

Особенности применения электронной сканирующей микроскопии при изучении микробной биодegradации вспененного полистирола

Научный руководитель – Котова Ирина Борисовна

Ширинкина Людмила Игоревна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микробиологии, Москва, Россия

E-mail: lishirinkina@gmail.com

Анализ изменений поверхности позволяет на ранней стадии оценить процесс биодegradации полимеров. Для этой цели наиболее часто используют сканирующую электронную микроскопию отмытых от клеток образцов в сравнении с образцами контроля, инкубированными без участия микроорганизмов [1]. Однако исследование вспененного полистирола (ВПС) этим методом сопряжено с трудностями в связи с неустойчивостью материала к используемым в методике пробоподготовки растворителям и величине силы тока.

В нашей работе ВПС подвергали воздействию метаногенного сообщества из ила очистных сооружений пивоваренного завода, ранее адаптированного к 2-аминобензойной кислоте. Культивировали в жидкой минеральной среде [2] с замещением газовой фазы на аргон при 30°C в течение 349 сут в различных донорно-акцепторных условиях с добавлением доступных ко-субстратов.

Образцы пластика извлекали из флаконов, трижды промывали дистиллятом, помещали в 2% раствор $\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$ на 4 ч на ротационный шейкер со 160 об/мин при 30°C, после чего трижды промывали дистиллятом и сушили 24 ч в открытых чашках Петри в термостате при температуре 55°C. Образцы напыляли смесью Au-Pd при малом токе 3мА в ионно-распылительной установке Eiko IB-3 Ion Coater ("Hitachi", Япония). Анализ проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа JSM-6380LA ("Jeol", Япония) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 20 кВ в режиме регистрации вторичных электронов. Также проводили съемку образцов в нативном виде без напыления металлами с использованием сканирующего электронного микроскопа QuattroS ("Thermo Fisher Scientific", США) в режиме низкого вакуума.

Показано, что поверхность ВПС во всех опытных вариантах стала более рыхлой, рельефной по сравнению с контролем, появились неровности, трещины и отверстия. Отмечено изменение структуры ячеек материала на срезе. Напыление образцов металлами обеспечило получение снимков с более высоким разрешением. Исключение процедуры высушивания привело к появлению артефактов в виде структур неправильной формы на поверхности ВПС, вероятно, следами биопленок.

Съемка нативных образцов в режиме пониженного вакуума слабо отразила структуру поверхности образца. Получены изображения отверстий и трещин в материале, а также клеток следующих морфотипов на поверхности ВПС: кокки, коккобациллы, палочки, короткие палочки с обрубленными концами, собранные в цепочки, длинные палочки.

Изучение ранних этапов биодеструкции ВПС требует сочетания различных методов электронной микроскопии для полного охвата изменений как характеристик пластика, так и микробного сообщества, формирующегося на поверхности материала.

Источники и литература

- 1) Котова И. Б., Тактарова Ю.В., Цавкелова Е.А., Егорова М.А., Бубнов И.А., Малахова Д.В., Ширинкина Л.И., Соколова Т.Г., Бонч-Осмоловская Е.А. Микробная

деградация пластика и пути ее интенсификации // Микробиология. 2021. Т. 90. №6. С. 627-659.

- 2) Tribedi P., Sil A.K. Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm // Environ Sci Pollut Res. 2013. V. 20. P. 4146-4153.