. Кожні 14-20 днів матеріали виймали з ґрунту, звільняли від ґрунтових частинок, висушували до постійної маси. Інтенсивність розкладу оцінювали за різницею маси матеріалів після експозиції в порівнянні з вихідною масою, а також наочно спостерігаючи за зміною кольору та структури досліджуваних матеріалів.

Результати і їх обговорення.

Матеріали, що були внесені в ґрунти, піддавались мікробному розкладу. Після 45 діб інкубації в цілинному ґрунті зразок I втратив у масі 5%, зразки II та III по 6% і 30% відповідно (зразки: I – вата, II – фільтрувальний папір, III – серветка).

Динаміка процесу біорозкладу целюлозовмісних матеріалів у цілинному

грунті зображена на рис. 1 (показана втрата по масі).

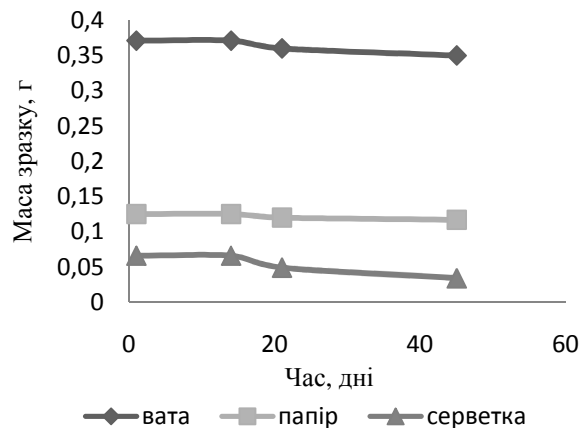


Рис.1. Динаміка процесу біорозкладу целюлозовмісних матеріалів у цілинному ґрунті

В умовах підзолистого ґрунту зразок I втратив у масі 50,5%, зразки II і III – 70 та 100% відповідно, станом на 45 день інкубації (рис.2).

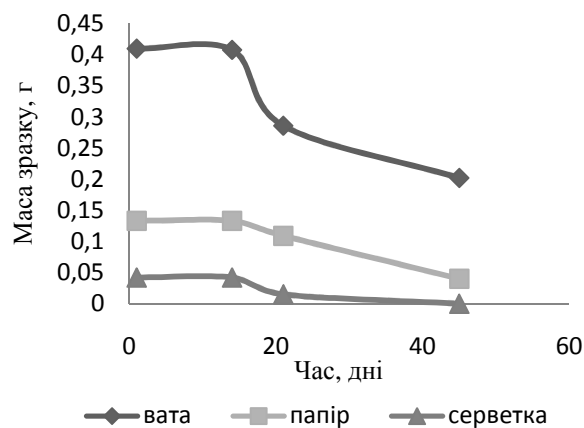


Рис.2. Динаміка процесу біорозкладу целюлозовмісних матеріалів у підзолистому ґрунті

В луговому ґрунті зразок I втратив у масі 16,3%, зразки II і III – 60 та 100% відповідно, станом на 45 день інкубації (рис.3).

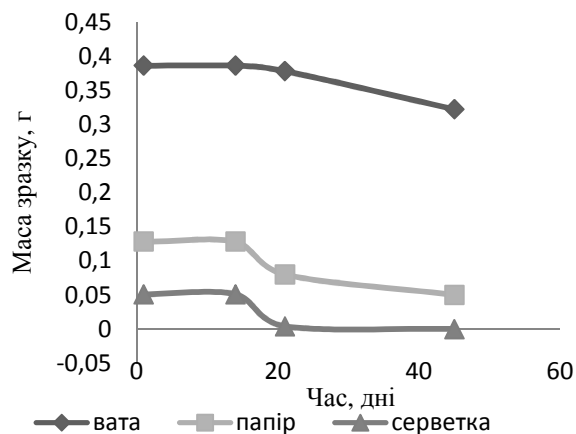


Рис.3. Динаміка процесу біорозкладу целюлозовмісних матеріалів у луговому ґрунті

На рис. 4 показано матеріали, а саме вату та фільтрувальний папір, після шостого тижня проведення експерименту. Серветка зображена після четвертого тижня проведення експерименту. Результати порівняння біорозкладу целюлозовмісних матеріалів в залежності від типу ґрунту показали, що найшвидше піддається біорозкладу серветка, вата та фільтрувальний папір у підзолистому ґрунті. У луговому ґрунті спостерігається відносно повільніший біорозклад паперових матеріалів. У цілинному ґрунті особливих змін у зовнішньому вигляді матеріалів не спостерігається. Змін у зовнішньому вигляді пакету з добавкою dW2 не спостерігалось, тому в кількісному аналізі біорозкладу даний матеріал надалі не враховувався (рис.4).

I)



II)



III)



Рис. 4. Ступінь розкладу целюлозовмісних матеріалів (I-вата, II- фільтрувальний папір, III-серветка) в залежності від типу ґрунту (тривалість розкладу – 45 днів для матеріалів I та II, 30 днів для матеріалу III)

Кількісний аналіз динаміки біорозкладу целюлозовмісних матеріалів у ґрунтах різного типу наведено на рис. 5. Аналіз

представлених даних показує, що дерновий ґрунт містить найактивніший комплекс мікроорганізмів-деструкторів целюлози. Наприклад, у дерновому ґрунті, на 45 день експерименту втрати у масі вати досягли 50%, втрати у масі фільтрувального паперу досягли 70%, а паперова серветка розкладалася повністю. У луговому ґрунті на 45 день експерименту втрати у масі вати досягли лише 16%, втрати у масі фільтрувального паперу досягли 60%, паперова серветка також розкладалася повністю. У цілинному ґрунті втрати в масі вати та фільтрувального паперу коливалися в межах 4-7%, а серветка розкладалася на 30% за 45 днів.

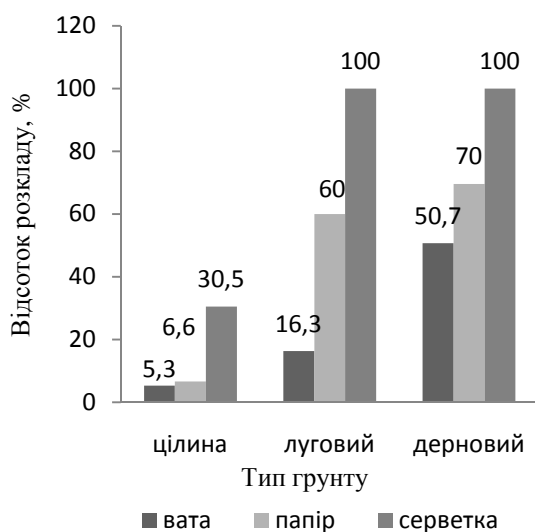


Рис.5. Розклад матеріалів в ґрунтах різного типу

Математична оцінка терміну повного розкладання експериментальних зразків целюлозовмісних матеріалів в залежності від типу досліджуваного ґрунту наведена таблиці 1.

В основу розрахунків покладено рівняння лінії тренду графічних експериментальних залежностей. У випадку дослідження цілинного ґрунту було використано рівняння логарифмічної кривої.

Таблиця 1

Тривалість повного розкладу матеріалів в залежності від типу ґрунту

| Тип ґрунту | Матеріал | Час повного розкладу, дні |
|----------------|----------------------|---------------------------|
| луговий ґрунт | вата | 249,7 |
| | фільтрувальний папір | 71,3 |
| | серветка | 40,2 |
| дерновий ґрунт | вата | 84,3 |

| | | |
|----------------|----------------------|----------|
| цілинний ґрунт | фільтрувальний папір | 65,1 |
| | серветка | 45,7 |
| | вата | e^{75} |
| | фільтрувальний папір | e^{63} |
| | серветка | 87,1 |

Висновок

Порівняння росту активності біодеградації целюлозовмісних матеріалів у цілинному, луговому та підзолистому ґрунтах при 60% вологості ґрунту показало, що інтенсивність біодеградації найвища у підзолистому ґрунті. Це можна пояснити пріоритетної дією таких чинників як, мікробіологічний склад та вологість ґрунту. Встановлено, що в даному ґрунті переважають мікроміцети, здебільшого представники родів *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреюк Е.И., Валагурова Е.В. Основы экологии почвенных микроорганизмов. – Киев: Наук.думка, 1992. – 223 с.
2. Саловарова В.П., Козлов Ю.П. Эколого-биотехнологические основы конверсии растительных субстратов. – Москва: РУДН, 2000. – 331с.
3. Dashtban, M. Fungal Bioconversion of Lignocellulosic Residues; Opportunities & Perspectives // International Journal of Biological Sciences. – 2009. – V.5. – P.578-595.
4. <http://ua.korrespondent.net/tech/science/1429255-vcheni-gribi-viroblyayut-biopalivo-shvidshe-i-efektivnishe-nizh-bakteriyi>.
5. Патент на корисну модель UA 62219 U МПК C02F 3/34 (2006.01)(54) Штам *Cellulomonas 3-1 IMB B-7303*-деструктор целюлози.

LITERATURE

1. Andreyuk E.I., Valagurova E.V. Bases of ecology soil microorganisms. – Kiev: Naukiva dumka, 1992. – 223 p.
2. Salovarova V.P., Kozlov Yu.P. Ekology-biotekhnological bases of conversion vegetable substrat. –Moscow: RUDN, 2000. – 331p.
3. Dashtban, M. Fungal Bioconversion of Lignocellulosic Residues; Opportunities & Perspectives // International Journal of Biological Sciences. – 2009. – V.5. – P.578-595.
4. <http://ua.korrespondent.net/tech/science/1429255-vcheni-gribi-viroblyayut-biopalivo-shvidshe-i-efektivnishe-nizh-bakteriyi>.
5. Patent on the useful model of UA 62219 U MPK C02f 3/34 (2006.01)(54) Cultures of *Sellulomonas 3-1 IMB B-7303*-destruktor cellulose.