

DOI: 10.15593/2224-9400/2018.4.08

УДК 579.69 : 67.08

А.Ю. Максимов, Ю.Г. Максимова, А.В. ШиловаПермский государственный национальный
исследовательский университет, Пермь, Россия**О.В. Колесова, Дж. Симонетти**

Римский университет Ла Сапиенца, Рим, Италия

**ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО
СОСТАВА КОРОДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ КОРООТВАЛА
Г. КРАСНОКАМСК**

*Биодеструкция отходов растительного происхождения является фундаментальным биологическим процессом круговорота органических веществ в природе, позволяющим гетеротрофам использовать полимерный органический субстрат, образуемый фотосинтезирующими макроорганизмами. Способностью к деструкции высокомолекулярных компонентов древесины обладают различные прокариоты и грибы. Несмотря на широкое распространение в природе ферментных систем, позволяющих утилизировать растительное сырье, серьезной экологической проблемой является накопление большого количества кородревесных отходов (КДО) целлюлозно-бумажной и деревообрабатывающей промышленностью. В России основными методами управления КДО являются их складирование и в меньшей степени сжигание после обезвоживания, тогда как биодеструкции КДО уделяется недостаточно внимания. Цель работы – исследование условий среды и микробиологических процессов в материале КДО, а также выделение микроорганизмов-деструкторов компонентов КДО. В ходе элементного анализа КДО с разных глубин показан дефицит биогенных элементов – источника азота в виде катиона NH_4^+ или аниона NO_3^- , источника фосфора в виде аниона PO_4^{3-} , что является вероятной причиной замедления процессов биодеструкции в глубоких слоях КДО. В поверхностных слоях КДО показано преобладание бактерий с целлюлозолитической активностью ($7,8 \times 10^8$ – $6,3 \times 10^9$ КОЕ/г) и лигнолитиков ($2,9 \times 10^8$ – $9,7 \times 10^8$ КОЕ/г), а также микромицетов *Trichoderma virida*, *Aspergillus fumigatus* и *Paecilomyces variotii*.*

Ключевые слова: биодеструкция, кородревесные отходы, микроценоз, минеральный состав, целлюлозолитические бактерии, целлюлазы.

A.Yu. Maksimov, Yu.G. Maksimova, A.V. Shilova

Perm State University, Perm, Russian Federation

O.V. Kolesova, G. Simonetti

Sapienza University of Rome, Rome, Italy

**EVALUATION OF THE PROSPECTS OF BIODEGRADATION
OF CELLULOSE-CONTAINING WASTE FROM KRASNOKAMSK
WOODWORKING ENTERPRISE (PERM REGION) BASED
ON THE STUDY OF THEIR PHYSICAL AND CHEMICAL
PROPERTIES AND MICROBIOTA**

*Biodegradation of plant waste is a fundamental biological process of the circulation of organic substances in nature, which allows heterotrophic microorganisms to use a polymer organic substrate formed by photosynthetic macroorganisms. The ability to degradation high-molecular components of wood have various prokaryotes and fungi. The accumulation of a large amount of bark and pulp wastes from the paper and woodworking industry is the serious environmental problem despite the fact that enzyme systems which could utilize raw vegetable materials are widespread in nature. The main methods of wood waste processing in Russia are storage and incineration (after dehydration), while biodegradation of wood waste is not used enough. The purpose of the work was to study the environmental conditions and microbiological processes in the wood waste material of Krasnokamsk woodworking enterprise (Perm region), as well as to isolate microorganisms which could destruct wood waste components. An elemental analysis of wood waste samples from different depths showed a deficiency of nutrients, in particular a nitrogen source in the form of NH_4^+ cation or NO_3^- anion, a source of phosphorus in the form of PO_4^{3-} anion, which is likely the reason of the low speed of biodegradation in deep layers of wood waste. The predominance of bacteria with cellulolytic activity ($7,8 \times 10^8$ CFU / g – $6,3 \times 10^9$ CFU / g) and lignolytics ($2,9 \times 10^8$ CFU / g – $9,7 \times 10^8$ CFU / g), as well as micromycetes *Trichoderma virida*, *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotia* was shown in the surface layers of the wood waste.*

Keywords: *biodegradation, bark and wood waste, microcenosis, mineral composition, cellulolytic bacteria, cellulase.*

Целлюлозно-бумажная промышленность является потенциальным источником негативного воздействия на окружающую среду из-за опасных стоков в водоемы и выбросов в атмосферу, а также складирования твердых отходов на специальных площадках. Отходы целлюлозно-бумажной промышленности (ЦБП) и лесоперерабатывающей отрасли состоят в основном из целлюлозы в виде кородревесных, обезвоженных осадков, опилок, картона, сточных вод, золы, известкового шлама и др. [1, 2].

В настоящее время предложены различные варианты утилизации твердых отходов целлюлозно-бумажной промышленности: сжигание, анаэробное/аэробное сбраживание, паровое преобразование, влажное окисление, компостирование, пиролиз, использование в качестве связующего вещества для получения топливных брикетов, удобрений, строительных материалов, корма для животных и птиц [3]. Однако в связи с высокой стоимостью, трудоемкостью работ, энергоемкостью процессов утилизации предложенные технологии не нашли широкого применения [3–9].

В России основными методами утилизации твердых отходов целлюлозно-бумажной промышленности являются их складирование вблизи очистных сооружений, вывоз в карьеры, овраги, низины, шлакоотстойники и сжигание после обезвоживания и уплотнения [3, 10]. В случае размещения отходов в отвалах, шламоотстойниках, полигонах в естественных анаэробных условиях для его полного разложения и превращения в перегной требуются многие десятилетия [11]. К сожалению, несмотря на то, что анаэробные природные процессы имеют комплексную природу и происходят под воздействием сложного консорциума микроорганизмов, способных производить ферменты, необходимые для разрушения полимерных субстратов, процессы биodeградации целлюлозы на местах складирования идут достаточно медленно и неэффективно, поскольку отвалы представляют собой обедненную питательную среду для популяций микроорганизмов [1]. На данный момент в России остро стоит проблема переработки отходов целлюлозно-бумажной промышленности поскольку объемы производства бумаги постоянно растут.

Короотвалы Пермского края существуют более полувека. Отходы окорки в незначительных количествах используются для сжигания и в сельском хозяйстве [12]. Основную же их массу вывозят в отвалы, загрязняющие водные бассейны экстрактивными веществами и продуктами распада коры. В сухом виде эти отходы в отвалах представляют большую пожарную опасность для близлежащих строений и лесных массивов [3, 13].

В настоящее время перспективными являются биотехнологические методы переработки отходов целлюлозно-бумажной промышленности, основанные на использовании процессов биокатализа и биотрансформации. Культурами, которые могут перерабатывать компоненты отходов целлюлозно-бумажной промышленности, являются

грибы микромицеты, продуцирующие внеклеточные ферменты, разлагающие растительные биополимеры (целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин, гуминовые вещества) [14, 15], так и различные метаболиты растений и ксенобиотики [16]. Также могут быть использованы различные бактериальные культуры – биодеструкторы растительных компонентов и культуры червей *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei*, *Eudrilus eugeniae*, *Perionyx excavates*, *Perionyx sansibaricus* [17, 18]. Продукт, получаемый в процессе вермипереработки из органических отходов – вермикомпост или биогумус, подвергается физико-химической, биологической и микробиологической трансформации в кишечнике червей приобретают зернистую структуру [3, 19, 20]. Однако данные технологии находятся еще в стадии разработки и пока не достигли масштабного применения.

Крупнейшими и проблемными объектами на территории Пермского края являются короотвалы Краснокамского и Пермского ЦБК. В частности, наиболее остро проблема стоит в г. Краснокамск, где короотвал размещен в городской черте и занимает площадь 22,3 га. На данном объекте ранее периодически возникали пожары, ухудшавшие экологическую ситуацию в г. Краснокамск и, частично, в Кировском районе г. Перми сильным задымлением. Начиная с периода ликвидации государственного предприятия «Камский ЦБК» (2005 г.) бремя ликвидации аварийных ситуаций, связанных с горением опасных отходов, лежит на органах местного самоуправления Краснокамского муниципального района. Земельный участок под короотвалом, расположенный в прибрежной полосе р. Кама и р. М.Ласва, в 2015 г. территориальным управлением Росимущество по Пермскому краю передан на баланс администрации г. Краснокамск.

Проблема ликвидации короотвала, переработки накопленных на данном объекте кородревесных отходов (КДО) остается не решенной уже многие годы.

Настоящая работа посвящена поисковым исследованиям, направленным на разработку комплексного метода переработки отходов целлюлозно-бумажной промышленности Краснокамского короотвала. На первом его этапе был отобран материал короотвала на всех глубинах, проанализирован минеральный состав, влажность и кислотность, а также исследована аэробная микрофлора поверхностных слоев КДО, наиболее перспективная для биотехнологического использования.

Экспериментальная часть. Для анализа состава материала бурение и отбор проб проводили с использованием шнековой буровой

установки с диаметром шнека 150 мм. Бурение проведено в мае 2018 г. в количестве 6 скважин, расположенных в точках короотвала в г. Краснокамск, отмеченных на рис. 1, до достижения природного грунта или плотного основания. Максимальная зафиксированная мощность короотвала (глубина слоев КДО до достижения грунтовой основы) составляла 19 м. Образцы КДО в количестве 1–2 кг были отобраны с глубин 10, 30, 50, 100 см, а далее с шагом в 50 см. Точные координаты скважин определены по GPS-навигатору и уточнены с помощью сервиса Google Maps (<https://www.google.ru/maps>).



Рис. 1. Краснокамский короотвал: места бурения скважин и отбора проб.
Координаты скважин: 1 – 58.063098, 55.794266; 2 – 58.062399, 55.793302;
3 – 58.064288, 55.793371; 4 – 58.065694, 55.794222; 5 – 58.064338 55.795787;
6 – 58.062481 55.797394

Для химического анализа брали материал из внутренних частей проб. Кислотность, содержание карбоната и гидрокарбоната определяли в соответствии с ГОСТ 26423–85. Анализ хлоридов, сульфатов, фосфатов и нитратов проводили в соответствии с ПНДФ 16.1:2:2.3:2.2.69–10. Анализ катионного состава проводили в соответствии с ПНДФ 16.1:2:2.2:2.3.74–2012. Ионный состав анализировали с помощью системы капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ-105М» с автосемплером, в соответствии с руководством производителя.

Для микробиологического анализа аэробной микрофлоры отбирали материал отдельно, асептически, из верхних слоев КДО, с глубин 10, 30 и 50 см.

Выделение культур из образцов короотвала было произведено методом почвенных разведений Ваксмана, заключающихся в посеве почвенной суспензии на питательные среды. Определение количества плесневых грибов проводили следующим образом: брали навеску почвы массой 10,0 г, переносили в стерильную колбу, содержащую 90 мл стерильной воды, и в течение 5 мин встряхивали. Далее 1 мл суспензии переносили из колбы в стерильную пробирку с 9 мл стерильной воды и слегка встряхивали. Таким же образом 1 мл суспензии переносили из этой пробирки в следующую и т.д. Далее 1,0 мл приготовленного раствора (разведения 10^3 , 10^4) высевали на чашки Петри с питательными средами.

Для выделения культур бактерий, обладающих способностью к биодеструкции, использовали минеральную среду N следующего состава, г/л: K_2HPO_4 – 1,0; KH_2PO_4 – 1,0; NaCl – 0,5. В среду добавляли раствор микроэлементов, г/л: $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,5; $CaCl_2$ – 0,005; $CoCl_2 \times 6H_2O$ – 0,01; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,005 [21]. В качестве источника азота использовали хлористый аммоний в конечной концентрации 10 мМ. В качестве углеродных субстратов добавляли 1 % целлюлозы, 1 % карбоксиметилцеллюлозы или 1 % лигнина. Определение количества микромицетов проводили двуслойно-агаровым методом, заливали расплавленной и остуженной до $(40 \pm 5)^\circ C$ агаризированной средой Сабуро и агаризированной средой Чапека.

Культивировали в термостате при $30^\circ C$. Учет колоний проводили через 24, 48 и 72 ч, а для грибов также через 5 сут. Идентификацию бактерий проводили методами полифазной таксономии. Выросшие колонии микромицетов определяли с использованием современных микробиологических определителей методом микроскопирования (Leica LM DS, Германия) и идентификацией до рода, вида.

Определение целлюлазной активности проводили по образованию зон просветления методом с карбоксиметилцеллюлозой и Конго красным [22].

Результаты и их обсуждение. Проведено исследование толщи короотвала Краснокамского ЦБК Пермского края с использованием шнековой буровой установки. Ранее предполагалось, что материал кородревесных отходов отвала средней мощности способен полностью гумифицироваться с образованием грунтоподобных образований в те-

чение нескольких десятков лет. В таком случае нижние слои короотвала такого возраста должны быть уже в высокой степени переработаны. Однако такие выводы делались на основе наблюдения за наружным слоем кородревесных отвалов и экспериментов, основанных на внесении КДО в увлажняемую почву. Практически не исследовалась степень биологической деструкции глубинного материала короотвалов.

В результате исследования установлено, что материал верхних слоев глубиной от 1 до 8 м является относительно однородным, рыхлым, с более низким содержанием влаги. В теле короотвала на глубинах от 8,5 до 11 м (для разных скважин) наблюдается нахождение водоносных пластов, а материал с глубин порядка 18 м был полностью обводнен. Карбонизация материала наблюдалась почти по всей глубине короотвала: от 0,5–1 м и ниже. Однако грунтоподобного материала и слоев с полностью гумифицированной твердой фазой не было обнаружено ни в одной из скважин. Во всех случаях наблюдалось сохранение структуры древесных отходов. Проведенные исследования показали, что природные процессы биодеструкции в реальных условиях, особенно в обводненных пластах, идут значительно медленнее, чем предполагалось ранее. В частности, часть материала слоя короотвала возрастом более 50 лет, поднятого из скважины с глубины 18 м, в условиях обводнения была менее чем даже верхние слои подвержена разрушению, сохраняла природную структуру, прочностные характеристики и светлый желтоватый цвет древесины (рис. 2).



Рис. 2. Материал КДО, отобранный из обводненных слоев с глубины 18 м

Такое состояние данных слоев свидетельствует о том, что материал был максимально обводнен уже на момент начала складирования КДО, вероятно, он сваливался в низины и был затоплен. Степень его

сохранности свидетельствует о глубоком торможении процессов биодеструкции КДО в условиях сильного обводнения и отсутствия кислорода. Отсутствие существенных следов анаэробных процессов биодеструкции, а также абиотического восстановления и карбонизации может быть обусловлено уплотнением и полной герметизацией материала в таких условиях и отсутствием притока окислителей и восстановителей – кислорода, соединений металлов переменной валентности и серы.

Таким образом, очевидно, что полная интенсификация природных процессов биодеструкции КДО является актуальной задачей. Изучив мировой опыт, можно сказать, что решением данной задачи является комбинация микробиологических и технологических подходов:

- оптимизация минерального состава и кислотности среды в пластах КДО;
- интенсификация массообменных процессов, включая принудительную аэрацию и увлажнение;
- применение микроорганизмов-биодеструкторов целлюлозы, гемицеллюлозы, лигнина, смолистых веществ и др.;
- применение микроорганизмов-деструкторов интермедиатов, ингибирующих процессы утилизации и гумификации КДО;
- создание искусственных сообществ биодеструкторов.

Анализ образцов проб короотвала показал, что материал, извлеченный с глубины до 1,5 м, демонстрирует слабокислые значения рН в диапазоне 5,5–6,9, что, очевидно, связано с протеканием аэробных микробиологических процессов, сопровождающихся закислением (табл. 1). Материал с глубин 1,5–2,5 м показал нейтральные значения рН, а с глубин 3 м и более имеет кислотность среды в диапазоне от 7,3 до 8,1 (среднее 7,8).

Таблица 1

Содержание анионов в образцах короотвала

| Номер образца | Глубина, м | Влажность, % | рН водной вытяжки | Содержание, мг/кг | | | | | |
|---------------|------------|--------------|-------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|------------------------------|-------------------------------|
| | | | | CO ₃ ²⁻ | HCO ₃ ⁻ | SO ₄ ²⁻ | Cl ⁻ | NO ₃ ⁻ | PO ₄ ³⁻ |
| 3-1-1 | 0,1 | 65,7 | 6,95 | <0,6 | 853,6 | 144,6 | 142,3 | <3 | <3 |
| 3-1-2 | 1 | 69,7 | 5,97 | <0,6 | 724,8 | 139,3 | 143,9 | <3 | <3 |
| 3-2-2 | 2 | 65,6 | 7,19 | <0,6 | 993,0 | 91,3 | 104,7 | 9,9 | <3 |
| 3-3-2 | 3 | 69,3 | 7,29 | <0,6 | 794,8 | 48,2 | 59,3 | <3 | <3 |
| 3-4-2 | 4 | 69,3 | 7,70 | <0,6 | 953,7 | 52,8 | 77,5 | <3 | <3 |
| 3-5-2 | 5 | 76,4 | 8,10 | <0,6 | 1654,2 | 67,8 | 174,6 | <3 | <3 |

Окончание табл. 1

| Номер образца | Глубина, м | Влажность, % | рН водной вытяжки | Содержание, мг/кг | | | | | |
|---------------|------------|--------------|-------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------|------------------------------|-------------------------------|
| | | | | CO ₃ ²⁻ | HCO ₃ ⁻ | SO ₄ ²⁻ | СГ | NO ₃ ⁻ | PO ₄ ³⁻ |
| 3-6-2 | 6 | 80,7 | 7,90 | <0,6 | 1517,1 | 62,2 | 229,0 | <3 | <3 |
| 3-7-1 | 7 | 73,9 | 8,03 | <0,6 | 3365,5 | 162,5 | 164,0 | <3 | <3 |
| 3-8-2 | 8 | 65,0 | 7,83 | <0,6 | 836,6 | 22,9 | 144,0 | <3 | <3 |
| 3-9 | 9 | 76,5 | 7,82 | <0,6 | 2076,6 | 17,9 | 240,9 | <3 | <3 |
| 3-10-2 | 10 | 77,9 | 7,83 | <0,6 | 3091,4 | 115,8 | 276,0 | <3 | <3 |
| 3-11-2 | 11 | 75,9 | 7,92 | <0,6 | 1619,9 | 26,6 | 226,6 | <3 | <3 |
| 3-12-2 | 12 | 84,5 | 7,73 | <0,6 | 3778,1 | 36,1 | 360,0 | <3 | <3 |
| 3-13-2 | 13 | 82,1 | 8,0 | <0,6 | 4089,4 | 41,3 | 587,7 | <3 | <3 |
| 3-14-2 | 14 | 87,1 | 7,75 | <0,6 | 4917,8 | 32,6 | 342,6 | <3 | <3 |
| 3-15-2 | 15 | 78,3 | 7,65 | <0,6 | 3148,4 | 30,4 | 224,0 | <3 | <3 |
| 3-16-2 | 16 | 81,6 | 7,9 | <0,6 | 3182,6 | <3 | 357,6 | <3 | <3 |
| 3-17-2 | 17 | 80,9 | 7,73 | <0,6 | 4598,9 | 48,2 | 271,2 | <3 | <3 |
| 3-18-2 | 18 | 80,5 | 7,71 | <0,6 | 3778,1 | 36,1 | 263,5 | <3 | <3 |

Установлено, что в составе КДО содержится достаточное количество катионов металлов для развития микрофлоры, однако наблюдается дефицит азота (табл. 2).

Таблица 2

Содержание катионов в образцах короотвала

| Номер образца | Глубина, м | Содержание, мг/кг | | | | | | |
|---------------|------------|-------------------|---------------|------------------|------------------|-----------------|----------------|------------------------------|
| | | Сухой остаток | Минерализация | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | Na ⁺ | K ⁺ | NH ₄ ⁺ |
| 3-1-1 | 0,1 | 1152 | 1577 | 212,8 | 43,7 | 108,5 | 49,9 | 22,2 |
| 3-1-2 | 1 | 1056 | 1419 | 202,0 | 48,8 | 116,8 | 42,9 | <2 |
| 3-2-2 | 2 | 1148 | 1645 | 160,5 | 42,4 | 102,9 | 110,5 | 30,2 |
| 3-3-2 | 3 | 840 | 1238 | 132,2 | 32,6 | 71,7 | 99,7 | <2 |
| 3-4-2 | 4 | 1029 | 1508 | 138,1 | 33,2 | 90,9 | 160,3 | <2 |
| 3-5-2 | 5 | 1843 | 2669 | 210,2 | 53,4 | 207,6 | 298,3 | <2 |
| 3-6-2 | 6 | 1938 | 2694 | 215,0 | 54,9 | 249,7 | 365,8 | <2 |
| 3-7-1 | 7 | 3349 | 5034 | 541,8 | 109,6 | 272,0 | 406,9 | 10,7 |
| 3-8-2 | 8 | 1040 | 1457 | 101,7 | 26,3 | 142,3 | 184,0 | <2 |
| 3-9-2 | 9 | 2166 | 3204 | 302,1 | 72,3 | 212,8 | 265,5 | 14,5 |
| 3-10-2 | 10 | 3190 | 4737,6 | 615,4 | 114,0 | 218,1 | 305,9 | <2 |
| 3-11-2 | 11 | 1764 | 2573 | 241,5 | 54,8 | 176,8 | 214,9 | 12,4 |
| 3-12-2 | 12 | 3710 | 5594 | 616,1 | 131,6 | 277,4 | 363,9 | 32,3 |
| 3-13-2 | 13 | 4430 | 6475 | 710,6 | 186,6 | 450,3 | 365,4 | 41,3 |
| 3-14-2 | 14 | 4682 | 7139 | 779,8 | 162,8 | 381,4 | 522,5 | <2 |
| 3-15-2 | 15 | 3005 | 4581 | 541,9 | 108,8 | 219,8 | 288,0 | 18,4 |
| 3-16-2 | 16 | 3255 | 4848 | 480,4 | 106,5 | 320,7 | 386,9 | 10,9 |
| 3-17-2 | 17 | 4314 | 6613 | 912,0 | 158,6 | 272,3 | 325,9 | <2 |
| 3-18-2 | 18 | 4183 | 5847 | 785,2 | 148,8 | 294,6 | 345,2 | 5,6 |

Проведен микробиологический анализ образцов КДО. На данном этапе исследовали только аэробную активно функционирующую микрофлору, поэтому высевы проводили только из поверхностных слоев короотвала, отобранных с глубины 10, 30 и 100 см. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Микробиологическая характеристика образцов КДО

| Показатель | Образец | | |
|--|---------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 |
| Глубина забора, см | 10 | 30 | 50 |
| Количество аэробных гетеротрофов, КОЕ/г | 6,8E+10 | 3,3E+10 | 9,2E+09 |
| Количество <i>Bacillus</i> sp., КОЕ/г | 9,7E+02 | 9,1E+02 | 1,1E+03 |
| Количество целлюлозолитических бактерий, КОЕ/г | 6,3E+09 | 2,0E+09 | 7,8E+08 |
| Количество лигнинолитических бактерий, КОЕ/г | 9,7E+08 | 9,0E+08 | 2,9E+08 |
| Количество стрептомицетов, КОЕ/г | 1,9E+06 | 3,3E+06 | 7,8E+06 |
| Количество микромицетов, КОЕ/г | 1,4E+06 | 4,8 E+05 | 5,2 E+05 |

Объектами исследования являлись культуры, выделенные на минеральной среде N с pH 7,5 [3] с карбоксиметилцеллюлозой и целлюлозой или лигнином в качестве селективных субстратов, способные к росту в аэробных условиях. Для подсчета бактерий-биодеструкторов выделение проводили методом прямого посева.

В исследуемых образцах обнаружено высокое количество бактерий, обладающих целлюлозолитической активностью ($7,8 \times 10^8$ – $6,3 \times 10^9$ КОЕ/г), и лигнолитиков ($2,9 \times 10^8$ – $9,7 \times 10^8$ КОЕ/г).

В результате проведенного отбора изолировано 12 культур прокариотов родов *Streptomyces* и *Cellulomonas*, проявляющих высокую целлюлозолитическую активность, а также 8 культур с высокой лигнинолитической активностью, представляющих интерес для формирования сообществ. Также выделены культуры микромицетов, обладающие целлюлозо- и лигнолитической активностью, определенные как *Trichoderma virida*, *Aspergillus fumigatus* и *Paecilomyces variotii*.

Таким образом, на данном этапе исследований проведен ионный и элементный анализ различных слоев КДО и показана нехватка источника азота в виде катиона NH_4^+ и аниона NO_3^- , а также источника фосфора в виде аниона PO_4^{3-} . Лимитирование данных биогенных элементов приводит к подавлению развития микрофлоры и, как следствие, к отсутствию биодеструкции в глубоких слоях КДО. Следующим эта-

пом работы планируется оптимизация среды с помощью микродобавок источника фосфора, азота и микроэлементов, количество которых в КДО недостаточно для активного развития биодеструкторов.

Работа выполнена в рамках проекта МИГ, финансируемого Министерством образования и науки Пермского края, соглашение № С-26/796 от 21.12.2017.

Список литературы

1. Bayer E.A., Lamed R., Himmel M.E. The potential of cellulases and cellulosomes for cellulosic waste management // *Current opinion in Biotechnology*. – 2007. – № 18 (3). – P. 237–245.
2. Использование биокаталитических процессов лигниноцеллюлозного действия для комплексной переработки отходов целлюлозно-бумажной промышленности. Фундаментальные и прикладные аспекты / О.В. Королева [и др.] // *Современные проблемы науки и образования*. – 2013. – № 5. – С. 474–474.
3. Воробьева Д.Н. Оценка потенциального плодородия субстратов из твердых отходов целлюлозно-бумажной промышленности для использования в лесовыращивании: дис. ... канд. биол. наук. – М., 2015. – 202 с.
4. Huang M., Plocek J., Novotny M.V. Hydrolytically stable cellulose derivative coatings for capillary electrophoresis of peptides, proteins and glycol-conjugates // *Electrophoresis*. – 1995. – № 16 (1). – P. 396–401.
5. McKay G. Dioxin characterisation, formation and minimisation during municipal solid waste (MSW) incineration // *Chemical Engineering Journal*. – 2002. – № 86 (3). – P. 343–368.
6. Шувалов Ю.В., Нифонтов Ю.А. О переработке древесных отходов в Северо-Западном регионе // *Энергия: экономика, техника, экология*. – 2002. – № 12. – С. 36–39.
7. Dioxin emissions from a solid waste incinerator and risk of non-Hodgkin lymphoma / N. Floret [et al.] // *Epidemiology*. – 2003. – P. 392–398.
8. Крылов В.А. Решение экологических проблем – переработка короотвалов ЦБК и других древесных отходов в твердое биотопливо // *Возобновляемая энергетика на Северо-Западе России: сб. докл. междунар. конгр. «Дни чистой энергии в Петербурге – 2010»*. – СПб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2010. – 144 с.
9. Anaerobic digestion of pulp and paper mill wastes—An overview of the developments and improvement opportunities / M. Kamali [et al.] // *Chemical Engineering Journal*. – 2016. – № 298. – P. 162–182.
10. Структурные изменения льняной целлюлозы при обработке водно-спиртовыми растворами щелочи / М.И. Воронова [и др.] // *Химические волокна*. – 2006. – № 3. – С. 23–26.

11. Оптимизация почвенно-биотического комплекса виноградных школок на основе обработки грибами арбускулярной микоризы / А.П. Юрков [и др.] // Научные труды Государственного научного учреждения Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2013. – № 3. – С. 116–121.
12. Никишов В.Д. Комплексное использование древесины: учеб. – М.: Лесная пром-сть, 1985. – 264 с.
13. Беседина И.Н., Симкин Ю.Я., Петров В.С. Получение углеродных материалов из отходов окорки лиственницы сибирской. Получение активных углей // Химия растительного сырья. – 2002. – № 2. – С. 80–91.
14. Coulibaly L., Gourene G., Agathos N.S. Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters // African Journal of Biotechnology. – 2003. – № 2 (12). – P. 620–630.
15. Sanchez C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi // Biotechnology advances – 2009. – №. 27 (2). – P. 185–194.
16. Анализ технологических аспектов образования отходов на предприятиях целлюлозно-бумажной промышленности / О.Н. Курило [и др.] // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Урбанистика. – 2013. – № 4 (12). – С. 97–108.
17. Effects of vermicomposts produced from cattle manure, food waste and paper waste on the growth and yield of peppers in the field / N.Q. Arancon [et al.] // Pedobiologia. – 2005. – № 49 (4). – P. 297–306.
18. Sonowal P., Khwairakpam M., Kalamdhad A. S. Stability analysis of dewatered sludge of pulp and paper mill during vermicomposting // Waste and Biomass Valorization. – 2014. – Vol. 5, № 5 (1). – P. 19–26.
19. Мельник И.А., Гуцуляк В.Д. Биогуmus и урожай овощей // Химия в сельском хозяйстве. – 1994. – № 4. – С. 15.
20. Куприченков М.Т., Антонова Т.Н., Головинов А.А. Гуmus, фосфор и калий в агрогенных почвах Предкавказья // Почвоведение. – 2001. – № 6. – С. 670–674.
21. Максимов А.Ю. Влияние нитрилов и амидов на рост и нитрилгидратазную активность штамма *Rhodococcus* sp. gt1 // Прикладная биохимия и микробиология. – 2003. – № 1. – С. 63–68.
22. Carder J.H. Detection and quantitation of cellulase by Congo red staining of substrates in a cup-plate diffusion assay // Anal. Biochem. – 1986. – Vol. 153. – P. 75–79.

References

1. Bayer E.A., Lamed R., Himmel M.E. The potential of cellulases and cellulosomes for cellulosic waste management. *Current opinion in Biotechnology*, 2007, no. 18 (3), pp. 237-245.

2. Koroleva O.V. et al. Ispol'zovanie biokataliticheskikh processov ligninocelljuloznogo dejstvija dlja kompleksnoj pererabotki othodov celljulozno-bumazhnoj promyshlennosti. Fundamental'nye i prikladnye aspekty [Use of biocatalytic processes of lignin-cellulose action for complex processing of wastes from the pulp and paper industry. Fundamental and Applied Aspects]. *Modern problems of science and education*, 2013, no. 5, pp. 474-474.

3. Vorobyeva D.N. Ocenka potencial'nogo plodorodija substratov iz tverdyh othodov celljulozno-bumazhnoj promyshlennosti dlja ispol'zovanija v lesovyra-shhivanii [Assessment of the potential fertility of substrates from solid wastes of the pulp and paper industry for use in forestry]. Abstract of Ph. D. thesis. Moscow, 2015, 202 p.

4. Huang M., Plocek J., Novotny M.V. Hydrolytically stable cellulose derivative coatings for capillary electrophoresis of peptides, proteins and glycol-conjugates. *Electrophoresis*, 1995, no. 16 (1), pp. 396-401.

5. McKay G. Dioxin characterisation, formation and minimisation during municipal solid waste (MSW) incineration. *Chemical Engineering Journal*, 2002, no. 86 (3), pp. 343-368.

6. Shuvalov Yu.V., Nifontov Yu.A. O pererabotke drevesnyh othodov v Severo-Zapadnom regione [About recycling of wood waste in the North-West region]. *Energy: economics, technology, ecology*, 2002, no. 12, pp. 36-39.

7. Floret N. et al. Dioxin emissions from a solid waste incinerator and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Epidemiology*, 2003, pp. 392-398.

8. Krylov V.A. Reshenie jekologicheskikh problem – pererabotka korootvalov CBK i drugih drevesnyh othodov v tverdoe biotoplivo [Solution of environmental problems – processing of dump sites PPM and other wood wastes into solid biofuel]. Renewable energy in the North-West of Russia: Collection of reports of the International Congress "Clean Energy Days in St. Petersburg – 2010" – St. Petersburg: Publishing house Polytechnic. University, 2010. – 144 p.

9. Kamali M. et al. Anaerobic digestion of pulp and paper mill wastes—An overview of the developments and improvement opportunities. *Chemical Engineering Journal*, 2016, no. 298, pp. 162-182.

10. Voronova M.I., et al. Strukturnye izmenenija l'njanoj celljulozy pri obrabotke vodno-spirtovyymi rastvorami shhelochi [Structural changes in linseed cellulose when treated with aqueous-alcoholic alkali solutions]. *Chemical Fibers*, 2006, no. 3, pp. 23-26.

11. Yurkov A.P. et al. Optimizacija pochvenno-bioticheskogo kompleksa vinogradnyh shkolok na osnove obrabotki gribami arbuskuljarnoj mikorizy [Optimization of the soil-biotic complex of grape-based schools based on the treatment of mycorrhizal fungi] *Scientific Works of the State Scientific Institution of the North Caucasian Zonal Research Institute of Horticulture and Viticulture of the Russian Academy of Agricultural Sciences*, 2013, no. 3, pp. 116-121.

12. Nikishov V.D. Kompleksnoe ispol'zovanie drevesiny [Complex use of wood]. *Forest industry*, 1985. 264 p.
13. Besedina I.N., Simkin Yu.Ya., Petrov V.S. Poluchenie uglerodnyh materialov iz othodov okorki listvennicy sibirskoj. Poluchenie aktivnyh uglej [Receiving of carbon materials from waste of debarking of Siberian larch. Acquisition of active coals]. *Chemistry of plant raw materials*, 2002, no. 2, pp. 80-91.
14. Coulibaly L., Gourene G., Agathos N.S. Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters. *African Journal of Biotechnology*, 2003, 2 (12), pp. 620-630.
15. Sanchez C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology advances*, 2009, no. 27 (2), pp. 185-194.
16. Kurilo O.N. et al. Analiz tehnologicheskikh aspektov obrazovaniya othodov na predpriyatijah celljulozno- bumazhnoj promyshlennosti [Analysis of the technological aspects of waste generation at the pulp and paper industry]. *Vestnik PNIPU. Urbanistics*, 2013, no. 4 (12), pp. 97-108.
17. Arancon N.Q. et al. Effects of vermicomposts produced from cattle manure, food waste and paper waste on the growth and yield of peppers in the field. *Pedobiologia*, 2005, no. 49 (4), pp. 297-306.
18. Sonowal P., Khwairakpam M., Kalamdhad A.S. Stability analysis of dewatered sludge of pulp and paper mill during vermicomposting. *Waste and Biomass Valorization*, 2014, no. 5 (1), pp. 19-26.
19. Melnik I.A., Gutsulyak V.D. Biogumus i urozhaj ovoshhej [Biohumus and Vegetable Harvest]. *Chemistry in Agriculture*, 1994, no. 4, pp. 15.
20. Kuprichchenkov M.T., Antonova T.N., Golovinov A.A. Gumus, fosfor i kalij v agrogenykh pochvah Predkavkaz'ja [Humus, phosphorus and potassium in agrogenic soils of Ciscaucasia]. *Pochvovedenie*, 2001, no. 6, pp. 670-674.
21. Maksimov A.Yu. Vliyanie nitrilov i amidov na rost i nitrilgidrataznuju aktivnost' shtamma *Rhodococcus* sp. gt1 [Effects of Nitriles and Amides on the Growth and Nitrile Hydratase Activity of the *Rhodococcus* sp. Strain gt1]. *Applied biochemistry and microbiology*, 2003, no. 1, pp. 63-68.
22. Carder J.H. Detection and quantitation of cellulase by Congo red staining of substrates in a cup-plate diffusion assay. *Anal. Biochem.*, 1986, vol. 153, pp. 75-79.

Получено 19.10.2018

Об авторах

Максимов Александр Юрьевич (Пермь, Россия) – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и иммунологии Пермского государственного национального исследовательского университета (614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15; e-mail: almaks1@mail.ru).

Максимова Юлия Геннадьевна (Пермь, Россия) – доктор биологических наук, доцент кафедры микробиологии и иммунологии Пермского государственного национального исследовательского университета (614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15; e-mail: maks@iegm.ru).

Шилова Анна Владимировна (Пермь, Россия) – инженер лаборатории микробных и клеточных биотехнологий Пермского государственного национального исследовательского университета (614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15; e-mail: anechka_shilova@mail.ru).

Колесова Ольга Владиславовна (Рим, Италия) – аспирант кафедры инфекционных заболеваний, микробиологии и общественного здравоохранения Римского университета Ла Сапиенца (00185, г. Рим, площадь Альдо Моро, 5; e-mail: kolesova1439@gmail.com).

Джованна Симонетти (Рим, Италия) – доцент кафедры инфекционных заболеваний, микробиологии и общественного здравоохранения Римского университета Ла Сапиенца (00185, г. Рим, площадь Альдо Моро, 5; e-mail: giovanna.simonetti@uniroma1.it).

About the authors

Yulia G. Maksimova (Perm, Russian Federation) – Doctor of Biological Sciences, assistant professor, Department of Microbiology and Immunology, Perm State University (15, Bukirev str., Perm, 614990; e-mail: maks@iegm.ru).

Aleksandr Yu. Maksimov (Perm, Russian Federation) – Ph.D. of Chemical Sciences, Assistant Professor, Department of Microbiology and Immunology, Perm State University (15, Bukirev str., Perm, 614990; e-mail: almaks1@mail.ru).

Anna V. Shilova (Perm, Russian Federation) – Engineer of Laboratory of Microbial and Cellular Biotechnologies of Perm State University (15, Bukirev str., Perm, 614990; e-mail: anechka_shilova@mail.ru).

Olga V. Kolesova (Rome, Italy) – Postgraduate student, Department of Infectious Diseases, Microbiology and Public Health, Sapienza University of Rome (5, Piazzale Aldo Moro, Rome, 00185; e-mail: kolesova1439@gmail.com).

Giovanna Simonetti (Rome, Italy) – Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Microbiology and Public Health, Sapienza University of Rome (5, Piazzale Aldo Moro, Rome, 00185; e-mail: giovanna.simonetti@uniroma1.it).