

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

ОСОБЕННОСТИ БИОДЕСТРУКЦИИ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ
НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНА ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ И КРАХМАЛА

© 2023 г. Т. Н. Сулова^а, * И. И. Салахов^а, В. Н. Никонорова^а, Г. В. Гилаева^а, О. М. Трифонова^а

^аПАО «Нижнекамскнефтехим», Нижнекамск, 423574 Россия

*e-mail: a-r-x2010@mail.ru

Поступила в редакцию 17.07.2022 г.

После доработки 29.05.2023 г.

Принята к публикации 29.05.2023 г.

Проведено исследование деструкции композитов на основе полиэтилена высокой плотности (ПЭВП), наполненных полисахаридами амилозы и амилопектина. Показано, что при низких дозировках полисахаридов (0.5 мас. %) не происходит изменение вязкостных, молекулярно-массовых и физико-механических характеристик образцов ПЭВП, а с повышением доли природного наполнителя (крахмал) до 1 и 5% наблюдается снижение механических свойств, однако значения деформационно-прочностных показателей соответствуют минимальным необходимым требованиям для пленочной упаковки. Выявлено, что после почвенного депонирования в течение одного года наибольшим изменениям свойств подвергся образец пленки из ПЭВП с содержанием кукурузного крахмала 5 мас. %. Изучение способности аэробных микроорганизмов к трансформации поверхности изученных пленочных композитов показало, что бактерии рода *Bacillus* способны эффективно колонизировать полиэтиленовые композиты. Выявлено, что среди идентифицированных микроорганизмов микромицеты родов *Penicillium* и *Trichoderma* способны наиболее активно изменять структуру полученных полимерных композитов, а наибольший эффект достигается при синергическом воздействии разных родов микромицетов.

Ключевые слова: полиэтилен, полисахарид амилозы и амилопектина, биодеструкция, микромицеты

DOI: 10.31857/S0026365622600596, **EDN:** HXVKYD

Еще до возникновения проблемы загрязнения окружающей среды пластиком был начат поиск альтернативного сырья для производства биоразлагаемых полимеров. Корни этих исследований уходят в 30-е годы XX в., когда промышленный автогигант Генри Форд исследовал возможность использования пластика на основе соевых бобов для различных комплектующих своих автомобилей (Тасекеев, 2009). В этом есть доля иронии, ведь индустрия пластмасс началась с использования в качестве сырья природных ингредиентов — натурального каучука и нитроцеллюлозы. Синтетические пластики, в частности, полиэтилен (ПЭ), начали широко применять лишь во время Второй Мировой войны из-за резкой нехватки резины и металла. С тех пор синтетические полимеры стали вытеснять натуральные материалы и в настоящее время прочно вошли в нашу жизнь. За этот период долговечность пластмасс значительно увеличилась, возросла их устойчивость ко многим факторам окружающей среды. Также в мире возросли и темпы их производства, которые достигли к 2018 г. 360 млн т. Необходимо отметить, что примерно 30% производимого пластика используется в качестве упаковочных материалов

(полиэтиленовые пленки, пакеты) (<https://takeidela/news/2020>).

Инертность пластмасс и устойчивость к микробной деградации приводят к их стремительному накоплению в окружающей среде, в связи с чем возникает проблема переработки и утилизации пластиковых отходов (Nakamae, 1997; Koutny et al., 2006; Shah, 2013). Только в России ежегодно на свалках оказывается около 2 млн т полимерных материалов (Bensch et al., 2010). В настоящее время для предотвращения загрязнения природной среды пластмассовыми отходами применяют захоронение и утилизацию путем сжигания, пиролиза или переработки (Мазитова и соавт., 2021). Однако эти методы экономически невыгодны, технически сложны и, самое главное, не приводят к существенному улучшению экологической ситуации.

Оптимальным решением является создание биоразлагаемых материалов для изделий с коротким сроком службы (упаковочные материалы, одноразовая посуда, авторучки, транспортные паллеты и т.д.), подавляющее большинство которых изготавливают из ПЭ. Этот пластик наиболее востребован не только в индустрии упаковки, но

и широко используется в пищевой и легкой промышленности, медицине и других отраслях.

Существующие в настоящее время биоразлагаемые полимеры, например, полилактиды или полигидроксиалканоаты, дороже традиционных полимеров (Тасекеев, 2009). Но даже если стоимость будет сопоставима, полимеры, особенно на основе полиолефинов, еще долго будут занимать ведущие позиции в производстве пластика.

В последнее время широкое распространение получили полимерные композиты на основе ПЭ с добавлением различных добавок растительного происхождения (полилактид, древесная мука, крахмал и др.), легко усваиваемых микроорганизмами, что позволяет добиться инициации биоразложения полиолефинов (Nowak et al., 2011; Агзамов и соавт., 2012; Сулова и соавт., 2014). Из многообразия природных наполнителей полисахарид амилозы и амилопектина (крахмал) наиболее перспективен, так как является недорогим, полностью биоразлагаемым и возобновляемым сырьем. При этом, его пониженные механические свойства и высокая растворимость в воде послужили толчком для разработки способов и методов пластификации или смешения с синтетическими полимерами для получения конкурентных коммерческих товаров (Аамер, 2006). Выбор кукурузного крахмала для данной цели обусловлен его повышенной дисперсностью, сферичностью его частиц и высокой проницаемостью (Blumenthal, Vochaton, 2010).

Необходимо отметить, что существенная роль в процессах деструкции материалов принадлежит микроорганизмам (Котова и соавт., 2021), которые отличаются большим многообразием ферментативных систем и проявляют свою активность в различных условиях концентрации кислорода, влажности, pH, температуры, наличию минералов и т.д. (Roy et al., 2008; Щербо, Антонова, 2008). Поэтому исследование разнообразия микроорганизмов, способствующих деструкции композитных материалов на основе ПЭ, крайне актуально.

Целью данной работы было изучение возможности деструкции почвенными микроорганизмами полимеров на основе полиэтилена с добавлением крахмала, а также выявление особенностей физико-механических характеристик таких композитных материалов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе были проведены испытания по наполнению промышленного бимодального (полученного по двухреакторной каскадной технологии) полиэтилена высокой плотности (ПЭВП) (ПТР_{190°C/2.16 кг} = 0.2 г/10 мин, $\rho = 0.948$ г/см³) производства ПАО “Нижнекамскнефтехим” кукурузным крахмалом высшего сорта ГОСТ 32159–2013 произ-

водства “Распак” (г. Москва) в дозировках 0.5, 1.0 и 5.0 мас. %. Данная бимодальная марка ПЭВП используется для получения высокопрочной пленки. Выбранные концентрации натурального наполнителя позволяют увеличить степень биодеструкции полиэтилена, при этом сохраняя удовлетворительные эксплуатационные свойства этих материалов.

Получение композитов на основе полиэтилена и крахмала. Получение композитов осуществляли путем механического перемешивания порошка ПЭ с крахмалом. Для пластификации крахмала добавляли глицерин в количестве 5% от массы натурального наполнителя. Далее гранулирование ПЭ осуществляли в лабораторных условиях на лабораторной системе PolyLab OS (“Thermo Finder Scientific”, США) (технологический режим экструзии: скорость вращения шнеков 60 об./мин, температура цилиндра экструдера: $T_1 = 205^\circ\text{C}$, $T_2 = 210^\circ\text{C}$, $T_3 = 215^\circ\text{C}$, $T_4 = 220^\circ\text{C}$). Получение полиэтиленовой пленки толщиной 1 мм осуществляли на лабораторном экструдере Plasti-Corder Brabender (“Brabender”, Германия) (технологический режим экструзии: скорость вращения шнеков 65 об./мин, толщина фильеры 0.3 мм, температура в зоне загрузки полимера 190–230°C, в зоне фильеры 250°C). Охлаждение формирующей пленки проводили при комнатной температуре.

Определение физико-механических и структурных характеристик композитов. Показатель текучести расплава (ПТР) определяли на экструзионном пластометре 5SA (“Ray-Ran”, Великобритания) в соответствии с ASTM 1238 при температуре 190°C и постоянной нагрузке 5.0 кг. Испытания физико-механических свойств проводили согласно ГОСТ 11262 на разрывной машине Tensometer T-2000 (“Alpha Technologies”, США). Эксперименты проводили в трех независимых повторностях, на основании которых рассчитывали среднее арифметическое и величину стандартного отклонения. О наличии изменений в составе полиэтиленовых композитов под действием микроорганизмов судили по убыли их массы, а также по данным инфракрасной (ИК) спектроскопии. Идентификацию структуры образцов проводили в течение 1 года с контрольным измерением каждые 90 сут на ИК-спектрометре Spectrum 100 (“Perkin Elmer”). Микроскопирование образцов проводили с помощью оптического поляризационного микроскопа Микромед ПОЛАР 3 (“MicroMed”, Россия) при увеличении 100×, 200× и 1000× в проходящем свете. Микрофотографии образцов были получены с помощью встроенного цифрового фотоаппарата Olympus CX-41. Молекулярно-массовое распределение полимеров определяли на высокотемпературном гель-хроматографе HLC-8321GPC/HT (“Tosoh High Temperature GPC System”, Германия) по ISO 16014-1:2012.

Расчет молекулярных характеристик проводили по полистирольной калибровке с использованием коэффициентов Марка–Куна–Хаувинка–Сакурады (2 повторения, отклонение не более 5%). Мониторинг массы образцов проводили в течение 1 года с контрольным измерением каждые 90 сут.

Определение термических характеристик композитов. Измерение кислородной индукции композитов ПЭ определяли методом синхронного термического анализа на приборе STA 409 PC (“Netzsch”, Германия) по ISO TR 10837. Идентификацию газов, выделяющихся при разложении композитов, проводили с помощью синхронного термического анализа, совмещенного с масс-спектрометрией на приборе STA 449C Jupiter+QMS 403C Aeolos Netzsch (“Netzsch”, Германия), оборудованном метанатором и насадочной колонкой длиной 3 м, заполненной адсорбентом Porapak Q, фракция 80/100мм.

Условия испытания композитов. Для определения оптимальных для биодеструкции условий культивирования композитные образцы в лаборатории инкубировали на питательных субстратах (почва с территории полигона твердых бытовых отходов (ТБО) г. Нижнекамск и водная почвенная вытяжка, которую получали из того же источника), а также на питательных средах Чапека–Докса с сахарозой и без нее для определения степени биодegradации композитов в присутствии дополнительного легкодоступного источника углерода.

Композиты взвешивали поштучно на аналитических весах ViBRA HT 224RCE погрешностью 0.0001 г (по 5 повторностей) и далее вертикально погружали в субстрат на глубину 10 см и выдерживали в лаборатории при температуре окружающей среды $25 \pm 5^\circ\text{C}$. Для активизации микрофлоры почву рыхлили и увлажняли раствором биогенных элементов в течение 7 сут. Раствор биогенных элементов имел следующий состав (г/дм³ дистиллированной воды): $\text{NaNO}_3 - 2.0$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 1.0$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0.5$; $\text{KCl} - 0.5$; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0.01$. Влажность почвы поддерживали на уровне 35–50% до конца эксперимента.

В почве и почвенной водной вытяжке изучали возможность деструкции композитов аборигенными микромицетами, выделенными с полигона ТБО г. Нижнекамск. Почву для опытов готовили следующим образом: почву сначала разрыхляли, удаляли случайные механические включения (обломки камней, корневищ и веток) и просеивали через сито с размером ячеек 2 мм, затем увлажняли до уровня 35–50% влажности. В среду Чапека–Докса вносили грибы, выделенные в данном исследовании из почвы путем многократных пересевов последовательных десятикратных разведений материала, отобранного с полигона ТБО,

на жидкой среде Сабуро, как описано в руководстве (Литвинов, 1967, 1969).

В качестве предобработки с целью интенсификации деструкции, пленочные композиты перед их использованием и внесением в питательную среду обрабатывали ультрафиолетом в боксе, оснащенном УФ-лампой с длиной волны 315–400 нм и интенсивностью 1215 мкВт/см² в течение 20 сут непрерывного УФ-облучения (Bensch et al., 2010). Выбор данного светового спектра обосновывался тем, что наиболее активное воздействие на полимеры оказывает энергия излучения в ближней УФ-части спектра (300–400 нм), которой достаточно для разрыва большинства ковалентных связей.

Выделение и условия культивирования почвенных грибов. Используя образец пленки с содержанием крахмала 5%, показавшей наибольшую деструкцию при нахождении в почве, провели скрининг грибов, способных трансформировать поверхность пленочных композитов на основе ПЭВП и полисахарида амилозы и амилопектина.

Грибы были выделены из субстрата, отобранного с территории ТБО г. Нижнекамск. Для их выделения и культивирования использовали следующие плотные (агаризованные) среды: мясопептонный агар (МПА) и среда Чапека–Докса. Среды стерилизовали при 1 атм в течение 20 мин.

Для выделения грибов, способных использовать в качестве источника углерода и энергии композиты на основе ПЭВП и крахмала, 1 г отобранного с полигона ТБО субстрата вносили к 250 мл среды Чапека–Докса без источника углерода, тщательно перемешивали, отфильтровывали от крупных частиц через 4 слоя стерильной марли и инкубировали с образцом синтезированного полимерного композита. Культивирование проводили в герметично закрытых колбах в шейкере-инкубаторе при 100 об./мин и 30°C в течение 5 мес.

По окончании срока инкубации в почвенной вытяжке из колб с образцом композита осуществляли ряд последовательных десятикратных разведений с последующим посевом на агаризованные среды. Посевы на МПА инкубировали в течение суток при 30°C , далее – при комнатной температуре. При выделении микромицетов посевы на среде Чапека–Докса выращивали в течение 7 сут при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

Идентификацию бактерий проводили методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией MALDI-TOF MS с использованием системы Bruker Biotyper (“Bruker Daltonics”, Германия), в который вошли: Microflex LT instrument и Flex-Control, программное обеспечение Biotyper 3.0. Штаммы культивировали на МПА: 300 мл МПА с 20 мл почвенной вытяжки, затем дважды пассиви-

ровали в аэробных условиях на питательном агаре ("Fluka/Sigma-Aldrich") при температуре 37°C. Для идентификации брали изолированные колонии микроорганизмов. Ионизацию бактериальных белков осуществляли с помощью специального реагента — матрицы (α -циано-4-гидроксикоричная кислота и раствор, содержащий 50% ацетонитрила и 2.5% трифторуксусной кислоты). Идентификацию бактерий проводили в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения Bruker Biotyper Real Time Classification, версия 3.1 ("Bruker Daltonics", Германия). Результат учитывали по данным значения коэффициента видовой идентификации. Результаты считали достоверными, если коэффициент совпадения (Score) имел значение от 2.0 и выше. До проведения бактериологических исследований изоляты хранили при температуре -70°C в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 20% глицерина.

Микромицеты определяли на основе их морфолого-культуральных и физиолого-биохимических признаков с использованием специализированного определителя (Bensch et al., 2010).

Через 12 мес. инкубации композиты извлекали из сред, кратковременно (5 с) промывали 40% этиловым спиртом как ПЭВП, так и крахмалонаполненные композиты для удаления микроорганизмов с их поверхности и затем высушивали при 60°C в течение 24 ч до постоянной массы, которую измеряли на аналитических весах ViBRA HT 224RCE ("Vibra Measure the Future", Япония).

Образцы полиэтиленовой композитной пленки инкубировали в жидкой среде Чапека—Докса — одной из основных питательных сред для культивирования микромицетов, поскольку микроскопические грибы, благодаря разнообразию и высокой активности ферментных систем (Nowak et al., 2011), играют наиболее важную роль в процессах биоразложения различных материалов как биотического, так и абиотического происхождения. В качестве контроля был взят исходный образец композита ПЭ с 5% крахмала (3 повторности). Почвенные микроорганизмы-деструкторы выделяли после 5 мес. инкубирования композитов на среде Чапека—Докса без дополнительных источников углерода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние инкубации в почве на свойства пленочных образцов. Установлено, что после одного года инкубирования в почве произошло уменьшение массы у всех крахмалсодержащих пленочных образцов. Через 90 сут в образцах ПЭВП с массовым содержанием крахмала 0.5, 1.0 и 5.0 мас. % было отмечено водопоглощение, результатом которого стало увеличение массы образцов на 0.8, 1.3 и 2.1% соответственно ($\pm 0.001\%$). Но при более

продолжительной (1 год) инкубации начался процесс биодеградации, и масса образцов уменьшилась, соответственно, на 0.1 (ПЭВП + 0.5% крахмала), 2.2 (ПЭВП + 1.0% крахмала) и 10.8% (ПЭВП + 5.0% крахмала).

Таким образом, композит с наибольшим содержанием крахмала (5%) был в наибольшей степени подвержен деструкции. Предположительно, увеличение содержания крахмала как органической добавки способствует его преимущественному потреблению микроорганизмами и большей деструкции композитного материала на основе ПЭ. Это также было ранее показано на примере *Bacillus pumilus* и *B. cereus* в композитах ПЭВП при разложении в течение 60 сут на мусорной свалке (Roy et al., 2008; Агзамов и соавт., 2012; Котова и соавт., 2021). Необходимо отметить, что у пленочного образца ПЭВП без добавления крахмала в течение всего периода инкубации масса осталась неизменной.

Следующим шагом стало исследование изменения в ходе инкубации молекулярных, физико-механических, термоокислительных характеристик композитов и установление зависимостей данных параметров от содержания природного наполнителя для наполненных композитов в течение года. Результаты приведены в табл. 1 и 2.

Из приведенных данных видно (табл. 1, 2), что молекулярные характеристики композитного материала в значительной степени зависят от содержания природного наполнителя (крахмал), повышение содержания которого с течением времени приводит к существенному снижению средней молекулярной массы полимерных образцов, тем самым интенсифицируя их деградацию. Увеличение доли крахмала в полимере приводит, однако, к ухудшению физико-механических свойств ПЭ, хотя значения показателей соответствуют минимальным необходимым требованиям для пленочной фасовочной упаковки.

Большим внешним изменениям после инкубации в почве в течение одного года подверглись образцы ПЭВП с содержанием полисахаридов 1 и 5 мас. %. В начале эксперимента пленочные образцы были ровными и гладкими. Через 90 сут инкубации на поверхности образца с наибольшим содержанием крахмала появились шероховатости и темные мелкие пятна. Далее, после более продолжительной экспозиции (1 год), образец становился темным, пористым с большим содержанием темных включений, то есть продолжительная инкубация в почве привела к потере эксплуатационных свойств крахмалонаполненных образцов, особенно с 5% содержанием полисахаридного наполнителя.

Результаты исследования образующихся газов с помощью термического анализа, совмещенного с масс-спектрометрией, выявили, что с увеличе-

Таблица 1. Изменение молекулярных характеристик образцов ПЭВП, наполненных кукурузным крахмалом в разных соотношениях, до и после инкубации в почвенной среде в течение года

Показатель, ед. изм.		Доля наполнителя (кукурузный крахмал), %			
		0	0.5	1.0	5.0
M_n , кг/моль	Исходный	9.4	9.9	9.8	10.5
	После инкубации	9.7	10.1	10.5	16.2
M_w , кг/моль	Исходный	311.1	304.7	298.5	259.8
	После инкубации	302.5	297.5	279.1	61.1(↓)
M_w/M_n	Исходный	33.1	30.8	30.5	24.7
	После инкубации	31.2	29.5	26.6	3.8(↓)

Таблица 2. Изменение свойств деформационно-прочностных свойств и термоокислительной стабильности ПЭВП, наполненных кукурузным крахмалом в разных соотношениях, до и после инкубации в почвенной среде в течение года

Показатель, ед. изм.		Доля наполнителя (кукурузный крахмал), %			
		0	0.5	1.0	5.0
Прочность при разрыве, МПа	Исходный	27.2 ± 0.01	30.3 ± 0.01	19.1 ± 0.01	17.2 ± 0.01
	После инкубации	27.1 ± 0.01	12.1 ± 0.01	8.5 ± 0.01	2.1 ± 0.01
Относительное удлинение, %	Исходный	726 ± 2.0	720 ± 2.0	695 ± 2.0	260 ± 2.0
	После инкубации	710 ± 2.0	560 ± 2.0	350 ± 2.0	50 ± 0.5
Термостабильность при 200°C в среде O ₂ , мин	Исходный	120 ± 0.8	5.4 ± 0.1	5.1 ± 0.1	4.9 ± 0.1
	После инкубации	120 ± 0.8	5.9 ± 0.1	5.2 ± 0.1	6.1 ± 0.1

нием содержания крахмала углерод становится наиболее доступным для расщепления и преобразования в парниковые газы (табл. 3). С увеличением содержания органического наполнителя при термическом исследовании композитов после инкубации уменьшалась концентрация парниковых газов, то есть метан и диоксид углерода выделялись уже при выдерживании в почве в ходе проведения эксперимента. Таким образом, введение полисахарида амилозы и амилопектина придает свойства биодegradации композиту полиэтилена, что не наблюдается в контрольном образце (ПЭВП) без наполнителя.

В течение всего времени (1 года) инкубации проводили анализ разнообразия культивируемых микроорганизмов почвы. Путем высева на среду МПА определяли общее содержание аэробных гетеротрофных бактерий, а на агаризованной среде Чапека–Докса выявляли наличие микроскопических грибов (микроспоридиомицетов). Особое внимание уделяли микроспоридиомицетам, так как именно грибы за счет специализированных ферментных комплек-

сов играют ведущую роль в биодеструкции полимерных материалов.

В первые 90 сут эксперимента наблюдали фазу инициации роста. В этот период микробное сообщество приспосабливалось к новым условиям культивирования и субстрату в виде композитного материала (ПЭ с 5% крахмала). После инкубации в почве в течение 9 сут образцов (ПЭ с 5% крахмала) общее количество бактерий и микроспоридиомицетов в почвенной среде возросло (с 5.8×10^6 до 1.6×10^9 КОЕ/г). Это позволяет сделать вывод о развитии в исследованных образцах (композит ПЭ с 5% крахмала) микробного сообщества, осуществляющего частичную деградацию композитов в течение 1 года инкубирования.

Исследование процесса биодеструкции пленочных образцов в жидких средах. По результатам исследований первых месяцев эксперимента, так же как и при культивировании в почве, наблюдали увеличение массы образцов, видимо, связанное с поглощением влаги зернами крахмала, входящи-

Таблица 3. Результаты термического анализа образцов композитов ПЭВП с кукурузным крахмалом в разных соотношениях, до и после инкубации в почвенной среде в течение года

Наименование образца, содержание крахмала		Содержание компонента, (ед. ионного тока · время) × 10 ⁻⁹ А · с			
		$m/z = 15$ (CH ₄)	$m/z = 44$ (CO ₂)	$m/z = 18$ (H ₂ O, физ. связ.)	$m/z = 18$ (H ₂ O, хим. связ.)
ПЭВП	Исходный	55.8	246.6	354.3	171.2
	После инкубации	44.6	160.1	189.5	225.9
	Δ, %	-20.1	-35.1	-46.5	+32.0
ПЭВП + 0.5%	Исходный	59.5	229.3	259.0	155.0
	После инкубации	46.8	142.1	194.9	228.3
	Δ, %	-21.3	-38.0	-24.7	+47.3
ПЭВП + 1.0%	Исходный	48.3	216.0	141.1	166.2
	После инкубации	46.5	123.8	197.1	222.2
	Δ, %	-3.7	-42.7	-39.7	+33.7
ПЭВП + 5.0%	Исходный	46.4	356.1	Отс.	22.5
	После инкубации	42.6	135.0	207.0	126.6
	Δ, %	-8.2	-62.1	+100	+462.7

ми в состав композита. После года экспозиции, как и при постановке опыта на почвенных субстратах, во всех образцах, кроме контрольного, было отмечено уменьшение массы. И если на среде Чапека–Докса с добавлением сахарозы и аналогичной среде без сахарозы с малым (0.5–1%) содержанием крахмала деструкция незначительна и находится в пределах погрешности эксперимента (снижение массы образцов не более 1.0%), то в варианте опыта без сахарозы при высоком (5%) содержании крахмала масса образца снизилась на 16.4%, что говорит о процессе деструкции композитов именно в условиях углеродного голодания.

Значения рН сред в процессе культивирования в течение 90 сут снизились с 6.7 до 3.3–4.3, что подтверждает протекание биохимических процессов – подкисление происходит в результате выделения в среду культивирования продуктов клеточного метаболизма.

На микрофотографиях (рис. 1) видно, что композит с содержанием крахмала 5 мас. % в сравнении с композитом, содержащим крахмал в концентрации 1 мас. % (рис. 1б), подвергся большим структурным изменениям, что выражено в появлении “кратеров” и подтверждает данные о достаточно активном процессе деструкции.

Таким образом, деструкция пленочных крахмалонаполненных композитов полиэтилена происходит и в жидких средах, то есть возможна при попадании композитов из таких материалов в водоемы, что, однако, также ведет к появлению частиц микропластика в окружающей среде.

Выделение и идентификация микроорганизмов, оказывающих наибольшее влияние на биодеструкцию пленочных образцов. Бактерии, выделенные непосредственно из почвы полигона ТБО на среде Чапека–Докса без глюкозы (источника углерода), разнообразны и представлены бациллами, псевдомонадами, клебсиеллой и агробактериями. Единственной доминирующей группой культивируемых бактерий, колонизирующей поверхность полиэтиленового композита в почвенной среде, оказались представители рода *Bacillus* (табл. 4).

На основании полученных данных можно сделать вывод, что бактерии рода *Bacillus* преимущественно колонизируют полиэтиленовые композиты и, возможно, могут играть важную роль в деструкции ПЭ. В литературе подтверждается способность бацилл частично влиять на деградацию ПЭ. *B. pumilus*, *B. cereus* и *B. halodenitrificans* способны нарушать структуру полиэтилена низкого давления через 120 сут воздействия (Nafchi et al., 2013), по другим источникам, идентифицированные

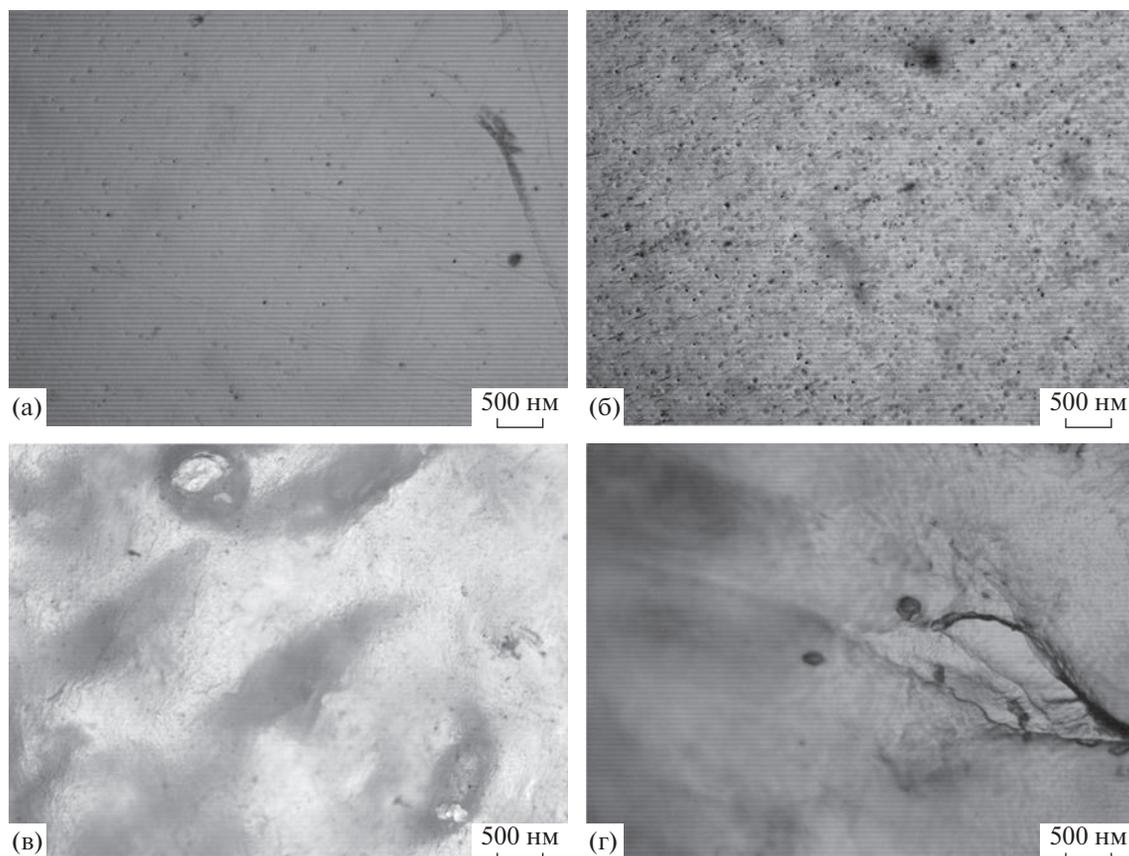


Рис. 1. Микрофотографии отмытых 40% этиловым спиртом (увеличение $\times 100$) композитов из полиэтилена высокой плотности и кукурузного крахмала до и после инкубирования в течение 1 года в среде Чапека–Докса без сахарозы: (а) – исходный ПЭВП с 1% крахмала; (б) – исходный ПЭВП с 5% крахмала; (в) – ПЭВП с 1% крахмала после инкубирования в питательной среде с микроорганизмами течение 1 года; (г) – ПЭВП с 5% крахмала после инкубирования в течение 1 года.

Таблица 4. Таксономическая принадлежность бактерий, выделенных с полиэтиленового композита с содержанием крахмала 5 мас. %, инкубированных в течение 20 сут при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$

Изолят	Результат идентификации	Референтный штамм в базе данных NCBI	Процент сходства, %
E3_5	<i>Bacillus megaterium</i>	DSM 32T DSM	98.1 ± 0.1
E5_6	<i>Bacillus cereus</i>	994000168 LBK	95.5 ± 0.1
E11_14	<i>Bacillus mycoides</i>	DSM 2048T DSM	92.8 ± 0.11
E7_7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19955_1 CHB	98.1 ± 0.1
F3_16	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> sp. <i>aurantiaca</i>	CIP 106718T HAM	96.4 ± 0.1
A6_9	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumonia</i>	9295_1 CHB	95.7 ± 0.1
F7_18	<i>Agromyces mediolanus</i>	HNI108_DSM 20152T HKJ	97.1 ± 0.1
C4_1	<i>Bacillus megaterium</i>	DSM 32T DSM	93.4 ± 0.1
C6_2	<i>Bacillus cereus</i>	994000168 LBK	94.8 ± 0.1
C10_3	<i>Bacillus mycoides</i>	DSM 2048T DSM	95.1 ± 0.1

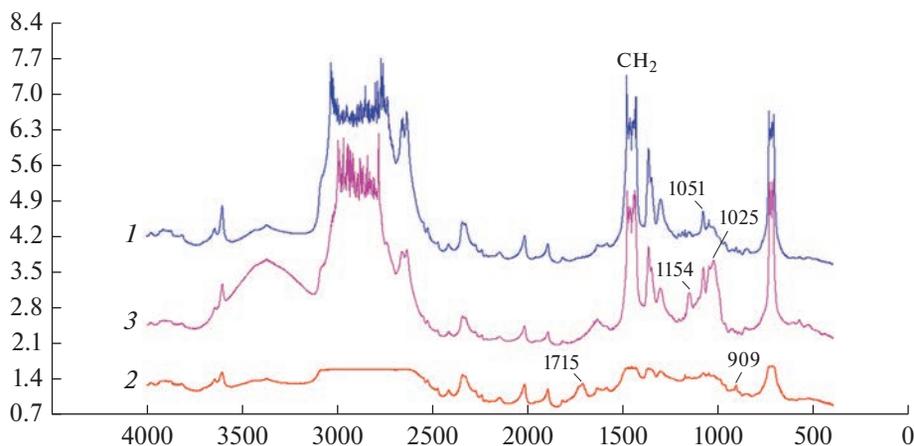


Рис. 2. ИК-спектры полиэтиленовых композитов с содержанием крахмала 5 мас. % без воздействия микроорганизмов и после биологической трансформации: 1 – полиэтиленовый композит с содержанием крахмала 5% (контроль); 2 – полиэтиленовый композит после обработки УФ-лучами; 3 – полиэтиленовый композит после 5 мес. биологической трансформации почвенными микроорганизмами.

нами *Pseudomonas aeruginosa* и *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* также проявляют способность к деградации ПЭ (Koutny et al., 2006; Sudhakar et al., 2008; Bensch et al., 2010, Dildi, 2011; Nowak et al., 2011; Wong, 2011; Rajandas et al., 2012; Агзамов и соавт., 2012; Blumenthal, Vochaton, 2013; Shah, 2013; Nafchi et al., 2013; Баранцевич, Баранцевич, 2014; RaziyaFathima, 2016; Encalada et al., 2018; Мазитова и соавт., 2021).

Также в присутствии композита из полиэтилена с содержанием 5 мас. % кукурузного крахмала как единственного источника углерода были выделены микроскопические грибы, принадлежащие, в соответствии с их определением исключительно по фенотипическим признакам, к родам *Aspergillus* (изолят 3.0, 3.3), *Trichoderma* (изолят 2.1, 3.1) и *Penicillium* (изолят 1.1).

Все идентифицированные таксоны микромицетов были протестированы на способность трансформировать поверхность полиэтиленовых композитов. Было оценено как индивидуальное, так и совместное действие микромицетов на структуру полимеров. Полиэтиленовый композит с полисахаридом амилозы и амилопектина имеет равномерное распределение наполнителя, что делает материал более гидрофильным.

Согласно результатам экспериментов, деградация (потеря массы 1.1%) композитов с содержанием крахмала 5 мас. % в жидких средах, характерна для полиэтиленовых композитов, обработанных сообществом микромицетов, куда входят изоляты 3.0, 3.3, 2.1, 3.1, 1.1, что предполагает определенное синергическое воздействие. Микромицеты обладают лигнинолитическим ферментами, преимущественно оксидазного типа действия, одним из основных ферментов этого комплекса является лакказа. Предполагается, что ПЭ также может

расщепляться окислительными ферментами лигнинолитического комплекса, как это было показано на примере бактерий *Bacillus* sp. и грибов *Aspergillus niger* и *A. oryzae*, выращенных на хитине (Shah et al., 2008).

При инкубировании полиэтиленовых композитов в почве наблюдали те же закономерности, выраженные в изменении их массы, но процент убыли массы полимеров под действием исследуемых микроорганизмов не превышает 0.9% при использовании культур *Penicillium* sp. (изолят 1.1) и *Trichoderma* sp. (изолят 3.1).

О степени трансформации полимерных композитов аборигенной почвенной микрофлорой судили по результатам ИК-спектроскопии (рис. 2).

Из рис. 2 видно, что после 5 мес. инкубации с почвенным микробным сообществом полиэтиленовые композиты претерпели изменения полимерной структуры. На ИК-спектре появляются полосы в области 1025 и 1154 cm^{-1} , по сравнению с исходным композитом снизилось содержание двойных связей, также наблюдали увеличение содержания СО-группы на 60%. Интенсивность полос в области 1200–1300 cm^{-1} также увеличилась. Это свидетельствует о присутствии различных промежуточных продуктов окисления, которые образуются при биологической трансформации композита полиэтилена, содержащего крахмал (Amer, 2006; Legonkova, 2006; Sudhakar, et al., 2008; Dildi, 2011; Nowak et al., 2011; Wong, 2011; Santo et al., 2013; Podkorytova, 2014; Берсенева, Кулемина, 2016; Nagarkar, Patel, 2019).

По данным микроскопирования и визуальной оценки воздействия микроорганизмов на полиэтиленовые композиты обнаружено, что топография их поверхности изменилась: исходно гладкая поверхность с незначительным количеством де-

фектов после 20 сут микробного воздействия покрылась неровностями и эрозиями, что стало более выраженным после 5 мес. воздействия микроорганизмов.

Таким образом, исследованы особенности биодеструкции и биологической трансформации композитов из бимодального полиэтилена высокой плотности и крахмала (0.5–5.0%). Выявлено, что в процессе исследований значительным изменениям (по физико-механическим показателям) подвергается образец ПЭВП с долей крахмала 5 мас. %. Установлено, что после одного года хранения исследуемого образца в виде пленки в почве и жидких питательных средах на его поверхности происходит существенный рост микроорганизмов, которые приводят к интенсификации выделения парниковых газов в результате деградации полимера.

Предположено, что в естественных условиях по мере воздействия температуры, влажности и других факторов окружающей среды на поверхности исследуемых композитов будут образовываться дефекты, наличие которых может способствовать проникновению внутрь микроорганизмов. Используя крахмал в качестве основного источника углерода, бактерии и грибы будут развиваться и, выделяя метаболиты, способствовать дополнительной деградации пленок, фрагментируя их. Предварительная длительная обработка УФ-облучением способствует ускорению биодegradации полиэтиленовых композитов.

Показано, что почвенные микроорганизмы, бактерии и микромицеты, способствуют уменьшению массы полимерных образцов и изменению соотношения различных функциональных групп (снизилось содержание двойных связей, также наблюдали увеличение содержания СО-группы на 60%), что говорит о способности к деструкции композитов из ПЭ. Доминирующими представителями среди культивируемых бактерий оказались представители рода *Bacillus*, а среди микромицетов преобладали изоляты *Penicillium*, *Trichoderma* и *Aspergillus*, способные наиболее активно изменять структуру полученных полимерных композитов. При этом наибольший эффект достигается при синергическом воздействии данных микромицетов.

В дальнейшем предполагается изучить амилалитическую активность выделенных микроорганизмов, поскольку преимущественное потребление содержащегося в композите крахмала, как в почве, так и водной среде, очевидно, приводит к появлению микропластика, наличие которого в окружающей среде не способствует улучшению экологической обстановки. Необходимо, возможно, обратить внимание на создание композитов на основе биоразлагаемых полимеров, например, полилактоидов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Агзамов Р.З., Руссков Д.В., Минь Т.Т., Сироткин А.С., Спиридонова Р.Р.* О биологической деградации полимерных композиций на основе полиэтилена // Вестник Казанского технологического университета. 2012. Т. 15. № 18. С. 155–158.
- Agzamov R.Z., Russkov D.V., Min T.T., Sirotkin A.S., Spiridonova R.R.* On the biological degradation of polymer compositions based on polyethylene // Bulletin of Kazan Technological University. 2012. V. 15. № 18. P. 155–158.
- Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е.* Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии в клинической микробиологии // Трансляционная медицина. 2014. № 6. С. 23–28.
- Берсенева О.А., Кулемина О.А.* Полимеры нового поколения // Современная химия: Успехи и достижения / Материалы II Межд. науч. конф. (г. Чита, 2016 г.). С. 27–29.
- Berseneva O.A., Kulemina O.A.* New generation polymers // Modern Chemistry: Successes and Achievements / Materials of the II Int. Sci. Conf. (Chita, 2016). P. 27–29.
- Биоповреждения больничных зданий и их влияние на здоровье человека / Под ред. Щербо А.П., Антонова В.Б.. С.-Пб.: Изд-во С.-Пб. Мед. акад. послевуз. образов., 2008. С. 232.
- Bio-Damage of Hospital Buildings and Their Impact on Human Health / Ed. Shcherbo A.P., Antonova V.B. S.-Pb.: Publishing House S.-Pb. Honey. Acad. Postgraduate. Images, 2008. P. 232.
- Подкорытова А.В.* Морские растительные биополимеры // Межд. научно-практическая конф. “Биотехнология и качество жизни”. Москва, 2014. С. 498–499.
- Котова И.Б., Тактарова Ю.В., Цавкелова Е.А., Бонч-Осмоловская Е.А.* Микробная деградация пластика и пути ее интенсификации // Микробиология. 2021. Т. 90. С. 627–659.
- Kotova I.B., Taktarova Yu.V., Tsavkelova E.A., Bonch-Osmolovskaya E.A.* Microbial degradation of plastics and approaches to make it more efficient // Microbiology (Moscow). 2021. V. 90. P. 671–701.
- Литвинов М.А.* Методы изучения почвенных микроскопических грибов. М.: Наука, 1969. 123 с.
- Литвинов М.А.* Определитель микроскопических почвенных грибов. Л.: Наука, 1967. 303 с.
- Мазитова А.К., Аминова Г.К., Зарипов И.И., Вихарева И.Н.* Биоразлагаемые полимерные материалы и модифици-

- рующие добавки: современное состояние. Часть II // Нанотехнологии в производстве. Разработка новых полимерных материалов. 2021. Т. 13. С. 32–38.
<https://doi.org/10.15828/2075-8545-2021-13-1-32-38>
<https://takiedela.ru/news/2020/10/14/grinpis-plastikvotching-2/>.
- Патент РФ 2669865С1. Composition for obtaining biodegradable polymer material and biodegradable polymer material on it is basis, 2016.
- Суслова Т.Н., Никонорова В.Н., Сосновская Л.Б., Гилаева Г.В., Салахов И.И. Оценка эффективности деструкции композиций на основе полиэтилена и крахмала // Вестник Казанского технологического университета. 2014. Т. 17. № 24. С. 120–123.
- Suslova T.N., Nikonorova V.N., Sosnovskaya L.B., Gilaeva G.V., Salakhov I.I. Evaluation of the effectiveness of destruction of compositions based on polyethylene and starch // Bulletin of Kazan Technological University. 2014. V. 17. № 24. P. 120–123.
- Тасекеев М.С., Еремеева Л.М. Производство биополимеров как один из путей решения проблем экологии и АПК: Аналит. обзор. Алматы: НЦ НТИ, 2009. С. 7.
- Aamer A.S. Biological degradation of plastics: a comprehensive review // Biotechnol. Adv. 2006. V. 26. P. 246–265.
- Bensch K., Groenewald J.D., Dijksterhuis J., Starink-Willems M., Andersen B., Summerell B.A., Shin H.-D., Dugan F.M., Schorers H.-J., Braun U., Grous R.W. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (Davidiellaceae, Capnodiales) // Stud. Mycol. 2010. V. 67. P. 1–94.
<https://doi.org/10.3114/sim.2010.67.01>
- Blumenthal K., Bochaton L. Archive: Waste indicators on generation and landfilling – monitoring sustainable development. – Access mode: Archive: Waste indicators on generation and landfilling – monitoring sustainable development – Statistics Explained (europa.eu) / Waste_indicators on generation and landfilling – monitoring sustainable development 2004–2010–2013.
- Encalada K., Aldás M.B., Proaño E., Valle V. An overview of starch-based biopolymers and their biodegradability // Revista Ciencia e Ingeniería. 2018. V. 39. P. 245–258.
- Koutny M., Sancelme M., Dabin C., Pichon N., Delort A.-M., Lemaire J. Acquired biodegradability of polyethylenes containing pro-oxidant additives // Polym. Degrad. Stab. 2006. V. 91. P. 1495–1503.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.10.007>
- Dildi K.F.A. Linear low density polyethylene – biodegradability using bacteria from marine benthic environment and photodegradability using ultraviolet light // Environmental Science. Kerala, India. 2011.
- Nagarkar R., Patel J. Polyvinyl alcohol: a comprehensive study // Acta Sci. Pharm. Sciences. 2019. V. 3. № 4. P. 34–44.
- Nafchi A.M., Moradpour M., Saeidi M., Alias A.K. Thermo-plastic starches: Properties, challenges, and prospects // Starch. 2013. V. 65. P. 61–72.
- Nakamae K., Nakano S., Tanigawa S. // Jap. J. Polym. Sci. Technol. 1997. V. 54. № 8. P. 463–470.
- Nowak B., Pajak J., Drozd-Bratkowicz M., Rymarz G. Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions // Int. Biodeter. Biodegr. 2011. V. 65. P. 757–767.
- Rajandas H., Parimannan S., Sathasivam K., Ravichandran M., Yin L.S. A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation // Polymer Testing. 2012. V. 31. P. 1094–1099.
- Raziya-fatima M. Microbial degradation of plastic waste: a review // J. Pharma Chem. Biol. Sci. 2016. V. 4. P. 231–242.
- Roy P.K., Titus S, Surekha P., Tulsi E., Deshmukh C., Rajagopal C. Degradation of abiotically aged LDPE films containing pro-oxidant by bacterial consortium // Polym. Degrad. Stab. 2008. V. 93. P. 1917–1922.
- Santo M., Weitsman R., Sivan A. The role of the copper-binding enzyme – laccase – in the biodegradation of polyethylene by the actinomycete *Rhodococcus ruber* // Int. Biodeterior. Biodegr. 2013. V. 84. P. 204–210.
- Shah A.A. Biodegradation of natural and synthetic rubbers: a review // Int. Biodeterior. Biodegr. 2013. V. 83. P. 145–157.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.05.004>
- Shah A.A., Hasan F., Hameed A., Ahmed S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review // Biotechnol. Adv. 2008. V. 26. P. 246–265.
- Sudhakar M., Doble M., Murthy P.S., Venkatesan R. Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes // Int. Biodeterior. Biodegr. 2008. V. 61. P. 203–212.
- Wong P.K. Preparation and characterization of polymeric biocomposites using plant-based materials // A thesis submitted to the Department of Chemical Science, Faculty of Science, Universiti Tunku Abdul Rahman. 2011. P. 175.

Biodegradation Patterns of Composite Materials Based on High-Density Polyethylene and Starch

T. N. Suslova¹*, I. I. Salakhov¹, V. N. Nikonorova¹, G. V. Gilaeva¹, and O. M. Trifonova¹

¹PJSC “Nizhnekamskneftekhim”, Nizhnekamsk, 423574 Russia

*e-mail: a-r-x2010@mail.ru

Received July 17, 2022; revised May 29, 2023; accepted May 29, 2023

Abstract—The degradation properties of high-density polyethylene composites filled with amylose and amylopectin polysaccharides were studied. At low dosages of the polysaccharides (0.5% wt/wt), no change in vis-

cosity, molecular weight and physical and mechanical characteristics of HDPE samples were observed, while an increase in the proportion of the natural filler (starch) to 1 and 5% resulted in a decrease in mechanical properties, although the values of deformation and strength parameters satisfied the minimum necessary requirements for film packaging. After incubation in soil for one year, the sample of HDPE film with a corn starch content of 5% (wt/wt) was found to undergo the greatest changes in its properties. The study of ability of aerobic microorganisms to carry out the surface transformation of the studied film composites revealed that bacteria of the genus *Bacillus* efficiently colonized the polyethylene-starch composites. Among the identified microorganisms, micromycetes of the genus *Penicillium* and *Trichoderma* caused the most pronounced changes in the structure of the studied polymer composites, and the greatest effect was achieved in the case of synergistic action of different micromycetes genera.

Keywords: polyethylene, amylose and amylopectin polysaccharide, biodegradation, micromycetes