

На правах рукописи

СЫЧУГОВА ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА

**СТРУКТУРА И БИОДЕГРАДАЦИЯ МИКРОМИЦЕТАМИ
СМЕСЕЙ СОПОЛИМЕРА ЭТИЛЕН-ВИНИЛАЦЕТАТ
С ТЕРМОПЛАСТИЧНЫМ КРАХМАЛОМ**

02.00.04 - Физическая химия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва 2004

Работа выполнена в Институте биохимической физики
им. Н.М. Эмануэля Российской Академии Наук

Научные руководители: доктор химических наук, профессор Попов А.А.
доктор биологических наук Лихачёв А.Н.

Официальные оппоненты: доктор химических наук Гумаргалиева К.З.
доктор химических наук, профессор Розанцев Э.Г.

Ведущая организация: Московская государственная академия тонкой химической
технологии им. М.В. Ломоносова.

Защита состоится 17 декабря 2004 года в 11 часов на заседании Диссертационного
совета Д 002.039.01 в Институте биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН по
адресу: 119991, Москва, ул. Косыгина, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химической физики
им. Н. Н. Семенова РАН.

Автореферат разослан _____ 2004 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета, к.х.н.

Смотряева М.А.

2005-4
23864

3 940265

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Лидирующее место среди индустриально выпускаемых крупнотоннажных полимеров принадлежит полиолефинам, и в первую очередь это полиэтилен и сополимеры на его основе, естественное разложение которых длится многие десятилетия. После эксплуатации изделий из полимеров переработка их отходов путем пиролиза, сжигания, захоронения не всегда экономически и экологически оправдана.

Следовательно, возникает необходимость модификации полимерной матрицы таким образом, чтобы по истечению срока эксплуатации полимерного изделия была возможна его ускоренная утилизация под воздействием микробиоты в условиях свалки или методами биотехнологии. В настоящее время, данное направление исследований относится к числу наиболее актуальных и востребованных в науке о материалах и в полимерной химии в частности.

Одним из приоритетных путей решения задач экологического характера является создание смесевых композиций на основе полиэтилена, в объем которого включен природный компонент - чаще всего крахмал, либо его производные.

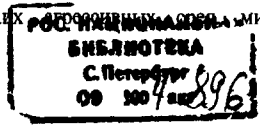
Исследования, проводимые в рамках данной работы, направлены на изучение структуры смесевых композиций на основе модифицированного полиэтилена с термопластичным крахмалом и способности к биодеградации под воздействием ряда микроорганизмов. Это позволит развить пути создания биоразрушаемых полимерных материалов с использованием природных восполняемых соединений или веществ, расширить теоретическую основу подбора компонентов смесевых композиций на основе сополимера этилена с винилацетатом и разработать подходы его утилизации с помощью биотехнологий.

Применение совокупности физико-химических и использование классических и оригинальных методов, принятых в микологии, фитопатологии, молекулярной биологии позволит исследовать этапы биоконверсии и физико-химические изменения полимерного материала, происходящие под влиянием биодеструкторов. Комплексное использование указанных выше методов является оригинальным подходом в этой области проведения экспериментальных работ.

Цели и задачи работы

Основная цель работы состояла в исследовании структуры сополимера этилена и винилацетата (СЭВА) и его смесей с термопластичным крахмалом (ТПК) для установления корреляционной зависимости между морфологическими особенностями системы и склонностью ее к биологической деструкции при поражении субстрата микроорганизмами в стационарных и меняющихся условиях многофакторного действия окружающей среды.

Моделирование раздельного или комплексного влияния факторов окружающей среды (кислорода, температуры, жидких сред, относительной влажности) на микроорганизмов и их



метаболизмов) на биодеградацию полимера и выявление изменений с использованием физических методов исследований даст возможность проследить этапы деструкции материала, оценить роль каждого конкретного физического и химического фактора воздействия.

Для успешного достижения вышеуказанных целей были поставлены следующие задачи:

- определить влияние винилацетатного компонента на морфологию СЭВА и смеси синтетического и природного полимеров, а также установить взаимосвязь структуры полимерного материала и его способности к биодеградации;
- изучить поведение полимерного материала при воздействии на него температурно-временного фактора;
- исследовать воздействие агрессивных сред, как модельных субстанций метаболизма микроорганизмов, на полимерные материалы, а именно:

⇒ изучить влияние воды на процесс биодеградации полимерных материалов;

⇒ исследовать воздействие агрессивных сред на СЭВА и СЭВА-ТПК (водных растворов органических кислот);

⇒ исследовать биологическую деструкцию СЭВА и СЭВА-ТПК под воздействием микромицетов, что подразумевает выявление и отбор культур грибов, обладающих наибольшей способностью к обрастанию полимерного материала; отработать методы и условия их инокуляции для достижения наиболее активного роста на изучаемом субстрате, качественной и количественной оценки степени биологической деструкции полимерного материала.

Научная новизна

Проведенные исследования позволили установить определяющую роль винилацетатных групп СЭВА в формировании надмолекулярной структуры сополимера и смеси на его основе. Впервые показана зависимость распределения крахмальной компоненты в синтетической матрице от содержания функциональных групп в сополимере этилена и винилацетата. Определено пороговое значение содержания винилацетатных (ВА) групп в СЭВА, выше которого наблюдается резкое изменение ряда свойств смеси СЭВА-ТПК в целом. Впервые установлена зависимость глубины биологической деструкции от степени совместимости компонентов смеси, проведена ее оценка с использованием комплекса методов и выявлены основные условия для реализации биотехнологических разработок.

Практическая значимость

Получен новый материал на основе СЭВА и ТПК, обладающий необходимым комплексом эксплуатационных свойств, а также склонностью к ускоренной биологической деструкции под воздействием микромицетоз.

Разработанный комплекс методов оценки биодеструкции может быть использован для определения грибоустойчивости как природных, искусственных, синтетических полимеров, так и композиционных материалов на их основе.

Работа выполнялась в соответствии с координационным планом Научного Совета РАН по биоповреждениям в рамках программы: "Проблемы общей биологии и экологии: рациональное использование биологических ресурсов (1998-2005 г.г.)". Направление 12 - "Экологические проблемы биоповреждений".

Личный вклад автора: все исследования проводились автором лично или при непосредственном его участии.

Апробация работы

Основные положения и результаты работы докладывались (тезисы опубликованы) и обсуждались: 1. IX конференция "Деструкция и стабилизация полимеров". 16-20 апреля 2001г. Москва; 2. Первый съезд микологов России. Современная микология в России. Москва 2002г. (2 доклада); 3. Вторая ежегодная молодежная конференция ИБХФ-ВУЗы "Биохимическая физика". 13-14 июня 2002г. Москва; 4. 1-ый Международный Конгресс "Биотехнология - состояние и перспективы развития". 14-18 октября 2002. Москва; 5. 1-st International Congress Biotechnology - state of the art & prospects of development. Moscow, October, 14-18, 2002; 6. XI International Starch Convention. Moscow-Stacow. Moscow, Russia, June 17-19, 2003; 7. "Биология - наука XXI века". 7-ая Пушинская школа-конференция молодых ученых 14-18 апреля, 2003.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 20 печатных работ: 6 статей в отечественных и зарубежных журналах и 14 тезисов в сборниках трудов научных конференций.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 135 страницах, содержит 41 рисунок, 13 таблиц и 1 схему. Работа состоит из введения, 3 глав, заключения (выводов) и списка литературы, включающего 325 работ, в том числе 82 иностранные.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, определены цель и основные задачи исследования, показана практическая значимость.

В первой главе проводится анализ литературы, посвященной теоретическим основам создания биодegradируемых полимерных материалов. Представлены данные отечественных и зарубежных исследователей о поведении полимерных материалов под воздействием различных факторов, способствующих деструкции (температуры, O_2 , микромицетов и их

метаболитов). Обсуждается проблематика использования методов исследования при оценке биологической деструкции полимерных материалов.

Вторая глава посвящена описанию объектов и методов исследования.

В качестве объектов исследования использованы образцы сополимеров этилена и винилацетата и смеси СЭВ А с термопластичным крахмалом (10 масс %), полученного на основе нативного кукурузного крахмала посредством набухания в пластификаторе – глицерине с последующей термомеханической обработкой. Массовое соотношение крахмал:глицерин составляло как 2:1. Смешение компонентов осуществляли методом экструзии. Пленочные образцы получали методом прессования в атмосфере воздуха, с последующим быстрым охлаждением до $T=20\pm 2$ °С.

Определение тепловых эффектов исследуемых систем проведено на дифференциальном сканирующем микрокалориметре ДСМ-2М. Сканирование осуществляли в неизотермическом режиме, со скоростями нагрева 2, 8, 16 и 32 °С/мин в зависимости от поставленной задачи эксперимента. Масса испытуемого образца не превышала 20 мг.

Широкоугольная дифракция рентгеновских лучей была проведена на дифрактометре Krisalloflex D 5000 фирмы SIMENS. Источником рентгеновского излучения служила трубка с медным анодом, имеющая длину волны $K\alpha$ линии равную 1,542 Å. Диапазон съемки составлял $10\leq 2\theta\leq 600$, с угловым шагом 0,050/2сек. Графическое представление и анализ данных осуществлен с использованием программ Seifert Analyze и Rayflex Analyze.

ИК-спектры полимерных пленочных образцов получены на спектрофотометре SPECORD 711R при $T=23\pm 2$ °С в диапазоне длин волн $4600\leq \nu\leq 700$ см⁻¹.

Исследование процессов термоокислительного разложения СЭВА осуществляли на дериватографе MOM-Q-1500D (Венгрия) при скорости нагрева 10 °С/мин в интервале 20-5-600 °С в атмосфере воздуха.

Топографию поверхности образцов изучали методом растровой электронной микроскопии посредством сканирования теневых реплик, полученных нанесением на пленки токопроводящего слоя плагин. Напыление осуществляли катодным методом в вакууме. Съемка проводилась на растровом электронном микроскопе марки TRACOR TN 5502 в интервале увеличения от 100 до 10000 раз.

Микроскопирование проводилось с помощью светового микроскопа марки ЛОМО-1 при 75-ти кратном увеличении.

Моделирование действия органических кислот, продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, проводили с использованием водных растворов лимонной, шавелевой кислот (5%) при $T=40$ и 60 °С в атмосфере во (духа). Временной интервал действия сред составлял от 10 до 90 дней.

Устойчивость исследуемых пленок в водной среде определялась в соответствии с ГОСТ 12020-72.

В опытах были использованы тест-культуры из коллекции кафедры микологии и альгологии МГУ: *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus terreus* Thorn., *Chaetomium globosum* Kunze, *Paecilomyces variotii* Bainier., *Penicillium funiculosum* Thorn., *Penicillium chrysogenum* Thom., *Penicillium cyclopium* Westling, *Penicillium brevicompactum* Dierlecc, *Penicillium purpurogenum* Stoll., *Trichoderma viride* Pers. ex Fr., *Stachybotrys sp.*, *Stachybotrys chartamm* (Ehrenb. ex -Link) Hughes.

Инкубация грибов и испытание грибостойкости инокулированных образцов плесек проводилось в условиях, рекомендованных ГОСТ 9.049-91.

Кинетику биологической деградации полимерных материалов в лабораторных условиях оценивали согласно немецкого норматива DIN V 549000-2 от IX. 1998 л о количеству выделяемого CO_2 в процессе жизнедеятельности микроорганизмов при инкубации их в жидкой питательной среде, единственным источником углерода которой служил углерод испытуемого полимерного субстрата.

Третья глава посвящена результатам исследования, их обсуждению и состоит из 4 разделов.

Первый раздел посвящен исследованию структуры сополимера этилен-винилацетат. Методами ДСК, рентгеноструктурного анализа (большие углы), ИК-спектроскопии была показана зависимость степени кристалличности и температуры плавления от содержания ВА в сополимере.

Значения энтальпии плавления $\Delta H_{уд}$ (табл. 1), полученные методом ДСК, снижаются с 60 до 8 Дж/г по мере увеличения содержания ВА в сополимере от 6 до 28 масс.%, при этом имеет место смещение температуры плавления в область более низких значений от 96 ;о 72 °С, соответственно. Данный факт свидетельствует о снижении доли кристаллически фазы СЭВА и возрастании неоднородности и дефектности структуры кристаллитов.

Влияние состава полимерного материала на структуру образующихся кристаллитов показано методом широкоугольного рассеяния рентгеновских лучей. Дифракционная картина имеет четкие рефлексы при значениях угла 2θ равном 21,4 и 23,8 , относящихся к рефлексам 110 и 200, соответственно, и перекрывающихся с аморфным гало ($2\theta_{\max} = 19,5^\circ$). Положение данных рефлексов соответствует положению рефлексов кристаллитов ПЭ, что хорошо согласуется с представлением об участии исключительно этиленовых последовательностей в образовании кристаллитов данного сополимера.

Значения полуширины пика β_{110} и линейный размер L_{110} (табл. 1), характеризующие продольную толщину кристаллита снижаются с увеличением содержания винилацетата. Значения полуширины β_{200} и поперечный размер кристаллита L_{200} остаются неизменными, т.е. ширина ламелярной пластины, а, следовательно, число макромолекул, образующих элементарную ячейку, постоянно. Морфология кристалла по мере увеличения содержания ВА-групп в макромолекуле также не претерпевает изменений - значения межплоскостных расстояний $d_{cp\ 110}=4,16\pm 0,05$ и $d_{cp\ 200}=3,85\pm 0,05$ - постоянные величины.

Таблица 1.

Термофизические и кристаллографические характеристики СЭВА и СЭВА-ТПК

ВА, масс. %	T _{пл} , °C	ΔH _{уд.} , дж/г	X _c %	L, Å		β, град		I, усл. ед.	
				110	200	110	200	110	200
<i>Сополимер этилена и винилацетата</i>									
6	96	60	21	133	80	0,612	1,02	5375	800
12	89	44	15	128	80	0,632	1,02	3421	601
16	86	35	12	114	80	0,714	1,02	1946	500
22	76	19	7	-	-	-	-	267	100
28 [*]	72	8	3	-	-	-	-	-	-
28 ^{**}	77	18	6	114	-	0,714	-	422	38
<i>Смесь СЭВА-ТПК</i>									
6	96	60	21	133	78	0,612	1,04	3875	749
12	89	54	19	133	80	0,612	1,02	3098	563
16	86	30	10	114	80	0,714	1,02	2207	294
22	76	29	10	114	80	0,714	1,02	1600	340
28 [*]	72	18	6	-	-	-	-	-	-
28 ^{**}	77	27	9	-	-	0,734	-	513	49

^{*} СЭВА-28 (ПТР=34,2 г/10мин); ^{**} СЭВА-28 (ПТР=13,6 г/10мин);

^{***} все данные для смеси СЭВА-ТПК приведены в расчете на единицу массы сополимера.

На рис.1 (а) представлены термограммы ДСК сополимера с равным содержанием винилацетата 28 масс.%, но различными значениями показателя текучести расплава (34,2 и 13,6 г/10мин - кривые 1 и 2, соответственно). Из данной пары СЭВА-28, сополимер с меньшим значением ПТР характеризуется большей молекулярной массой, что сказывается на способности к кристаллизации. Поглощение тепла образцами СЭВА-28 происходит в температурном интервале от 40 до 90° С. Для каждого образца СЭВА-28 (ПТР=34,2 и 13,6 г/10 мин) на термограммах зафиксированы два максимума теплопоглощения при 47°С, 71°С и 44°С, 780С, соответственно. При этом доля пачечных структур (низкотемпературное плечо) заметно меньше доли ламелей (основной высокотемпературный пик) в образовании кристаллической фазы сополимера.

Методом ИК-спектроскопии исследовано распределение полярного мономера в цепи макромолекулы СЭВА. Показано, что отношение оптических плотностей полос 797 см⁻¹ к 4335 см⁻¹ носит нелинейный характер. Полоса 797 см⁻¹ характеризует наличие R-(CH₂)_n-R структур, где n=1, т.е. должна реализовываться возможность последовательного присоединения винилацетатных мономеров по принципу "голова-хвост": -CH₂-CHR-CH₂-CHR-. Полоса 4335 см⁻¹ является структурно нечувствительной для -CH₂- и -CH₃ единиц карбоцепного полимера, и служила внутренним стандартом. Согласно полученным данным (рис.2) увеличение содержания ВА звеньев в сополимере ведет к росту доли одиночных

(CH₂)-групп. Таким образом, показано, что встраивание ВА мономера может происходить не только статистически, но и блочно.

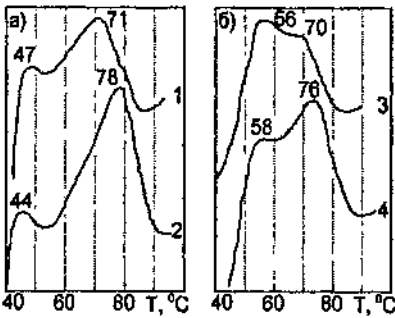


Рис.1. Эндотермы для СЭВА-28 (а) и СЭВА-28-ТПК (б), где:
 1 - СЭВА-28 ПТР=34,2 г/10мин;
 2 - СЭВА-28 ПТР=13,6 г/10мин;
 3 - СЭВА-28-ТПК ПТР_{СЭВА}=34,2 г/10мин;
 4 - СЭВА-28-ТПК ПТР_{СЭВА}=13,6 г/10мин.

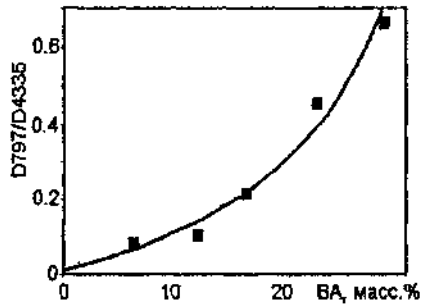


Рис.2. Отношение оптических плотностей D^{797}/D^{4385} для СЭВА.

Во втором разделе главы представлены результаты исследования морфологических особенностей смеси СЭВА-ТПК. Согласно полученным результатам, введение крахмала в полимерную матрицу приводит к структурным изменениям в организации кристаллической фазы СЭВ А с большим содержанием винилацетата. Как видно из рисунка 1(б), доля пачек (плечи при $T=56$ и 58 °C, кривая 3 и 4) и их регулярность возрастает, на что указывает смещение максимума эндотермического пика на 9 и 14 °C по сравнению с СЭВА-28 (рис.1 (а), кривая 1 и 2), соответственно. При введении крахмальной компоненты в матрицу низкомолекулярного СЭВА-28 (кривая 3), отмечено преобладание фазы пачкообразного типа. Таким образом, показано, что реорганизация структуры СЭВ А под воздействием крахмала происходит тем эффективнее, чем больше доля ВА-групп в сополимере и чем ниже его молекулярная масса.

Влияние крахмальной компоненты и ацетатных групп на формирование кристаллической фазы полиэтилена в смеси также было показано методом рентгеноструктурного анализа. В отличие от резкого снижения параметров I_{110} и I_{200} (табл. 1), характерного для чистого полимера в интервале концентраций содержания В А 5+16 масс.% значительных изменений интенсивности рефлексов ПО, 200 на протяжении всего диапазона изменения состава смеси при введении крахмала в сополимер не происходит. В случае смеси возникает по меньшей мере два фактора, препятствующих формированию кристаллитов. Как и в случае чистого полимера, так и в смеси, ВА-группа является стерическим фактором затрудняющим данный процесс. Кроме того, введение крахмала в матрицу сополимера приводит к тому, что затрудняется формирование кристаллической решетки этиленового компонента.

Неизменность характеристик (табл 1), связывающих расширение рефлекса (β_{110} , β_{200}) с размерами кристаллографической ячейки (L_{110} , L_{200}), для соответствующих пар СЭВ А и СЭВА-ТПК позволяет заключить, что крахмал не входит в кристаллические области сополимера

Данные, полученные методом световой микроскопии в проходящем свете, позволяют оценить степень неоднородности распределения крахмальной фазы в поверхностных слоях СЭВА-ТПК и определить размеры крахмальных агрегаций. На рис 3 представлены фотографии поверхности образцов СЭВА-ТПК. Небольшое содержание полярных групп виничацетата («до 16 масс %) в синтетической матрице обуславливает "крупнозернистое" распределение ТПК в полимере (а). Средний размер области крахмальной фазы в образцах с содержанием ВА-групп, равным 6 и 12 масс %, составляет 50-100 мкм, в то время как для образцов с большим содержанием ВА (~28 масс %) характерно "мелкозернистое" распределение природного компонента в полимерной смеси (б, в). Полимерная матрица, состав которой характеризуется большим содержанием полярного компонента (ВА-28), предопределяет большую степень сродства компонентов смеси, и таким образом, повышает гомогенность смеси в целом. Границы фаз размыты и при данном разрешении не могут быть определены. Напротив, границы крахмальной фазы для СЭВА-6-ТПК обнаруживаются четко

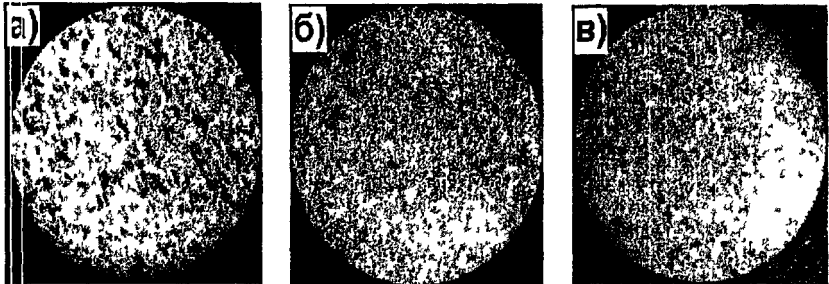


Рис 3 Фотографии поверхностей пленок СЭВА-ТПК (90 10 масс %), полученные методом световой микроскопии в проходящем свете, где а) СЭВА-6-ТПК, б) СЭВА-28-ТПК [ПТР = 34,2 г/10мин], в) СЭВА-28-ТПК [ПТР = 13,6 г/10мин]

Установлено, что на распределение крахмальной компоненты также значительное влияние оказывает молекулярная масса сополимера. Для образцов смеси СЭВА-28-ТПК (б, в) с равным содержанием ВА-звеньев в полимерной матрице, но отличающимися значениями показателя текучести расплава (ПТР=34,2 и 13,6 г/10мин, соответственно) отмечена различная степень агрегации крахмала в сополимере. Установлено, что крахмальная фаза при ее распределении в низкомолекулярной матрице сополимера при данном, 75-ти кратном, увеличении микроскопа неразрешима, т.е. составляет менее 10 мкм, для СЭВА-28-ТПК (ПТР=13,6 г/10мин) размер области крахмальной фазы может достигать 45 мкм

В *третьем разделе* представлены данные исследования высокотемпературных процессов, протекающих в СЭВ А и СЭВА-ТПК. Методом ДСК исследовано поведение сополимеров и его смесей с термопластичным крахмалом в интервале температур 150–350°C в условиях ограниченного доступа кислорода воздуха. На рис. 4 представлены термограммы для ряда СЭВА. Существует тенденция снижения температуры начала экзотермического процесса в зависимости от роста содержания функциональных групп в сополимере: от 295 до 245°C для $6 \leq \text{СЭВА} \leq 28$ масс %, соответственно. Расчетная энергия активации процесса для СЭВА-6 составляет 117,7 [кДж/моль] и 93,1 - для СЭВА-28. При данных условиях ($245 < T < 295^\circ\text{C}$) протекает процесс деацетилирования, носящий автокаталитический характер. При этом образующаяся кислота облегчает протекание процесса, на что указывает снижение E_a с увеличением содержания ВА-групп в сополимере и смещение температуры начала процесса в область более низких значений.

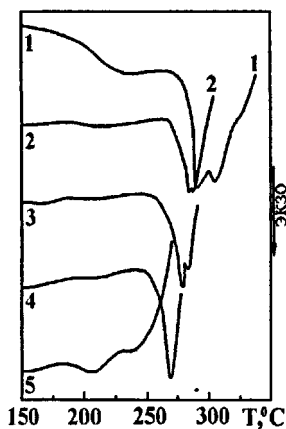


Рис 4 Термограммы ДСК для ряда СЭВА в интервале температур 150–350° С, где 1) СЭВА-6, 2) СЭВА-12, 3) СЭВА-16, 4) СЭВА-22, 5) СЭВА-28 (ПТР=34,2 г/10мин)

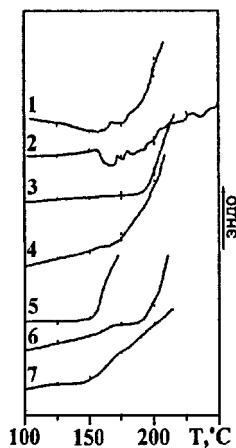


Рис 5 Термограммы ДСК для смеси СЭВА-ТПК в интервале температур 150–350° С, где 1) СЭВА-6-ТПК, 2) СЭВА-12-ТПК, 3) СЭВА-16-ТПК, 4) СЭВА-22-ТПК, 5) СЭВА-28-ТПК [ПТР=34,2 г/10мин], 6) СЭВА-28-ТПК [ПТР=13,6 г/10мин], 7) ТПК

На рисунке 5 представлены термограммы для смесей СЭВА-ТПК в интервале температур от 100 до 250° С. В отличие от тепловыделений, фиксируемых для СЭВА (рис 4), которые обусловлены протеканием процесса деацетилирования, для смесей СЭВА-ТПК в высокотемпературной области регистрируется эндотермический процесс. Начало теплопоглощения наблюдается при температурах от 190 до 160° С в зависимости от содержания ВА-групп в сополимере. Согласно литературным и собственным данным при $T \approx 150^\circ\text{C}$ начинается процесс деструкции крахмала. Для смеси характерен сложный ход

термограмм, что обусловлено протеканием конкурирующих реакций деполимеризации крахмала и деацетилирования СЭВА, и выражается в наложении тепловых процессов.

Четвёртый раздел посвящен исследованию воздействия агрессивных сред, как модельных субстанций метаболизма микроорганизмов, на полимерные материалы. В качестве тест-контроля (вещества сравнения) использовали воздействие дистиллированной воды на изучаемые системы.

На рисунке 6 представлены кинетические кривые набухания образцов материала в дистиллированной воде. Кривые набухания смеси СЭВА-ТПК имеют идентичный характер. Интенсивный процесс набухания происходит в первые сутки после погружения образцов в модельную среду, и лишь для СЭВА-16-ТПК (рис.6, кривая 3) на вторые. Равновесие в системе наступает на 10-ые сутки от начала контакта со средой. Наличие максимума на этих кривых по прошествии первых суток связано с прохождением двух массообменных процессов: диффузией модельной среды в полимерную структуру и миграцией низкомолекулярного пластификатора и водорастворимых фракций крахмала в среду. Значения водопоглощения всего изучаемого ряда сополимера этилена и винилацетата, представленные на графике значком о, позволяют заключить, что полимер в малой степени подвержен набуханию. Однако, как и в случае смесевых композиций, наблюдается пик максимума на вторые сутки от начала погружения образцов в водную среду. Для СЭВА во всем диапазоне изменения концентраций ВА характерно ограниченное набухание в интервале 0+2 %.

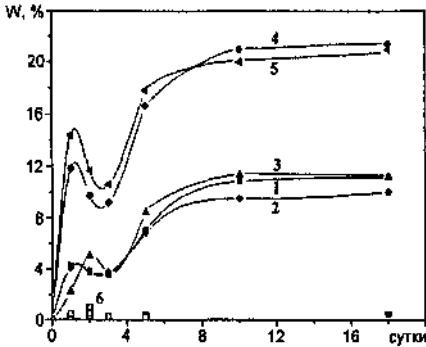


Рис.6. Кинетические кривые водопоглощения:
1) СЭВА-6-ТПК; 2) СЭВА-12-ТПК;
3) СЭВА-16-ТПК; 4) СЭВА-22-ТПК;
5) СЭВА-28-ТПК; 6) для ряда СЭВА.

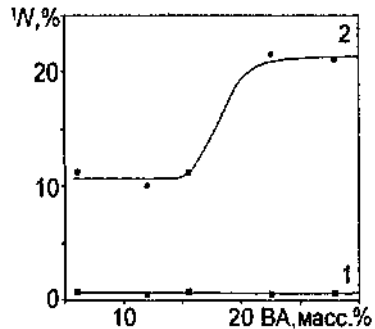


Рис.7. Зависимость степени равновесного набухания от состава полимера, где:
1) СЭВА; 2) СЭВА-ТПК.

Отмечена зависимость равновесной степени поглощения воды смеси от содержания ВА компонента в синтетической матрице. Содержание ВА более 20 масс.% в сополимере приводит к резкому повышению влагопоглощения смеси в целом. Наблюдаемый эффект связан как со структурными особенностями полимерного материала, так и с его химической

природой. Более равномерное распределение крахмальной составляющей смеси в полимерной матрице за счет большего сродства компонентов, разрыхляет синтетическую матрицу, увеличивая свободный объем системы в целом, что ведет к формированию пусто" и каналов. Повышение гидрофильности смеси в ряду СЭВА-ТПК (6≤ВА≤28 масс.%) обуславливает большее влагопоглощение.

Влияние агрессивных сред (водных растворов органических кислот 5%) на сополимеры оценивали методом ИК-спектроскопии по полосам поглощения 797, 950, 1140 и 1650 см⁻¹. В таблице 2 приведены значения отношений оптических плотностей, указанных выше полос, к оптической плотности полосы при ν=4335 см⁻¹, используемой в данной работе в качестве внутреннего стандарта полосы сравнения.

Согласно полученным данным, в результате процесса гидролиза происходит отщепление ацетатной группы, на что указывает снижение значений оптической плотности D_{950}/D_{4350} и D_{1140}/D_{4350} см⁻¹, характеризующих содержание ВА-групп в сополимере. Однако при этом не происходит разрыва валентных связей макромолекулы, что подтверждается постоянством значения D_{797}/D_{4350} см⁻¹. Полоса при ν=797 см⁻¹ характеризует наличие изолированных -СНг-групп указанных фрагментов макроцепи -CH₂-CHR-CH₂-CHR-. Анализ интенсивности полосы поглощения при ν=1650 см⁻¹ позволяет заключить, что накопления двойных связей в полимере не происходит.

Таблица 2

Отношение оптических плотностей для СЭВА (6 и 28 масс.%) до и после гидролиза.

	исходный	после воздействия аспарагиновой кислоты	после воздействия лимонной кислоты
D_{950}/D_{4350}, где $\nu=950$ см⁻¹ маятниковые колебания -СНз ацетатной группы (-O-CO-СНз)			
(ВА6)	0,085	0,045	0,07
(ВА 28)	0,25	0,08	0,16
D_{1140}/D_{4350}, где $\nu=1140$ см⁻¹ колебания ацетатной группы (C-C=O)			
(ВА6)	1,45	1,1	1,1
(ВА 28)	2,75	1,4	2,25
D_{797}/D_{4350}, где $\nu=797$ см⁻¹ изолированные (-СНг-) группы винилацетата -CH₂-CHR-CH₂CHR-			
(ВА6)	0,14	0,12	0,12
(ВА 28)	0,55	0,50	0,57
D_{1659}/D_{4350}, где $\nu=1650$ см⁻¹ двойные связи в цепи макромолекулы (C=C)			
(ВА6)	0,46	0,34	0,42
(ВА 28)	0,94	0,66	0,92

Влияние агрессивных сред на смеси СЭВА-ТПК было изучено методом световой микроскопии. На рис.8 представлены фотографии поверхности пленочных образцов, полученных при 75-ти кратном увеличении микроскопа. Пленки были подвергнуты действию сред в течение 10 суток при $T=60$ С.

Вода оказывает более заметное воздействие на смесь СЭВА-6-ТПК по сравнению с образцом СЭВА-28-ТПК (рис.8, а, б), что проявляется в гораздо большей дефектности поверхности. Вместо закругленных границ раздела фаз проявляются испещренные ломаные трещинообразные линии, разделяющие две фазы. По-видимому, в крупных агломератах крахмального компонента при набуханий в воде нарастает осмотическое давление, способное разрушить сплошность границы, и это приводит к образованию трещин и дефектов, как это показано на рисунке (а). Однако подобное поведение системы характерно для смеси с крупнозернистым распределением крахмала в полимерной матрице. Для смеси с большим содержанием виницетатных звеньев отмечается визуализация крахмальной фазы при набухании в воде - средний размер области крахмальной фазы составляет $20\div 70$ мкм, однако "микровзрыва" не происходит (б).

Различный характер ответной реакции образцов на воздействие кислот связан, очевидно, в первую очередь с химической природой реагентов. Так, например, шавелевая кислота вызывает ярко выраженное "помутнение" образца СЭВА-28-ТПК (в), что связано, вероятно, с кислотным гидролизом, затрагивающим не только макромолекулы СЭВА, но и крахмала, что приводит к "стиранию" границ раздела фаз.

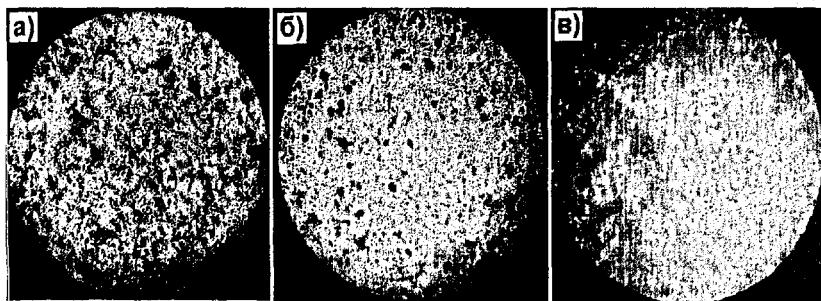
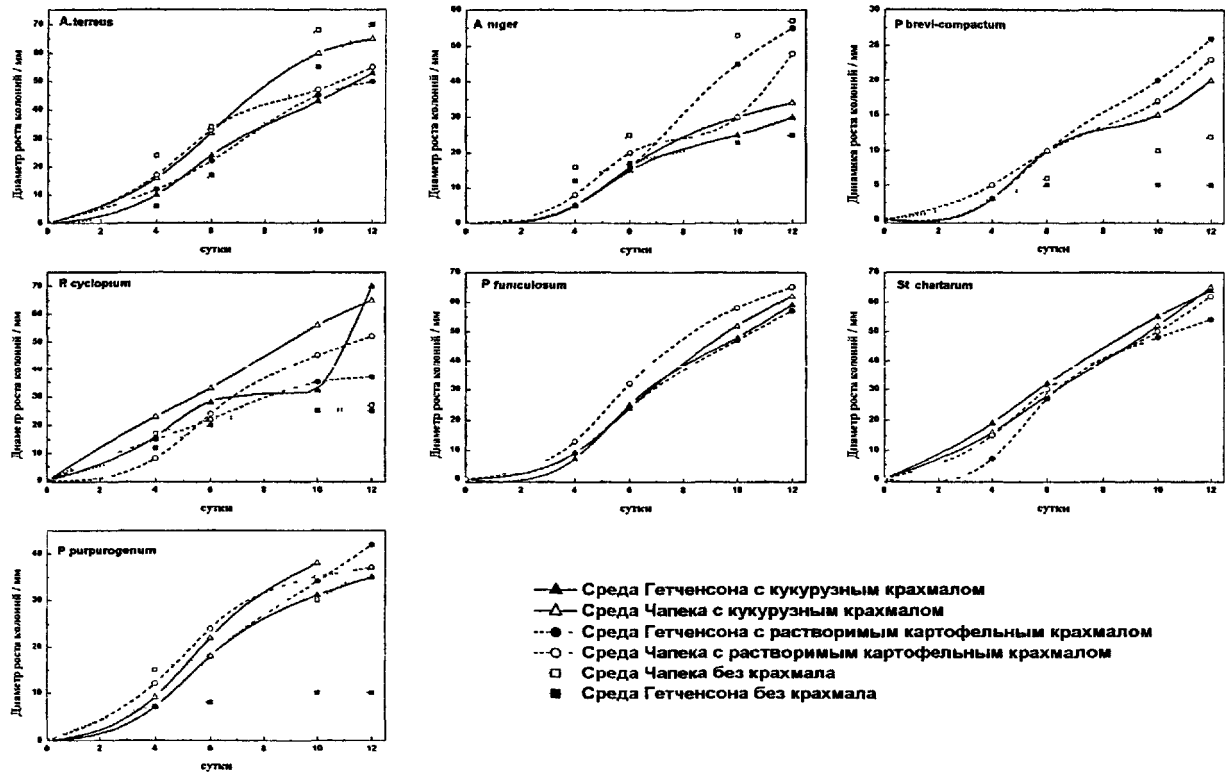


Рис.8. Фотографии поверхностей пленочных образцов СЭВА-ТПК. 75-кратное увеличение, где: а) СЭВА-6-ТПК после воздействия воды; б) СЭВА-28-ТПК после воздействия воды; в) СЭВА-28-ТПК после воздействия щавелевой кислоты (5%).

Синтетические полимеры и материалы на их основе существенно превосходят по биостойкости природные полимеры (целлюлозу, коллаген, крахмал и др.), но и они подвержены коррозионному действию микроорганизмов. Среди микроорганизмов, повреждающих различные материалы и изделия, первое место принадлежит мицелиальным грибам.

Оценка возможности потребления разных форм крахмала тест-культурами показала, что они способны утилизировать данный источник углеродного питания. Однако динамика

Рис.9. Динамика роста колоний в зависимости от состава питательной среды



роста видов на разных средах при одинаковых условиях инкубации и при одной и той же навеске крахмала не одинакова, что особенно четко проявляется на 4-10 сутки. Выявляется и некоторая разница в темпе роста различных видов грибов на нативном и растворимом крахмале разного происхождения, а также на средах Чапека и Гетченсона, взятых в качестве контроля (рис.9).

Особенно чувствительны к составу и соотношению компонентов минеральной среды оказались культуры *P.purpurogenum*, *A.niger.*, *P.brevi-compactum*. При развитии на среде Чапека, лишенной источника углерода, диаметр колоний на 12-е сутки от начала экспозиции для этих культур составлял 37, 57, 12 мм, в то время как при развитии на среде Гетченсона лишь 10, 24, 5 мм, соответственно. *A.terreus* и *P.cyclopium* толерантны к обеим видам минеральной среды.

Максимальное зарастание (>60 мм) агаризированной среды с внесением крахмальной компоненты зафиксировано для *P. Funiculosum*, *St.chartarum*, *P.cyclopium*, *A.Aerreus*. Однако это может быть связано с особенностями роста и развития конкретной культуры.

Инкубация зараженных тест-культурами сухим способом полимерных материалов в условиях разной относительной влажности, помещенных на поверхность агаризованных сред, выявила различную способность видов грибов осваивать субстрат в зависимости от относительной влажности воздуха. При относительной влажности воздуха ниже 50% прорастания конидий и развития грибов не отмечено. На образцах, находящихся при относительной влажности от 51 до 79% рост мицелия и формирование спороношения отсутствовали, либо были очень слабыми, а более интенсивное развитие всех тест-культур отмечено только при влажности воздуха более 90%. Вероятно, в этих условиях возможно образование водной пленки на поверхности и более интенсивное набухание образцов. Грибы обладают достаточно большой энергией для преодоления водоудерживающей силы субстратов. Вода облегчает поступление питательных веществ в клетки, и в первую очередь, водорастворимых веществ. В связи с этим и более интенсивный темп роста большинства тест-культур отмечен на растворимом крахмале. При инокуляции образцов водной суспензией прорастание конидий происходит и при низкой влажности, но при высыхании капель последующего развития мицелия не происходит. На примере *Trichoderma viride* показано, что добавка в образцы ТПК стимулирует рост культуры (табл.3.)-

Интенсивность развития *Trichoderma viride* на образцах СЭВА-ТПК

Состав образца	Интенсивность развития (в баллах)	Примечание
СЭВА-6	1	под микроскопом видны лишь мелкие очаги мицелия в виде отдельных пятен, спороношение отсутствует
СЭВА-12	1	под микроскопом видны лишь мелкие очаги мицелия в виде отдельных пятен, спороношение отсутствует
СЭВА-16	1	под микроскопом видны лишь мелкие очаги мицелия в виде отдельных пятен, спороношение отсутствует
СЭВА-22	1	под микроскопом видны лишь мелкие очаги мицелия в виде отдельных пятен, спороношение отсутствует
СЭВА-28*	0	отсутствие проросших конидий и развитая колоний
СЭВА-28**	1	под микроскопом видны лишь мелкие очаги мицелия в виде отдельных пятен, спороношение отсутствует;
СЭВА-6-ТПК	2	поверхностное развитие мицелия в виде многочисленных пятен, спороношение отсутствует
СЭВА-12-ТПК	2	поверхностное развитие мицелия в виде многочисленных пятен, спороношение отсутствует
СЭВА-16-ТПК	2; отдельные участки 4	поверхностное развитие мицелия в виде многочисленных пятен, имеются лишь отдельные участки начала формирования спороношения
СЭВА-22-ТПК	1; отдельные участки 4	отдельные очаги с обильным разрастанием мицелия и началом спороношения
СЭВА-28*-ТПК	3; отдельные участки 4	обильное разрастание мицелия по поверхности образца, начало спороношения
СЭВА-28**-ТПК	2	на участках образца с механическим повреждением поверхностное развитие мицелия

) ПТР=34,2 г/10 МИН;) ПТР=13,6 г/10 мин.

На поверхности пленки, содержащей 10 масс.% ТПК, на 6-ые сутки от начала заражения отчетливо фиксируются отдельные пятна сформировавшихся пучков конидиеносцев *Aspergillus niger* (рис.10), *Paecilomyces variotii*, *Penicillium fimiculosum*, *Chaetomium globosum*, *Trichoderma viride*. Другое виды из взятого набора тест-культур> не растут на данном субстрате или формируют слабое спороношение и в более поздние сроки.

Визуальная и микроскопическая оценка степени обрастания образцов в среднем достигает 2-3 баллов с отдельными участками развития мицелия и спороношения в 4 балла. Наблюдается быстрое начало формирования спороношения на 3-4 сутки характерно для *Aspergillus niger* и *Trichoderma wide*. Оценить процент зарастания поверхности образцов сложно из-за неравномерного, пятнистого роста грибов. Неравномерность роста, вероятно, связана с тем, что исходные штаммы представлены клонами с неодинаковыми физиолого-биохимическими свойствами, скоростью адаптации и утилизации исходного субстрата, а также изоляцией полимером зерен крахмала.

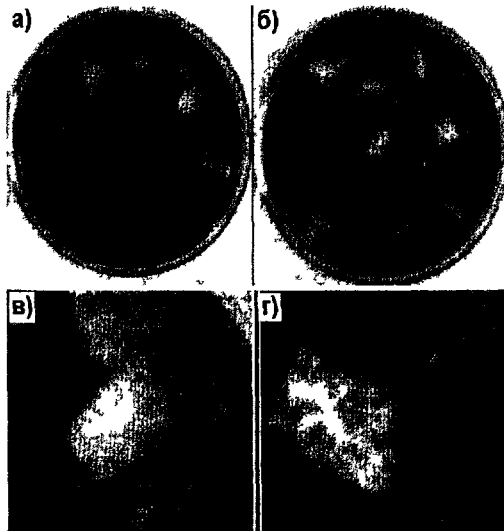


Рис 10 Фотографии пленочных образцов СЭВА (а, в) и СЭВА-ТПК (б, г) на 6-ые сутки от начала заражения *Aspergillus niger*

На образцах полимера в присутствии крахмала инициируется более раннее формирование спороношения только у отдельных видов, в то время как на питательной среде вначале преобладает развитие воздушного мицелия без признаков спороношения. На разложение крахмала под влиянием грибов указывает и разная интенсивность окраски среды при использовании йодной пробы. Разное соотношение источников питания в среде и полимере, возможно, определяют скорость синтеза и функционирования комплекса амилолитических ферментов, а также темпы развития морфологических структур. Вероятнее всего, данный комплекс ферментов присущ видам, способным развиваться на разных модификациях крахмала. Рост мицелия и формирование спороношения на композиции пленочного сополимера дает основание предполагать участие ряда видов грибов в биодеструкции полимера из СЭВА и ТПК. Это дает возможность при последующих пассажах на смесях СЭВА и ТПК отобрать наиболее активные виды и их штаммы для разработки регламента по его утилизации.

На микрофотографиях (рис 11) представлены поверхности пленок после 10 недельного роста на них *Trichoderma unde*. Как видно, поверхность образца СЭВА(ВА 6)-ТПК в большей степени подвержена биологической деструкции. На поверхности четко фиксируются пустоты, размеры которых сравнимы с размерами агломераций крахмала, характерных для исходных смесей данного химического состава. Характер биокоррозии поверхности СЭВА(ВА 28)-ТПК выражен в меньшей степени. Следовательно, можно заключить, что на ранних этапах деструкции смесевых композиций СЭВА-ТПК под воздействием микромицетов менее стойким оказывается смесь с "крупнозернистым" распределением крахмальной компоненты. Вероятно, большая дефектность поверхности, а, следовательно, и боишая удельная поверхность, характерная для смеси СЭВА(ВА 6)-ТПК, способствует конденсации капельной жидкости в микротрещинах, а также облегчает проникновение гиф в матрицу материала. Таким образом, крупные скопления крахмала оказываются более доступной формой источника питания для грибов.

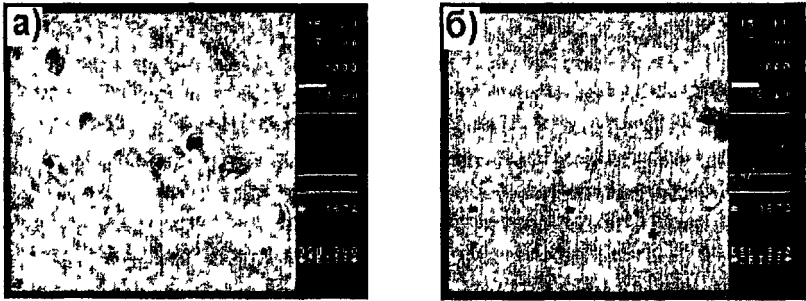


Рис 11. Микрофотографии поверхности образцов, где а) поверхность образцов СЭВА-6-ТПК после 10 недельного воздействия *Trichoderma viride*, б) поверхность образцов СЭВА-28-ТПК после 10 недельного воздействия *Trichoderma viride*.

Наряду с этим, степень биodeградации полимерных материалов оценивали согласно немецкого норматива DIN V 549000-2 от IX. 1998 по количеству выделяемого CO_2 в процессе жизнедеятельности штаммов *Aspeigillus niger* и *Tichodeuna xmde* на жидкой питательной среде, в которой единственным источником углерода являлся субстрат испытуемого полимера. Количественный анализ образовавшегося CO_2 в процессе роста и развития изучаемых видов грибов на полимерном субстрате выявил зависимость их дыхательной активности от состава полимерной смеси (рис 12). Количество образовавшегося CO_2 при ассимиляции СЭВА-6-ТПК выше, чем при развитии культур на СЭВА-28-ТПК, и на 20-ые сутки экспонирования составляли 1,2 и 0,7 мг/100 мг субстрата соответственно. Субстратами позитивного и негативного контроля жизнедеятельности микромицетов служили термопластичный крахмал (2,7 мг $_{\text{CO}_2}$ /100мг субстрата), СЭВА-28 (0,3 мг $_{\text{CO}_2}$ /100 мг субстрата). Дыхательная активность *Aspeigillus mger* и *Tnchodeima vinde* в жидкой питательной среде без источника углерода составляла 0,1 мг CO_2 , что связано,

очевидно, с использованием резервных питательных веществ культурами в экстремальных условиях роста и развития.

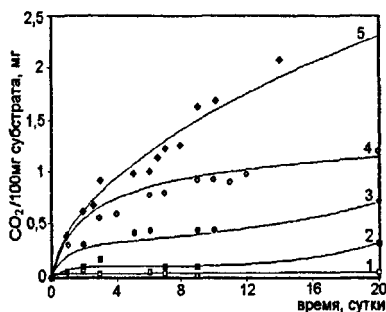


Рис.12. Кинетика выделения CO_2 в процессе жизнедеятельности микромицетов при разветии на полимерном субстрате разного состава: где 1 – микромицеты; 2- СЭВА-28; 3- СЭВА-28-ТПК; 4- СЭВА-6-ТПК; 5 – ТПК.

Таким образом, показано, что в период стартового развития колонии на полимерном субстрате, как в водной, так и в воздушной среде одним из основных факторов, определяющих интенсивность роста и развития микодеструктора, является степень доступности крахмального компонента, заключенного в синтетическую матрицу.

ВЫВОДЫ

1. Получен новый материал на основе сополимера этилен-винилацетат с термопластичным крахмалом, обладающий необходимым комплексом эксплуатационных свойств, а также склонностью к ускоренной биологической деструкции под воздействием микромицетов. Изучены его структура, свойства и способность к биодegradации.
2. Исследованы структурные особенности и термоокислительная стабильность образцов сополимеров этилена и винилацетата с различным содержанием ВА-групп. Установлена количественная зависимость снижения доли кристаллической фазы СЭВА и возрастания неоднородности и дефектности структур кристаллитов с увеличением содержания ацетатных групп в цепи макромолекулы. Рассчитаны эффективные энергии активации термоокислительной деструкции СЭВА, равные 117 [кДж/моль] и 93 [кДж/моль] для сополимера с содержанием винилацетата 6 и 28 масс.%, соответственно.
5. Исследована морфология смеси СЭВА-ТПК. Показано, что реорганизация кристаллической фазы СЭВА под воздействием крахмала происходит тем эффективнее, чем больше доля ВА-групп в сополимере и чем ниже его молекулярная масса. Впервые оценена степень неоднородности распределения крахмальной фазы

смеси СЭВА-ТПК в зависимости от содержания В А групп в синтетической *матрице* и молекулярной массы СЭВА. Определен средний размер крахмальной фаты в образцах СЭВА-ТПК, который составляет **50+100** мкм для смеси с содержанием В А **6+12** масс.%, **≤10+45** мкм для высокомолекулярного и **≤10** мкм для низкомолекулярного образцов СЭВА-ТПК с содержанием ВА 28 масс.%.

4. Исследовано влияние агрессивных сред на СЭВА и СЭВА-ТПК. Установлено, что кислотный гидролиз сополимера протекает с отщеплением ацетатной группы без разрыва валентных связей макромолекулы. Выявлена зависимость равновесной степени поглощения воды материалом от состава. Впервые установлено существование порогового значения содержания ацетатных групп в сополимере, равное 16 масс.%, выше которого происходит изменение морфологии смеси СЭВА-ТПК.
5. Выявлены и отобраны культуры грибов, обладающие наибольшей способностью к обрастанию полимерного материала, к ним относятся *Aspergillus niger* van Tieghem, *Trichoderma viride* Pers. ex TT., *Chaetomium globosum* Kunze, *Paecilomyces variotii* Bainier., *PenicilHum funiculosum* Thom. Оработаны методы и условия их инокуляции, определены оптимальные параметры инкубации для наиболее активного роста на изучаемом субстрате.
6. Использование комплекса методов позволило более объективно оценить степень биологической деструкции исследуемых полимерных материалов. Впервые показана зависимость глубины биологической деструкции от степени совместимости компонентов смеси. При ассимиляции штаммами *A niger* и *T.viride* пленочных образцов СЭВА-6-ТПК со средними размерами крахмальной фазы 50-100 мкм дыхательная активность микодеструкторов составила 1,2 мг CO₂ /100мг субстрата и 0,7 мг CO₂ /100мг субстрата для СЭВА-28-ТПК с размерами крахмальных включений менее 10 мкм.

Основные результаты диссертации изложены в работах:

1. Kolesnikova N.N., Sychugova O.V. and Popov A.A. Physikal-Mechanical Properties of Poly(ethylene-co-vinylacetate)/Starch Blends. In Book: Aging of Polymers, Polymer Elends and Polymer Composites./Ed. G.E.Zaikov, A.L.Buchachenko, and V.B.Ivanov. Nova Science Publishers, Inc. 2002. V.2. p.p.133-138.
2. Ruban L.V., Sychugova O.V., Kolesnikova N.N. and Zaikov G.E. Kinetic Features of the Non-isothermal Oxidative Degradation of EVA Copolymers. In Book: Focus on Chemistry and Biochemistry./Ed.Guennadi E. Zaikov, Victor M.M. Lobo and Nekane Guarotxena. Nova Science Publishers, Inc. 2003. p.p.117-124.
3. Сычугова О.В., Колесникова Н.Н., Лихачев А.Н. Рост микромицетов на сополимере этилена и винилацетата с добавками крахмала. Вестник Московского Университета. Серия Биология. 2003. №4. Стр. 27-31.

4. Рубан Л.В., Сычугова О.В., Колесникова Н.Н., Заиков Г.Е. Эффективные энергии активации неизотермического окислительного распада сополимеров этилена и винилацетата.//Пластические массы. 2004. №6. с.5-6.
5. Сычугова О.В., Колесникова Н.Н., Лихачев А.Н., Попов А.А. Роль крахмальной компоненты в процессах деструкции смесей СЭВА-ТПК при воздействии плесневых грибов.//Пластические массы. 2004. № 9. С.29-32.
6. Olga V. Sychugova, Natalya N. Kolesnikova, Aleksandr N. Likhachev, Anatoly A. Popov. Decomposition of Starch - Ethylene-Vinylacetate Copolymer Composite by Fungi. In Book: Starch: from starch containing sources to isolation of starches and their applications./Ed. Vladimir P. Yuryev, Piotr Tomasik and Heinz Ruck. Nova Science Publishers, Inc., New York. 2004. p.p.203-214.

№22385

РНБ Русский фонд

2005-4

23864

Подписано в печать 25.10.2004 г.

Формат 60x84/16. Заказ № **91** Тираж 120 экз. П.л. **1,5**
Отпечатано в РИИС ФИАН с оригинал-макета заказчика.
119991 Москва, Ленинский проспект, 53. Тел. 132 51 28.