

БИОДЕГРАДАЦИЯ СМЕСЕЙ ПОЛИЭТИЛЕНА НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ С НАТУРАЛЬНЫМ КАУЧУКОМ В ПОЧВЕ

© 2021 г. И. А. Варьян^{1, 2*}, Н. Н. Колесникова¹, А. А. Попов^{1, 2}

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, Российской академии наук, Москва, Россия

²Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, Россия

*E-mail: ivetta.varyan@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.12.2020;

после доработки 14.04.2021;

принята в печать 20.04.2021

Исследована биологическая деградация смесевых композитов полиэтилена низкой плотности с натуральным каучуком в почве. Биоразлагаемость композитов проанализирована по изменению массы, внешнего вида, а также химического состава материалов с использованием метода инфракрасной спектроскопии. Анализ изменения ИК-спектров образцов после экспозиции в почве показал уменьшение *цис*-1,4-двойных связей, образование карбонильных групп, а также функциональных групп, принадлежащих биоматериалу. Полученные результаты согласуются с представлениями об окислительном механизме начального этапа процесса биодegradации натурального каучука и дают информацию о накоплении биомассы в образцах смеси полиэтилена низкой плотности и натурального каучука в зависимости от состава.

Ключевые слова: полиэтилен низкой плотности, натуральный каучук, смеси, биодegradация, инфракрасная спектроскопия.

DOI: 10.31857/S0207401X21120153

ВВЕДЕНИЕ

С ростом объема производства и потребления синтетических полимеров связана проблема накопления их отходов, необходимость утилизации которых становится все более острой проблемой [1, 2]. Значительную часть полимерных отходов представляют изделия из полиэтилена (ПЭ), наиболее широко применяемого в упаковочной отрасли и в сельском хозяйстве [3].

С целью снижения загрязнения окружающей среды полимерными отходами активно развивается направление создания биоразлагаемых смешанных композиций синтетических полимеров с натуральными компонентами, представляющими питательные среды для микроорганизмов. Такие материалы должны иметь достаточно высокий уровень эксплуатационных показателей и в тоже время обладать способностью к биоразложению в определенных условиях.

Для придания материалам на основе полиэтилена способности к биоразложению в естественных условиях часто предлагают использовать натуральные наполнители из возобновляемого сырья и отходов промышленного и сельскохозяйственного производства [4–12]. Эти добавки экономически предпочтительны, однако получаемые материалы обладают существенно более низкими механиче-

скими свойствами по сравнению с исходным полимером.

Проводятся исследования смесевых композиций ПЭ с добавлением биоразлагаемых полимеров, таких как полигидроксиалканоаты или полилактид [13–16]. Эти полимерные композиции обладают высокой биоразлагаемостью, но сложности биотехнологического процесса их получения и довольно большие затраты на оборудование обуславливают высокую стоимость материалов на их основе.

Одним из известных биодegradирующих полимеров является натуральный каучук (НК). В природе широко распространены разрушающие его микроорганизмы. Описаны многие бактериальные штаммы, которые способны использовать НК в качестве единственного источника углерода и энергии [17, 18]. Наиболее активными являются актиномицеты.

Первоначально научные исследования были направлены на предотвращение микробной деградации природного полиизопрена. Но в последние годы из-за интенсивного использования и накопления отходов этого материала микробная деградация рассматривается как один из альтернативных путей очистки окружающей среды. Растет количество исследований, направленных

на изучение биохимического механизма биологического разложения натурального каучука [19–21].

В настоящей работе натуральный каучук (НК) использовали в качестве природной добавки к ПЭ с целью придания материалу способности разлагаться под воздействием почвенных микроорганизмов. Для определения биоразлагаемости композиций ПЭ/НК разного состава применили лабораторный почвенный тест (ISO 846), имитирующий поведение материалов в естественных почвенных условиях.

Ранее в работе [22] было показано насколько легко при наличии воды НК подвергается биоразложению под воздействием почвенных микроорганизмов. Так, потеря массы пленочного образца НК во влажном лабораторном грунте за 90 сут составила 38 мас. %.

Цель настоящей работы – изучение процесса микробиологического разрушения композиций ПЭ/НК разного состава при экспонировании в почве с применением метода инфракрасной спектроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты

Объектами исследования в работе были образцы: полиэтилен низкой плотности (ПЭ) (марка 15803-020, “Нефтехимсевилен”, Россия), натуральный каучук НК (марка SVR 3L, Вьетнам), а также двойные смеси полиэтилен/натуральный каучук (ПЭ/НК), содержащие 10, 20, 30, 40 и 50 мас. % каучука. Молекулярные характеристики ПЭ $M_w = 1.0 \cdot 10^5$, $M_n = 1.5 \cdot 10^4$, $M_w/M_n = 6.7$ (гель – проникающая хроматография, растворитель – 1,2,4-трихлорбензол, 140 °C) [10].

Получение образцов

Приготовление композиций осуществляли на лабораторном смесителе типа Брабендер (Россия) в атмосфере технического аргона (ГОСТ 10157-79) при температуре 140 °C и скорости вращения ротора 45 об/мин. Рассчитанную навеску предварительно гранулированного образца НК помещали в смесительную камеру, через 2 мин добавляли взвешенное количество образца ПЭ, перемешивание проводили в течение 8 мин. Атмосфера инертного аргона была использована для уменьшения окисления полимеров. После окончания цикла смешения полученные композиции извлекали из смесительной камеры и охлаждали при комнатной температуре до их полного остывания. Далее измельченный материал помещали на целлофановую подложку и путем прессования на ручном гидравлическом прессе ПРГ-10 с

электронным блоком для нагрева плит (Россия) при температуре 140 °C, давлении 7.8 МПа (80 кгс/см²) и с последующей закалкой в воде при температуре (22 ± 2) °C получали пленочные образцы диаметром 8 см и толщиной (180 ± 10) мкм.

Методы исследования

Испытания на биоразрушение выполняли путем инкубирования пленочных образцов в почвенном грунте, подготовленном согласно стандарту ГОСТ 9.060-75, в лабораторных условиях при температуре (22 ± 3) °C. Влагоемкость почвы поддерживали на уровне 60%, что является оптимальным для биологической активности микроорганизмов. Образцы, помещенные в почву, выдерживали в течение различных промежутков времени с последующей очисткой от почвы проточной водой и высушиванием при комнатной температуре до постоянной массы.

Оценку деградации проводили по изменению внешнего вида, массы и химического состава образцов после экспонирования во влажной почве. Изменение окраски и физические дефекты образцов оценивали визуально и с помощью оптического микроскопа Axio Imager Z2m (Carl Zeiss, Германия) при увеличении 50× и 200× в проходящем и отраженном свете. Оценка изменения массы образцов проводилась путем взвешивания с погрешностью ±0.1 мг. Изменения молекулярного состава образцов определяли методом ИК-спектроскопии с использованием ИК-фурье-спектрометра Spectrum 100 (Perkin Elmer, США) при температуре (22 ± 2) °C в проходящем свете в области 4000–450 см⁻¹.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из параметров, по которым оценивают биоразлагаемость испытуемых материалов, может быть показатель потери массы после экспонирования в почве [23]. На рис. 1 показаны результаты определения изменения массы образцов ПЭ/НК с разным содержанием НК за определенные интервалы времени экспонирования в почве. Снижение массы наблюдается для всех образцов, однако для образцов с содержанием НК 10 и 20 мас. % изменения незначительны; наибольшую потерю массы показали композиции с 40 и 50 мас. % натурального каучука. За 24 месяца эксперимента образец с 40%-ным содержанием НК потерял 30.5% массы, а с 50%-ным содержанием натурального каучука – 42%. С ростом содержания НК в смеси (начиная с 30 мас. %) повышается его доступность для микроорганизмов вследствие изменения фазовой структуры композиции – перехода от дисперсного распределения фазы НК в матрице ПЭ к взаимопроникающим системам [24].

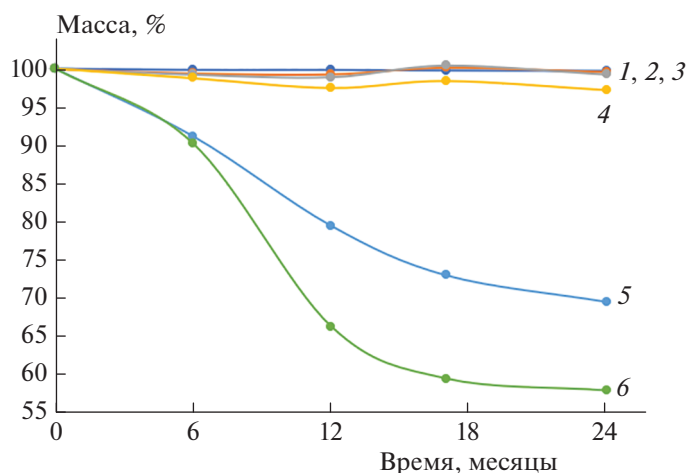


Рис. 1. Зависимости изменения массы образцов композитов ПЭ/НК с разным содержанием НК: 0 (1), 10 (2), 20 (3), 30 (4), 40 (5) и 50 мас.% НК (6) от времени экспозиции в почве.

Обращает на себя внимание факт снижения скорости потери массы образцов со временем выдержки в почве. Как отмечено в работе [25], показатель потери массы не всегда может быть однозначным критерием биоразлагаемости материалов в условиях окружающей среды, так как он является суммарным параметром, зависящим как от снижения массы в результате деструкции, так и от прироста биомассы.

Визуально и с помощью оптического микроскопа наблюдали изменения внешнего вида образцов после экспонирования в почве: появление окрашенных участков разной степени интенсивности, изменение рельефных характеристик и целостности (наличие полостей и сквозных отверстий) пленок. Для композиций с содержанием НК 40 и 50 мас.% эти изменения проявляются в наибольшей степени. Представленные на рис. 2 микрофотографии демонстрируют изменения структуры поверхности образца ПЭ/НК состава 50/50 после 24-месячного почвенного теста.

Контроль изменений химического состава композитов в процессе их деструкции в почве проводили с использованием метода ИК-спектроскопии в проходящем свете. На рис. 3 в качестве примера представлены ИК-спектры поглощения образцов ПЭ/НК состава 70/30 исходного (1) и после экспонирования в грунте в течение 24 месяцев (2). В спектрах исходного образца присутствует полоса поглощения, принадлежащая макромолекулам натурального каучука [20, 26] — полоса при 836 см^{-1} , относящаяся к C–H-внеплоскостному деформационному колебанию группы $\text{C}(\text{CH}_2)=\text{CH}$, а также полоса при 1663 см^{-1} , относящаяся к валентным колебаниям $\text{C}=\text{C}$ -групп каучука. Интенсивность этих полос растет пропорционально содержанию НК в образце.

Сравнительный анализ спектров до и после почвенного теста показывает, что через 24 месяца выдержки в почве исчезают полосы, принадлежащие макромолекулам каучука при 836 и 1663 см^{-1} . В то же время после почвенного теста на ИК-спектре образца наблюдаются полосы поглощения в областях $3600\text{--}3000$, $1770\text{--}1500$ и $1200\text{--}900\text{ см}^{-1}$, обусловленные появлением в структуре образцов функциональных кислородсодержащих (гидроксильных, карбонильных) групп.

На рис. 4 показаны ИК-спектры образцов композитов с разным содержанием НК после экспонирования в почве в течение 24 месяцев (область $1800\text{--}1500\text{ см}^{-1}$). Как видно из рисунка, спектры образцов с разным содержанием НК, подвергнутых воздействию почвенных микроорганизмов, различаются не только интенсивностью полос поглощения. Для образцов с содержанием каучука до 30 мас.% наблюдается увеличение интенсивности полосы поглощения с максимумом при 1714 см^{-1} , относящейся к колебаниям кетонной, альдегидной и других карбонильных групп, с ростом содержания НК в образцах. Для образцов с 40 и 50%-ным содержанием НК интенсивность полосы уменьшается наряду с появлением полос поглощения в области $1660\text{--}1640$ и при 1548 см^{-1} . Следует отметить, что эти же образцы в наибольшей степени подверглись структурным изменениям, изменениям окраски и потере массы. Полученные по ИК-спектрам данные можно объяснить с использованием представлений о механизме биодegradации НК.

Из-за высокой молекулярной массы каучук не может поглощаться бактериальными клетками и должен быть расщеплен внеклеточно до низкомолекулярного олигомера. Согласно литературным данным [27–30], за первичное воздействие

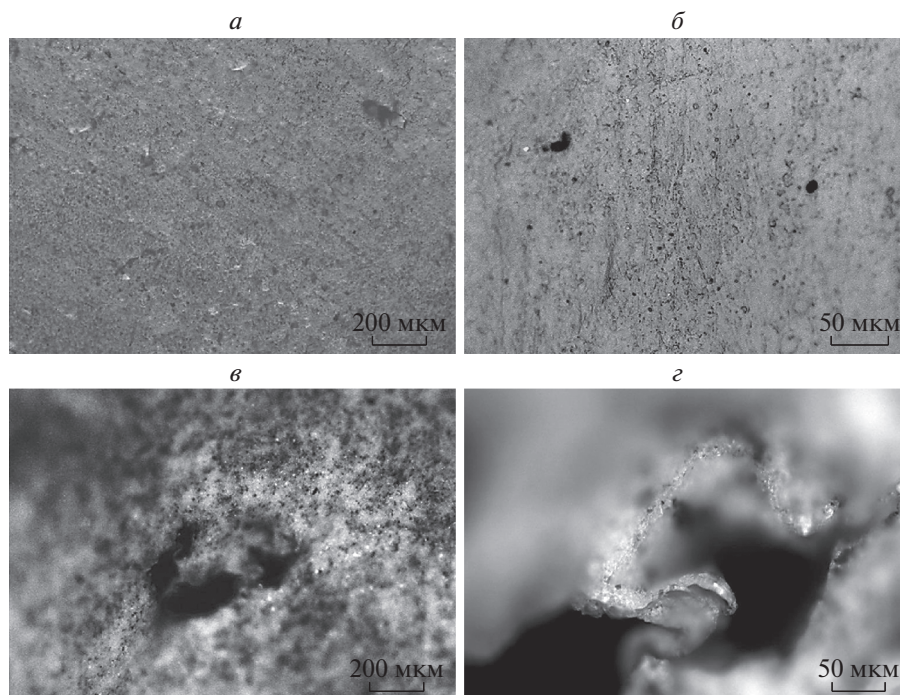


Рис. 2. Микрофотографии образца композиции ПЭ/НК с содержанием НК 50 мас.% (отраженный свет, увеличение 50× и 200×) до (а, б) и после экспонирования в почве в течение 24 месяцев (в, г).

на гидрофобный и водонерастворимый полиизопрен (основной компонент НК) ответственны ферменты оксигеназы. Для микроорганизмов использование каучука в качестве источника углерода

и энергии зависит от способности синтезировать расщепляющие каучук оксигеназы и транспортировать эти ферменты из клетки для достижения нерастворимого полимерного субстрата. В результате этого воздействия в аэробных условиях происходит разрыв двойной полиизопреновой связи и образование олигомеров с кетонной и альдегидной группами.

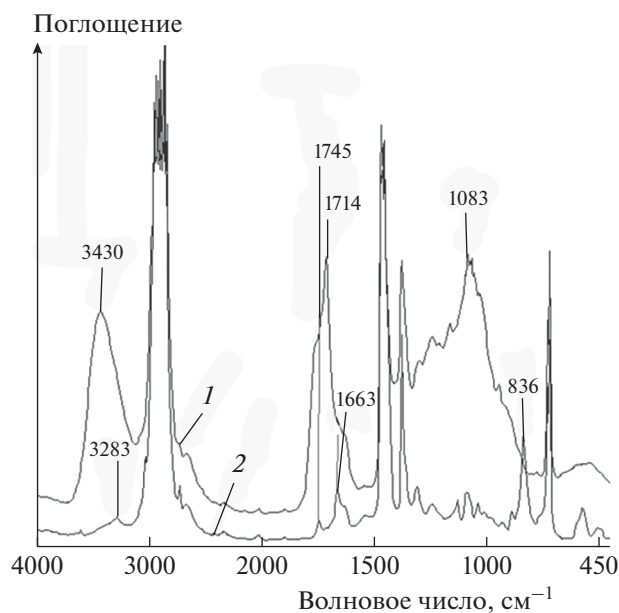


Рис. 3. ИК-спектры образцов композиции ПЭ/НК с содержанием НК 30 мас.%. 1 – исходного и 2 – после экспонирования в почве в течение 24 месяцев.

Наблюдаемое нами на спектрах образцов композиций ПЭ/НК после почвенного теста появление полос, принадлежащих карбонильным группам, наряду со снижением интенсивности полос, принадлежащих полиизопрену, свидетельствует об окислительном расщеплении молекул полиизопрена на начальном этапе биодеструкции в почве. Низкомолекулярные промежуточные альдегиды неустойчивы и дополнительно окисляются до кислот, которые дальше участвуют в биосинтезе, обеспечивая рост микроорганизмов.

Полосы поглощения на ИК-спектрах в области 1660–1640 и при 1548 см^{-1} относятся к валентным колебаниям $\text{C}=\text{O}$ и деформационным колебаниям $\text{N}-\text{H}$ и $\text{C}-\text{N}$ амидных групп. Согласно работам [31, 32], в которых исследовались ИК-спектры биологических образцов, эти полосы поглощения представляют собой принадлежащие бактериям маркерные полосы амидных групп. Появление соответствующих полос на спектрах композиций ПЭ/НК обусловлено накоплением биомассы в образцах при выдерживании их в поч-

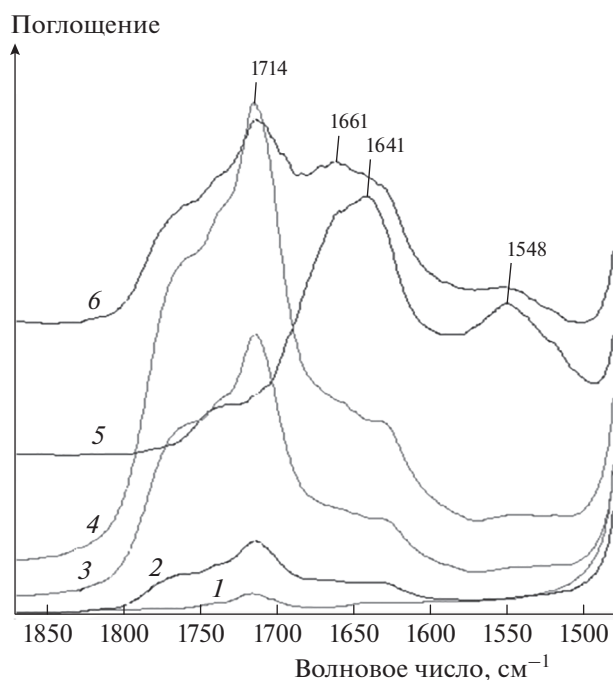


Рис. 4. ИК-спектры образцов композиций ПЭ/НК с разным содержанием НК: 0 (1), 10 (2), 20 (3), 30 (4), 40 (5) и 50 мас.% НК (6) после экспонирования в почве в течение 24 месяцев в области 1850–1500 см⁻¹.

ве, и позволяет судить о приросте биомассы микроорганизмов в процессе деградации материалов.

На спектрах образцов, после экспонирования в почве, наблюдается интенсивная широкая полоса поглощения в области 1200–900 см⁻¹ (рис. 3). Авторы работы [18], исследовавшие биопленки актиномицетов, разлагающих НК, относят эту полосу к колебаниям С–О-, С–О–С-групп полисахаридов. Наличие полос поглощения полисахаридов подтверждает образование биоматериала в образцах ПЭ/НК, подвергнутых почвенному тесту. Согласно полученным данным, образцы смесевых композиций ПЭ/НК с содержанием НК > 30 мас.%, подвергаются более глубокому окислению, сопровождаемому увеличением биомассы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, деструкция композитов полиэтилена низкой плотности с добавками натурального каучука в почве сопровождается потерей массы, изменением цветовых характеристик, нарушением целостности пленочных образцов. Применение метода инфракрасной спектроскопии позволяет контролировать использование НК почвенными микроорганизмами посредством ферментативного окисления с разрывом двойных связей и образованием концевых карбонильных групп, а также накопление биоматериала в образцах.

Информацию о накоплении биомассы ИК-спектроскопия дает по характерным для функциональных групп белковых соединений спектральным полосам поглощения. Основным эффектом деградации, вызванным микробным усвоением НК в смесях с ПЭ, является увеличение площади поверхности синтетического полимера, что может делать его более восприимчивым к абиотическому окислению.

Работа выполнена с использованием приборов Центра коллективного пользования (ЦКП ИБХФ РАН) “Новые материалы и технологии” и Центра коллективного пользования (ЦКП РЭУ им. Г.В. Плеханова) “Новое оборудование”.

Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования по теме госзадания “Полимерное материаловедение: кинетика и механизмы химических и физических процессов в полимерах, композитах и биологических системах” (номер госрегистрации 01201253305).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Prata J.C., Patricio Silva A.L., da Costa J.P., Mouneyrac C., Walker T.R. // Intern. J. Environ. Res. Public Health. 2019. V. 16. Issue 13. P. 2411; <https://doi.org/10.3390/ijerph16132411>
2. Потанова Е.В. // Изв. Байкальского гос. ун-та. 2018. Т. 28. № 4. С. 535.
3. Kyrikou I., Briassoulis D. // J. Polym. Environ. 2007. V. 15. P. 125.
4. Orhan Y., Buyukgungor H. // Intern. Biodeterior. Biodegrad. 2000. V. 45. P. 49.
5. Khvatov A.V., Lukanina J.K., Kolesnikova N.N., Popov A.A. // J. Balk. Tribol. Assoc. 2007. V. 13. № 4. P. 527.
6. Роговина С.З., Ломакин С.М., Алексанян К.В., Прут Э.В. // Хим. физика. 2012. Т. 31. № 6. С. 54.
7. Pantyukhov P.V., Khvatov A.V., Monakhova T.V., Popov A.A., Kolesnikova N.N. // Intern. Polym. Sci. Technol. 2013. T. 40. № 5. P. T55.
8. Ayswarya E.P., Francis K.F.V., Renju V.S., Thachil E.T. // Mater. Des. 2012. V. 41. P. 1.
9. Pantyukhov P.V., Kolesnikova N.N., Popov A.A. // Polym. Compos. 2016. V. 37. P. 1461.
10. Mastalygina E.E., Shatalova O.V., Kolesnikova N.N., Popov A.A., Krivandin A.V. // Inorg. Mater.: Appl. Res. 2016. V. 7. № 1. P. 58.
11. Смыковская Р.С., Кузнецова О.П., Волик В.Г., Прут Э.В. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 5. С. 72.
12. Попов А.А., Зыкова А.К., Масталыгина Е.Е. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 6. С. 71.
13. Madhu G., Bhunia H., Bajpai P.K. // Polym. Eng. Sci. 2014. V. 54. P. 2155.
14. Подзорова М.В., Тертышина Ю.В., Попов А.А. // Хим. физика. 2014. Т. 33. № 9. С. 57.
15. Ol'khov A.A., Iordanskii A.L., Zaikov G.E. // J. Balk. Tribol. Assoc. 2014. V. 20. P. 101.

16. Тертышина Ю.В., Подзорова М.В. // Прикл. химия. 2018. Т. 91. № 3. С. 377.
17. Yikmis M., Steinbüchel A. // Appl. Environ. Microbiol. 2012. V. 78. № 13. P. 4543.
18. Linos A., Berekaa M., Reichelt R., Keller U., Schmitt J. // Appl. Environ. Microbiol. 2000. V. 66. № 4. P. 1639.
19. Rose K., Steinbüchel A. // Ibid. 2005. V. 71. № 6. P. 2803.
20. Shah A.A., Hasan F., Shah Z., Kanwal N., Zeb S. // Intern. Biodeterior. Biodegrad. 2013. V. 83. P. 145.
21. Nanthini J., Sudesh K. // J. Polym. Environ. 2017. V. 25. P. 606.
22. Колесникова Н.Н., Луканина Ю.К., Попов А.А. // Деформация и разрушение материалов. 2012. № 7. С. 33.
23. Ермолович О.А., Макаревич А.В., Гончарова Е.П., Власова Г.М. // Биотехнология. 2005. № 4. С. 47.
24. Varyan I.A., Kolesnikova N.N., Mastalygina E.E., Popov A.A. // AIP Conf. Proc. 2020. V. 2310. P. 020345; <https://doi.org/10.1063/5.0035238>
25. Луканина Ю.К. Дис. ... канд. хим. наук. М.: ИБХФ РАН, 2011.
26. Дехант И., Данц Р., Киммер В., Шмольке Р. Инфракрасная спектроскопия полимеров. Пер. с нем. М.: Химия, 1976.
27. Birke J., Jendrossek D. // App. Environ. Microbiol. 2014. V. 80. № 16. P. 5012.
28. Hiessl S., Bose D., Oetermann S., Eggers J., Pietruszka J. et al. // Ibid. № 17. P. 5231.
29. Braga S.P., Santos A.P., Paganini T., Barbosa D., Epamino G.W. et al. // Braz. J. Microbiol. 2019. V. 50. P. 1051.
30. Jendrossek D., Birke J. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2019. V. 103. P. 125.
31. Schmitt J., Flemming H.-C. // Intern. Biodeterior. Biodegrad. 1998. V. 41. P. 1.
32. Maquelin K., Kirschner C., Choo-Smith L.-P., van den Braak N., Endtz H.Ph. et al. // J. Microbiol. Methods. 2002. V. 51. P. 255.