

БИОРАЗЛОЖЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ЛИЧИН- КАМИ *Zophobas morio*

Н.А. Березникова, магистрант гр. 9597, II курса

И.А. Матвеев, аспирант гр. 3959, II курс

Научный руководитель: И.В. Веженкова, к.б.н.

Санкт-Петербургский государственный электротехнический универси-
тет «ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина) СПбГЭТУ «ЛЭТИ»
г. Санкт-Петербург

Аннотация.

Одним из актуальных в настоящее время вопросов является проблема накопления и переработки отходов синтетических полимеров, объемы производства которых увеличиваются с каждым годом. Одним из возможных способов, изучение которого ведется в последние годы, является использование биологических объектов, способных участвовать в разложении синтетических полимеров в процессе своей жизнедеятельности. Целью работы является изучение способности личинок *Zophobas morio* к биоразложению различных видов пластика. В процессе исследования были получены бактерии, находящиеся в пищевode личинок. В статье приведены результаты по выживаемости групп личинок, питавшихся различными видами пластика, их способность к питанию различными видами синтетических полимеров, а также анализы экскрементов, проведенных методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье.

Методология.

В качестве тест-объектов при проведении исследования использовались личинки *Zophobas morio*. Такой выбор сделан в результате предварительного изучения данных личинок, который подтвердил, что указанные тест-объекты могут питаться некоторыми видами пластика, не переходя в состояние куколки в течение длительного времени. Личиночной стадии *Zophobas morio* присущ каннибализм, не зависящий от плотности популяции, в особенности при недостатке влаги, получаемой из пищи. В связи с этим личинка может перейти в состояние предкуколки и куколки только в безопасных для нее условиях.

В качестве кормовой базы использовались: пенополистирол, вспененный полиуретан, полиэтилен высокого давления, полиэтилен низкого давления, а также два вида полимера, входящего в состав солнечных панелей (поливинилфторид и этиленвинилацетат).

Личинки *Zophobas morio* были разделены на группы, для каждой из которых был предусмотрен свой рацион. Также была выбрана группа, которую кормили обычным кормом, и группа, подвергнутая голоданию. Все группы содержались в одинаковых условиях окружающей среды (температура от 20-24 °С, относительная влажность 60-80%). В течение месяца проводились наблюдения за колониями, подсчет живых особей, удаление мертвых, взвешивание живых личинок, а также взвешивание полимеров, для определения потери из массы.

По окончании эксперимента проводился отбор проб экскрементов для последующего анализа, были определены личинки, способные к питанию полимерами для выделения из их кишечника бактерий.

Чтобы проверить, способны ли личинки *Zophobas morio* преобразовывать поглощенные ими синтетические полимеры, использовался ИК-Фурье спектрофотометр «FTIR-8400 SHIMADZU». Определение спектра проводилось методом прессования таблеток с галогенидами щелочных металлов (смесь 1% образца и 99% KBr).

Для выделения бактерий из кишечника личинок применялась следующая методика. Извлечение кишечника производилось в стерильных условиях, с использованием стерильного инструмента. В качестве питательной среды был выбран питательный ГРМ-агар и среда Уриселект. Для проверки и подтверждения отсутствия воздействия бактерий из окружающей среды, на питательную среду помещалась предварительно простерилизованная снаружи личинка, с последующим наблюдением. Кишечник, извлеченный из наблюдаемых групп личинок, помещался в 0,9 % физраствор и центрифугировался, после чего производилось разведение раствора в различных концентрациях. Посев на питательные среды производился из всех концентраций, с последующим наблюдением за ростом колоний и выделением чистых культур. Последующее определение рода на данном этапе исследования проводилось путем проведения ПЦР-теста.

Результаты.

Данные, полученные в результате тридцатидневного эксперимента приведены в таблице 1. Особи в группах, питавшихся обычным кормом, в течение времени проведения эксперимента заметно увеличились в размерах, хотя в результате их смертность достигла 48 % от изначальной численности группы. Голодавшие личинки потеряли 83 % особей, для этой группы также был наиболее характерен каннибализм. Стоит отметить, что случаи поедания личинок друг другом наблюдались во всех группах.

Группы, которым в качестве корма был предоставлен вспененный полиуретан и полиэтилен низкого давления не проявили к ним интереса.

Для групп, которым в качестве корма был предоставлен пенополистирол (рис. 1) было характерно его измельчение, проделывание отверстий с построением нор, а также поглощение, уменьшение массы образца от изначального за время проведения эксперимента составило 28,2 %, при этом смертность личинок находилась на уровне групп, питавшихся обычным кормом.

В группах, питавшихся полиэтиленом высокого давления удалось добиться потери массы пластика до 50,4 %. Смертность личинок находилась на уровне групп, питавшихся обычным кормом. Личинки в данной группе обгладывали листы полиэтилена с краев, что было хорошо заметно визуально (рис. 2).

Материал, входящий в состав солнечных панелей, такой как этилевинилацетат (рис. 3), также вызвал интерес у группы личинок, которым он был предоставлен в качестве кормовой базы. Смертность среди личинок за время

эксперимента составила 64 %. Потеря массы полимера от изначальной составила 44,4%, однако стоит отметить, что такие показатели были достигнуты на 6-й день эксперимента. Дальнейшее взвешивание образца оказалось невозможным, в связи с тем, что личинки раздрабливая и поедая большие куски материала, в процессе пищеварения преобразовывали их в мелкие шарики, сравнимые с фекалиями.

Другой полимерный материал из разобранной солнечной панели – поливинилфторид, по всей видимости был загрязнен, имел стойкий химический запах и оказался токсичен для личинок *Zophobas morio*. Смертность в группах личинок, которым он был предоставлен в качестве корма достигла 96 %, при этом потеря массы пластика составила 0,6 %.

Таблица 1 – Полученные результаты

Кормовая база	Смертность личинок, %	Потеря массы личинок, %	Потеря массы полимера, %
Пенополистирол	52	50,7	28,2
Вспененный полиуретан	56	51,6	Не отмечено
Полиэтилен высокого давления	58	54,3	50,4
Полиэтилен низкого давления	58	53,6	Не отмечено
Поливинилфторид	96	95,6	0,6
Этиленвинилацетат	64	68,4	44,4
Обыкновенный корм	48	31,1	-
Голод	83	81,5	-

До эксперимента



Спустя 30 дней
после экспери-
мента



Рис. 1 -
Пенополистирол



Рис. 2 –
Полиэтилен
высокого
давления



Рис. 3 -
Этиленвинилацет
ат

На момент написания статьи анализ фекалий, при помощи инфракрасной Фурье спектроскопии, проведен для групп, питавшихся пенополистиролом. На рисунке 5 представлен полученный спектр. Отсутствие пиков поглощения на волновых числах больше 3000, а также на волновых числах 1492,8 и 1454,2 может указывать на отсутствие пенополистирола в фекалиях.

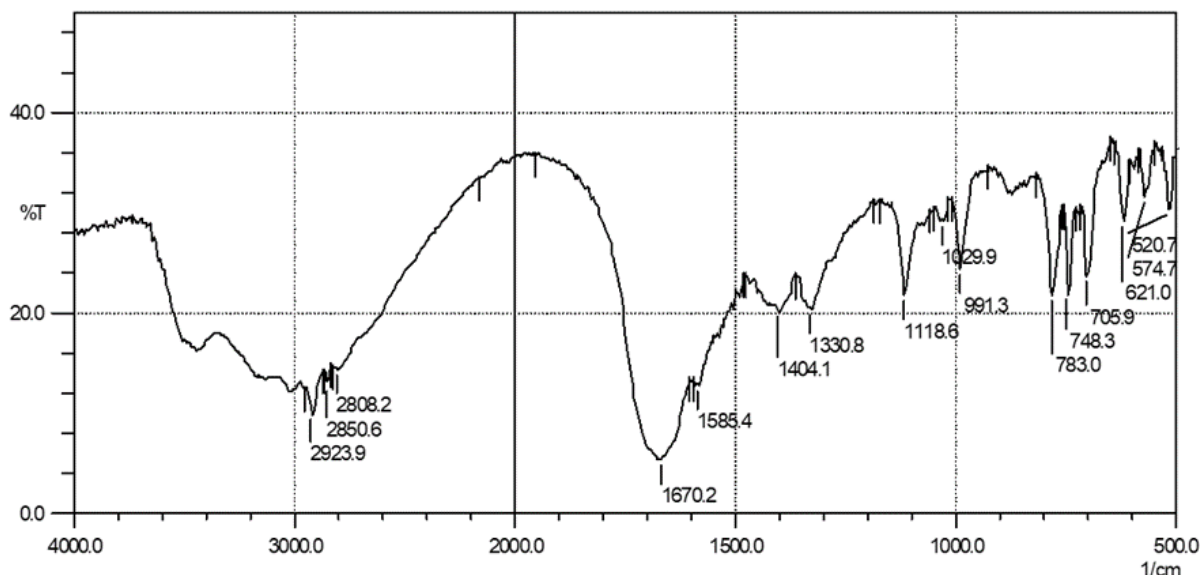


Рисунок 4 – Инфракрасный спектр экскрементов личинок, питавшихся
пенополистиролом

На момент написания статьи были получены колонии бактерий, извлеченные из кишечника личинок для дальнейшего посева и проведения ПЦР-тестов (рис. 5). Дальнейшее исследование будет проводиться путем посева бактерий на без углеродную среду, с размещением на ней фрагментов синтетических полимеров, с последующим наблюдением возможности роста и взаимодействия бактерий с материалом.

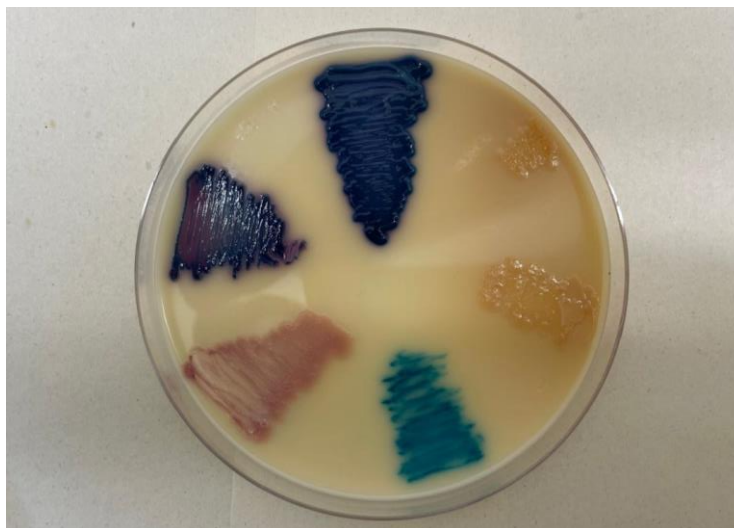


Рисунок 5 – колонии бактерий, полученных из кишечника личинок.

Выводы

Было проведено исследование возможности переработки различных видов полимерных материалов личинками *Zophobas morio*. Получены результаты, согласно которым личинки способны поглощать и переваривать эти материалы. Была выработана методика получения бактерий из кишечника личинок. Дальнейший ход исследования определен и требует продолжения.

Список литературы:

1. Elkin I. Gutierrez-Velasquez, Sergio Neves Monteiro, Henry A. Colorado/ Characterization of expanded polystyrene waste as binder and coating material/ Case Studies in Construction Materials, Volume 16, 2022.
2. Lee HM, Kim HR, Jeon E, Yu HC, Lee S, Li J, Kim D-H. Evaluation of the Biodegradation Efficiency of Four Various Types of Plastics by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from the Gut Extract of Superworms. *Microorganisms*. 2020; 8(9):1341. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091341>.
3. Low-density polyethylene sheet biodegradation by *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* larvae and metagenome studies on their gut bacteria / Octavia B., Rakhmawati A., Rachmani L., и др. // *Biodiversitas*. 2023, вып. (2) 24. С. 878–886.
4. Тарасевич Б.Н. Основы ИК спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК спектроскопии: учеб. пособие. М.: Изд-во МГУ, 2012. 22 с.
5. Insights into plastic biodegradation: community composition and functional capabilities of the superworm (*Zophobas morio*) microbiome in styrofoam feeding trials / Sun J., Prabhu A., Aroney S.T.N. и др. // *Microbial genomics*. 2022, вып. (6) 8. С. 1–19.
6. Yang Y., Wang J., Xia M. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating superworms *Zophobas atratus* // *Science of the Total Environment*. 2019, вып. 708. С. 1–24.