

УДК 678.742

Вплив дріжджів-аскоміцетів *Yarrowia lipolytica* на поліолефіни, модифіковані деградабельними добавками

В.В. Бойко¹, Т.В. Дмитрієва¹, С.В. Рябов¹, В.І. Бортницький¹, С.К. Кривовська¹, Г.Ф. Невмержицька¹, М.В. Гончар², Т.М. Прокопів²

¹Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України
48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна

²Інститут біології клітини НАН України
14/16, вул. Драгоманова, Львів, 79005, Україна

*Методом піролітичної мас-спектрометрії проведено дослідження впливу культури дріжджів-аскоміцетів *Yarrowia lipolytica* на термодеструкцію полімерних композитів на основі поліетилену та поліпропілену з різними добавками, введеними в полімер на стадії переробки. Встановлено, що найбільше зростання загального іонного струму виділення летких продуктів, їх кількість і питома інтенсивність спостерігаються для композитів, які містять аміновмісну сполуку та природний полісахарид. Введення цих сполук у композити підвищує здатність до біодеградації поліолефінів під впливом дріжджів-аскоміцетів *Yarrowia lipolytica*.*

Ключові слова: поліолефін, дріжджі-аскоміцети *Yarrowia lipolytica*, деградабельні добавки, мас-спектрометрія.

У сучасному полімерному матеріалознавстві важливе місце займає проблема надання біодеструктивних властивостей багатотоннажним полімерам, зокрема, поліолефінам (поліетилен, поліпропілен), полівінілхлориду, полістиролу, поліетилентерефталату, оскільки, перераховані полімери та вироби з них при захороненні можуть розкладатися десятиріччями. Вирішення цієї проблеми проводиться у трьох напрямках: введення в структуру полімерів молекул із функціональними групами, що здатні до прискореного фоторозкладання полімеру; спрямований синтез біодеградабельних пластичних мас на основі промислово освоєних синтетичних продуктів; отримання композицій на основі багатотоннажних полімерів з чутливими до біодеструкції природними добавками, здатними певною мірою ініціювати розкладання основного полімеру [1, 2]. Останній напрям найбільш

економічно доцільний.

Одним із факторів, під дією яких полімерні матеріали руйнуються в навколишньому середовищі, є біодеградація мікроорганізмами, грибами, бактеріями тощо. Процес мікробної деградації починається з колонізації грибів і бактерій на поверхні полімеру. За сприятливих для їх росту умов (за наявності кисню, вологості, відповідної температури і рН) мікроорганізми виділяють ферменти, які ініціюють процеси деполімеризації, що приводять до остаточного розкладу полімеру до мономерів [3, 4]. Наступним кроком у деградації є поглинання компонентів полімерів як матеріалу для живлення.

Метою цієї роботи було дослідження впливу культури дріжджів-аскоміцетів *Yarrowia lipolytica* на деструкцію полімерних композитів на основі поліолефінів (поліетилену, поліпропілену) з різними добавками,

Таблиця 1. Склад композицій, які піддавались дії дріжджів-аскоміцетів *Y. Lipolytica*

Компонент	Вміст, % мас.			
	Зразок 1 (113)	Зразок 2 (84)	Зразок 3 (103)	Зразок 4 (104)
Поліетилен	96,5	-	-	-
Поліпропілен	-	95,0	94,0	95,0
Аміновмісна сполука	2,0	-	5,0	3,0
Орг. сіль кобальту	1,0	1,0	-	-
Орг. сіль цинку	-	-	-	1,0
Омилена біоолива	0,5	-	1,0	1,0
Природний олігосахарид	-	3,0	-	-
Органічна кислота	-	1,0	-	-

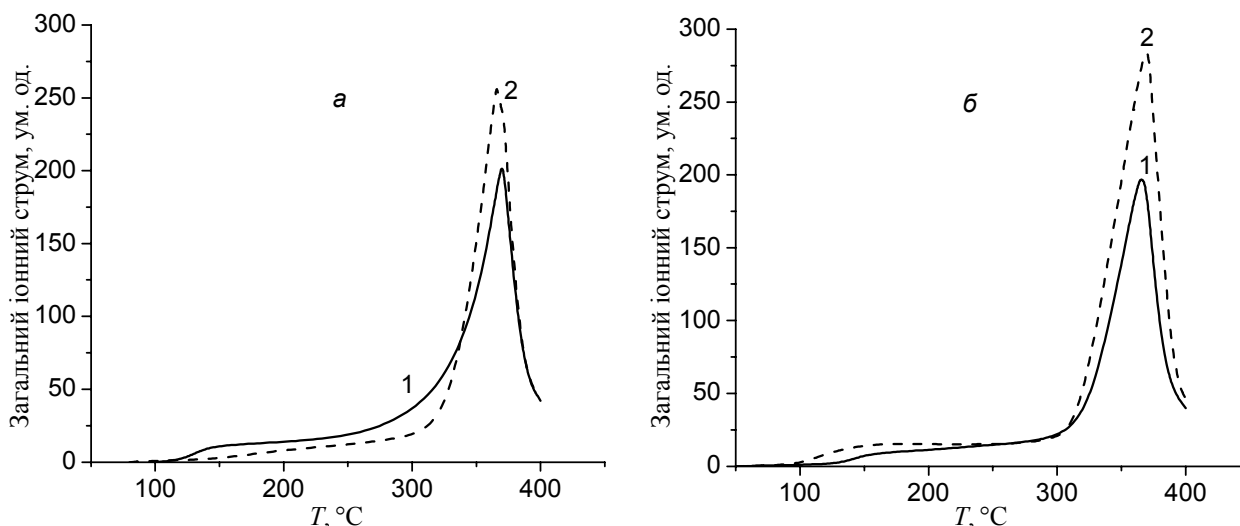


Рисунок. Температурна залежність загального йонного струму виділення легких продуктів термодеструкції зразка 1 (а) та зразка 3 (б) до (крива 1) і після (крива 2) дії культури дріжджів-аскоміцетів *Y. Lipolytica*

введеними в полімер на стадії переробки.

Експериментальна частина.

Об'єктами дослідження були композити на основі поліетилену високого тиску (ПЕВТ) або поліпропілену (ПП), склад яких наведено у табл. 1. При виборі композитних добавок, перш за все, брали до уваги наявність функціональних груп, які здатні розкладатись під дією УФ-опромінювання або/і мікроорганізмів, враховували їх доступність, вартість і токсичність. Як прискорювачі деструкції досліджували аміновмісні сполуки (азот поживний для бактерій) та металокисневмісні сполуки (фотоактивуюча дія). Плівки композитів отримували з порошкоподібних ПЕ та ПП методом компресійного формування.

Для інкубації використовували штам дріжджів *Yarrowia lipolytica* Y-1843 = CBS 224, CCY 29-26-1, VKM Y-917. Дріжджі вирощували у рідкому синтетичному середовищі Берггольдера такого складу (на 1 л середовища): 20 г глюкози; 3 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,5 г KH_2PO_4 ; 0,2 г $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,2 г $\text{CaCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$; 2 мкг біотину; 0,06 мг H_3BO_3 ; 0,04 мг $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$; 0,05 мг $\text{MnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,12 мг $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4 \text{H}_2\text{O}$; 0,3 мг $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 3,6 μM заліза у вигляді солі Мора. Плівки полімерів інкубували з культурою

Yarrowia lipolytica (*Y. lipolytica*) протягом 1 міс. Важливою особливістю виду дріжджів-аскоміцетів *Y. lipolytica* є їхня здатність із високою швидкістю утилізувати субстрати найрізноманітнішого складу (нафтові парафіни, грубі гідролізати біомаси, промислові стоки), накопичуючи при цьому велику кількість біомаси [5].

Для стерилізації полімерні пластинки перед інкубацією обробляли етанолом протягом 2 год. В колби Ерленмеєра об'ємом 100 мл наливали по 20 мл середовища, засівали культуру дріжджів і вносили оброблені етанолом пластинки. Дослідні колби інкубували на круговому шейкері зі швидкістю 200 об./хв. за температури 28 °C протягом 1 міс. Кожен 6–7 днів оновлювали середовище культивування. Після досліду пластинки ретельно відмивали дистильованою водою.

Зміни, які відбулися в досліджуваних поліолефінових композитах під впливом *Y. Lipolytica*, оцінювали за методом піролітичної мас-спектрометрії (ПМС). Дослідження проводили на мас-спектрометрі МХ-1321 у відповідності з методикою, описаною в [6]. Паралельно досліджували зразки, які не піддавались дії зазначеної культури дріжджів. Отримані мас-спектри продуктів деструкції порівнювали з мас-спектрами

Таблиця 2. Температура розкладання, загальний йонний струм і кількість йонних фрагментів при піролізі досліджуваних зразків до та після інкубації з культурою *Y. Lipolytica* в екстремальних точках термограм

Об'єкт дослідження	T, °C		J, ум. од.			K, од.		
	вихідні	після інк-ції	вихідні	після інк-ції	$\Delta J, \%$	вихідні	після інк-ції	$\Delta K, \text{од.}$
Зразок 1	370	366	202	258	+28,0	52	55 (370 °C)	+5
Зразок 2	370	370	203	268	+32,0	51	57	+6
Зразок 3	366	370	197	284	+44,0	51	62	+11
Зразок 4	357	362	201	228	+13,4	45 (364 °C)	52 (366 °C)	+7

Таблиця 3. Зміна питомої інтенсивності іонних фрагментів (ΔI), що утворюються при піролізі зразків ПО, інкубованих з культурою *Y. Lipolytica*, у порівнянні з вихідними зразками за температури максимальної термодеструкції

m/z	Іонний фрагмент	$\Delta I, \%$			
		Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4
27	C_2H_3	+22,0	+35,1	+76,6	+35,8
29	C_2H_5	+20,5	+29,6	+56,1	+30,0
41	C_3H_5	+35,0	+23,5	+63,8	+32,2
42	C_3H_6, CNO	+14,4	+21,3	+69,0	+42,4
43	$C_3H_7, CONH$	+18,8	+17,8	+55,4	+38,8
55	C_4H_7	+24,2	+23,9	+57,3	+37,2
56	C_4H_8	+24,8	+14,3	+59,6	+41,4
57	C_4H_9	+22,0	+22,1	+58,9	+44,3
69	C_5H_9	+24,1	+16,4	+70,0	+45,3
70	C_5H_{10}	+18,9	+20,0	+57,6	+42,2
71	C_5H_{11}	+12,3	+14,9	+54,5	+41,0
83	C_6H_{11}	+25,0	+24,5	+45,7	+45,6
85	C_6H_{13}	+23,4	+27,5	+64,9	51,7
97	C_7H_{13}	+25,6	+12,6	+55,6	55,0

каталогів [7, 8].

Результати дослідження та їх обговорення.

Всі термограми піролізу досліджуваних зразків як до, так і після інкубації з культурою *Y. Lipolytica*, характеризуються наявністю одного максимуму терморозкладання в інтервалі температур від 300 до 400 °С, як це видно з рисунка, на прикладі зразків **1** (а) та **3** (б). Для всіх композитів після інкубації загальний іонний струм виділення летких продуктів (J) та їх кількість (K) в екстремальній точці термограми зростають (табл. 2). Найбільше зростання згаданих показників термодеструкції спостерігається для композиту **3**, який містить 5 % мас. аміновмісної сполуки.

Цей зразок має і найбільший приріст показника питомої інтенсивності для всіх іонних фрагментів, що реєструються в його мас-спектрі за температури максимального терморозкладання (табл. 3). Явне зростання показників термодеструкції спостерігається і для композиту, до складу якого замість аміновмісної сполуки введений природний олігосахарид (зразок **2**).

Виходячи з отриманих результатів, можна припустити, що аміновмісна сполука і природний олігосахарид є поживними речовинами для дріжджів-аскомицетів *Y. Lipolytica*. Введення цих сполук у композити приводить до підвищення здатності до біодеградації цих поліолефінів.

Література

1. Кобріна Л.В., Рябов С.В., Керча Ю.Ю. // Композиц. полімер. матеріали. – 2003. – **25**, №2.- С. 86-94.
2. Рыбкина С.П., Пахаренко В.А., Шостак Т.С., Пахаренко В.В. // Пласт. массы. – 2008. - № 10. – С. 47-54.
3. Nowak B., Rajk J., Labuzek S. // Problemy Ekologii.- 2003.- №7.- P.110.
4. Labuzek S., Rajk J., Nowak B. // Biotechnologia. – 2008. – **80**, № 1.- P. 45.
5. Madzak C., Gaillardin C., Beckerich J.M. // Biotechnologia. – 2004. –**109**, №. 1-2. – P. 63-81.
6. Рябов С.В., Бойко В.В., Бортницький В.І. та ін. // Укр. хім журн.- 2009.- **75**, № 11. - С. 58-62.
7. Гордон А., Форд Р. Спутник химика / Пер.с англ.- М.: Мир, 1976.-541 с.
8. Каталог сокращенных масс-спектров.- Новосибирск: Наука, 1981.- 187 с.

Надійшла до редакції 24 грудня 2012 р.

Влияние дрожжей-аскомицетов *Yarrowia lipolytica* на полиолефины, модифицированные деградабельными добавками

В.В. Бойко¹, Т.В. Дмитриева¹, С.В. Рябов¹, В.И. Бортницький¹, С.К. Крымовская¹, Г.Ф. Невмержицькая¹, М.В. Гончар², Т.М. Прокопив²

¹Институт химии высокомолекулярных соединений НАН Украины
48, Харьковское шоссе, Киев, 02160, Украина

²Институт биологии клетки НАН Украины
14/16, ул. Драгоманова, Львов, 79005, Украина

*Методом пиролитической масс-спектрометрии проведено исследование влияния культуры дрожжей-аскомицетов *Yarrowia lipolytica* на термодеструкцию полимерных композитов на основе полиэтилена и полипропилена с разными добавками, введенными в полимер на стадии переработки. Установлено, что наибольший рост общего ионного тока выделения летучих продуктов, их количество и удельная интенсивность наблюдаются для композитов с аминоксодержащим соединением и природным полисахаридом. Введение этих соединений в композиты приводит к повышению способности к биодegradации полиолефинов под действием дрожжей-аскомицетов *Yarrowia lipolytica*.*

Ключевые слова: полиолефин, дрожжи-аскомицеты *Yarrowia lipolytica*, деградабельные добавки, масс-спектрометрия.

Influence of yeast *Yarrowia lipolytica* on polyolefins, modified by degradation additives

V.V. Boyko¹, T.V. Dmitrieva¹, S.V. Riabov¹, V.I. Bortnitskiy¹, S.K. Krymovska¹, G.F. Nevmerzhitska¹, M.V. Gonchar², T.M. Prokopiv²

¹Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine
48, Kharkivske shause, Kyiv, 02160, Ukraine

²Institute of Cell Biology NAS of Ukraine
14/16, Dragomanova str., Lviv, 79005, Ukraine

*Thermal mass-spectrometry has been employed to investigate a process of thermal destruction of the polyolefins, modified by degradable additives under the influence of the yeast *Yarrowia lipolytica*. It has been determined, that incorporation of amino-containing compound and a polysaccharide leads in increasing of biodegradation of polyolefin compositions under the influence of the above mentioned yeast.*

Keywords: polyolefin, yeast *Yarrowia lipolytica*, degradable additives, mass-spectrometry.