

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующая кафедрой

_____ Т. Г. Волова

подпись

«___» _____ 20__ г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

код – наименование направления

Исследование влияния триацетина в качестве пластификатора на свойства
пленок на основе поли(3-гидроксибутирата)

тема

Руководитель _____ доцент, канд. биол. наук А.В. Демиденко
подпись, дата должность, ученая степень

Выпускник _____ К.А. Носирова
подпись, дата

Красноярск 2021

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	5
1.1. Экологическая проблема загрязнения окружающей среды пластиком	5
1.2. Материалы, используемые для получения биodeградируемой упаковки.	8
1.3. Использование пластификаторов для улучшения физико-химических свойств ПГА	13
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	17
2.1. Материалы исследования	17
2.2. Получение полимерных пленок	17
2.3. Исследование свойств полученных образцов полимерных пластифицированных пленок	17
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	21
3.1. Исследование полимерных пленок на основе П(ЗГБ) и ТАГ	21
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	29
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	30
ПРИЛОЖЕНИЕ А	33

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение планеты синтетическим пластиком в настоящее время является одной из главных проблем современности. Ни один из видов существующих пластмасс не поддаётся биологическому разложению, в результате чего накапливается в окружающей среде. Пластиковый мусор был обнаружен во всех океанских бассейнах, пресноводных системах и наземных местообитаниях. Существующие в настоящее время методы по утилизации пластиковых отходов не способны решить данную проблему в достаточной мере, именно поэтому необходим поиск новых путей решения, одним из которых является получение и исследование биоразлагаемых пластиков, способных составить альтернативу синтетическим полимерам. Широкое распространение биоразрушаемых полимеров (коллагена, целлюлозы, хитина, полилактида, полигидроксиалканоаты) ограничено их хрупкостью, что привело к исследованиям по добавлению пластификаторов в полимеры для последующего применения, как в промышленности, так и в медицине. Перспективными биоразлагаемыми полимерами являются полигидроксиалканоаты (ПГА) – термопластичные разрушаемые линейные полиэфиры микробиологического происхождения, получаемые методом прямой ферментации. Помимо термопластичности эти полимеры обладают оптической активностью, антиоксидантными свойствами, пьезоэлектрическим эффектом и, самое главное, являются биоразрушаемыми и биосовместимыми. Наиболее распространенным и охарактеризованным среди ПГА является поли-3-гидроксibuтират (ПЗГБ). Однако пленки из ПЗГБ, получаются крайне жесткими и хрупкими, что является недостатком для их использования в качестве упаковки. Большинство пластификаторов, используемых при переработке синтетических полимеров, не подходят для ПЗГБ, поэтому необходим поиск биоразлагаемых соединений.

Цель данной работы – получение и исследование пленок на основе поли-3-гидроксibuтирата с триацетином.

Согласно цели, были поставлены следующие задачи:

1. Методом полива раствора с последующим испарением растворителя получить и исследовать полимерные пленки на основе П(ЗГБ) и триацетина.
2. Исследовать свойства поверхности и физико-механические характеристики полученных пленок.
3. Исследовать деградацию полученных полимерных плёнок с различным содержанием пластификатора в почве с определением микрофлоры

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Экологическая проблема загрязнения окружающей среды пластиком

Мир без пластмасс, или синтетических органических полимеров, кажется невообразимым сегодня. Быстрый рост производства пластмасс с середины XX века является экстраординарным, превосходящим большинство других искусственных материалов. Крупнейший рынок пластмасс — это упаковка, рост которой был ускорен глобальным переходом от многоразовых к одноразовым контейнерам [1]. В основном упаковка представляет собой пластмассу различных типов, таких как поливинилхлорид, полипропилен, полистирол, полиэтилен высокого давления (низкой плотности), полиэтилен низкого давления (высокой плотности) и полиэтилентерефталат. Выбор в пользу пластмассовых материалов очевиден, потому что пластмассовая упаковка влаго-, жиро- и газонепроницаема, не пропускает запахи, устойчива к низким и повышенным температурам, к температурным колебаниям, обладает химической инертностью и стабильностью, что позволяет увеличить срок хранения продукции и обеспечить стабильность ее вкусовых качеств [2]. В наше время невозможно представить быт обычного гражданина без использования упаковки.

Пластмасса не естественна для окружающей среды, в природе нет механизмов переработки полимеров, поскольку пластик химически инертен. По оценкам некоторых учёных пластмасса может иметь срок жизни 100-500 лет, и это под влиянием окружающей среды, то есть осадков, ультрафиолетового излучения, перепадов температур. Но на полигонах твёрдых бытовых отходов условия для разложения пластика могут быть не соблюдены, и поэтому он может пролежать под грудой мусора и земли и до 1000 лет. По приблизительным подсчётам, в окружающую среду за всё время существования пластмассы попало более 1 миллиарда тонн пластика. По состоянию на 2015 год было произведено

около 6300 млн. тонн пластмассовых отходов, из которых около 9% было переработано, 12% было сожжено, а 79% было накоплено на свалках или в природной среде [3, 1].

В морской среде тоже наблюдается значительное и все возрастающее загрязнение пластиковыми отходами, оказывающими радикальное воздействие на морские виды. По оценкам, только в 2010 году из наземных источников в мировой океан поступило 4,8–12,7 млн. метрических тонн пластика, и ожидается, что поток пластика в мировой океан возрастет на порядок в течение следующего десятилетия [4]. Около 80% пластмасс поступает в океан из наземных источников. Пластмассы со свалок попадают в океан из-за ненадлежащего удаления сточных вод и пластиковых отходов, прибрежных свалок мусора, переносимого через ручьи и реки. Остальные 20% составляют отходы, образующиеся с судов/лодок в результате рекреационных мероприятий, сброса отходов, рыболовных сетей и т.д. Наши океаны служат стоком для пластиковых частиц, и, по оценкам, 5,25 триллиона микро-и нанопластика загрязняют глобальную морскую поверхность. Океанские течения сходятся и позволяют пластическим материалам накапливаться с течением времени в центре крупных океанских вихрей, образуя огромную массу постоянно накапливающихся плавающих полей мусора через моря, называемых «мусорными пятнами» [5]. Существует достаточно много сведений о том, какую опасность представляют отходы пластика для морских организмов. В первую очередь опасны сами пластиковые изделия и их фрагменты, поскольку они могут попасть в пищеварительный тракт или в дыхательные пути рыб, животных и птиц и тем самым вызвать не только нарушение жизненных функций, но и полное их блокирование. Помимо механического воздействия пластиковых отходов опасность представляют и продукты их разложения – химические вещества, в частности фенолов. По данным ЮНЕП, пластиковые отходы ежегодно становятся причиной смерти около 1 млн птиц, 100 тыс. морских млекопитающих и большого количества рыб [6].

Пластмасса способна фрагментироваться на наиболее мелкие частицы, называемые микропластиками (<5 мм) и нанопластиками (<1 мкм), которые являются вездесущими загрязнителями морских сред во всём мире [7]. Микропластики образуются в результате разрушения макропластических элементов при воздействии ультрафиолетового излучения, ветра, волнового воздействия и абразивного воздействия. Поглощаемый морскими организмами микропластик вызывает засорение кишечника, оксидативный стресс, геномную нестабильность, нарушения эндокринной и репродуктивной системы, а также микропластик обладает эмбриотоксичностью и трансгенерационной токсичностью. Небольшие размеры микропластиков усиливают их транслокацию через желудочно-кишечные мембраны и способствуют распространению и накоплению в тканях и органах, что вследствие ведёт к сокращению биоразнообразия [8].

Известно неблагоприятное воздействие микропластика на почвенную экосистему. Микро- и нанопластики поглощают различные тяжелые металлы или выделяют органические загрязнители в почву, которые представляют потенциальный риск для биологии почвы и здоровья человека [9].

Известно четыре способа утилизации отходов: сжигание, захоронение, компостирование и сбраживание, рециклинг. Сжигание – это наиболее сложный, но и наиболее распространенный в мировой практике метод уничтожения твердых бытовых отходов, так как при его реализации происходит сокращение объема отходов упаковки более чем в 10 раз, а массы – в 3 раза. Однако сжигание является экологически неблагоприятным, поскольку продукты горения пластиковых отходов загрязняют атмосферу ядовитыми веществами. Серьезные проблемы возникают также с захоронением золы от мусоросжигания, масса которой составляет до 30 % от массы сжигаемых отходов. Зола не может быть захоронена на обычных свалках в силу своих физических и химических свойств. Для безопасности ее захоронения применяют специальные дорогостоящие хранилища с контролем и очисткой сточных вод. Свалки и захоронения

загрязняют почву и отравляют грунтовые воды токсичными веществами: смесью алифатических, ароматических, хлорорганических растворителей, а также солями тяжелых металлов, соединениями ртути, мышьяка, кадмия и т. д. Компостирование – способ обезвреживания бытовых, сельскохозяйственных и некоторых промышленных отходов, основанный на разложении органических веществ микроорганизмами. Рециклингом называют повторное использование или возвращение в оборот отходов производства или мусора. Наиболее распространена вторичная, третичная и т. д. переработка в том или ином масштабе таких материалов, как стекло, бумага, алюминий, железо, пластика. Рециклинг материалов – один из возможных путей предотвращения попадания продукции в отходы. Но этот способ требует существенных трудовых и энергетических затрат. К тому же существует вопрос о допустимой кратности рециклинга, после чего всё равно придется выбирать между сжиганием и захоронением отходов [10, 11].

Таким образом, необходим поиск новых путей решения проблемы загрязнения окружающей среды пластиковыми отходами, и одним из главных направлений исследований является разработка биоразлагаемых пластиков, биосовместимых и способных разлагаться за короткие сроки.

1.2. Материалы, используемые для получения биodeградируемой упаковки

Биополимеры — это полимеры микробного происхождения, в частности на основе полигидроксиалконоатов (ПОА). Биоразлагаемые полимеры отличаются от других пластиков своей способностью разложения путём химического, физического или биологического воздействия. Биоразлагаемость определяется как «способность подвергаться разложению на углекислый газ, метан, воду, неорганические компаунды или биомассы, при котором преобладающим механизмом является энзимное действие микроорганизмов,

которое можно измерить с помощью стандартизированных испытаний в течение определённого периода времени с отражением имеющихся условий утилизации» [12]. То есть ключевым моментом в биологическом разложении биополимеров является бактериальное разложение. И в последствии деградации этих биоразлагаемых полимеров образуются химические вещества, безопасные для окружающей среды.

Доступными являются более 30 полимеров, используемых не только в качестве биоразлагаемой упаковки, но в других промышленных целях (медицина, текстиль, строительство и др.). Биополимеры производятся как на основе животного или растительного материала, так и на основе нефтехимических продуктов [12]. Биоразлагаемые полимеры могут быть классифицированы на различные типы в соответствии с процессами их синтеза и их источниками.



Рисунок 1 – Классификация биополимеров [12]

Крахмал является одним из наиболее распространенных и возобновляемых полисахаридов в растениях. Он состоит из двух компонентов: амилозы, в

которой глюкозные звенья 1,4- α -D - связаны между собой прямыми цепями, и амилопектина, в котором глюкозные цепи сильно разветвлены. Крахмал имеет различную долю амилазы (от 10 до 20%) и амилопектина (от 80 до 90%). Крахмал может окисляться и восстанавливаться, а также может участвовать в образовании водородных связей, эфиров и сложных эфиров. Гидрофильность крахмала может быть использована для повышения скорости деградации некоторых разлагаемых гидрофобных полимеров. Различные виды крахмалов, а именно картофельный, маниоковый, рисовый, кукурузный и тапиоковый, используются в качестве материала для создания биоразлагаемых полимеров [13, 14]. Крахмал относится к полисахаридам, легко подвергаемым биоразложению, и применять его экономически выгодно. Однако основная проблема крахмала заключается в том, что он хрупкий и гидрофильный, это ограничивают его различные применения, такие как его использование для производства пластиковых пакетов и упаковки пищевых продуктов [15].

Главным образом, существует три способа использования крахмала для производства биоразлагаемых полимеров. Первый – это приготовление крахмальной композиции с другими пластиками с низким содержанием крахмала для повышения биodeградируемости традиционных полимерных материалов на масляной основе. Второй способ применения крахмала - приготовление крахмального композита с содержанием крахмала более половины по массе, а третий способ получения биodeградируемых полимеров крахмала - экструзионная обработка смесей гранулированного крахмала [13].

Так же известны такие материалы как целлюлоза, пектин, хитин и хитозан. Эти полимеры обычно содержат более одного типа углеводных звеньев и во многих случаях имеют постоянную ветвистую структуру [13].

В последнее время изобретают биodeградируемые упаковки на основе натуральных биоразлагаемых полимеров, которые синтезируются в естественной среде в живых организмах. Натуральные биополимеры существуют двух типов: полимеры, получаемые напрямую из биомассы (жиры,

белки и углеводы) и полимеры, получаемые через модифицированные организмы [16].

Биополимеры, получаемые через модифицированные организмы, являются более распространенными и предпочтительными для использования в качестве материалов для биodeградируемой упаковки. Среди них выделяют полигидроксиалканоаты (полимеры гидроксипроизводных алкановых кислот), полилактиды (производные молочной кислоты), полигликолиды (производные гликолевой кислоты), поликапролактон, а также бактериальную целлюлозу.

Полилактид (ПЛА) – продукт конденсации молочной кислоты. Он является одним из самых перспективных биodeградируемых материалов для упаковки, поскольку лактиды, и полилактиды могут быть получены как синтетическим способом, так и в ходе брожения декстрозы, мальтозы, суслу зерна, кукурузы, пшеницы или картофеля, то есть сырья природного происхождения [6]. По сравнению с другими биополимерами проявляет лучшую термическую обрабатываемость, что позволяет использовать различные методы обработки.

Поликапролактон (ПКЛ) — это термопластичный биоразлагаемый полиэфир с хорошей термической обрабатываемостью, низкой температурой плавления и низкой вязкостью. Он синтезируется путем полимеризации ϵ -капролактона. Из-за слабых барьерных свойств и плохих механических свойств ПКЛ, которые объясняются его низкой температурой плавления, применение ПКЛ в качестве биоразлагаемого полимера в упаковочной промышленности ограничено. Для увеличения объема своих применений ПКЛ обычно смешивают с другими полимерами (например, пропионатом целлюлозы, полимолочной кислотой и бутиратом ацетата целлюлозы) для улучшения устойчивости к растяжению под напряжением, окрашиваемости и адгезии [17].

Бактериальная целлюлоза — это природный биополимер, синтезируемый бактериями. Наиболее эффективными продуцентами являются *Acetobacter xylium*. Бактериальная целлюлоза обладает сходными химическими свойствами

с целлюлозой растительного происхождения. По сравнению с растительной целлюлозой, бактериальная характеризуется отсутствием лигнина и гемицеллюлозы (чрезвычайно чистые), что не требует проведения процедуры предварительной очистки, ультратонкой сетчатой структурой, высокой биodeградируемостью, сильной механической прочностью и высокой степенью полимеризации и кристалличности. Кроме того, бактериальная целлюлоза может производиться в различных субстратах, и её структура может быть изменена в процессе ферментации для достижения любой конкретной цели или требования [18].

Полигидроксиалканоаты (ПГА) являются полностью продуктом природных и генетически модифицированных организмов и по ряду физико-химических свойств сходны с синтетическими полимерами (ПП, ПЭ). Линейная структура молекул ПГА придает им свойство термопластичности, а также эти полимеры обладают оптической активностью, антиоксидантными свойствами, пьезоэлектрическим эффектом и, самое главное, являются биоразрушаемыми и биосовместимым [19]. Их свойства различаются в зависимости от их химического состава. Они устойчивы к ультрафиолетовому излучению, в отличие от других биопластиков, таких как полимолочная кислота. Кристалличность может варьироваться от нескольких до 70%. Обработываемость, а также вязкость и гибкость могут быть улучшены с более высоким процентом валерата в материале. ПГА растворимы в галогенированных растворителях, таких как хлороформ, дихлорметан или дихлорэтан. Усовершенствования в создании новой внутримолекулярной структуры биополиэфиров (ПГА) позволяют получать биоматериалы с заранее определенными характеристиками [20]. В целом ПГА обладают следующими свойствами:

- Нерастворимы в воде и относительно устойчивы к гидролитическому разложению;
- Имеют хорошую устойчивость к ультрафиолетовому излучению, но не

устойчивы к кислотам и основаниям;

- Растворимы в хлороформе и других хлорированных углеводородах;
- Биосовместимы
- Потопляемы в воде, что способствует их анаэробной биodeградации в донных отложениях;
- Нетоксичны;
- Менее "липкие", чем традиционные полимеры при расплавлении [21].

Поли-3-гидроксибутират (ПЗГБ) является наиболее распространенным представителем ПГА с высокой степенью кристалличности. Он имеет преимущество биodeградируемости под действием гидролаз и деполимераз ПГА, образующих (R)- и (S)-гидроксибутираты и нетоксичные соединения в аэробных и анаэробных условиях. П(ЗГБ) с кристалличностью до 70% проявляет замечательные механические свойства, такие как полиэтилен. Кроме того, П(ЗГБ) подходит для упаковки пищевых продуктов благодаря своей пластинчатой структуре, которая способствует его превосходным барьерным свойствам. П(ЗГБ) имеет сопоставимую температуру плавления с полилактидом, и таким образом позволяет смешивать оба полимера в их расплавленном состоянии. Однако низкие механические характеристики, высокая хрупкость, низкая термическая стабильность и трудная обработка, наряду с недостаточными барьерными свойствами, ограничивают широкое применение П(ЗГБ). Предпринимаются многочисленные попытки улучшить его свойства для применения в упаковке [17].

1.3. Использование пластификаторов для улучшения физико-химических свойств ПГА

Пластификаторы — это важный класс низкомолекулярных нелетучих соединений, которые широко используются в полимерной промышленности в качестве добавок. Основная роль таких веществ заключается в повышении их

гибкости, обрабатываемости или растяжимости. Эти вещества снижают напряжение деформации, твердость, плотность, вязкость и электростатический заряд полимера, одновременно повышая гибкость полимерной цепи, сопротивление разрушению и диэлектрическую проницаемость. Это также влияет на другие свойства, такие как степень кристалличности, оптическая прозрачность, электропроводность, огнеупорность и устойчивость к биологической деградации. Низкомолекулярный размер пластификатора позволяет ему занимать межмолекулярные пространства между полимерными цепями, уменьшая вторичные силы между ними. Точно так же эти молекулы изменяют трехмерную молекулярную организацию полимеров, уменьшая энергию, необходимую для молекулярного движения и образования водородной связи между цепями. Как следствие, наблюдается увеличение молекулярной подвижности. Таким образом, степень пластичности полимеров во многом зависит от химической структуры пластификатора, включая химический состав, молекулярную массу и функциональные группы [22].

С течением времени физические и механические свойства полимеров значительно ухудшаются, что является их существенным недостатком. Для устранения этой проблемы применяются разнообразные способы, одним из которых является добавление пластификаторов в раствор полимера. Такой способ позволяют улучшить свойства полимеров в результате инициации вторичной кристаллизации [17].

Установлено, что для П(ЗГБ) и ПЗГВ-со-П(ЗГБ) в качестве пластификаторов могут использоваться: 1) высококипящие эфиры ряда основных кислот (фталаты, изофталаты, цитраты, фумараты, глютамат, фосфаты или фосфиты); 2) высококипящие эфиры полиоксиспиртов, особенно, гликоля, полигликоля и глицерина; 3) ароматические сульфонамиды [17].

Привлекательным альтернативным пластификатором является трибутирин (ТБ). ТБ представляет собой гидрофобный триглицерид, присутствующий в жирах и маслах, который является подходящей биоразлагаемой

низкомолекулярной добавкой для сложных полиэфиров, таких как П(ЗГБ), непрерывно снижая его прочность с увеличением содержания трибутирина. Было проанализировано влияние массового соотношения ПЛА/П(ЗГБ) и содержания пластификатора на термические, одноосные растягивающие и барьерные свойства пленок. Смеси ПЛА/П(ЗГБ), содержащие различные весовые соотношения (100/0, 70/30, 60/40, 50/50, 40/60, 30/70, 0/100) для фиксированного содержания пластификатора (20 мас.% ТБ). Было обнаружено, что пленки, с ТБ для ПЛА/П(ЗГБ) 70/30 и 60/40, демонстрируют значительно улучшенные свойства растяжения и пластичность по сравнению с чистыми ПЛА или П(ЗГБ). ТБ был более эффективен, чем другие пластификаторы, для повышения пластичности смесей ПЛА/П(ЗГБ), то есть смеси с ТБ для ПЛА/П(ЗГБ) 70/30 и 60/40 представляли собой $\epsilon_b \sim 190\%$ и $\sim 150\%$ соответственно [23].

Были проведены исследования с целью улучшения механических свойств пленок на основе поли [(3-гидроксibuтират)-со-(3-гидроксивалерата)] (ПЗГБ-со-ЗГВ) в состав пленки были включены различные пластификаторы (полиэтиленгликоль (ПЭГ 200, 1000 и 4000), лауриновая кислота (ЛК) и стеариновая кислота (СК) в количестве 10 мас.%. Все пластифицированные пленки показали более низкую температуру плавления и степень кристаллизации, чем чистые пленки (ПЗГБ-со-ЗГВ). Все пластификаторы, кроме СК, снижали жесткость и сопротивление разрыву пленок, повышали их сорбционную способность и растворимость в воде, а также проницаемость для водяного пара, но только ПЭГ1000 давал более растяжимые пленки. ПЭГ1000 и ПЭГ4000 дали начало самым термостойким пластифицированным пленкам, в то время как ЛК и СК высоко продвинули теплочувствительность (ПЗГБ-со-ЗГВ). ПЭГ1000 оказался наиболее эффективным пластификатором для (ПЗГБ-со-ЗГВ). Однако для адаптации механических свойств (ПЗГБ-со-ЗГВ) к некоторым требованиям для упаковки потребуется большее соотношение пластификатора [24].

Исследовано влияние четырех типов пластификаторов таких, как диоктилфталат (ДОФ), даиоктиладипинат (ДОА), триацетин (ТАГ) и полиадипат (ПА) на термические и механические свойства П(ЗГБ). Пластификаторы были протестировали по отдельности и в виде смесей, используя концентрации, которые варьировались от 5 до 30% от массы полимера. Лучший результат наблюдался при использовании ТАГ 30%, а также при применении смеси 20% ПА с 10% ТАГ, в то время как ДОА оказался неэффективным, а ДОФ делал полимер более хрупким при увеличении его концентрации [25].

Следовательно, можно говорить о том, что разнообразие пластификаторов дает возможность варьировать различные свойства ПГА, что в будущем может привести к получению улучшенного биodeградируемого материала.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

В качестве объектов исследования были выбраны П(ЗГБ) ($M_n = 816$ кДа, $S_x = 78\%$), синтезируемый бактериям *Cupriavidus eutrophus* B10646 (Лаборатория биотехнологии новых биоматериалов) и пластификатор триацетин или триацетат глицерина (ТАГ) (Acros organics). ТАГ один из широко применяемых пластификаторов при изготовлении биоупаковки (плотность – 1,55 г/мл).

2.2. Получение полимерных пленок

Полимерные пленки получали методом полива 2-% полимерного раствора П(ЗГБ), содержащего пластификатор (5, 10, 15, 20 и 30 % от массы полимера), на предварительно обезжиренные поверхности чашек Петри. Полученные пленки высушивали в боксе-ламинаре в течение 24 часов с последующим испарением растворителя (хлороформ).

В качестве контрольного образца была использована пленка, полученная также методом полива раствора в хлороформе (0,3 г П(ЗГБ) на 15 мл хлороформа), но не содержащая в составе пластификатор ТАГ.

Полученные пленки нарезали на полоски шириной 10 мм и квадраты 15 мм × 15 мм, которые в дальнейшем использовали в экспериментах.

2.3. Исследование свойств полученных образцов полимерных пластифицированных пленок

2.3.1. Свойства поверхности

Свойства поверхности полимерных пленок исследовали с помощью анализатора и программного обеспечения DSA-4. С помощью микрошприцов

поочередно по капле воды и дийодметана помещали на поверхность образца, записывая на видеосъемку. По полученным видео измеряли углы контакта жидкостей.

Свойства поверхностей пленок оценивали с помощью значений краевых углов смачивания.

2.3.2. Исследования физико-механических характеристик

Образцы в виде полосок шириной 10 мм исследовали на физико-механические свойства с помощью разрывной машины Instron. Толщину пленок измеряли с помощью микрометра. Было исследовано по 5 образцов от каждой пленки. Измеряли Модуль Юнга, предел прочности и удлинение при разрыве.

2.3.3. Исследование деградации пластифицированных пленок на основе П(ЗГБ) в почве

Предварительно взвешенные образцы пленок на основе П(ЗГБ) с включением ТАГ 5%, 15% и 30% от массы полимера, а также образцы без ТАГ в виде квадратов размером 15 мм × 15 мм помещали в пластиковые контейнеры с почвой (120 ± 10 г). Эксперимент длился 57 суток с контрольными точками каждые 8 дней. Поддерживали постоянную влажность почвы не менее 50%. В конце каждой контрольной точки образцы пленок вынимали из контейнеров, очищали с помощью водопроводной воды, высушивали и взвешивали. Процент убыли массы определяли по формуле:

$$\Delta m = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%, \quad (1)$$

где m_1 – начальная масса образца до помещения в почву (г),

m_2 - конечная масса образца после экспозиции в почве в течение определенного времени (г).

2.3.4. Микробиологический анализ почвенных образцов

Для определения численности грибов и эколого-трофических групп бактерий производили микробиологический анализ проб, отобранных из почвы, в которой проводили экспозицию образцов, а также смывов с поверхности образцов пластифицированных полимерных пленок.

Микробиологический анализ производили по схеме: численность аммонификаторов определяли на мясопептонном агаре (МПА), прототрофных бактерий - на крахмало-аммиачном агаре (КАА), олигонитрофильных и азотфиксирующих бактерий - на безазотистой среде Эшби. Численность грибов определяли на среде Чапека.

Посев суспензий из почвы, в которой непосредственно проводили экспозицию образцов, осуществлялся перед началом эксперимента, а также на 25 и 57 сутки экспозиции. По 1 г почвы из каждого контейнера помещали в колбы со 100 мл дистиллированной воды. Далее проводили посеvy на среды МПА, КАА, Эшби из разведений 10^5 и 10^6 по 0,1 мл суспензии на чашку в трех повторностях. А также посеvy на среду Чапек из разведений 10^2 - 10^3 (так же в трех повторностях) для определения наличия грибов.

Образцы пластифицированных пленок с включением ТАГ 5%, 15% и 30% и образцы пленок без пластификатора после экспозиции в почве в течение 25 суток помещали в колбы со 100 мл дистиллированной воды для получения суспензии. Далее из разведения 10^1 - 10^3 в трех повторностях для каждого образца производили посев суспензий по 0,1 мл на чашки Петри с минеральной средой, содержащей порошкообразный П(ЗГБ) в качестве единственного источника углерода [26]. Состав среды:

$\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ буфер (1:1) – 0,033 М;

NH_4Cl – 1 г;

$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 г;

цитрат железа –0,05 г;

CaCl₂×2H₂O –0,005;

дрожжевой экстракт –0,05 г;

гидролизат казеина –0,1г;

0,25% порошкообразного полимера П(ЗГБ)

агар –20 г;

вода водопроводная –1 л.

Чашки с посевами выдерживали в термостате при температуре 30°C (для грибов 25°C) в течение 3-7 суток. Через 3-7 суток был сделан подсчет выросших колоний и на основании полученных данных были вычислены средние величины КОЕ по формуле:

$$X = \frac{a \times b}{c \times d}, \quad (2)$$

где а – среднее количество колоний на чашке,

б – разведение, из которого сделан высев,

с – количество вносимой суспензии (мл),

д – масса исследуемой почвы, г.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Изъято 8 страниц

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Получены полимерные пленки на основе П(ЗГБ) с включением ТАГ 5, 10, 15, 20 и 30% от массы полимера. Результаты исследования свойств поверхности показали, что при включении ТАГ 5, 10, 15 % наблюдалось увеличение гидрофильных свойств (с 76° до 61°), а при включении ТАГ 20 и 30% увеличение гидрофобности пленок (с 76° до 91°). В результате исследования физико-механических характеристик отмечено, что увеличение содержания ТАГ в составе образцов приводит к снижению значения Модуля Юнга (с 1618 до 812 Мпа), предела прочности (с 19 до 12 Мпа) и увеличению эластичных свойств (с 1 до 5%) пластифицированных полимерных пленок.

2. В ходе исследования деградации пластифицированных пленок установлено, что добавление пластификатора ТАГ увеличивает скорость деградации. Скорость деградации пленок с содержанием ТАГ 30% оказалась выше в 1,8 раз по сравнению с контрольными полимерными пленками на основе П(ЗГБ).

3. В результате микробиологического анализа проб, отобранных из почвы, в которой проводили экспозицию образцов, а также смывов с поверхности пленок, была установлена численность аммонификаторов, прототрофов, олигонитрофильных и азотфиксирующих бактерий, микроорганизмов-деструкторов ПГА, грибов. Количество микроорганизмов в почве увеличилось после помещения пленок в почву, что свидетельствует о стимулирующем влиянии полимерных пластифицированных пленок как источника углерода на почвенную микрофлору и о том, что пластификатор ТАГ не оказывает ингибирующего воздействия на микрофлору почвы. Для пластифицированных пленок характерна меньшая численность микроорганизмов-деструкторов ПГА, что вероятно связано с меньшим содержанием П(ЗГБ) в составе этих образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Geyer, Roland. Production, use, and fate of all plastics ever made / Roland Geyer, Jenna R. Jambeck and Kara Lavender Law // Science Advances. – 2017. – Vol. 3, e1700782.
2. Островская, Н.В. Исследование отходов упаковочных материалов из пластмассы с целью их дальнейшей утилизации / Н.В. Островская, Л.В. Дуболазова // Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет. – 2009. – С. 54-59.
3. Шкляев, В.М. Пластик - основной источник загрязнения окружающей среды / В.М. Шкляев, С.Д. Патракеева // Сборник материалов IV Международной научно-практической конференции. Западно-Сибирский научный центр. – 2016. – С. 78-79.
4. Beaumont, Nicola J. Global ecological, social and economic impacts of marine plastic / Nicola J. Beaumont, Melanie C. Austen и др. // Marine Pollution Bulletin. – 2019. – Volume 142. – С. 189-195.
5. Ganesh, Kumar A. Review on plastic wastes in marine environment – Biodegradation and biotechnological solutions / Ganesh Kumar A., Anjana K., Hinduja M. и др. // Marine Pollution Bulletin. – 2020. – Volume 150, 110733.
6. Соловьянов, А.А. Пластики и окружающая среда / А.А. Соловьянов // Твердые бытовые отходы. – 2010. – С. 38-41.
7. Chibuisi, Gideon Alimba. Microplastics in the marine environment: Current trends in environmental pollution and mechanisms of toxicological profile / Chibuisi Gideon Alimba, Caterina Faggio // Environmental Toxicology and Pharmacology. – 2019. – Volume 68. – С. 61-74.
8. Zhong, Pan. Environmental implications of microplastic pollution in the Northwestern Pacific Ocean / Zhong Pan, Qianlong Liu, Yan Sun и др. // Marine Pollution Bulletin. – 2019. – Volume 146. – С. 215-224.
9. Qi, Ruimin. Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment: A critical review / Ruimin Qi, Davey L. Jones, Zhen Li, Qin Liu, Changrong Yan // Science of The Total Environment. – 2020. – Volume 703, 134722.
10. Jang, Yong-Chul. Recycling and management practices of plastic packaging waste towards a circular economy in South Korea / Yong-Chul Jang, Gain Lee, Yuree Kwon, Jin-hong Lim, Ji-hyun Jeong // Resources, Conservation and Recycling. – 2020. – Volume 158. 104798.
11. Стяжкина, А.А. Упаковка продовольственных товаров и состояние окружающей среды / А.А. Стяжкина // Молодежь и наука. – 2013. – №4.
12. Тасекеев, М.С. Производство биополимеров как один из путей решения проблем экологии и АПК: анализ обзор / М.С. Тасекеев, Л. М. Еремеева // Национальный центр научно-технической информации. – 2009.
13. Malathi, A. N. Recent trends of Biodegradable polymer: Biodegradable films for Food Packaging and application of Nanotechnology in Biodegradable Food

Packaging / A. N. Malathi, K. S. Santhosh, Udaykumar Nidoni // Current Trends in Technology and Science. – 2014. – Volume 3.

14. Ezeoha, S. L. Production of biodegradable plastic packaging film from cassava starch / S. L. Ezeoha, J. N. Ezenwanne // IOSR Journal of Engineering. – 2013. Vol. 3, № 10. – С. 14-20.

15. Ермакова, Е.А. Применение инновационных решений в создании экологически чистых упаковочных материалов / Е.А. Ермакова // Сервис в России и за рубежом. – 2014. – №. 2(49). – С. 116-121.

16. Савицкая, Т. А., съедобные полимерные пленки и покрытия: история вопроса и современное состояние (обзор) / Т. А. Савицкая // Полимерные материалы и технологии. – 2016. – Т.2, №2. – С. 6–36.

17. Zhong, Yajie. Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review / Yajie Zhong, Patrick Godwin, Yongcan Jin, Huining Xiao // Advanced Industrial and Engineering Polymer Research. – 2020. – Volume 3. – С. 27-35.

18. Zahan, Khairul Azly. Application of bacterial cellulose film as a biodegradable and antimicrobial packaging material / Khairul Azly Zahan, Nur Maisarah Azizul, Mahfuzah Mustapha, Woei Yenn Tong, Muhammad Shahrir Abdul Rahman, Iylia' Syahmi Sahuri // Materials today proceedings. – 2020.

19. Волова, Т.Г. Физико-химические свойства полигидроксикапроатов различного химического строения / Т.Г. Волова, Н.О. Жила, Е.И. Шишацкая, П.В. Миронов, А.Д. Васильев, А.Г. Суковатый // Высокомолекулярные соединения. – 2013. – № 7.

20. Tarrahi, Roshanak. Polyhydroxyalkanoates (PHA): From production to nanoarchitecture / Roshanak Tarrahi, Zahra Fathi, M. Özgür Seydibeyoğlu, Esmail Doustkhah, Alireza Khataee // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Volume 146. – С. 596-619.

21. Bugnicourt, E. Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging / E. Bugnicourt, P. Cinelli, A. Lazzeri, V. Alvarez // Express polymer letters. – 2014. – Vol.8, №11. – С. 791–808.

22. Vieira, M.G.A. Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review / M.G.A. Vieira, M. A. Silva, L. O. Santos, M. M. Beppu // European Polymer Journal. – 2011. – Vol. 47, № 3. – С. 254-263.

23. Iglesias Montes, M.L. Fracture evaluation of plasticized polylactic acid / poly (3-HYDROXYBUTYRATE) blends for commodities replacement in packaging applications / M.L. Iglesias Montes, V.P. Cyras, L.B. Manfredi, V. Pettarín, L.A. Fasce // Polymer Testing. – 2020. – Volume 84, 106375.

24. Requena, Raquel. Effect of plasticizers on thermal and physical properties of compression-moulded poly[(3-hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyvalerate)] films / Raquel Requena, Alberto Jiménez, Maria Vargas, Amparo Chiralt // Polymer Testing. – 2016. – Volume 56. – С. 45-53.

25. Baltieri, R. C. Study of the influence of plasticizers on the thermal and mechanical properties of poly (3-hydroxybutyrate) compounds / R. C. Baltieri, I. Mei, H. Lucia, J. Bartoli // Macromolecular Symposia. Wiley Online Library. – 2003. – C. 33-44.

26. Mergaert J., Webb A., Anderson C. [et al.]. Microbial degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3- hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in soils// Appl. Environ. Microbiol. – 1993. – Vol.59. – C.3233-3238.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Приложение А. 1 – Результаты исследования свойств поверхности.

Состав пленки	Краевой угол смачивания, °
П(ЗГБ)	$75,75 \pm 2,01$
П(ЗГБ) + ТАГ 5%	$55,77 \pm 2,11$
П(ЗГБ) + ТАГ 10%	$58,68 \pm 2,38$
П(ЗГБ) + ТАГ 15%	$61,10 \pm 1,90$
П(ЗГБ) + ТАГ 20%	$86,66 \pm 2,37$
П(ЗГБ) + ТАГ 30%	$91,08 \pm 1,78$

Приложение А. 2 – Результаты исследования физико-механических характеристик

Состав пленки	Модуль Юнга, Мпа	Предел прочности, Мпа	Удлинение при разрыве, %
П(ЗГБ)	$1618,29 \pm 150,77$	$19,33 \pm 3,68$	$1,46 \pm 0,18$
П(ЗГБ) + ТАГ 5%	$1460,58 \pm 109,68$	$18,29 \pm 3,98$	$1,82 \pm 0,38$
П(ЗГБ) + ТАГ 10%	$1200,85 \pm 91,98$	$17,93 \pm 2,01$	$2,26 \pm 0,38$
П(ЗГБ) + ТАГ 15%	$1036,52 \pm 46,02$	$14,99 \pm 0,78$	$2,72 \pm 0,27$
П(ЗГБ) + ТАГ 20%	$996,00 \pm 46,97$	$16,96 \pm 3,30$	$4,36 \pm 0,25$
П(ЗГБ) + ТАГ 30%	$811,91 \pm 108,10$	$11,78 \pm 1,44$	$5,02 \pm 0,15$

Приложение А. 3 – Микробиологические показатели образцов исследуемой почвы.

Образцы почвы	Численность микроорганизмов, КОЕ/г			
	Аммонификаторы	Олигонитрофилы и азотфиксаторы	Прототрофы	Грибы
Фоновая почва	$(4,5 \pm 0,7) \times 10^6$	$(3,0 \pm 1,0) \times 10^6$	$(2,0 \pm 0,7) \times 10^6$	$(1,5 \pm 0,2) \times 10^5$

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Окончание приложения А. 3 – Микробиологические показатели образцов исследуемой почвы.

Образцы почвы	Численность микроорганизмов, КОЕ/г			
	Аммонификаторы	Олигонитрофилы и азотфиксаторы	Прототрофы	Грибы
Почва на 25 сутки экспозиции образцов				
П(ЗГБ)	$(7,5 \pm 0,7) \times 10^6$	$(6,5 \pm 0,7) \times 10^6$	$(6,0 \pm 1,4) \times 10^6$	$(1,9 \pm 0,2) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 5%	$(8,0 \pm 1,4) \times 10^6$	$(6,5 \pm 0,7) \times 10^6$	$(5,5 \pm 2,1) \times 10^6$	$(1,9 \pm 0,3) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 15%	$(10,5 \pm 2,1) \times 10^6$	$(8,5 \pm 0,7) \times 10^6$	$(8,0 \pm 1,4) \times 10^6$	$(1,9 \pm 0,2) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 30%	$(12,0 \pm 1,4) \times 10^6$	$(9,0 \pm 1,4) \times 10^6$	$(8,5 \pm 0,7) \times 10^6$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^5$
Почва на 57 сутки экспозиции образцов				
П(ЗГБ)	$(4,5 \pm 0,7) \times 10^7$	$(3,0 \pm 0,0) \times 10^7$	$(2,4 \pm 0,7) \times 10^7$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 5%	$(4,7 \pm 0,6) \times 10^7$	$(3,3 \pm 0,6) \times 10^7$	$(2,6 \pm 0,6) \times 10^7$	$(2,1 \pm 0,2) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 15%	$(5,3 \pm 0,6) \times 10^7$	$(3,3 \pm 0,6) \times 10^7$	$(2,6 \pm 0,6) \times 10^7$	$(2,2 \pm 0,1) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 30%	$(5,5 \pm 0,7) \times 10^7$	$(3,5 \pm 0,7) \times 10^7$	$(2,7 \pm 0,7) \times 10^7$	$(2,4 \pm 0,1) \times 10^5$

Приложение А. 4 – Численность микроорганизмов-деструкторов ПГА на поверхности пластифицированных полимерных пленок на 25 сутки экспозиции.

Образцы	КОЕ/г
П(ЗГБ)	$(4,0 \pm 0,3) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 5%	$(3,2 \pm 0,2) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 15%	$(2,6 \pm 0,1) \times 10^5$
П(ЗГБ) + 30%	$(1,7 \pm 0,3) \times 10^5$

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующая кафедрой

 Т.Г. Волова

подпись

«25» июня 2021г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

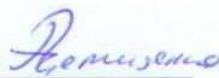
06.03.01 – Биология

код – наименование направления

Исследование влияния триацетина в качестве пластификатора на свойства
пленок на основе поли(3-гидроксibuтирата)

тема

Руководитель



подпись, дата

доцент, канд. биол. наук

должность, ученая степень

А.В. Демиденко

Выпускник



подпись, дата

К.А. Носирова

Красноярск 2021