

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

Базовая кафедра биотехнологии
кафедра

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ Т.Г. Волова
подпись

«__» _____ 20 __ г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология
код-наименование направления

Исследование свойств пленок из поли-3-гидроксibuтирата в композиции с
пластификатором триэтилцитратом

_____ тема

Руководитель

_____ подпись, дата

доц., к.б.н.

_____ должность, ученая степень

А.В. Демиденко

_____ инициалы, фамилия

Выпускник

_____ подпись, дата

В.Ю. Кравчук

_____ инициалы, фамилия

Красноярск 2021

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа на тему «Исследование свойств пленок из поли-3-гидроксибутирата в композиции с пластификатором триэтилцитратом» содержит 47 страниц текстового документа, 41 использованный источник, 21 рисунок, 4 таблицы.

Ключевые слова: ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТ (ПЗГБ), ПЛАСТИФИКАТОР, ТРИЭТИЛЦИТРАТ (ТЭЦ), ПЛЕНКИ, КОМПОЗИТЫ

Цель настоящей работы – исследование влияние пластификатора – триэтилцитрата на свойства наливных пленок из ПЗГБ. Поставлены следующие задачи: 1) Растворными технологиями получить серию композитных пленок из ПЗГБ с добавлением пластификатора – триэтилцитрата (5, 10, 15, 20, 30 %). Исследовать поверхностные и физико-механические свойства пленок; 2) Исследовать биодegradацию полученных пленок в почве; 3) Провести микробиологический анализ образцов пленок и почвы, и определить численность основных эколого-трофических групп микроорганизмов.

Поли-3-гидроксибутират (ПЗГБ) является полностью биоразлагаемым, сильно гидрофобным термопластичным материалом. Его недостатками являются жесткость и хрупкость. Они могут быть преодолены с помощью пластификации полимера.

Исследование показало, что пленки в композиции с триэтилцитратом становятся более эластичными за счет увеличения удлинения при разрыве в 13 раз, при этом модуль Юнга и предел прочности уменьшаются. Существенного влияния триэтилцитрата на скорость биодegradации образцов не установлено. Микробиологический анализ образцов пленок и почвы показал увеличение бактерий и грибов в процессе биодеструкции, а также снижение численности бактерий-деструкторов ПГА с увеличением пластификатора в композите.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1. Проблема загрязнения окружающей среды синтетическим пластиком	7
1.2. Биоразлагаемые упаковочные материалы	9
1.3. Свойства полигидроксиалканоатов и их применение в упаковке	12
1.4. Свойства пластификаторов и их функции	15
1.4.1. Применение пластификаторов для улучшения свойств полигидроксиалканоатов	16
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	19
2.1. Материалы исследования	19
2.2. Получение полимерных пленок	19
2.3. Исследование свойств полимерных пленок	20
2.3.1. Исследование свойств поверхности	20
2.3.2. Исследование физико-механических свойств	21
2.4. Исследование деградации пленок с добавлением триэтилцитрата в почве	21
2.4.1. Микробиологический анализ образцов почв. Выявление микроорганизмов-деструкторов ПГА	23
2.4.2. Статистическая обработка данных	24
3. РЕЗУЛЬТАТЫ	26
3.1. Характеристика полученных пленок из поли-3-гидроксибутирата с добавлением триэтилцитрата	26
3.2. Исследование свойств полимерных пленок	27
3.2.1. Исследование свойств поверхности	27
3.2.2. Исследование физико-механических свойств образцов пленок	29

3.3. Исследование деградации пленок с добавлением триэтилцитрата в почве	
32	
3.4. Микробиологический анализ образцов почв и смывов с пленок	34
3.4.1. Количественный анализ эколого-трофических групп микроорганизмов в исследуемых образцах	34
3.4.2. Выявление микроорганизмов–деструкторов ПГА	38
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	41
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	42
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	43

ВВЕДЕНИЕ

Синтетический пластик является основным материалом для изготовления упаковки. Он практичный, долговечный, недорогой, обладает стабильными физико-механическими свойствами. Однако его массовое использование и привело к одной из глобальных проблем человечества - загрязнению окружающей среды. Эффективность методов утилизации и сокращения и использования пластиковой упаковки значительно ниже, чем масштабы производства, поэтому сейчас идет поиск путей решения проблемы. Одним из главных направлений является разработка биоразлагаемых материалов, которые будут иметь все необходимые свойства и самое главное будут разрушаться в окружающей среде.

В качестве биоразлагаемых материалов используют такие как: крахмал, целлюлоза, глютен, поликапролактон, полилактат, полигидроксиалканоаты (ПГА) и другие. ПГА являются одними из наиболее перспективных материалов, подходящих для замены синтетических пластмасс. ПГА - это нормальные термопластичные алифатические полиэфиры микробного происхождения. Они обладают следующими свойствами: биоразлагаемость, гидрофобность, нетоксичность, непроницаемость для газов и / или воды [20]. Наиболее изученным представителем класса ПГА является поли-3-гидроксибутират (ПЗГБ).

ПЗГБ является полностью биоразлагаемым, биосовместимым, сильно гидрофобным термопластичным материалом, содержащим около 80% кристаллической фракции [8]. ПЗГБ применяют в медицине (микрочастицы, имплантаты), промышленности (разлагающийся пластик) и сельском хозяйстве. Тем не менее, коммерческие продукты на его основе практически отсутствуют, что связано с его высокой стоимостью и хрупкостью по сравнению с синтетическими аналогами. Однако эти недостатки могут быть преодолены с помощью внутренней или внешней пластификации полимера. Использование пластификаторов - это самый простой и дешевый способ моделировать

физические и механические свойства биополимеров для конкретных применений [28].

Цель настоящей работы – исследование влияние пластификатора - триэтилцитрата на свойства наливных пленок из поли-3-гидроксibuтирата.

Поставлены следующие задачи:

1. Растворными технологиями получить серию композитных пленок из поли-3-гидроксibuтирата с добавлением пластификатора – триэтилцитрата (5, 10, 15, 20, 30%). Исследовать поверхностные и физико-механические свойства пленок;

2. Исследовать биodeградацию полученных пластифицированных пленок в почве;

3. Провести микробиологический анализ образцов пленок и почвы, и определить численность основных эколого-трофических групп микроорганизмов. Выявить микроорганизмов – деструкторов ПГА.

1.ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Проблема загрязнения окружающей среды синтетическим пластиком

Производство пластмассовых материалов начало процветать в промышленных масштабах в 1940-х и 1950-х годах [17]. Последние 50 лет синтетический пластик широко используется в качестве заменителей таких материалов, как бумага, дерево, металлы и другие [25]. Различное применение пластика обусловлено его свойствами: долговечность, легкость, стабильность и низкая стоимость. Также синтетические пластики являются основным материалом, используемым в упаковке. В области упаковки преобладают пластмассы на основе нефти такие как полиэтилен (ПЭ), полистирол и другие синтетические материалы поливинилхлорид (ПВХ), полиэфиры, полиамид, полиэтилентерефталат, полиуретан [16]. Пластиковая упаковка составляет 26% от общего объема рынка пластмасс. Ведущее положение пластиковой упаковки в пищевой упаковочной промышленности обусловлено следующими свойствами: низкая стоимость, механическая прочность, химическая инертность, влаго-, жиро- и газонепроницаемость, устойчивость к колебаниям температуры, гибкость, стабильность [13].

Массовое использование пластиковых материалов, особенно использование упаковки, привело к серьезной угрозе для окружающей среды. Основная проблема – это проблема утилизации пластиковых отходов. Мировое производство пластмасс в 2017 году достигло 348 миллионов тонн [33]. Однако только 3 % пластиковых отходов перерабатываются [13]. Пластиковые отходы практически не разлагаются в окружающей среде естественным путем. Срок разложения может достигать до 450 лет [16]. Например, срок разложения пластиковой бутылки – более 100 лет, полиэтиленовой пленки – 200 лет [6].

Во всем мире в окружающую среду выбрасывается очень большое количество пластиковых отходов, что усугубляет проблему загрязнения. Она

приобретает катастрофические масштабы. Пластик составляет более 60% отходов в реках и океанах. Накопление пластика в окружающей среде создает угрозу для наземной и водной флоры и фауны [17].

Пластиковые отходы (макропластики) могут подвергаться постепенной фрагментации [17]. Таким путем образуется микропластик (пластиковые фрагменты менее 5 мм) [34]. Попадая в водные системы, микропластики могут широко рассредоточиваться в различных нишах окружающей среды (поверхностные воды, толща воды и донные отложения) из-за разнообразия форм и плотности полимеров, что может влиять на их доступность для водной биоты на разных трофических уровнях. Найдены многочисленные доказательства проглатывания пластика водной фауной (от мелких беспозвоночных до крупных млекопитающих) [38]. Попадание микропластика в организм не только приводит к физическим травмам и воспалительным процессам, но также обеспечивает проникновение различных вредных веществ (эндогенные пластичные добавки, металлы, стойкие органические загрязнители, полициклические ароматические углеводороды, дихлордифенилтрихлорэтан, полихлорированные бифенилы и патогенные микроорганизмы) [17]. Кроме того, широкое распространение микропластиков создает потенциальный риск для безопасности пищевых продуктов и здоровья человека [38].

Большие объемы пластиковых отходов образуются, главным образом, из-за короткого срока службы многих пластмассовых изделий (по оценкам, примерно 40% пластмассовых изделий имеют срок службы менее 1 месяца) [25]. Существует несколько способов удаления пластиковых отходов: переработка, сжигание, санитарные свалки и др. Некоторые пластмассы могут быть переработаны в несколько этапов, включающие отдельный сбор, транспортировку, переработку и вторичное производство. Высокая стоимость этих этапов, низкая коммерческая ценность переработанных пластмасс ограничивают переработку пластмасс. Кроме того, при сжигании пластиковых отходов выделяются вредные газы. Например, угарный газ (CO), углекислый

газ (CO₂), который является парниковым газом. В настоящее время предприняты некоторые меры для решения проблемы пластиковых отходов: ограничение производства и использования синтетического пластика в некоторых странах, повышение эффективности сортировки и переработки пластиковых отходов. Однако эти методы эффективны лишь в некоторой степени, потому что масштабы производства пластмасс намного выше, чем сокращение этими предпринятыми мерами [33].

Для решения проблемы необходима разработка альтернативных материалов, которые будут иметь все необходимые свойства и самое главное будут биоразлагаемыми, то есть не будут наносить вред окружающей среде. Основной путь решения – это поиск материалов для создания биоразлагаемого пластика.

1.2. Биоразлагаемые упаковочные материалы

Биоразлагаемые пластики – это полимеры (макромолекулы), которые легко разлагаются в окружающей среде с помощью ферментов. Они могут разлагаться на биомассу, углекислый газ и воду без токсичных выбросов.

В зависимости от способа производства или экстракции биоразлагаемые полимеры можно классифицировать как:

1) Полимеры, экстрагируемые из природных (растительных) материалов – полисахариды (крахмал, целлюлоза) и белки (казеин, пшеничный глютен);

2) Полимеры, полученные химическим синтезом из возобновляемых биологических мономеров – полилактат, биополиэфир, полимеризованный из мономеров молочной кислоты;

3) Полимеры, продуцируемые микроорганизмами или генномодифицированными бактериями: полигидроксиалканоаты (поли-3-гидроксибутират, сополимеры гидроксибутирата и гидроксивалерата), бактериальная целлюлоза, ксантан, пуллан [16].

Многие биоразлагаемые полимеры проявляют свойства аналогичные синтетическим полимерам (небиоразлагаемым). В связи с этим они вызывают большой интерес для применения в изготовлении упаковочных материалов.

Алифатически-ароматические сополимеры используются для изготовления материалов. Эти материалы представляют собой комбинацию полиэтилентерефталата (ПЭТ), устойчивого к воздействию микроорганизмов, с тремя или более биоразлагаемыми алифатическими полиэфирами. ПЭТ имеет температуру плавления около 200 °С, которая слишком высокая для разлагаемого материала. Алифатический мономер создает «слабые места» в ароматической полимерной цепи, что делает их подверженными деградации в результате гидролиза. Этот материал обычно используется для изготовления посуды (например, вилки, ножа, ложки и т. д.) и полимерных бутылок, но стоит такая продукция в два раза дороже, чем классические синтетические пластики. DuPont (Теннесси) производит ПЭТ / гидробиоразлагаемый полиэфир под торговым названием Biomax, экспортируемый по всему миру [35].

Материалы из алифатического сополимера полилактида представляют собой смесь между лактидом и алифатическими полиэфирами, такими как дикарбоновая кислота или гликоль, с твердыми (как у полистирола (ПС)) и гибкими (как у полипропилена (ПП)) свойствами. Он прост в обработке и термически стабилен до 200 °С. При сжигании такого материала не образуются токсичные вещества. В естественной среде он начинает разлагаться через 5–6 месяцев, с полным разложением через 12 месяцев [35].

Поликапролактон (ПКЛ) - это полностью биоразлагаемый полимер, полученный в результате полимеризации невозобновляемого сырья, такого как сырая нефть. Это термопластичный полимер с хорошей химической стойкостью к воде, маслу, растворителю и хлору, с температурой плавления 58–60 °С, низкой вязкостью, простой в обработке и с очень коротким временем разложения. Он не используется для пищевых продуктов, но если его смешать с крахмалом, можно получить хороший биоразлагаемый материал по низкой цене, используемый для мусорных мешков [35, 41].

Одним из перспективных биополимеров является полилактид (ПЛА), полученный в результате контролируемой деполимеризации мономера молочной кислоты. Мономеры молочной кислоты получают в результате ферментации сахарного сырья, кукурузы и др., то есть из возобновляемых биоразлагаемых ресурсов. ПЛА широко известен, как биоразлагаемый полимер для упаковочных материалов, благодаря своей жесткости, прозрачности, технологичности и биосовместимости. По сравнению с другими биополимерами, такими как полиэтиленгликоль и поликапролактон, для обработки ПЛА применяют различные методы (например, литье под давлением, термоформование и т. д.). ПЛА имеет средний уровень проницаемости для воды, сравнимый с полистиролом. Однако ПЛА обладает низкой устойчивостью к проникновению кислорода, а также является хрупким с относительным удлинением менее 10% при разрыве. Эти свойства ограничивают его применения. Смешивание ПЛА с ПЗГБ ценный вариант применения упаковки для пищевых продуктов [24, 41].

Крахмал представляет собой полимер, полученный из агресурсов, который известен своей полной биодegradацией в почве и воде. Хотя крахмал является биоразлагаемым полимером, который можно изготавливать в больших количествах при относительно низких затратах, легко обрабатывать и образовывать пленочные продукты с низкой проницаемостью для кислорода, основная проблема с нативным крахмалом заключается в том, что он является хрупким и гидрофильным. Они ограничивают его применение в изготовлении пластиковых пакетов и упаковки для пищевых продуктов. Для повышения гибкости и легкости переработки крахмала используются различные пластификаторы (глицерин, гликоль, сорбит). Таким образом, можно получить термопластичный крахмал (ТПК) [35].

Целлюлоза является наиболее распространенным биополимером в природе. Существует несколько аспектов и свойств целлюлозы, которые делают ее использование выгодным. Низкая стоимость, биоразлагаемость, получение из возобновляемых источников, низкая плотность, низкое

энергопотребление, широкий спектр доступных наполнителей, реактивная поверхность и высокие специфические свойства [10].

Хитозан является полисахаридом, полученным деацетилированием хитина, который является одним из наиболее распространенных природных полимеров, обнаруженных в живых организмах, таких как ракообразные, насекомые и грибы [9].

Биопластики, такие как полигидроксиалканоаты (ПГА), считаются идеальными кандидатами для упаковки пищевых продуктов. Известно больше 100 разновидностей ПГА [9]. Перспективные особенности ПГА включают биоразлагаемость, гидрофобность, нетоксичность, нелинейную оптическую активность, термопластичность, непроницаемость для газов и / или воды [20].

1.3. Свойства полигидроксиалканоатов и их применение в упаковке

Полигидроксиалканоаты (ПГА) - это нормальные термопластичные алифатические биогенные полиэфиры, которые могут естественным образом накапливаться в микробных сообществах, и они различаются по своим свойствам в зависимости от их химического состава (гомо- или сополиэфир, содержащий гидроксильные ненасыщенные жиры). Структурная формула представлена на Рисунке 1.

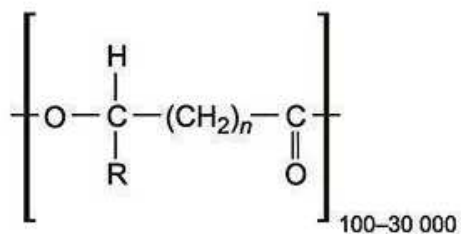


Рисунок 1 – Структурная формула полигидроксиалканоатов

Свойства ПГА [22]:

- Нерастворимы в воде и относительно устойчивы к гидролитическому разложению;
- Обладают плохой устойчивостью к кислотам и щелочам, но хорошей – к ультрафиолету;
- Растворимы в хлороформе и других хлорированных углеводородах;
- Биосовместимы, поэтому подходит для применения в медицине;
- Тонут в воде, способствуя анаэробной биодegradации в осадке;
- Нетоксичны;
- Менее «липкие», чем традиционные полимеры при расплавлении.

ПГА являются бактериальными полимерами, которые могут быть получены из многочисленных возобновляемых источников углерода.

Из-за своих свойств ПГА подходят для замены нефтехимических пластмасс (полиэтилен, полипропилен и т. д.). Главное преимущество ПГА – это полная деструкция до углекислого газа и воды, в отличие от синтетических пластмасс [22].

ПГА со средней длиной цепи могут применяться в качестве биоразлагаемых сырных покрытий, пакетов для газонов и листьев, подгузников, продуктов быстрого питания и одноразовых медицинских изделий [32]. ПГА также имеют потенциал для замены полиэтилена в некоторых областях применения. Например, пленки, используемые в сельском хозяйстве для остановки прорастания сорняков. Дополнительное преимущество – деградация в течение сезона и, следовательно, уменьшение сельскохозяйственных отходов [14].

Поли-3-гидроксибутират (ПЗГБ) является основным и наиболее известным представителем семейства ПГА. ПЗГБ – это гомополимер D(-)-3-β-оксимасляной кислоты. Он представляет собой изотактический полиэфир с регулярными, повторяющимися единицами [2]. После некоторых модификаций условий процесса и использования специальных форм ПЗГБ можно обрабатывать литьем под давлением с использованием того же оборудования,

которое используется для полипропиленовой упаковки. Физические свойства ПЗГБ часто сравнивают с полипропиленом (ПП), так как они имеют близкие точки плавления, степени кристалличности и температуры стеклования [30]. При сравнении свойств банок из ПЗГБ и полипропилена (ПП). ПЗГБ показал разницу в величине деформации, которая была примерно на 50% ниже, чем ПП. В холодильниках и морозильниках упаковка ПЗГБ демонстрирует свойства хуже, чем ПП, но лучше при более высоких температурах [32].

ПЗГБ биодegradирует как в анаэробных, так и в аэробных условиях. В почве на скорость деструкции влияет минеральный состав почвы, влажность, температура, кристалличность полимера, молекулярная масса полимера и др. Например, в плодородной садовой почве при температуре 30°C и 80% влажности через 28-35 суток достигают 100% убыли массы [26].

Другими важными представителями ПГА являются сополимеры ПЗГБ:

- поли(гидроксibuтират – со – гидроксивалерат) (П(ГБ-со-ГВ))
- поли(гидроксibuтират – со – гидроксигексаноат) (П(ГБ-со-ГГ))
- поли (гидроксibuтират – со – гидроксioоктаноат) (П(ГБ-со-ГО))
- поли (гидроксibuтират – со – гидроксioоктадеканоат) (П(ГБ-со-ГОд))
- поли(3-гидроксibuтират – со – 4-гидроксibuтират) (П(3ГБ-со-4ГБ))

Определенное количество этих сополиэфиров привлекло промышленный коммерческий интерес. П(ГБ-со-ГВ) являются более гибкими и легче разлагаются в естественной среде. Изменения содержания единицы 3-гидроксивалерата влияет на свойства материала, такие как ударная вязкость, кристалличность, предел прочности на разрыв и проницаемость.

Получить материалы для упаковки из ПГА можно следующими способами [8]:

1. Получение сополимера с улучшенными пластическими свойствами;
2. Добавление пластификатора в ПЗГБ для улучшения его механических свойств;
3. Создание смесей ПГА с другими полимерами (например, ПЛА).

1.4. Свойства пластификаторов и их функции

Одно из определений пластификатора – материал с низкой молекулярной массой, добавляемый к полимерным материалам, таким как краски, пластмассы или клеи, для улучшения их гибкости. Внешние пластификаторы образуют вторичные связи с полимерными цепями, которые растягивают макромолекулы и повышают их подвижность за счет уменьшения полимерных взаимодействий [29].

Пластификаторы являются наиболее распространенными добавками. Они дешевле, чем другие добавки, используемые при переработке и применении полимеров [39].

Пластификаторы могут влиять на свойства полимерных смесей: совместимость, смешиваемость, температура стеклования, морфология, реология, свойства поверхности, оптические свойства, электрические свойства, термостойкость, прочность материала, механические характеристики [39].

Эффективность пластификатора зависит от его химической структуры, молекулярной массы и концентрации. Пластификация требует, чтобы пластификатор взаимодействовал с полимерными цепями, равномерно распределяясь внутри полимера, создавая тем самым дополнительный свободный объем. Поэтому совместимость или растворимость пластификатора с полимером имеет большое значение для эффективной пластификации [12].

Пластификаторы бывают самые различные по своей химической природе: алкилсульфаты, бензоаты, амины, амиды, эфиры, изобутираты, фталаты и много других веществ. Остановимся подробнее на цитратах.

Цитраты были продвинуты для использования в материалах из поливинилхлорида в пищевой промышленности и для изделий медицинского назначения [21]. У цитратов широкий спектр применения в качестве пластификатора. Основные области применения цитратов: косметика, фармацевтика, медицина, пищевая упаковка, сигаретные фильтры, лаки, липкие пленки, крышки от бутылок, покрытия из бумаги и алюминиевой

фольги, лаки для волос. Свойства, обеспечивающие их востребованность: считаются безопасными в пищевой, фармацевтической и медицинской областях, некоторые не поддерживают рост грибков, эффективность пластификации, антистатические свойства [40].

В работе в качестве пластификатора был выбран триэтилцитрат (Рисунок 2). Триэтилцитрат ($C_{12}H_{20}O_7$) – сложный эфир лимонной кислоты, безопасный и разрешенный в пищевой промышленности. Триэтилцитрат – биопластификатор [31]. Он является биоразлагаемым, считается эффективным пластификатором для ПЗГБ [12, 21].

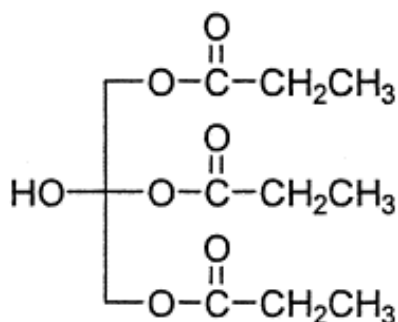


Рисунок 2 – Химическая структура триэтилцитрата [8]

1.4.1. Применение пластификаторов для улучшения свойств полигидроксиалканоатов

Использование экологически чистых пластификаторов является самым простым и самым дешевым способом улучшения физико-механические свойства пленок из ПГА.

В настоящее время существует не так много коммерческих продуктов из ПЗГБ, поскольку он имеет более высокую стоимость, узкую технологичность и хрупкость по сравнению с коммерческими синтетическими полимерами. Кроме того в процессе старения (aging) материалов ПЗГБ может менять свои механические свойства [10]. Получение других видов ПГА является менее

выгодным и более трудоемким. Недостатки материалов из ПЗГБ могут быть преодолены путем внутренней или внешней пластификации для улучшения ударной вязкости, удлинения при разрыве и пластичности [12, 19, 23].

В качестве пластификаторов для ПЗГБ и П(ГБ-со-ГВ) используют такие пластификаторы как: глицерол, цитраты (трибутилцитрат и триэтилцитрат), масла (соевое, касторовое), пропилен гликоль, полиэтилен гликоль, триацетин, ацетилтрибутилцитрат и многие другие. Существует множество подходов к вопросу пластификации материалов из ПГА. В литературных источниках есть примеры использования разных пластификаторов и их влияние на свойства материалов из ПЗГБ и П(ГБ-со-ГВ).

Исследование наливных полимерных пленок из смеси ПЗГБ и полиэтиленгликоля (ПЭГ 400) в разных концентрациях (2, 5, 10, 40 %) показали, что наблюдалось увеличение удлинения при разрыве и уменьшение предела прочности. Такие изменения объясняются пластифицирующим эффектом, который объясняется ослаблением межмолекулярных сил в полимерных цепях. А добавление пластификаторов диоктилфталата, дибутилсебаката не привели к улучшению механических свойств [10].

В другой работе для улучшения расплава ПЗГБ (для достижения сбалансированных термических и механических свойств) были испытаны следующие пластификаторы: соевое масло, ацетилтрибутилцитрат, полиэтиленгликоль (ПЭГ4000 и ПЭГ6000). Эти пластификаторы увеличили гибкость и уменьшили вязкость [28].

В другой работе исследование проводили на сополимере П(ЗГБ-со-ЗГВ), который состоял из 3-гидроксипропановых звеньев 94% и 3-гидроксивалератных звеньев 6%. В качестве пластификаторов использовали: соевое масло (СМ), дибутилфталат (ДФ), триэтилцитрат (ТЭЦ), эпоксидированное соевое масло (ЭСМ) с массовой долей эпоксида 6,9%. Эффективная пластификация вызывает снижение температуры стеклования в системе полимер / пластификатор. По термическим свойствам смесей П(ЗГБ-со-ЗГВ) можно сделать вывод, что эффективность пластификатора на П(ЗГБ-со-

ЗГВ) была выше на порядок ТЭЦ-20> ДБФ-20> ЭСМ-20> СМ-20. Результаты удлинения при разрыве и ударной вязкости показали, что гибкость смесей увеличилась до порядка ТЭЦ-20≈ДБФ-20> ЭСМ-20> СМ-20 [8].

В работе группы ученых из Германии представлены данные о влиянии различных пластификаторов (пропиленгликоль, глицерин, триэтилцитрат (ТЭЦ), касторовое масло, эпоксицированное соевое масло (ЭСМ), полиэтиленгликоль 1000 (ПЭГ)) на свойства биополимера П(ЗГБ-со-ЗГВ). В ходе работы было выявлено, что наиболее перспективными пластификаторами для улучшения механических свойств являются ТЭЦ и ПЭГ. Также был сделан вывод, что наиболее подходящими пластификаторами являются вещества средней молекулярной массы с эфирными или кетонными группами, которые доступны для взаимодействия с П(ЗГБ-со-ЗГВ) [18].

Таким образом, можно сделать вывод, что пластификаторы могут решить проблему жесткости, хрупкости ПЗГБ. И в перспективе возможно применение материалов ПЗГБ/пластификатор в качестве альтернативы синтетическим пластикам.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материалы исследования

В качестве объекта исследования взят поли-3-гидроксибутират (Средневесовая молекулярная масса $M_n=256$ кДа, $M_w = 616$ кДа, $K_d = 2,40$), синтезированный бактериями *Cupriavidus eutrophus* B10646 в Лаборатории биотехнологии новых биоматериалов СФУ.

В качестве пластификатора использовали триэтилцитрат (ALDRICH Chemistry). Триэтилцитрат – сложный эфир лимонной кислоты, он безопасен и разрешен в пищевой промышленности. Формула – $C_{12}H_{20}O_7$; плотность – 1,14 г/мл; $T_{кип.} = 294^{\circ}C$; $M = 276,283$ г/моль.

Для получения наливных пленок использовали в качестве растворителя хлороформ (трихлорметан). Формула – $CHCl_3$; плотность – 1,49 г/см³; $M = 119,38$ г/моль.

2.2. Получение полимерных пленок

Композитные пленки получали методом полива раствора ПЗГБ в хлороформе на поверхность чашки Петри. Смешивание ПЗГБ и хлороформа проводили с помощью магнитной мешалки (Heidolph) при $50^{\circ}C$, со скоростью 150 об/мин. Далее в раствор добавляли необходимое количество пластификатора – триэтилцитрата и перемешивали с помощью ультразвукового гомогенизатора Sonicator 3000. Поверхность чашки Петри обезжиривали спиртом. Далее раствор выливали на чашку. Пленки высушивали в боксе «Labconco» (США) в течение суток. В качестве контрольного образца использовались пленки, полученные из 2% раствора ПЗГБ в хлороформе (300 мг полимера на 15 мл растворителя) без добавления пластификатора. В качестве опытных образцов – пленки с добавлением 5, 10, 15, 20, 30% пластификатора – триэтилцитрата от массы ПЗГБ.

2.3. Исследование свойств полимерных пленок

2.3.1. Исследование свойств поверхности

Свойства поверхности образцов пленок проводили с помощью анализатора формы капли DSA-25E «Krüss», Германия (Рисунок 3) и программного обеспечения DSA-4. Капли воды и дийодметана по очереди помещали на поверхность образца, далее делали снимок, по изображению капли измеряли углы контакта жидкостей с поверхностью. Измерения проводили для каждого типа пленок по 5 образцов (образцы в виде полосок 1 см×8 см). Для оценки поверхностных свойств рассчитывали значения краевых углов смачивания, полярную и дисперсную составляющие поверхностного натяжения.



Рисунок 3 – Анализатор формы капли DSA-25E («Krüss», Германия)

2.3.2. Исследование физико-механических свойств

Физико-механические свойства образцов пленок исследовали с помощью универсальной электромеханической испытательной машины Instron 5565, 5KN, Великобритания (Рисунок 4). Скорость испытания – 3 мм/мин. Испытания проводили для каждого типа пленок по 5 образцов. Предварительно измеряли толщину пленок с помощью микрометра. С помощью программного обеспечения были рассчитаны значения модуля Юнга (МПа), предел прочности (МПа), удлинение при разрыве (%), напряжение при растяжении (МПа).



Рисунок 4 - Универсальная электромеханическая испытательная машина Instron 5565, 5 KN (Великобритания)

2.4. Исследование деградации пленок с добавлением триэтилцитрата в почве

Биодеградацию полимерных пленок исследовали в полевой почве в лабораторных условиях. В эксперименте исследовали образцы пленок из ПЗГБ

(контрольный образец) и из ПЗГБ с добавлением пластификатора 5, 15, 30% в виде квадратов $1,5 \times 1,5$ см. В контейнеры с почвой (150 г) на глубину 2-3 см помещали опытные образцы пленок (предварительно взвешанные), упакованные в чехлы из органзы, по 4 образца в каждом контейнере. Внешний вид контейнера с образцами на Рисунке 5. Контейнеры находились в помещении с комнатной температурой 20-25°C. Каждые 2-3 дня производили полив почвы для поддержания постоянной влажности 50-60%. На 10, 14, 22, 30, 38, 45, 53 и 58 сутки пленки доставали из почвы, аккуратно очищали и промывали в водопроводной воде, высушивали и взвешивали для определения убыли массы. 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, m_2 – конечная масса образца после деструкции в почве.



Рисунок 5 – Внешний вид контейнера с образцами (в чехлах из органзы)

2.4.1. Микробиологический анализ образцов почв. Выявление микроорганизмов-деструкторов ПГА

До экспозиции образцов пленок проведен микробиологический анализ фоновой почвы. Посев выполняли из почвенных суспензий. Для получения суспензий 1 г почвы помещали в колбы со 100 мл стерильной воды. Из суспензий получали разведения до 10^7 .

В конце 4 недели провели микробиологический анализ смывов с поверхности образцов пленок без пластификатора и с добавлением триэтилцитрата 5, 15, 30%. Для получения суспензии пленки асептически помещали в чашки Петри с 10 мл стерильной воды. Из суспензий получали разведения до 10^5 .

В конце 8 недели (после экспозиции образцов в почве) провели микробиологический анализ почвы, в которой были помещены образцы пленок. Суспензии из почвы получали, как и до экспозиции образцов.

Микробиологический анализ проводили общепринятыми методами [3]: численность копиотрофов, определяли на мясопептонном агаре (МПА); прототрофных бактерий, усваивающих минеральный азот – на крахмало-аммиачном агаре (КАА); олигонитрофильных и азотфиксирующих бактерий – на безазотистой среде Эшби; грибов на среде Чапека [3, 4]. Для бактерий высевали суспензии из разведений – 10^4 , 10^5 (смывы с поверхности образцов), 10^5 , 10^6 , 10^7 (почва) в трёх повторностях. Для грибов – из разведений 10^2 , 10^3 в трёх повторностях. На поверхность среды высевали суспензию в количестве 100 мкл.

Чашки с посевами выдерживали при температуре 30°C, в течение 3-7 суток – для бактерий, при температуре 25°C, в течение 7 суток – для грибов. Далее проводили количественный учет микроорганизмов.

Численность бактерий-деструкторов ПГА определяли на среде, которая в качестве источника углерода содержит 0,25% порошкообразного ПЗГБ []. Посев смывов с поверхности образцов проводили на двухслойный агар

(основная среда без полимера и питательная среда с полимером). Высевали суспензию из разведений 10^1 , 10^2 , 10^3 в трёх повторностях, в количестве 100 мкл.

Чашки с посевами выдерживали при температуре 30°C в течение 7-14 суток. После проводили количественный учет микроорганизмов.

Рост микроорганизмов-деструкторов сопровождался образованием вокруг колоний на поверхности среды прозрачных зон (Рисунок 6).



Рисунок 6 – Прозрачные зоны вокруг колоний на плотной среде с порошкообразным поли-3-гидроксibuтиратом

Количество микроорганизмов в исследуемых образцах (X) определяли по формуле:

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

где a – среднее количество колоний на чашке; b – разведение, из которого сделан высев; c – количество вносимой суспензии, мл; d – масса исследуемой почвы, г (или площадь образца пленки, cm^2).

2.4.2. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных проводили с использованием

программного пакета Microsoft Excel.

Эксперименты проводили не менее, чем в трех повторностях. Проводили расчет среднего значения, среднего квадратичного отклонения и доверительного интервала.

3.РЕЗУЛЬТАТЫ

Изъято 15 страниц

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов сделаны следующие выводы:

1. Получены и исследованы образцы композитных пленок ПЗГБ с добавлением триэтилцитрата 5, 10, 15, 20, 30 %.

2. Установлено, что краевой угол смачивания поверхности пленок водой зависит от концентрации пластификатора. При включении триэтилцитрата 5 и 10 % краевой угол смачивания снижается на $7,1^{\circ}$ и $3,8^{\circ}$, то есть гидрофильные свойства пленок увеличиваются. Однако включение триэтилцитрата от 15 до 30 % приводит к повышению гидрофобных свойств пленок (увеличение краевого угла смачивания на $6,6^{\circ}$).

3. Физико-механические свойства пленок показали, что увеличение концентрации триэтилцитрата приводит к снижению модуля Юнга в 4 раза, предела прочности в 2 раза, но к увеличению удлинения при разрыве в 7 раз (от $1,92 \pm 0,942\%$ до $13,44 \pm 1,123\%$).

4. Исследование деградации пленок в почве показало равномерное разрушение образцов в течение экспозиции. Существенного влияния триэтилцитрата на скорость деградации образцов не установлено.

5. Микробиологический анализ образцов пленок и почвы показал увеличение бактерий копиотрофов, прототрофов, азотфиксаторов в процессе биодеструкции, а также снижение численности бактерий – деструкторов ПГА с увеличением пластификатора в композите в 1,9 раз.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДБФ – дибутилфталат

ПВХ – поливинилхлорид

ПГА – полигидроксиалканоаты

ПЗГБ – поли-3-гидроксибутират

П(ЗГБ-со-4ГБ) – поли(3-гидроксибутират – со – 4-гидроксибутират)

П(ГБ-со-ГВ) – поли(гидроксибутират – со – гидроксивалерат)

П(ГБ-со-ГГ) – поли(гидроксибутират – со – гидроксигексаноат)

П(ГБ-со-ГО) – поли (гидроксибутират – со – гидроксioоктаноат)

П(ГБ-со-ГОд) – поли (гидроксибутират – со – гидроксioоктадеканоат)

ПКЛ – поликапролактон

ПЛА – полилактид

ПП – полипропилен

ПС – полистирол

ПЭГ – полиэтиленгликоль

ПЭТ – полиэтилентерефталат

ПЭ – полиэтилен

СМ – соевое масло

ТПК – термопластичный крахмал

ТЭЦ – триэтилцитрат

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Бессонова В.А. Полигидроксиалканоаты - новые биоматериалы/ В.А.Бессонова, К.М Ануфриева // Современные научные исследования и инновации. - 2016. - (7).
2. Волова Т.Г. Полиоксиалканоаты (ПОА) – биоразрушаемые полимеры для медицины/ Т.Г. Волова, В.И. Севастьянов, Е.И. Шишацкая – Новосибирск: Полиоксиалканоаты (ПОА) – биоразрушаемые полимеры для медицины, 2003. – 327 с.
3. Звягинцев, Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии – М.: Изд-во МГУ, 1990. – 303 с.
4. Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студ. высш. учеб. заведений/ А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук/ под ред. А.И. Нетрусова. – М.: ИЦ «Академия», 2005. – 612 с.
5. Прудникова С.В. Микробиологическая деградация полигидроксиалканоатов в модельных почвенных средах/ С.В. Прудникова// Вестник КрасГАУ – 2012. - №10
6. Сроки разложения мусора [Электронный ресурс]. URL: <http://uko.ru/services/utilizacija-pishhevih-othodov/40/49/>.
7. Babaniyi R. B. Recycling of used polyethylene through solvent blending of plasticized polyhydroxybutyrate and its degradation potential/ R. B. Babaniyi, F. J. Afolabi, M. P. Obagunwa// Composites Part C: Open Access – 2020. – volume 2
8. 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.Baroli // Macromolecular Symposia. Wiley Online Library. - 2003.
9. Broek L.A.M. Chitosan films and blends for packaging material/ L.A.M.Broek, R.Knoop, F.Kappen, C. Boeriu // Carbohydrate Polymers. - 2015. - (116). - С. 237–242.

10. 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. - № 11 (8).
11. Chaos A. Tributyl citrate as an effective plasticizer for biodegradable polymers: effect of plasticizer on free volume and transport and mechanical properties/ A. Chaos, A. Sangroniz, A. Gonzalez, M. Iriarte, J.R. Sarasua, J. Ríoc, A. Etxeberria// Society of Chemical Industry – 2018. – p.125-133
12. Choi J.S. Effect of biodegradable plasticizers on thermal and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate) / J.S.Choi, W.H.Park // Polymer Testing. - 2004. - № 4 (23). - C. 455–460.
13. Dhall R.K. Biodegradable Packaging/ R.K.Dhall, M.S.Alam // Reference Module in Materials Science and Materials Engineering.- 2019.
14. Dharmalingam S. Biodegradation and Photodegradation of Polylactic Acid and Polylactic Acid/Polyhydroxyalkanoate Blends Nonwoven Agricultural Mulches in Ambient Soil Conditions/ S. Dharmalingam //University of Tennessee – 2014.
15. Fabra M. F. Microbiological and ageing performance of polyhydroxyalkanoate-based multilayer structures of interest in food packaging/ M. J. Fabra, G. Sánchez, A. López-Rubio, J. M. Lagaron// LWT – Food Science and Technology – 2014. – volume 59 – p. 760-767
16. Gheorghe I. Advanced Biodegradable Materials for Water and Beverages Packaging/ I.Gheorghe, P.Anastasiu, G. Mihaescu, L.M.Ditu // Bottled and Packaged Water. - 2019. - C. 227–239.
17. Hahladakis J.N. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling/ J.N.Hahladakis, C.Velis, R.Veber, E. Iacovidou, P. Purnell // Journal of Hazardous Materials. - 2018. - C. 179–199.

18. Jost V. Effect of different plasticisers on the mechanical and barrier properties of extruded cast PHBV films/ V. Jost, H.C. Langowski// European Polymer Journal – 2015. – volume 68 – p. 302-312
19. King, L.F. Characterization of lubricants for polyvinyl chloride/ L.F. King, F. Noël. // Polym Eng Sci. – 2004. – 112-119
20. Koller M. Poly(hydroxyalkanoates) for Food Packaging: Application and Attempts towards Implementation. - 2014.
21. Krauskopf, L.G. How about alternatives to phthalate plasticizers?/ L.G. Krauskopf// J Vinyl Addit Technol, 9 – 2003. – 159-171.
22. Kumar S. Biodegradable and Recyclable Packaging Materials: A Step Towards a Greener Future/ S.Kumar, P.Singh, S.Gupta, J.Ali, S. Baboota // Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. - 2019.
23. Kurusu R.S. Incorporation of plasticizers in sugarcane-based poly(3-hydroxybutyrate)(PHB): Changes in microstructure and properties through ageing and annealing/ R. S. Kurusu, C. A. Siliki, É. David, N. R. Demarquette, C. Gauthier, J. M. Chenal// Industrial Crops and Products – 2015. – volume 72 – p. 166-174
24. Lemos Machado Abreu A.S. Biodegradable polymernanocomposites for packaging applications/ A.S.Lemos Machado Abreu, I. de Moura, A.V. de Sá, A.N. Alves Machado//Food packaging - 2017.
25. Luyt A.S. Can Biodegradable Plastics Solve Plastic Solid Waste Accumulation? / A.S.Luyt, S.S.Malik // Plastics to Energy. - 2019. - C. 403–423.
26. Meereboer K.W. Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites/ K. W. Meereboer, M. Misra, A. K. Mohanty// Green Chemistry – 2020. – №17
27. Mergaert J. et al. Microbial degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in soils/ J. Mergaert, A. Webb, C. Anderson, A. Wouters, J. Swings// Applied and environmental microbiology. –1993. – T. 59. – No. 10. – p. 3233-3238.

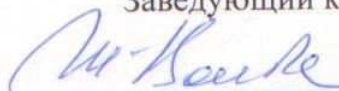
28. Panaitescu D.M. Plasticized poly(3-hydroxybutyrate) with improved melt processing and balanced properties/ D.M.Panaitescu, C. Nicolae, A. Frone, I. Chiulan, P. Stanescu, C. Draghici, M. Iorga, M. Mihailescu // Journal of Applied Polymer Science. - 2017.
29. Rahman M. The plasticizer market: an assessment of traditional plasticizers and research trends to meet new challenges/ M. Rahman, C.S. Brazel// Progress Polym. Sci. – 2004. - №29 (12) – p.1223-1248
30. Requena R. Effect of plasticizers on thermal and physical properties of compression-moulded poly[(3-hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyvalerate)] films/ R. Requena, A. Jiménez, M.Vargas, A. Chiralt// Polymer Testing – 2016. – volume 56 – p. 45-53
31. Reshmy R. Sugarcane bagasse derived nanocellulose reinforced with frankincense (*Boswellia serrata*): Physicochemical properties, biodegradability and antimicrobial effect for controlling microbial growth for food packaging application/ R. Reshmy, M. Aravind, P. Eapen, A.P. Sherely, S. Raveendran, B. Parameswaran, P. Arivalagan, S. Ranjna, P. Ashok// Environmental Technology & Innovation — 2021. – V.21.
32. Rydz J. Present and Future of Biodegradable Polymers for Food Packaging Applications Elsevier/ J.Rydz, M. Musioł, B. Zawidlak-Węgrzyńska, W.Sikorska//Biopolymes for Food Design - 2018. - 431–467 c.
33. Shen M. Are biodegradable plastics a promising solution to solve the global plastic pollution?/ M.Shen, B.Song, G.Zeng, Y.Zhang, W. Huang, X.Wen, W.Tang // Environmental Pollution. - 2020. - (263). - C. 114469.
34. Shruti V.C. Bioplastics: Missing link in the era of Microplastics/ V.C.Shruti, G. Kutralam-Muniasamy // Science of The Total Environment. - 2019. - (697). - C. 134139.

35. Siracusa V. Biodegradable polymers for food packaging: a review/ V.Siracusa, P.Rocculi, S.Romani, M.Rosa // Trends in Food Science & Technology. - 2008. - № 12 (19). - C. 634–643.
36. Suderman N.The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review/ N.Suderman, M.I.N.Isa, N.M.Sarbo// Food Bioscience – 2018. – volume 24 – p.111-119
37. Umemura R.T. Modeling of the properties of plasticized poly(3-hydroxybutyrate) as a function of aging time and plasticizer content/ R. T.Umemura, M. I. Felisberti// Materialstoday communications – 2020. – volume 25
38. Wang W. The ecotoxicological effects of microplastics on aquatic food web, from primary producer to human: A review/ W.Wang, H.Gao,S.Jin, R.Li, G.Na // Ecotoxicology and Environmental Safety. - 2019. - (173). - C. 110–117.
39. Wypych G. PLASTICIZERS IN POLYMER BLENDS/ G. Wypych // Handbook of Plasticizers. - 2017. - C. 485–493.
40. Wypych G. PLASTICIZER TYPES/ G. Wypych // Handbook of Plasticizers. 2017. C. 7–84.
41. Zhong Y. Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review/ Y.Zhong, P.Godwin, Y.Jin, H.Xiao // Advanced Industrial and Engineering Polymer Research. - 2020. - № 1 (3). - C. 27–35.

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

Базовая кафедра биотехнологии
кафедра

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой


Т.Г. Волова
подпись

«28» июня 20 21 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология
код-наименование направления

Исследование свойств пленок из поли-3-гидроксibuтирата в композиции с
пластификатором триэтилцитратом

тема

Руководитель


подпись, дата

доц., к.б.н.

должность, ученая степень

А.В. Демиденко

инициалы, фамилия

Выпускник


подпись, дата

В.Ю. Кравчук

инициалы, фамилия

Красноярск 2021