

## ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЧНОСТНЫХ СВОЙСТВ ПОЛИЭТИЛЕНА В ПРОЦЕССЕ ЭКСПОНИРОВАНИЯ В СОСТАВЕ МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ С МИКРООРГАНИЗМАМИ – ДЕСТРУКТОРАМИ

О. Б. Сопрунова, А. О. Леонтьева (Каширская)

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет»

Поступила в редакцию 5 июня 2016 г.

**Аннотация.** Изучение возможности биодеструкции полимерсодержащих отходов микроорганизмами в настоящее время является актуальным вопросом из-за накопления в биосфере сложных химических веществ полимерной природы. В модельном эксперименте выделено стабильное сообщество микроорганизмов, являющихся потенциальными деструкторами полимерсодержащих отходов, что подтверждено данными о физических характеристиках материалов после длительной экспозиции в модельных экспериментах.

**Ключевые слова:** биодegradация, микроорганизмы – деструкторы, полимерсодержащие материалы, прочность, растяжение.

**Abstract.** To study the possibility of biodegradation of polymer waste microorganisms currently a topical issue of - due to the accumulation in the biosphere complex chemical nature of the polymer. In the model experiment allocated stable community of bacteria and micromycetes are potential destructors of polymer waste, which is confirmed by the data about the physical characteristics of the material after prolonged exposure in modeling experiments.

**Keywords:** biodegradation, microorganisms - destructors, polymer-containing materials, strength, stretching.

XXI век является не только высокотехнологичным, но и наполненным массой глобальных экологических проблем. Одной из особо значимых является загрязнение окружающей среды полимерсодержащими отходами [1]. В виду обладания пластиковых материалов высокими прочностными свойствами (водонепроницаемость, химическая инертность, высокая стойкость к деградации) они практически не поддаются воздействию окружающей среды. Период деструкции данных материалов в естественных условиях составляет сотни лет. Немногочисленные промышленные предприятия рационально подходят к вопросу экологии, в том числе и переработке отходов. Увеличение численности линий по деградации полимерных отходов значительно решило бы проблему загрязнения окружающей среды. Экологическая ситуация в Российской Федерации вызывает необходимость в создании современных

технологий, обеспечивающих предотвращение и ликвидацию последствий загрязнений материалами синтетического происхождения.

В настоящее время существуют различные технологии утилизации полимерных отходов (захоронение, сжигание, вторичная переработка), но все они имеют ряд недостатков, в том числе и то, что длительное хранение полимерсодержащих материалов (ПСМ) вызывает выделение в окружающую среду вторичных токсичных продуктов, входящих в их состав, которые образуются при длительном преобразовании соединений в естественных условиях. Доля, отведенная на вторичное использование и промышленную переработку пластика и изделий из него, незначительна, а биотехнологические способы утилизации при этом практически не используются [2].

Многими учеными изучаются микроорганизмы, способные усваивать углерод, входящий в состав ПСМ, в качестве субстрата для роста и единственного источника питания, разрушающих

химические связи в сложных молекулах синтетических материалов [3, 4]. Практически все ПСМ в той или иной степени подвергаются биоповреждениям (биоразрушениям) микроорганизмами (в частности микромицетами).

Поиск высокоактивных микроорганизмов – деструкторов, обладающих широким спектром ферментных систем и метаболических процессов, в настоящее время является достаточно актуальным вопросом [5-9]. Внедрение экологических «зеленых» биотехнологий в процесс утилизации твердых бытовых отходов (ТБО), разработанных на основе разрушающей способности биологических агентов, позволяет значительно снизить токсическую нагрузку на природные объекты, а так же количество как складываемых на полигонах ТБО, так и образующихся вторичных продуктов химической и термической переработки, что позволит улучшить состояние окружающей среды.

Возможность разработки биоремедиационных методов целесообразно начинать в лабораторных условиях с моделирования и постановки экспериментов, позволяющих исключить воздействие неблагоприятных/нежелательных факторов естественной среды (резкое понижение/повышение температуры ( $t^{\circ}$ ), выпадение осадков, наличие нежелательных примесей в среде и др.) для максимальной стабилизации условий, в которых будет происходить процесс биодеструкции. Так же в модельном эксперименте возможно определить уровень снижения токсической нагрузки, оказываемой на окружающую среду, и смоделировать необходимые параметры в естественных условиях [10]. При этом, при разработке в экспериментальных условиях биотехнологических методов/приемов утилизации ПСМ стоит учитывать как их безопасность, так и эффективность в сопоставлении с естественной деструкцией.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Для изучения возможности биоремедиации почвенных и водных экосистем, содержащих ПСМ, с помощью микроорганизмов – деструкторов в лабораторных условиях поставлен модельный эксперимент, в котором условия экспонирования аналогичны естественным и максимально сходны с оптимальными значениями, при которых возможно восстановление экосистем и разрушение соединений полимерной природы. Для повышения эффективности деструктивного процесса модифицировали условия культивирования лабораторных модельных систем (МС): внесли базо-

вую минеральную синтетическую среду, содержащую не более 2 % неорганических соединений.

В результате экспозиции лабораторных МС в течение длительного времени на контрольных точках (1, 2, 4, 6, 12, 18, 36, 60, 72, 80, 86, 90 и 96 месяцев) осуществляли высевы культуральной жидкости на питательные среды (ПА, агар Чапека, Синтетический агар и др.) для учета численности и выделения микроорганизмов, усваивающих органические и неорганические формы азота, олиготрофов, составляющих в целом стабильное сообщество микроорганизмов, потенциально способных разрушать полиэтиленсодержащие материалы [11].

Далее производили выделение стабильно присутствующих в посевах изолятов в чистые культуры методом периодического пересева на поверхность скошенного синтетического агара. На основании макро- и микроморфологических признаков изолятов, используя определитель бактерий Берджи, определитель патогенных и условно – патогенных грибов Д. Саттона, а так же методом определения нуклеотидных последовательностей генов 18S рДНК, производили идентификацию и определяли таксономическую принадлежность мицелиальных изолятов.

В процессе экспозиции МС производили изучение эффективности воздействия сообщества микроорганизмов на прочностные характеристики ПСМ, для чего по истечении 90 и 96 месяцев экспозиции лабораторных МС произвели определение прочности и относительного удлинения при разрыве ПСМ, который инкубировался в составе МС на протяжении всего периода культивирования. Испытания образцов производили на разрывной машине ТIRATEST 2150 (точность измерений 0.1 Н и 0.1 мм, скорость растяжения  $38 \pm 3$  мм/мин) в соответствии с ГОСТ 11262-80 «Пластмассы. Методы испытания на растяжение». Образцы для испытания (полиэтилен) подготовлены специализированным ножом для вырубki в форме лопатки. Образец закрепляется в зажимах машины для разрыва на расстоянии 23 мм ( $l_0$ ). После произведенных манипуляций машина включается на растягивание. По шкале, имеющейся на приборе, фиксируется нагрузка, при которой происходит разрушение (Р, н) и изменение длины исследуемых образцов (l, мм).

Перед началом испытания производили подготовку образцов для эксперимента в соответствии с ГОСТ 21798 – 76 по режиму кондиционирования № 7 ( $T = 23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , относительная

влажность = 50 %), далее произвели вырубку из подготовленных образцов, после чего измеряли подготовленные «лопатки» ПСМ в соответствии с ГОСТ 11262-80 по приведенным параметрам. Для эксперимента подготавливали образцы 2 типа (рис. 1). Данные по измерениям образцов приведены в таблице 1.

Таблица 1  
Размеры опытных образцов ПСМ, подвергающихся испытаниям на растяжение

Параметр	Величина, мм
Общая длина, $l_1$	$50 \pm 0.5$
Расстояние между метками, $l_2$	$23 \pm 0.5$
Длина рабочей части, $l_3$	$10 \pm 0.5$
Ширина головки, $b_1$	$10 \pm 0.5$
Ширина рабочей части головки, $b_2$	$5 \pm 0.5$
Толщина образца, $d$	$0.1 \pm 0.01$

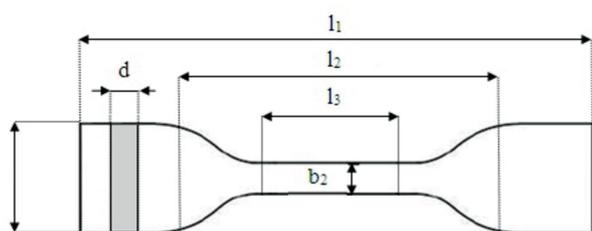


Рис. 1. Типовая форма № 2, используемая при проведении испытаний на растяжение:  $l_1$  – общая длина,  $l_2$  – расстояние между метками,  $l_3$  – длина рабочей части,  $b_1$  – ширина головки,  $b_2$  – ширина рабочей части,  $d$  – толщина образца

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В процессе культивирования лабораторных модельных систем на контрольных точках при высеве методом глубинного посева на различные питательные среды определены количественный (рис. 2) и качественный состав микробных сообществ МС. Установлено, что состав микроорганизмов менялся на протяжении всего срока культивирования. На начальных контрольных точках численность всех изучаемых физиологических групп микроорганизмов представлена единичными клетками. Выделены цианобактерии, простейшие. Через 36 месяцев экспозиции отмечалось снижение численности микроор-

ганизмов, усваивающих органические формы азота в среднем в 10 раз, по прошествии 60-ти месяцев экспозиции - возрастало в 2 раза, а через 72 месяца - в 5 раз по сравнению с начальными показателями. На последующих контрольных точках отмечено снижение количества микроорганизмов (в пределах одного порядка). В процессе экспозиции численность микроорганизмов, усваивающих неорганические формы азота, постепенно возрастала, а по истечении 72-х месяцев культивирования численность возросла в среднем на 2 порядка по сравнению с начальными данными. После 80-ти месяцев экспозиции численность так же имела тенденцию к снижению. В процессе культивирования МС численность олиготрофных микроорганизмов достаточно высокая по сравнению с другими физиологическими группами, что доказывает способность данной группы расти в средах с низким содержанием питательных веществ. При этом, количество олиготрофов в ходе экспонирования МС постепенно увеличивалось (до 80-ти месяцев экспозиции), а в последующем численность представлена относительно равными показателями.

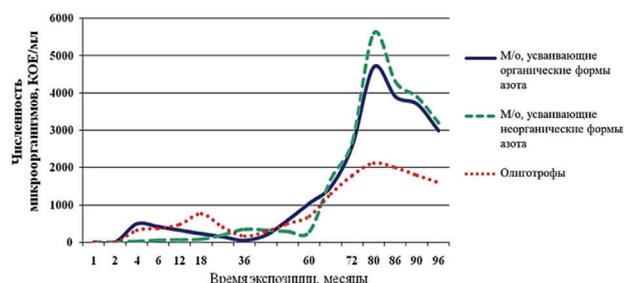


Рис. 2. Динамика численности микроорганизмов, выделенных из МС

При проведении экспериментальных исследований и обработке данных удалось выявить стабильное сообщество микроорганизмов, культивируемое на поверхности ПСМ, входящее в состав МС, состоящее из 18-ти штаммов микромицетов и 11-ти штаммов бактерий. На основании набора макро- и микроморфологических признаков произведена идентификация и определена таксономическая принадлежность микроорганизмов. Бактериальные изоляты являются представителями семейств *Bacillaceae* (2 рода, 9 штаммов), *Brucellaceae* (1 род, 1 штамм), *Microbacteriaceae* (1 род, 1 штамм), штаммы выделенных микромицетов – *Trichomonaceae* (3 рода, 13 штаммов), *Pleosporaceae* (2 рода, 2 штамма), *Netriaceae* (1 род, 1 штамм), *Microascaceae* (1 род, 1 штамм), *Hypocreaceae* (1 род, 1 штамм). На основе выделенных культур составлена коллекция микро-

организмов - деструкторов полимерсодержащих отходов и материалов.

При испытании прочностных свойств 10-ти образцов ПСМ для более точного установления параметров при разрыве материала отмечали максимальную длину материала, при которой происходил разрыв ( $L_1$ ), учитывали максимальную нагрузку, оказываемую на испытуемый образец в момент разрыва (F) и вычисляли относительное процентное удлинение при разрыве опытного образца материала по формуле:

$$\varepsilon = \frac{L_1 - L_0}{L_0} * 100 \%$$

где  $L_0$  - длина экспериментальной части образца, подвергнутая испытанию,  $L_1$  - длина экспериментальной части образца в момент разрыва.

Данные по определению нагрузки на материал для его разрыва и относительного процентного удлинения экспериментальных образцов представлены в таблице 2.

Установлено, что средняя максимальная длина образца ПСМ при разрыве по истечении 90 месяцев экспозиции МС составляет  $50.03 \pm 0.5$

мм, 96-ти месяцев -  $43.53 \pm 0.5$  мм. Средняя нагрузка, при которой происходит разрыв ПСМ, составляет  $0.59 \pm 0.05$  Н и  $0.46 \pm 0.05$  Н соответственно.

Среднее значение изменения длины ( $\Delta L$ ) составляет  $27.03 \pm 0.5$  и  $20.53 \pm 0.5$  мм, а среднее относительное удлинение ( $\varepsilon$ ) от момента начала эксперимента до разрыва материала -  $117.5217 \pm 0.1$  и  $89.26087 \pm 0.1$  по истечении 90 и 96 месяцев культивирования МС соответственно.

На завершающем этапе эксперимента определяли прочность ПСМ при растяжении ( $\sigma_{рм}$ ), определение значения данной характеристики в МПа ( $\text{Н/мм}^2$ ) вычисляли по формуле:

$$\sigma_{рм} = \frac{F_{рм}}{A_0}$$

где  $F_{рм}$  - максимальная нагрузка, оказываемая при растяжении, Н;  $A_0$  - исходное поперечное сечение образца,  $\text{мм}^2$ . Данные представлены в таблице 3.

Установлено, что среднее значение прочности ( $\sigma_{рм}$ ) образцов ПСМ при оказанной нагрузке для разрыва (F) и постоянном поперечном сечении ( $A_0 = 0.05 \text{ мм}^2$ ) составляет  $11.8 \pm 0.1$  и  $9.2 \pm 0.1$  МПа

Таблица 2

Данные по установлению нагрузки для разрыва ПСМ и относительного процентного удлинения образцов по истечении 90 и 96 месяцев культивирования

Характеристика образца*	d, м	b, м	$L_0$ , мм	$L_1$ , мм	$\Delta L$ , мм	F, Н	$\varepsilon$ , %
90 месяцев культивирования							
Повторность							
1	$1 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-3}$	23	48.2	25.2	0.7	109.5652
2				30	7	0.4	30.43478
3				49.7	26.7	0.9	116.087
4				39.3	16.3	1	70.86957
5				69.3	46.3	0.4	201.3043
6				45.6	22.6	0.8	98.26087
7				53.9	30.9	0.4	134.3478
8				43.2	20.2	0.4	87.82609
9				63.6	40.6	0.4	176.5217
10				57.5	34.5	0.5	150
Среднее значение				$50.03 \pm 0.5$	$27.03 \pm 0.5$	$0.59 \pm 0.05$	$117.5 \pm 0.1$
96 месяцев культивирования							
1	$1 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-3}$	23	38.3	15.3	0.5	66.52174
2				46.1	23.1	0.6	100.4348
3				47.2	24.2	0.8	105.2174
4				45.6	22.6	0.6	98.26087
5				51.3	28.3	0.4	123.0435
6				46.6	23.6	0.8	102.6087
7				39.4	16.4	0.4	71.30435
8				40.3	17.3	0.2	75.21739
9				40.8	17.8	0.2	77.3913
10				39.7	16.7	0.1	72.6087
Среднее значение				$43.53 \pm 0.5$	$20.53 \pm 0.5$	$0.46 \pm 0.05$	$89.26 \pm 0.1$

\*Примечание: d- Толщина испытуемого образца, b- Ширина испытуемого образца,  $L_0$  - Начальная длина испытуемого образца,  $L_1$  - Длина испытуемого образца в момент разрыва,  $\Delta L$  - изменение длины образцов F - Максимальная нагрузка при испытании на растяжение;  $\varepsilon$  - относительное процентное удлинение образцов

по истечении 90 и 96 месяцев культивирования МС соответственно.

В результате анализа данных литературных источников и требований ГОСТ установили, что опытные образцы ПСМ соответствуют производным полиэтиленовой пленки. Полученные экспериментальные данные сравнивали с контрольными показателями, указанными в ГОСТ 10354-82 «Пленка полиэтиленовая. Технические условия» (табл. 4)

В результате сравнения контрольных и экспериментальных данных установили, что по истечении 90 и 96-ти месячной экспозиции ПСМ в составе модельных экосистем произошли значительные изменения физических свойств материала: прочности при растяжении ( $\sigma_{рм}$ ) на 26.7 % и 42.9 %; относительного процентного удлинения при разрыве материала ( $\epsilon$ ) на 73.9 % и 80.2 % соответственно.

Сравнительный анализ прочностных показателей, полученных в результате экспериментов по истечении 90 и 96-ти месяцев экспозиции, позво-

лил определить относительное изменение (в %) каждой из величин по истечении последних 6 месяцев наблюдений МС (табл. 5).

Установлено, что за 6 месяцев экспозиции полимерсодержащих материалов в составе МС с биодеструкторами происходит значительное изменение физических параметров материалов, что свидетельствует об активном действии биодеструкторов на синтетический материал и сказывается на таких физических параметрах, как длина образца в момент разрыва и нагрузка, оказываемая на него, относительное процентное удлинение и прочность при растяжении.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные показывают уменьшение прочностных свойства опытных образцов синтетического материала, находящегося под воздействием сообщества микроорганизмов, образующегося в процессе экспозиции модельных систем. Данное явление происходит вследствие того, что при экспозиции

Таблица 3

Определение прочности ПСМ при растяжении

№	F, Н		A <sub>0</sub> , мм <sup>2</sup>	$\sigma_{рм, М}$ Па	
	90 месяцев	96 месяцев		90 месяцев	96 месяцев
1	0.7	0.5	0.05	14	10
2	0.4	0.6		8	12
3	0.9	0.8		18	16
4	1	0.6		20	12
5	0.4	0.4		8	8
6	0.8	0.8		16	16
7	0.4	0.4		8	8
8	0.4	0.2		8	4
9	0.4	0.2		8	4
10	0.5	0.1		10	2
Среднее значение	0.59±0.05	0.46±0.05		11.8±0.1	9.2±0.1

Таблица 4

Характеристики полимерсодержащего материала, представленные в нормативных документах

Параметр	Значение	Нормативный документ
Толщина материала, d	0.1-0.12 ±0.03 мм	ГОСТ 10354-82
Режим кондиционирования	Режим №7	ГОСТ 21798-76
Прочность при растяжении, $\sigma_{рм}$	16.1 МПа	ГОСТ 10354-82
Относительное процентное удлинение, $\epsilon$	450 %	ГОСТ 10354-82

Таблица 5

Динамика прочностных показателей опытных образцов полиэтилена

Показатель	Срок культивирования			$\Delta$ , %
	90 месяцев	96 месяцев		
L <sub>12</sub> , мм	50.03 ± 0.5	43.53±0.5		13
F, Н	0.59 ± 0.5	0.46 ± 0.5		22.1
$\epsilon$ , %	117.52 ± 0.1	89.26 ± 0.1		26.6
$\sigma_{рм, М}$ Па	11.8 ± 0.1	9.2 ± 0.1		22.1

образцов в составе лабораторных модельных экосистем происходит воздействие на них микроорганизмов – деструкторов, которые в процессе своей жизнедеятельности деформируют аморфную часть полимера, что, в свою очередь, нарушает кристалличность материала. Таким образом, происходит снижение плотности укладки длинной цепи метиленовых групп, которые составляют молекулу полиэтилена, что приводит к снижению прочности и увеличению упругости ПСМ.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Соловьев Л.П. Существование человека в рамках техносферы / Л.П. Соловьев, В.В. Булкин // Машиностроение и безопасность жизнедеятельности. – 2012. – №1. – С. 31–38
2. Шарапов Р.В. Глобальные экологические катастрофы: миф или реальность? // Машиностроение и безопасность жизнедеятельности. – 2011. – № 1. – С. 14–16.
3. Ильичев В.Д. Биоповреждения / В.Д. Ильичев, Б.В. Бочаров, А.А. Анисимов. – М. : Высшая школа. – 1987. – 352 с.
4. Каневская И.Г. Биологические повреждения промышленных материалов / И. Г. Каневская. – Л. : Наука, 1984. – 232 с.
5. Биодegradация полигидроксиалканоев почвенными микробиоценозами различной структуры и выявление микроорганизмов-деструкторов / А. Н. Бояндин [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология, 2012. – Т. 48, № 1. – С. 35–44.
6. Кряжев Д. В. Устойчивость композиционных материалов на основе синтетических и природных полимеров к действию микромицетов

в природных условиях. / Д.В Кряжев // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2010. – № 2 (2). – С. 536–540.

7. Savale P.A. International Journal of Polymeric Materials / P.A. Savale, K. Patta, Prasanta Ghosh. – NY. : Taylor & Francis, 2010. – № 2. – P. 73 – 86.
8. Hourston D. J. Degradation of Plastics and Polymers / D. J. Hourston – UK. : Loughborough University, 2010. – 2387 p. – V. 2.
9. Pincuk L. Fungal Degradans of Polymeric Materials / L. Pinchuk, G. Vlasova // International Biodegradation and Biodeterioration. – 2004. – V. 54. – P. 13 – 18.
10. Каширская А.О. Установление токсического действия полимерсодержащих материалов, входящий в состав модельных экосистем // Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн., 2014. №9(9). URL: <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/1568>
11. Каширская А.О. Микроорганизмы, выделенные с поверхности синтетических полимерных материалов: материалы II Международной научно-практической конференции / А.О. Каширская, А.Н. Пархоменко // Проблемы современной биологии. – М.: Спутник +, 2011. – С. 85-87.
12. ГОСТ 11262–80 Пластмассы. Методы испытания на растяжение. – Введ. 1979–12–01. – М.: Стандартинформ, 1980. – 13 с.
13. ГОСТ 21798 – 76 Тара транспортная. Метод кондиционирования для испытаний. – Введ. 1978–12–01. – М.: Стандартинформ, 1978. – 5 с.
14. ГОСТ 10354 – 82. Пленка полиэтиленовая. Технические условия. – Введ. 1982–06–01. – М.: Стандартинформ, 1984. – 17 с.

*Астраханский государственный технический университет*

*Сопрунова О. Б., д.б.н., профессор кафедры «прикладная биология и микробиология*

*Тел.: (8512)614-271*

*E-mail: [soprunova@mail.ru](mailto:soprunova@mail.ru)*

*Леонтьева А. О., аспирант 3го года обучения, ассистент кафедры «прикладная биология и микробиология»*

*Тел.: 89608590892*

*E-mail: [a.o.kashirskaya@mail.ru](mailto:a.o.kashirskaya@mail.ru)*

*Astrakhan state technical university*

*Soprunova O. B., Doctor of biological sciences, professor department of applied biology and microbiology,*

*Тел.: (8512)614-271*

*E-mail: [soprunova@mail.ru](mailto:soprunova@mail.ru)*

*Leontyeva A. O., post graduate student, assistant department of applied biology and microbiology*

*Тел.: 89608590892*

*E-mail: [a.o.kashirskaya@mail.ru](mailto:a.o.kashirskaya@mail.ru)*