



<https://doi.org/10.15407/polymerj.44.01.024>
УДК 678-047.44: 066.092.1

В.В. БОЙКО,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
e-mail: valboyko54@gmail.com
ORCID: 0000-0002-5527-0468

С.В. РЯБОВ,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
e-mail: sergii.riabov@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2996-3794

Л.В. КОБРИНА,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
e-mail: kobrina.larisa@gmail.com
ORCID: 0000-0001-6801-0801

Т.В. ДМИТРИЄВА,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, Харківське шосе, Київ, 02160, Україна,
ORCID: 0000-0002-3526-8395

АНАЛІЗ МЕТОДІВ ОЦІНЮВАННЯ БІОРОЗКЛАДАННЯ ПОЛІМЕРНИХ МАТЕРІАЛІВ

Систематизовано науково-технічну інформацію щодо методів оцінювання біорозкладання полімерних матеріалів. Наведено лабораторні методи дослідження, в тому числі під впливом абіотичних факторів (температури, вологи, УФ-опромінення), під дією мікроорганізмів (грибів, бактерій, дріжджів), за умов компостування, респіраторні методи (Штурма, Цана–Велленса та ін.), ферментні методи аналізу, тести на екотоксичність. Розглянуто методи оцінювання біорозкладання за умов навколишнього середовища. Наведено міжнародні стандарти, які регламентують методи оцінювання біорозкладання органічних речовин і полімерних матеріалів.

Ключові слова: біорозкладні полімерні матеріали, методи випробувань, оцінювання біорозкладання, параметри контролю.

Вступ

Одним із пріоритетних напрямів сучасного полімерного матеріалознавства є розроблення, дослідження і впровадження полімерних матеріалів, здатних під дією різних природних чинників розкладатися впродовж заданого часу на нешкідливі для живих організмів компоненти. Пластики з регульованим терміном використання отримують із біорозкладних полімерів

(БП) і біорозкладних полімерних матеріалів (БПМ).

Створення і подальше використання БП і БПМ неможливі без попереднього оцінювання ступеня їх біорозкладання. Існує велика кількість методів, розроблених з урахуванням специфіки деструкції полімерних матеріалів. Метою цього огляду є систематизація науково-технічної інформації щодо методів оцінювання біорозкладання полімерних матеріалів.

Цитування: Бойко В.В., Рябов С.В., Кобрина Л.В., Дмитрієва Т.В. Аналіз методів оцінювання біорозкладання полімерних матеріалів. *Полімерний журнал*. 2022. **44**, № 1. С. 24—40. <https://doi.org/10.15407/polymerj.44.01.024>

Як відомо, перебіг біорозкладання залежить від хімічного складу полімеру та від наявності біологічних систем, які беруть участь у процесі. На активність мікробів, а отже і на біорозкладання, впливають такі чинники: наявність мікроорганізмів, наявність/відсутність кисню, кількість доступної води, температура, хімічне середовище (рН, електроліти тощо). При дослідженні біологічної здатності до розкладання матеріалу не можна нехтувати впливом довкілля. Для спрощення загальної картини біорозкладання БП і БПМ середовища, в яких відбувається цей процес, в основному поділяють на два види: аеробні (з доступним киснем) і анаеробні (кисень відсутній), що у свою чергу, можна поділити на середовище з високим вмістом твердих речовин і водне. В табл.1 схематично подані різні середовища, в яких може відбуватися біорозкладання.

Дослідження біорозкладання природних і синтетичних полімерів та полімерних матеріалів можна умовно поділити на кілька напрямів:

- лабораторні експерименти, в яких моделюється вплив на досліджувані об'єкти одного або кількох чинників, що піддаються кількісному аналізу;

- дослідження розкладання полімерів за природних умов, а саме в ґрунті, компості, каналізаційному мулі, морській та річковій воді тощо. Зазвичай такі дослідження мають регіональне значення, оскільки фактори, що спричиняють деструкцію полімерів, можуть бути неоднаковими в різних регіонах;

- дослідження деструкції полімерів *in vivo*, тобто експерименти, що проводяться на живих тканинах і цілих організмах чи всередині них (експерименти на лабораторних тваринах чи клінічні випробування).

Крім того, методи дослідження біорозкладання поділяються за такими класифікаційними ознаками:

- рівень регламентації: стандартизовані та нестандартизовані;

- параметр біорозкладання полімерного матеріалу, який визначається для оцінювання ступеня деструкції (маса, деформаційно-міцнісні показники, молекулярно-масове розподілення, температурні характеристики, макро- й мікроструктура зразків та ін.) або складу та властивостей біологічної системи, в якій відбувається біорозкладання (кислотність, дихальна активність, хімічний та мікробіологічний склад ґрунту або іншого біологічного середовища тощо).

- час проведення випробування: експрес-методи, тривалі методи.

Стандартизовані методи тестування біорозкладання БП і БПМ

У 1992 р. було організовано міжнародний семінар з біологічного розкладання полімерних матеріалів, який зібрав експертів з усього світу для досягнення згоди щодо визначень, стандартів та методології випробувань [1]. Брили участь екологи та представники виробників, законодавчих органів, випробувальних лабораторій і організацій зі стандартизації з Європи, США та Японії. Відтоді існує величезна кількість міжнародних і національних стандартів, розроблених у різних країнах з урахуванням специфіки розкладання полімерних матеріалів, які цілком об'єктивно можуть дати матеріалу визначення "біорозкладний" (biodegradable) у кожному конкретному випадку. Розробленням стандартів, якими регламен-

Таблиця 1. Види середовищ, в яких відбувається біорозкладання полімерних матеріалів

Середовище за ознакою наявності/відсутності кисню	Середовище з переважанням твердих речовин (ґрунт, компост)	Водне середовище
Аеробне	- Поверхневі ґрунти - Сміття - Установки для компостування органічних відходів	- Поверхневі води (озера, річки) - Аеробні очисні споруди - Морське середовище
Анаеробне	- Глибоководні відкладення - Анаеробний мул - Звалища	- Анаеробні очисні споруди

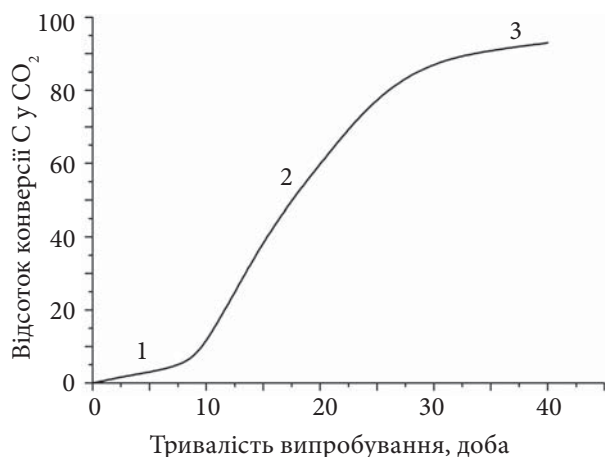


Рис. 1. Крива біорозкладання: 1 – лаг-фаза; 2 – фаза біорозкладання і 3 – фаза плато

туються зокрема й методи оцінювання ступеня біорозкладання БП, займаються Міжнародна організація зі стандартизації (International Organization for Standardization) (ISO), Американське товариство з випробувань і матеріалів (American Society for Testing and Materials) (ASTM); Європейський комітет стандартів (European Committee for Standardization) (EN), Організація економічного співробітництва та розвитку (Organization for Economic Cooperation and Development) (OECD), Японська асоціація стандартів (Japanese Standards Association) (JIS), Державний комітет України зі стандартизації, метрології та сертифікації (ДСТУ) та органи зі стандартизації з інших країн [2–6].

Мета стандартів – вказати якомога більше експериментальних процедур і параметрів, які визначаються. В методах випробувань на біорозкладання хімічних матеріалів регламентуються, наприклад, вид і розмір хімічного посуду, необхідного для проведення тесту; концентрація речовини в тест-системі; склад живильного середовища; тривалість інкубації; температура; інтенсивність перемішування та аерації; частота відбирання проб; термін випробування, а також вимірювані параметри для оцінювання біорозкладання. Між тим не стандартизується (за невеликим винятком) вид мікроорганізмів, що додаються як посівний матеріал, який визначається за походженням (вода очисних споруд, активний мул, матеріал з установок для компостування тощо). Для

моніторингу біорозкладання використовують такі показники як кількість розчинного органічного вуглецю (DOC), потреба у біохімічному кисні – поглинання кисню в системі (BOD), кількість CO₂, що виділяється. За результатами експерименту будується крива залежності, наприклад, концентрації CO₂ як функції у часі (рис.1). Типова крива біорозкладання складається з трьох ділянок. Перша – так звана лаг-фаза, друга – фаза біологічного розкладання, третя фаза – плато.

Лаг-фаза (у випробуваннях на біорозкладання матеріалу): 1) час від початку експерименту до стадії адаптації; 2) час від початку добору придатних мікроорганізмів до досягнення 10 % від максимального ступеня деструкції.

Фаза біологічного розкладання – час від закінчення лаг-фази до досягнення 90 % від максимального ступеня деструкції.

Фаза плато – час від закінчення фази біологічного розкладання до закінчення випробування.

Слід зазначити, що стандарти на методи оцінювання БП і БПМ розроблено з урахуванням виду середовища, в якому відбувається біорозкладання матеріалу (табл. 1).

Лабораторні дослідження біорозкладання полімерних матеріалів

Програма оцінювання біорозкладання БП і БПМ за лабораторних умов зазвичай складається з трьох етапів:

- дослідження деструкції під впливом абіотичних факторів;
- випробування на біорозкладання під дією мікроорганізмів, у тому числі контрольований тест на компостованість;
- випробування на екотоксичність, наприклад тест на ріст рослин і тест на дію земляних хробаків.

Методи дослідження абіотичної деструкції

З усієї сукупності зовнішніх абіотичних чинників, які викликають деструкцію полімерних матеріалів (механічне навантаження, термо-, фотоокиснення, дія хімічних агентів тощо), зазвичай виокремлюють основні й відтворюють їх за штучних умов лабораторії. Найрозповсюдженішими факторами зовнішнього впливу є температура й вологість. Дослідженню їх дії

на деструкцію полімерних матеріалів, зокрема біорозкладних, присвячено багато наукових і методичних розробок [7–14].

Випробування під впливом температури, вологості та УФ-опромінення здійснюються у кліматичних термокамерах (КТК) різних типів, де підтримують задані параметри протягом певного часу. Найчастіше для оцінювання швидкості деструкції БП і БПМ після витримання зразків у КТК використовують:

1. Візуальні спостереження. За наявності деструктивних процесів підвищується шорсткість поверхні матеріалу, змінюється колір, на поверхні з'являються дефекти, біоплівки (останнє спостерігається частіше, якщо перед тим як помістити зразки в КТК їх витримували в ґрунті). Зміну кольору поверхні пластика оцінюють за стандартом ASTM D1925-70(1988) Test Method for Yellowness Index of Plastics (Withdrawn 1995).

2. Визначення зміни маси та лінійних розмірів зразків. Для встановлення швидкості та ступеня деструкції визначають втрату маси за одиницю часу. Якщо площа поверхні відома, з цих даних легко обчислити зменшення маси з одиниці площі за одиницю часу й оцінити відповідні константи швидкості процесу. Аналогічно можна вимірювати й розмірні характеристики зразків. Визначення зміни маси проводять згідно з ASTM D4797-17 Standard Test Methods for Gravimetric Analysis of White and Yellow Thermoplastic Pavement Marking. Проте втрата маси зразків, навіть закопаних у ґрунт, насправді не є репрезентативним показником на біорозкладання, оскільки може бути зумовлена виділенням летких і розчинних домішок.

3. Визначення зміни середньої молекулярної маси (ММ) і молекулярно-масового розподілу (ММР) полімеру. В такому разі визначають молекулярні характеристики вихідного зразка (зазвичай методом гель-проникної хроматографії), а потім через певні проміжки часу – зразка, підданого деструкції. Слід зазначити, що неоднорідність деструкції в об'ємі зразка ускладнює інтерпретацію результатів.

4. Визначення зміни фізико-механічних характеристик (міцність при розриві, відносне подовження, твердість).

Зміни контрольованого показника визначають за співвідношенням:

$$P_t / P_0 = K,$$

де: P_0 та P_t – вихідне і поточне значення контрольованого показника відповідно; K – коефіцієнт збереження значення контрольованого показника.

Відносне зниження значення контрольованої характеристики (P), тобто коефіцієнт старіння (K), визначають таким чином:

$$K = (P_0 - P_t) / P_0 = \Delta P / P_0.$$

Коефіцієнти збереження значення контрольованого показника та старіння зазвичай визначають у відсотках.

Відомо, що дослідження теплофізичних властивостей полімерів, зокрема їх термічної деструкції, може сприяти встановленню молекулярної будови полімерів – послідовності розташування елементарних ланок чи мономерних одиниць і бічних груп у ланцюзі макромолекули, характеру кінцевих груп полімерного ланцюга та поперечних зв'язків між ланцюгами [7, 8]. Крім того, такі дослідження допомагають визначити ступінь міцності зв'язків між структурними одиницями полімеру, механізм та кінетику їх розкладу, вплив тривалості, температури та інших параметрів на швидкість деструкції і склад продуктів деструкції.

Методом оцінювання швидкості термодеструкції БП і БПМ є термогравіметричний аналіз (ТГА), при якому реєструється зміна маси зразка полімерного матеріалу чи продуктів реакції залежно від температури, що зростає за певною програмою, або від часу (ізотермічно). Результатом аналізу є ТГ-криві, побудовані в координатах маса зразка – температура або маса зразка – час (da/dt). Ступінь деструкції можна розрахувати за масою:

$$\alpha = W_0 - W / W_0 - W_\infty,$$

де: W , W_0 , та W_∞ – початкова маса, маса в конкретній точці на ТГ-кривій та кінцева маса відповідно [15, 16].

Слід зазначити, що для правильної інформації щодо механізму та кінетики досліджуваного процесу термодеструкції конкретного полімеру чи полімерного матеріалу треба мати набір ТГ-кривих, записаних за різних температур нагрівання зразків [17].

Оскільки в результаті термодеструкції відбуваються структурно-хімічні перетворення в полімерах, оцінити швидкість деструктивних процесів БПМ можна шляхом визначення швидкості зміни температурних характеристик фазових переходів у полімерах, на основі

яких вироблено матеріал, тобто температури склування, кристалізації, плавлення. З цією метою широко використовуються методи диференціальної сканувальної калориметрії (ДСК) і диференціального термічного аналізу (ДТА) [12, 18–23]. ДСК – термоаналітична методика, за якою різниця кількості тепла, необхідного для підвищення температури зразка й еталона, вимірюється як функція температури. Методом ДТА вимірюється різниця температур зразка й еталона за однакової кількості енергії, яка до них підводиться.

Досить інформативним методом характеристики складних органічних об'єктів, який дає змогу оцінювати особливості їхньої молекулярної будови за складом продуктів термодеструкції, є піролітична мас-спектрометрія (ПМС) [8, 24–26]. У роботі [27] узагальнено результати дослідження методом ПМС біорозкладних полімерних матеріалів, розроблених на основі поліолефінів і сегментованих поліуретанів із різними функціональними добавками. Дослідження проводили на мас-спектрометрі МХ-1321, який забезпечує визначення компонентів газових сумішей у діапазоні масових чисел 1–4000. Обробку мас-спектрів летких продуктів термодеструкції об'єктів дослідження проводили за спеціально розробленою комп'ютерною програмою, яка дає змогу реєструвати інтенсивність кожного леткого компонента за інтегральною площею під відповідним піком. Вивчали температурну залежність зміни інтенсивності виділення летких продуктів термодеструкції (загальний іонний струм). Інтенсивність виділення летких продуктів (іонних фрагментів) відображали в умовних одиницях.

Показано, що використання методу ПМС при розробленні біорозкладних матеріалів на основі різних полімерів дає змогу:

- вибрати склад композитів і визначити оптимальну кількість біорозкладних добавок;
- визначити області руйнування нових полімерів, отриманих із використанням природної складової, і відповідно температурну область їх експлуатації;
- оцінити структурно-хімічні процеси, що відбуваються в полімерній матриці під впливом різних факторів (температура, волога, УФ-опромінення, дія мікроорганізмів).

Оцінити термічну деградацію відходів пластичних матеріалів (суміш ПП, ПЕ, ПС і ПВХ)

можна методом піролізу, описаним у статті [28], так званім Batch reactor method [15]. Суміш пластиків завантажують у скляний реактор, який продувається азотом за швидкості потоку 10 мл/хв за температури 120 °С протягом 60 хв для видалення з суміші фізично адсорбованої води. Після припинення подачі азоту температуру в реакторі підвищують до температури деградації (430 °С) за швидкості нагрівання 3 °С хв. Газоподібні продукти зріджують за допомогою конденсатора з холодною водою і збирають у мірну ємність. Кількісний та якісний аналіз рідких продуктів можна виконати, використовуючи газовий хроматограф, оснащений полуменево-іонізаційним детектором, мас-спектрометр або інші прилади. Твердий залишок можна ідентифікувати FTIR-спектрометричним способом. Аналогічний метод термодеструкції відходів пластиків використано в роботі [29].

Іншим важливим фактором абіотичної деструкції полімерних матеріалів є сонячне світло. Під впливом сонячного опромінення полімери розкладаються передусім унаслідок перебігу фотохімічних реакцій, ініційованих поглинанням світла, переважно короткохвильової частини спектра. Тому за лабораторних умов часто використовують способи вимірювання кількості короткохвильової частини світла, яке падає на поверхню досліджуваного полімерного об'єкта. Загалом нормативні процедури таких досліджень викладено, наприклад, у таких документах:

- ASTM D5208 - 14 Standard Practice for Fluorescent Ultraviolet (UV) Exposure of Photodegradable Plastics;
- ASTM D4674 - 89(1997) Standard Test Method for Accelerated Testing for Color Stability of Plastics Exposed to Indoor Fluorescent Lighting and Window-Filtered Daylight;
- ASTM-D1501 Recommended Practice for Exposure of Plastics to Fluorescent Sunlamp (Withdrawn 1980);
- ISO 4892-2 Plastic – Method of exposure to laboratory light sources – Part 2: Xenon –arc lamps;
- ISO 4892-3 Plastic – Method of exposure to laboratory light sources – Part 3: Fluorescent UV lamps;
- ISO 4892-4 Plastic – Method of exposure to laboratory light sources – Part 4: Open flame carbon-arc lamps.

Для моніторингу ступеня фотодеструкції зазвичай використовують такі самі методи, як і для оцінювання термодеструкції: сканувальної електронної мікроскопії, фотоелектронної рентгенівської спектроскопії, мас-спектрометрії, рентгеноструктурного аналізу, диференціальної сканувальної калориметрії [30], вимірювання контактного кута змочування [31]. У роботі [32] деструкцію азо-функціоналізованих поліетиленгліколів досліджували за допомогою ультразвуку.

Отже, деструкцію полімерних матеріалів під впливом абіотичних факторів за лабораторних умов можна визначити доволі простими методами, хоча експерименти іноді забирають багато часу [33]. Наприклад ступінь гідролізу і фотодеструкцію легко визначити за втратою маси досліджуваного зразка [34, 35]. Інші фізичні параметри, такі як подовження, розривне навантаження, вологопоглинання, характеристика зсуву тощо, отримують стандартними методами випробувань, які застосовують при розробленні полімерів і полімерних композитів [36, 37].

Методи випробування на біорозкладання БПМ під дією мікроорганізмів

За лабораторних умов оцінювання біорозкладання БПМ включає випробування на стійкість до впливу цвілевих грибів, мікроорганізмів (МО), до інкубування з МО, а також імітацію природних ґрунтових умов і водного середовища, компостування тощо [38–41].

При випробуванні на грибостійкість зразки полімерного матеріалу обробляють водною суспензією спор грибів і витримують за умов, оптимальних для їх розвитку (ASTMG 21-90). Грибостійкість характеризують за візуальними ознаками розвитку грибів на поверхні зразка протягом певного часу. Висновок про властивості матеріалу роблять, використовуючи такові таблиці:

- 1) стійкий до дії мікроскопічних грибів;
- 2) містить поживні речовини в кількості, що забезпечують незначний розвиток грибів;
- 3) провокує інтенсивний ріст грибів.

До недоліків методу відносять його тривалість (час інкубування до 30 діб) та експериментальні труднощі виявлення біомаси на початкових стадіях росту грибів, коли її кількість на поверхні зразка досягає лише кількох міліграмів на квадратний сантиметр.

Грибостійкість полімерних матеріалів можна оцінити кількісним показником:

$$K = L_0/L_k,$$

де: L_0 і L_k – тривалість розвитку спор до моменту появи стадії розгалуження на досліджуваному та контрольному (схильному до біорозкладання) зразках відповідно. Коефіцієнт K може змінюватися від нуля до одиниці. Чим він вищий, тим більше виражена здатність досліджуваного матеріалу до біорозкладання.

Аналогічно оцінюють стійкість пластмас до мікробної деградації (ASTMG 22-76). Тестовий матеріал розміщують у чашках Петрі на поверхні мінеральних солей агару, що не містять додаткового джерела вуглецю, і обприскують стандартизованим змішаним посівом відомих бактерій. Витримують за сталої температури і після певного інкубаційного періоду візуально оцінюють зміни на поверхні субстрату.

Іншим способом оцінювання грибостійкості є радіоізотопний метод, який полягає в тому, що полімерний матеріал обробляють суспензією мікроскопічних грибів, витримують в атмосфері пари тритієвої води й фіксують накопичення біомаси в зразках за інтенсивністю їх радіовипромінювання, яку вимірюють за допомогою рідинного сцинтиляційного лічильника. За приростом інтенсивності розраховують збільшення сухої біомаси на одиницю поверхні зразка. Результати можна отримати вже через 30 год.

У стандарті ASTM D 5247-92, який був розроблений з урахуванням методу, описаного в статті [41], наведено процедури, необхідні для оцінювання біодеградації пластмас під дією бактерій *Streptomyces badius* (ATCC39117), *Streptomyces setonii* (ATCC39115), *Streptomyces viridosporus* (ATCC39115) і суспензії грибів *Phanerochaete chrysosporium* (ATCC 34541), поширених у навколишньому середовищі. Біодеструкція оцінюється у порівнянні з контрольними зразками за втратою молекулярної маси інкубованих зразків, міцності на розрив і подовження при розриві. Випробування проводяться згідно зі стандартами ASTM: D 638 – Test Method for Tensile Properties of Plastics; D 882 – Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting; D 3536 – Test Method for Molecular Weight Averages and Molecular Weight Distribution of Polystyrene by Liquid Exclusion Chromatography (Gel Permeation

Chromatography – GPC); G 22 – Practice for Determining Resistance of Plastics to Bacteria.

При розробленні методів оцінювання впливу МО на полімерний матеріал враховується, що існують три основні катаболічні шляхи метаболізму, за допомогою яких у МО виробляється енергія для підтримання клітинної активності, структури й розмноження, а саме аеробне дихання, анаеробне дихання та бродіння [30]. При аеробному диханні МО використовують кисень як кінцевий акцептор електронів. Унікальний доказ того, що МО споживають полімер – виділення вуглекислого газу. При анаеробному диханні утворюється CH_4 (метаногенні умови середовища) або H_2S (сульфідогенні умови середовища). Тому за своєю мікроорганізмами речовин, що утворюються при розкладанні БПМ, можна оцінювати з використанням респіраторних методів, в основі яких лежить вимірювання виділення CO_2 чи $\text{CH}_4/\text{H}_2\text{S}$ або споживання кисню.

Виділення вуглекислого газу чи метану з субстрату є прямим параметром етапу мінералізації полімерного матеріалу. Тому тести на виділення газу можуть бути важливими інструментами при оцінюванні біорозкладання полімерних матеріалів.

Надзвичайно зручним методом вимірювання здатності до біологічного розкладання як водорозчинних, так і нерозчинних органічних сполук у водному середовищі є метод Штурма, який базується на вивченні кінетики виділення CO_2 з системи, що складається з зануреного в суспензію МО полімерного матеріалу [42, 43]. Утворений унаслідок біоконверсії CO_2 поглинається $\text{Ba}(\text{OH})_2$ і осаджується у вигляді карбонату барію (BaCO_3). Кількість виділеного системою вуглекислого газу визначається титруванням BaCO_3 хлористоводневою кислотою. Цей метод випробування охоплює визначення ступеня та швидкості як аеробного, так і анаеробного біорозкладання синтетичних полімерних матеріалів (включаючи рецептурні добавки, які можуть біологічно розкладатися) і лежить в основі багатьох міжнародних стандартів, які регламентують різні за складом середовища, посівний матеріал, спосіб введення субстратів.

На рис. 2 наведено схему аеробного тестування впливу посіву мулу муніципальних стічних вод на біорозкладання пластичних

матеріалів за стандартом ASTM D5209, за яким можна випробувати одночасно три матеріали. Постійна аерація забезпечує достатню кількість кисню всередині біореакторів. При цьому є кілька проблем, пов'язаних із випробуванням цим методом. Наприклад витік газу при з'єднанні реакторів у складній системі може призвести до помилково низьких значень (кількості або об'єму) вуглекислого газу протягом тесту. Вуглекислий газ, виділений при розкладанні, потрапляє в основний розчин (зазвичай розчин гідроксиду барію), який потім титрується через певні часові інтервали. Тривалість і трудомісткість методу спонукала до розроблення автоматизованого обладнання для вимірювання CO_2 [44].

Автоматизована система Штурм-тесту базується на вимірюванні електричної провідності. Провідність відкалібрована за кількістю CO_2 , що виділяється в системі. Результати записуються за допомогою комп'ютера. Одночасно до обладнання може бути підключено 24 біореактори, а за потреби й до 80 біореакторів. Перед початком випробування за допомогою комп'ютерної програми реєструється теоретична кількість діоксиду вуглецю, який може утворитися зі зразка. Після закінчення випробування обчислюється сукупне виділення CO_2 у відсотках до теоретичного показника.

Оцінити здатність органічних сполук до повного аеробного розкладання у водному середовищі шляхом вимірювання концентрації розчинного органічного вуглецю (DOC) або хімічного споживання кисню (COD) можна методом Цана–Велленса (ISO 9888:1999, ДСТУ 4080-2001). Випробувана суміш містить неорганічне середовище, активний мул як інокулянт і органічну випробувану сполуку як єдине джерело вуглецю та енергії, відмінне від мулу. Метод відрізняється досить високою концентрацією досліджуваної речовини (50–400 мг DOC/дм³), доданої до попередньо промитого активного мулу. У реакторі об'ємом 3–4 л перемішують 2 л мулу і подають повітря, щоб підтримувати концентрацію розчинного кисню понад 2 мг O_2 /дм³. Концентрацію DOC (чи COD) вимірюють на початку і наприкінці випробування (зазвичай через 28 діб), а за потреби і в проміжних інтервалах. Отримані при цьому значення використовують для обчислення частки (в %) повного біорозкладання за

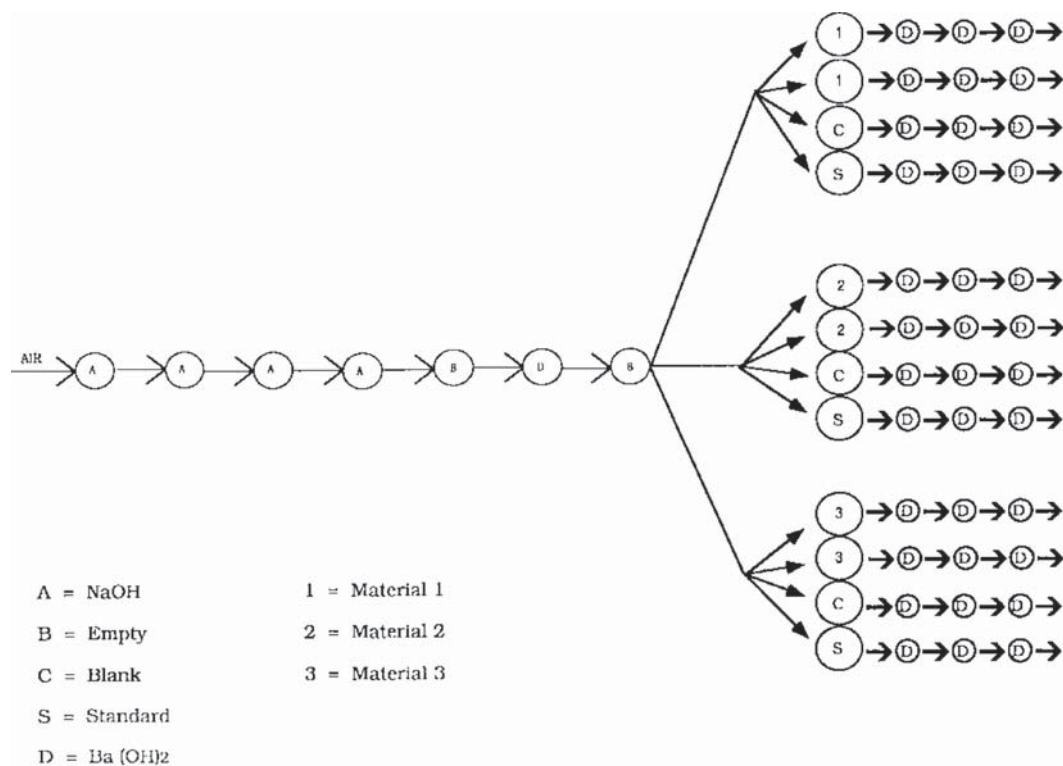


Рис. 2. Схема аеробного тестування Штурм-методом (ASTM D5209)

кожен проміжок часу. За результатами випробувань будують типову криву біорозкладання (рис. 1) [45].

У роботі [46] описано комбінований метод, яким в одній тестовій системі поєднано визначення двох різних незалежних параметрів: аналіз розчинного органічного вуглецю (DOC) і неорганічного вуглецю (CO₂) для оцінювання біологічного розкладання речовин у водному середовищі. Цим методом оцінювали біорозкладання різних сполук, зокрема поліетиленгліколю (ММ 200 та 2000), полівінілового спирту (ММ 7200), поліестеру, отриманого з адипінової та ізофталевої кислот і 1,6-гександіолу, та інших сполук у середовищі активного мулу з очисних споруд заводу BASF. Паралельно проводили оцінювання методами Цана–Велленса та Штурма. Наведені дані показують, що результати, отримані в комбінованому випробуванні CO₂/DOC, надійні та дають більше інформації, ніж існуючі тести на визначення окремо CO₂ або DOC. Результати біорозкладання можна використовувати для прогнозування поведінки хімічних сполук в аеробному водному середовищі, особливо у стічних водах очисних споруд.

На підставі дослідження фінських вчених було вдосконалено метод тестування біологічного розкладання полімерів, нерозчинних у воді, шляхом вимірювання CO₂ в газовій фазі [47]. Водночас визначали кількість біомаси, яка утворювалась під час біорозкладання полімеру «Віорас», отриманого на основі крохмалю. Протягом випробування вуглець досліджуваного полімеру (C_{зразок}) перетворюється переважно на двоокис вуглецю (C_a) й біомасу (C₆). Частина полімерного вуглецю може бути розчинною (C_p), а частина у формі нерозчинного залишку (C₃).

Баланс вуглецю протягом біорозкладання може бути поданий у вигляді рівняння:

$$C_{\text{зразок}} = C_a + C_6 + C_p + C_3$$

У зв'язку з цим у роботі [47] запропоновано оцінювати біорозкладання полімеру за таким рівнянням:

$$(C_a + C_6) / C_{\text{зразок}} \times 100 = \% \text{ біорозкладання}$$

Оскільки аеробне біорозкладання потребує кисню для окиснення сполук і утворення з них мінеральних компонентів, таких як CO₂, H₂O, SO₂, P₂O₅ та ін., мірою ступеня біорозкладання є також кількість кисню, що використовується

під час інкубації, так звана біохімічна (або біологічна) потреба кисню (показник BOD). Оцінка остаточного біорозкладання полімерного матеріалу аеробними МО шляхом визначення біохімічної потреби кисню регламентується, наприклад, стандартами ISO 10707:1994, ISO 10708:1997, ISO 19851:2019, OECD 301D; ASTM5271-02. Біологічне розкладання визначається як відношення питомої біохімічної потреби в кисні або до теоретичного значення потреби кисню (ThOD), або, на основі експериментального визначення, хімічної потреби кисню. Теоретичну кількість кисню, необхідного для повного окиснення субстрату до його мінеральних складових, можна обчислити, враховуючи елементний склад і стехіометрію окиснення [48]. Потребу кисню можна визначати періодичним вимірюванням концентрації кисню у водній фазі, відкриваючи колбу з досліджуваною речовиною, вимірюючи зміну об'єму або тиск в інкубаційному фільтрі, що містить агенти поглинання CO₂. Інший спосіб – вимірювання кількості витраченого кисню (електролітично) для підтримання постійного співвідношення об'єм/тиск газу в спеціалізованих респірометрах. Тести BOD порівняно прості у виконанні й достатньо чутливі; їх часто використовують як скринінгові тести, але вони не придатні для визначення анаеробного розкладання [40].

У статті [49] запропоновано метод двофазного тесту з закритою колбою (two-phase closed bottle test) для випробування погано розчинних речовин. Концентрацію розчинного кисню в тест-колбах визначають за допомогою каліброваного електрода. Цей тест доповнює метод, регламентований стандартом OECD 301D.

Наведені вище методи стосуються випробувань на біорозкладання у водному середовищі. Автори статті [50] запропонували метод оцінювання біорозкладання нерозчинних матеріалів у твердому середовищі. Його перевагою є те, що мікроорганізми не виведені з оптимального природного середовища і нерозчинність досліджуваного матеріалу не перешкоджає вимірюванню.

У цій роботі крім кількості кисню, спожитого МО під час розкладання полімерного субстрату, додатково контролюється кількість діоксиду вуглецю, який утворюється в результаті мікробіологічної активності, шляхом

моніторингу зміни провідності розчину KOH – абсорберу CO₂. Систему було оптимізовано за допомогою мікрокристалічної целюлози (МКЦ), яка використовується як еталонний матеріал при випробуваннях як у водному, так і у твердому середовищах. У дослідженні МКЦ розкладалася протягом 21 дня з показником 89 %.

Для визначення впливу МО на полімерні матеріали використовують біоіндикаторні та спектральні методи.

Біолоюмінесцентний метод базується на визначенні біомаси з використанням індикаторної хемілюмінесцентної реакції люциферин-люциферазної системи світляків [51]. Інтенсивність світіння індикатора прямо пропорційна концентрації динатрієвої солі нуклеотиду – аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) у досліджуваному зразку. Концентрація АТФ симбатна кількості живих клітин: вміст АТФ у клітинах усіх типів приблизно однаковий і становить 1–10 мг/г сухої маси. Кінетичні параметри росту МО на поверхні полімерного зразка визначають за зміною поверхневої концентрації АТФ протягом певного часу. З біомаси, яка наросла на поверхні зразка, готують АТФ-вмісний екстракт і вимірюють інтенсивність його люмінесценції за наявності індикатора.

Суть біохімічного індикаторного методу полягає в залученні білка біомаси, що розрослася на поверхні полімерного зразка, в хімічні реакції з індикаторами: трифенілтетразолієм хлористим, реагентом Фоліна, жовтою кров'яною сіллю [52]. Інтенсивність забарвлення екстрактно-індикаторної проби, визначеної методом фотокалориметрії, змінюється прямо пропорційно концентрації білка [53]. Так можна отримувати спектри флуоресценції білкових речовин у біомасі з типовою для ароматичних амінокислот смугою, а також визначати наявність у досліджуваній пробі карбонових кислот [54].

ІЧ-спектроскопія дає інформацію про накопичення біомаси за характерними для функціональних груп білкових сполук спектральними смугами поглинання [55].

Білоруські вчені розробили метод дослідження кінетики та механізму біорозкладання композитних БПМ за допомогою електретно-термічного аналізу (ЕТА), який зазвичай використовують для вивчення електричної поляризації діелектриків [39]. Передумовою

його використання було те, що в процесі технологічної переробки полімерних композитів утворюється електрично неоднорідна структура внаслідок руйнування маромолекулярних ланцюгів, приєднання до місць розриву полярних фрагментів, захоплення структурними пастками вільних носіїв заряду тощо. Для полімерних композитів характерні індивідуальні спектри термостимульованого струму. Коли при біорозкладанні композитів їх структура руйнується, відбувається перерозподіл носіїв заряду в структурних пастках, що спричиняє зміни спектрів термостимульованого струму. Зокрема встановлено, що при експозиції у верхніх шарах ґрунту БПМ на основі поліетилену та крохмалю характерні піки спочатку зсуваються за температурною шкалою і врешті решт повністю зникають, що, вочевидь, пов'язано з біорозкладанням досліджуваного композиту [56].

Досить простим методом оцінювання біорозкладання полімерних композитів у твердому середовищі є тест на імітацію природних ґрунтових умов [57]. Зразки БПМ поміщають у ґрунт певного біохімічного складу, температури й вологості. Останні два параметри підтримують на сталому рівні протягом усього терміну випробування. Швидкість біорозкладання зразків оцінюють за динамікою змін у часі їх маси, фізико-механічних показників, молекулярних, мікро- та макроструктурних характеристик, а також змін ґрунту – кислотності, питомого вмісту МО тощо.

Однією з процедур для оцінювання біорозкладання матеріалів у твердому середовищі є використання мічених атомів ^{14}C , що регламентується, наприклад, у стандартах:

- OECD 304A та OECD 307: середовище ґрунт;

- OECD 308 та OECD 304A: водно-осадова система.

Матеріал, що містить хаотично розподілений маркер ^{14}C , піддають впливу обраних МО. Кількість виділеного $^{14}\text{CO}_2$ визначають за допомогою сцинтиляційного лічильника. Як показано в роботі [58], дослідження біологічного розкладання мічених полімерних матеріалів у різних мікробних середовищах демонструють високий ступінь точності.

Як відомо, біорозкладання на поверхні полімерного матеріалу починається з адгезійного

закріплення мікробних клітин, які виділяють екзоферменти, що руйнують матеріал. Кількісні параметри адгезії клітин МО на полімері визначальні для прогнозування швидкості біообростання та біорозкладання БПМ. Таким параметром, зокрема, є сила адгезії, яку можна вимірювати методом центрифугального відриву [51]. У роботі [59] досліджували адгезію конідій мікроскопічних грибів *Aspergillusniger* до різних полімерів (поліметилметакрилату, целофану, поліетилену, ацетилцелюлози, епоксидної смоли та поліетилентерефталату). Суспензію конідій наносили на поверхню полімерних плівок та інкубували впродовж заданого часу. Після інкубації зразки плівок закріплювали в центрифужних склянках на металевих пластинах і центрифугували в полі прискорюваних відцентрових сил. Кількість втрачених і вцілілих на поверхні матеріалу конідій визначали за допомогою камери Горяєва. Встановлено, що адгезійна взаємодія конідій мікроскопічних грибів з полімерними поверхнями має кінетичний характер, що дає змогу кількісно описати процес адгезії МО до різних поверхонь і характеризувати її кінетичними параметрами.

Попереднє оцінювання здатності полімерних матеріалів до розкладання за умов компостування може бути здійснене згідно зі стандартом ISO 20200: 2015 (Plastics — Determination of the degree of disintegration of plastic materials under simulated composting conditions in a laboratory-scale test). Подальші дослідження біорозкладання БПМ за умов компостування регламентуються міжнародними стандартами, зокрема ISO 14855-1:2012; ISO 14855-2:2018; ASTM D 5338-92; ASTM D 6340-98; ASTM D 6003-96. Компост є надзвичайно активним середовищем і зазвичай містить понад 2000 видів бактерій та не менше 50 видів грибів. Суть методу полягає в експозиції зразків БПМ у компості, який отримують, наприклад, із твердих побутових відходів. Суміш зрілого компосту й досліджуваного матеріалу поміщають у закритий посуд та інкубують за оптимальних умов температури, вологи за наявності кисню протягом випробувального періоду, що становить зазвичай 45 діб. Реєструється кількість CO_2 , який утворюється в результаті біорозкладання досліджуваного матеріалу. Вимірювання проводять на початку і

наприкінці випробування та за потреби в проміжних інтервалах. Отримані при цьому значення використовують для обчислення частки (в %) повного біорозкладання за кожний проміжок часу. За результатами випробувань будується типова крива біорозкладання (рис. 1) [60]. Кінцевими продуктами біологічного розпаду досліджуваного матеріалу є діоксид вуглецю, вода, мінеральні солі та новоутворені мікробні клітинні компоненти (біомаса). Тому додатково ступінь розкладання досліджуваного матеріалу визначається наприкінці випробування шляхом вимірювання зменшення маси досліджуваного матеріалу.

Для дослідження біорозкладання полімерів використовують також ферментні методи аналізу [40], коли полімерний субстрат додають до буферної системи або системи з контрольованим рН, що містить очищені ферменти одного або кількох типів. Ці аналізи дуже корисні для вивчення кінетики деполімеризації або вивільнення олігомеру чи мономеру з полімерного ланцюга за різних умов аналізу [61–68]. Морфологічні зміни в полімерному матеріалі під час ферментативного розкладання можна виявити за допомогою сканувальної електронної мікроскопії (SEM), атомно-силової мікроскопії (AFM) тощо [69]. Однак ферментні аналізи не підходять для визначення швидкості мінералізації полімерного матеріалу.

У роботі [70] описано лабораторні методи дослідження біорозкладання полімерного матеріалу (зокрема Mater-Bi) за умов моделювання морського середовища (піщаної субліторальної зони, океанічного дна тощо).

Тести на екотоксичність

Як було сказано вище, третій етап лабораторних досліджень – це тест на екотоксичність.

Стандартний метод DIN 38412-30:1989-03 (German) [71] регламентує випробування щодо визначення толерантності планктонних ракоподібних роду Дафнія (*Daphnia*) (частина стандарту - 30) до токсичності стічних вод за допомогою серії розведення та випробування з використанням люмінесцентних бактерій *Photobacterium phosphoreum* (частина стандарту - 34). В роботі [72] відповідно до цього стандарту визначали екотоксичність проміжних продуктів (мономерів та олігомерів), що утворюються при біорозкладанні в компості аліфатично-ароматичного кополімеру Ecoflex®.

Міжнародний стандарт ISO 11348 «Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminiscntbacteriatest)» описує три методи для визначення пригнічення люмінесценції, яка випромінюється морською бактерією *Vibrio fischeri* (NRRLB-11177). ISO 11348-3:2007 визначає метод використання ліофілізованих бактерій і застосовується для оцінювання екотоксичності полімерів на основі полімолочної кислоти за умов контрольованого компостування [73].

Токсичність твердих і сильно забарвлених зразків можна визначати за так званим Flash тестом шляхом контролювання випромінювання світла бактеріями *Vibrio fischeri* в кінетичному режимі за допомогою люмінометра [74].

Стандарти ASTM E1598 «Standard Practice for Conducting Early Seedling Growth Tests» (Withdrawn 2003) та OECD 208 (Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test) регламентують процедури тестів на ріст рослин при дослідженні токсичності компосту, побутових і промислових стоків, мулів, ґрунтів. Відповідно до цих процедур оцінюють екотоксичність полімерних матеріалів [73, 75, 76].

Отже, переваги лабораторних методів дослідження біорозкладання полімерних матеріалів полягають у можливості варіювання в заданому напрямі умов проведення експерименту (температура, вологість, УФ- та ІЧ-опромінення, наявність агресивних середовищ тощо), біохімічного складу середовища; дослідження здатності окремих штамів МО до утилізації полімерних композитів і цілеспрямованого вибору найактивніших мікробних асоціацій (зокрема для виготовлення спеціальних біокомпостів); використання для оцінювальних дослідів простих і швидких методичних підходів та сучасних приладів. Водночас лабораторні методи не завжди дають змогу моделювати комплекс ендо- й екзогенних факторів, що визначають процес біорозкладання у природному середовищі. Для цього здійснюють натурні випробування БПМ.

Дослідження деструкції полімерів за природних умов

Деструкція полімерних матеріалів за умов навколишнього середовища відбувається в

результаті одночасної дії кількох зовнішніх факторів при їх різному поєднанні та інтенсивності. При цьому існує складний взаємозв'язок між змінними величинами інтенсивності сонячного випромінювання, температури й вологості повітря. Крім того можлива й додаткова дія опадів у вигляді дощу, снігу, паморозі, а також дія вітру, пилу, піску, агресивних домішок, які містяться в атмосфері промислових районів. Тому за реальних умов зазвичай доводиться користуватися непрямими методами оцінювання процесів біорозкладання і швидкості їх перебігу.

Одним з найпростіших у виконанні натурних методів оцінювання біорозкладання БПМ є тест при закопуванні зразків полімерного матеріалу в ґрунт (Burial Test) на певні проміжки часу [77–79]. Швидкість біорозкладання оцінюють візуально, за зміною маси зразків, їхніх фізико-механічних показників, молекулярних і структурних характеристик, а також за зміною показників ґрунту – кислотності, питомого вмісту МО тощо [80].

Випробування на мікробіологічну стійкість БПМ можна проводити на зразках, які поміщають на дослідні стенди на мікологічній площині і витримують за умов природного зараження мікроорганізмами терміном не менше 18 міс. [81]. Після закінчення випробування оцінюють поверхню зразків візуально та під мікроскопом. Ступінь розвитку МО визначають процентним співвідношенням площі, покритої МО, і загальної площі поверхні зразка та за зміною показників властивостей матеріалу зразка.

За допомогою натурних методів можна отримати більш достовірні дані про кінетику біорозкладання БПМ, тому що умови випробувань максимально наближені до реальних на відміну від лабораторних методів, які передбачають створення штучних умов, що призводить до прискореного руйнування полімерного матеріалу. За польових умов розкладання полімерного матеріалу відбувається

під впливом одночасної дії різних механізмів – термоокиснення, фотодеградації, гідролізу, біорозкладання тощо. Однак оскільки в природі безперервно змінюються температура, вологість, хімічний та мікробіологічний склад середовища, інтерпретація результатів натурних випробувань ускладнюється.

Висновки

Отже, розроблено широкий спектр лабораторних і натурних методів оцінювання біодegradабельності БПМ, які відрізняються умовами й тривалістю проведення випробувань, досліджуваними показниками. Використовуючи різні методи дослідження, можна оцінити весь процес біорозкладання БП і БПМ, що складається з кількох стадій, не залежних від виду МО і супровідних абіотичних факторів, і може бути поданий у вигляді такої послідовності: адгезія → колонізація → біодетеріорація → біофрагментація → асиміляція → мінералізація. Так, адгезію і колонізацію МО можна оцінити візуальними, біоіндикаторними та спектральними методами. Абіотична деградація та біодетеріорація пов'язані з фізичними випробуваннями (наприклад, термічні та фізико-механічні методи). Біофрагментацію виявляють шляхом ідентифікації фрагментів нижчої молекулярної маси за допомогою хроматографічних методів. Асиміляція оцінюється кількістю вироблених метаболітів за допомогою, наприклад, респірометричних методів або розвитком мікробної біомаси (наприклад макроскопічні й мікроскопічні спостереження).

Отже, найбільш продуктивним слід вважати комплексний підхід до вивчення процесу біорозкладання полімерних матеріалів. Для визначення достовірних кінетичних параметрів та з'ясування механізму цього процесу необхідно здійснювати порівняльний аналіз результатів фізичних, хімічних і мікробіологічних експериментів, які реалізуються як за лабораторних, так і за природних умов.

REFERENCES

1. Towards Common Ground – Meeting Summary of the International Workshop on Biodegradability. Annapolis, Maryland, USA, 20–21st October, 1992.
2. Eubeler J.P., Bernhard M., Zok S., Knepper T.P. Environmental biodegradation of synthetic polymers I. Test methodologies and procedures. *Trends in Analytical Chemistry*, 2009, **28**, no. 9: 1057–1072. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.06.007>.

3. International Organization for Standardization (ISO). ISO Methods: 7827 (2010); 9409(1999); 9439(1999); 9887 (1992); 9888 (1999); 10634 (2018); 10707 (1994); 10708 (1997); 11733 (2004); 11734 (1995); 14592-1 (2002);14592-2 (2002);14593 (1999); 14851 (2019); 14852 (2018); 14855-1 (2012);14855-2 (2018); 16221 (2001); ISO/TR 15462 (2006).ISO, Geneva, Switzerland.
4. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD Guidelines: 304A; 306; 307; 309; 311. OECD, Paris, France.
5. ASTM International, ASTM Test Methods for Testing of Chemicals:D5209-92; D5210-92; D5247-92; D5271-02;D5338-92;D6003-96; D7081-05; G 21-90; G 22-76. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA.
6. Derzhavnyy komitet Ukrayiny po standartyzatsiyi, metrolohiyi ta sertyfikatsiy [State Committee of Ukraine for Standardization, Metrology and Certification]:DSTU ISO9887 (2002); DSTU 4089 (2001); DSTU ISO11733 (2009); DSTU EN14995 (2018). Derzhstandart Ukrayiny, Kyiv, Ukrayine.
7. Madorskiy S. Termicheskoye razlozheniye organicheskikh polimerov [Thermal decomposition of organic polymers]. Per. s angl. Mir , Moskva, 1967: 326.
8. Khmel'niyskiy R.A., Lukashenko I.M., Brodskiy Ye.S. Piroliticheskaya mass-spektrometriya vysokomolekulyarnykh soyedineniy [Pyrolyticmassspectrometry of macromolecular compounds]. Khimiya, Moskva, 1980: 280.
9. ASTM D5510-94(2001) Standard Practice for Heat Aging of Oxidatively Degradable Plastics (Withdrawn 2010).
10. Savelyeva N.V., Pasko N.I., Drebezova L.P., Boiko V.V., Kobrina L.V., Dmitrieva T.V. Rubbers based on styrene-butadiene rubber with vegetable additives. Voprosy Khimii I Khimicheskoi Technologii. 2007, no.5: 166–169.
11. Anthony G.M. Kinetic and chemical studies of polymer cross-linking using thermal gravimetry and hyphenated methods. Degradation of polyvinylchloride. Polym Degrad Stab, 1999, **64**, no.3: 353–357. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(98\)00129-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(98)00129-3).
12. Morancho J.M., Ramis X., Fernandez X., Cadenato A., Salla J.M., Valles A., Contat L., Ribes A. Calorimetric and thermogravimetric studies of UV-irradiated polypropylene/starch-based materials aged in soil. Polym Degrad Stab., 2006, **91**, no 1: 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.04.029>.
13. Kompleksnyy termicheskyy analiz: uchebnoye posobiye [Complex thermal analysis: textbook]/Ed. V.V. Gusarov. Lema, SPb., 2017: 193.
14. Abbas-Abadi M.S. The effect of process and structural parameters on the stability, thermo-mechanical and thermal degradation of polymers with hydrocarbon skeleton containing PE, PP, PS, PVC, NR, PBR and SBR. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry , 2021, **143**: 2867–2882. <https://doi.org/10.1007/s10973-020-09344-0>.
15. Singh B., Sharma N. Mechanistic implications of plastic degradation. Polym Degrad Stab., 2008, **93**, no. 3: 561–584. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008>.
16. Wilkie C.A. TGA/FTIR: an extremely useful technique for studying polymer degradation. Polym Degrad Stab., 1999, **66**, no. 13: 301–306. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(99\)00054-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(99)00054-3)
17. Budrugaec P. The evaluation of the non-isothermal kinetic parameters of the thermal and thermo-oxidative degradation of polymers and polymeric materials: its use and abuse. Polym Degrad Stab., 2000, **71**, no. 1: 185–187. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(00\)00148-8](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(00)00148-8).
18. Mohamed A., Gordon S.H., Biresaw G. Poly (lactic acid)/polystyrene bioblends characterized by thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry, and photoacoustic infrared spectroscopy. Journal of applied polymer science, 2007, **106**, no. 3: 1689–1696. <https://doi.org/10.1002/app.26783>.
19. Drzeżdżon J., Jacewicz D., Sielicka A., Chmurzyńska L. Characterization of polymers based on differential scanning calorimetry based techniques. Trends in Analytical Chemistry, 2019 , **110** : 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.037>.
20. Arráez F.J., Arna I.M.L., Müllr A.J. Thermal and UV degradation of polypropylene with pro-oxidant. Abiotic characterization. Journal of applied polymer science, 2018, **135**, no. 14: 46088–46101. <https://doi.org/10.1002/app.46088>.
21. Thomas D., Zhuravlev E., Wurm A., Schick C., Cebe P. Fundamental thermal properties of polyvinyl alcohol by fast scanning calorimetry. Polymer, 2018, **137**: 145–155. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2018.01.004>.
22. Cuadri A.A., Martín-Alfonso J.E. Thermal, thermo-oxidative and thermomechanical degradation of PLA: A comparative study based on rheological, chemical and thermal properties. Polym Degrad Stab., 2018, **150**: 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2018.02.011>.
23. Segura González E.A., Olmos D., Lorente M.Á. , Vilaz I., González-Benito J. Preparation and characterization of polymer composite materials based on PLA/TiO₂ for antibacterial packaging. Polymer, 2018, **10**, no. 12: 1365–1379. <https://doi.org/10.3390/polym10121365>.
24. Beinon Dzh. Mas-spektrometriya ley o primeneniye v organicheskoi khimii [Massspectrometry and its use in organic chemistry]. Per. s anhl. Mir, Moskva, 1964: 701.
25. Bikiaris D.N., Chrissafis K., Paraskevopoulos M., Triantafyllidis K.S., Antonakou E.V. Investigation of thermal

- degradation mechanism of an aliphatic polyester using pyrolysis–gas chromatography–mass spectrometry and a kinetic study of the effect of the amount of polymerization catalyst. *Polym Degrad Stab.*, 2007, **92**, no. 4:525–536. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.01.022>.
26. Soto-Oviedo M.A., Lehrle R.S., Parsons I.W., Paoli M.A.D. Thermal degradation mechanism and rate constants of the thermal degradation of poly(epichlorohydrin-co-ethylene oxide), deduced from pyrolysis-GS-MS studies. *Polym Degrad Stab.*, 2003, **82**, no. 3: 463–472. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(03\)00131-9](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00131-9).
27. Boiko V.V., Riabov S.V., Kobrina L.V., Dmitrieva T.V., Bortnitsky V.I. Using the method of pyrolytic mass spectrometry in the study of biodegradable polymeric materials. *Polymer journal*, 2021, **43**, no.1: 41–53. <https://doi.org/10.15407/polymerj.43.01.041>.
28. Bhaskar T., Matsui T., Kaneko J., Uddin Md.A., Muto A., Sakata Y. Novel calcium based sorbent (Ca-C) for the dehalogenation (Br, Cl) process during halogenated mixed plastic (PP/PE/PS/PVC and HIPS-Br) pyrolysis. *Green Chem.*, 2002, no. 4: 372–375. <https://doi.org/10.1039/B203745A>.
29. Singh R.K., Biswajit Ruj, Sadhukhana A.K., Gupta P. Thermal degradation of waste plastics under non-sweeping atmosphere: Part 1: Effect of temperature, product optimization, and degradation mechanism. *Journal of Environmental Management*, 2019, **239**: 395–406. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.03.067>.
30. Lucas N., Bienaime C., Belloy C., Queneudec M., Silvestre F., Nava-Saucedo J.-E. Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. *Chemosphere*, 2008, **73**, no.4: 429–442. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.064>.
31. Strashenko V.K., Baklan D.V., Myronyuk O.V. Research of change of angle of wetting of polystyrene in the conditions of artificial aging. Thesis reports of the III International Conf. (XIII Ukrainian) «Chemical problems of today». March 25–27, 2020, Vinnytsia. S.182.
32. Berkowski K.L., Potisek S.L., Hickenboth C.R., Moore J.S. Ultrasound-induced site-specific cleavage of azo-functionalized poly(ethylene glycol). *Macromolecules*, 2005, **38**, no.22:8975–8978. <https://doi.org/10.1021/ma051394n>.
33. Ojeda T.F.M., Dalmolin E., Forte M.M.S., Jacques R.J.S., Bento F.M., Camargo F.A.O. Abiotic and biotic degradation of oxo-biodegradable polyethylenes. *Polym Degrad Stab.*, 2009, **94**, no.6: 965–970. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2009.03.011>.
34. Breslin V.T., Li B. Weathering of starch–polyethylene composite films in the marine environment. *Journal of applied polymer science*, 1993, **48**, no.12: 2063–2079. <https://doi.org/10.1002/app.1993.070481201>.
35. Scott G. Photo-biodegradable plastics: their role in the protection of the environment. *Polym Degrad Stab.*, 1990, **29**, no.1: 135–154. [https://doi.org/10.1016/0141-3910\(90\)90026-4](https://doi.org/10.1016/0141-3910(90)90026-4).
36. Agamuthu P., Faizura P.N. Biodegradability of degradable plastic waste. *Waste management & research*, 2005, **23**, no. 2: 95–100. <https://doi.org/10.1177/0734242X05051045>.
37. Jiang L., Wolcott M.P., Zhang J. Study of Biodegradable Polylactide/Poly(butylene adipate-co-terephthalate) Blends. *Biomacromolecules*, 2006, **7**, no.1: 199–207. <https://doi.org/10.1021/bm050581q>.
38. Catia Bastioli. *Handbook of Biodegradable Polymers*. 2nd Ed. Smithers Information Ltd., 2014: 704.
39. Ermolovich O.A., Makarevich A.V., Goncharova E.P., Vlasova G.M. Methods for assessing the biodegradability of polymeric materials. *Biotechnology*, 2005, no.4: 47–54.
40. Van der Zee M. Methods for evaluating the biodegradability of environmentally degradable polymers. 2020. De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9781501511967-001>.
41. Lee B., Pometto III A. L., Fratzke A., Bailey Jr. T. B. Biodegradation of Degradable Plastic Polyethylene by *Phanerochaete* and *Streptomyces*. *Applied Environmental Microbiology*, 1991, **57**: 678–685. <https://doi.org/10.1128/aem.57.3.678-685.1991>.
42. Sturm R. N. Biodegradability of nonionic surfactants: Screening test for predicting rate and ultimate. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 1973, **50**: 159–167. <https://doi.org/10.1007/BF02640470>.
43. Van der Zee M., Stoutjesdijk J.H., Van der Heijden P. A. A. W., de Wit D. Structure-Biodegradation Relationships of Polymeric Materials. 1. Effect of Degree of Oxidation on Biodegradability of Carbohydrate Polymers. *Environmental Polymer Degradation*, 1995, **3**, no. 4: 235–242. <https://doi.org/10.1007/BF02068678>.
44. Itävaara M., Vikman M. An Overview of Methods for Biodegradability Testing of Biopolymers and Packaging Materials. *Environmental Polymer Degradation*, 1996, **4**, no.1: 29–36. <https://doi.org/10.1007/BF02083880>.
45. Nyholm N. The European system of standardized legal tests for assessing the biodegradability of chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1991, **10**, no.10: 1237–1246. <https://doi.org/10.1002/etc.5620101002>.
46. Strotmann U.J., Schwarz H., Pagga U. The combined CO₂/DOC test – a new method to determine the biodegradability of organic compounds. *Chemosphere*, 1995, **30**, no. 3: 525–538. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(94\)00415-Q](https://doi.org/10.1016/0045-6535(94)00415-Q).
47. Itävaara M., Vikman M. A simple screening test for studying the biodegradability of insoluble polymers. *Chemosphere*, 1995, **31**, no. 11/12: 4359–4373. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)00304-Q](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)00304-Q).
48. Andraday A.L. Assessment of Environmental Biodegradation of Synthetic Polymers. *Macromol. Chem. Phys.*, 1994, **34**,

- no. 1: 25–76. <https://doi.org/10.1080/15321799408009632>.
49. Richterich K., Berger H., Steber J. The 'two-phase closed bottle test' - a suitable method for the determination of 'ready biodegradability' of poorly soluble compounds. *Chemosphere*, 1998, **37**, no.2: 319–326. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00049-6](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00049-6).
50. Száraz L., Beczner J., Kayser G. Investigation of the biodegradability of water-insoluble materials in a solid test based on the adaptation of a biological oxygen. *Polym Degrad Stab.*, 2003, **81**, no.3: 477–482. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(03\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00133-2).
51. Zvyagintsev D.G. Vzaimodeystviye mikroorganizmov s tverdyimi poverkhnostyami [Interaction of microorganism with hard surfaces]. MGU, Moskva, 1973:175.
52. Patent RSt No. 950457. Russia. A method for identifying microorganisms using at least two chromogens. Publ. 1995.
53. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. Protein measurement with the Folin reagent. *J. of Biological Chemistry*, 1951, **193**: 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6).
54. Khimicheskaya entsiklopediyav 5 t. [Chemical encyclopedia]. Red.kol. I.L. Knunyantsidr. T.1. Sovetskayaentsiklope-diya, Moskva, 1988: 623.
55. Kozitsina L.A., Kupletskaaya N.B. Primeneniye UF-, IK- I YAMR-spektroskopii v organicheskoy khimii. Ucheb. Pособiye dlya vuzov. [Application of UV, IR and NMR spectroscopy in organic chemistry. Textbooks for universities]. Vysshayashkola, Moskva, 1971: 264.
56. Pinchuk L.S., Makarevich A.V., Vlasova G.M., Kravtsov A.G., Shapovalov V.A. Electret-thermal analysis to assess biodegradation of polymer composites. *Internat. Biodeterioration & Biodegradation*, 2004, **54**, no 1: 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2003.11.005>.
57. Bocharov B.V., Belousova A.A., Skribachilin V.B. Standartizatsiya v oblasti biopovrezhdeniy [Biodeterioration standardization]. Nauka, Moskva, 1983:40–56.
58. Sharabi N.E., Bartha R. Testing of some assumptions about biodegradability as measured by carbon dioxide evolution. *Appl Environ Microbiol.*, 1993, **59**, no.4: 1201–1205. <https://doi.org/10.1128/aem.59.4.1201-1205.1993>.
59. Kaznacheyev K.V., Gumargaliyeva K.Z., Moiseyev YU.V. Adgeziya konidiy Aspergillusnigerk razlichnym polimernym poverkhnostyam. [Adhesion of Aspergillus niger conidia to various polymer surfaces]. *Doklady Akademii nauk SSSR*, 1986, **291**, no. 5: 1241–1244.
60. Pagga U., Beimborn D.B., Boelens J., De Wilde B. Determination of the aerobic biodegradability of polymeric material in laboratory controlled composting test. *Chemosphere*, 1995, **31**, no. 11–12: 4475–4487. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(95\)00326-4](https://doi.org/10.1016/0045-6535(95)00326-4).
61. Walter T., Augusta J., Müller R.J., Widdecke H., Klein J. Enzymatic degradation of a model polyester by lipase from *Rhizopusdelemar*. *Enzyme and microbial technology*, 1995, **17**, no. 3: 218–224. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(94\)00007-E](https://doi.org/10.1016/0141-0229(94)00007-E).
62. Marten E., Müller R.J., Deckwer W.D. Studies on the enzymatic hydrolysis of polyesters: I. Low molecular mass model esters and aliphatic polyesters. *PolymDeg Stab.*, 2003, **80**, no.3: 485–501. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(03\)00032-6](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00032-6).
63. Marten E., Müller R.J., Deckwer W.D. Studies on the enzymatic hydrolysis of polyesters: II. Aliphatic-aromatic copolyesters. *Polym Deg Stab.*, 2005, **88**, no.3: 371–381. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2004.12.001>.
64. Matsumura S., Shimura Y., Toshima K., Hatanaka T. Molecular design of biodegradable functional polymers, 4 Poly(vinyl alcohol) block as biodegradable segment. *Macromol. Chem. Phys.*, 1995, **196**, no.11: 3437–3445. <https://doi.org/10.1002/macp.1995.021961101>.
65. Glasser W.G., McCartney B.K., Samaranyake G. Cellulose derivatives with a low degree of substitution. 3. The biodegradability of cellulose esters using a simple enzyme assay. *Biotechnol. Prog.*, 1994, **10**, no 2: 214–219. <https://doi.org/10.1021/bp00026a011>.
66. Rivard C., Moens L., Roberts K., Brigham J., Kelley S.. Starch esters as biodegradable plastics: Effects of ester group chain length and degree of substitution on anaerobic biodegradation. *Enzyme and microbial technology*, 1995, **17**, no. 9: 848–852. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(94\)00120-G](https://doi.org/10.1016/0141-0229(94)00120-G).
67. Strantz A.A., Zottola E.A. Stability of cornstarch-containing polyethylene films to starch-degrading enzymes. *Journal of food protection*, 1992, **55**, no. 9: 736–738. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-55.9.736>.
68. Coma V., Couturier Y., Pascat B., Bureau G., Cuq J.L., Guibert S. Estimation of the biofragmentability of packaging materials by an enzymatic method. *Enzyme and microbial technology*, 1995, **17**, no. 6: 524–529. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(94\)00064-X](https://doi.org/10.1016/0141-0229(94)00064-X).
69. Banerjee A., Chatterjee K., Madras G. Enzymatic degradation of polymers: a brief review. *Materials Science and Technology*, 2014, **30**, no. 5: 567–573. <https://doi.org/10.1179/1743284713Y.0000000503>.
70. Tosin M., Weber M., Siotto M., Lott C., Degli Innocenti F. Laboratory test methods to determine the degradation

- of plastics in marine environmental conditions. *Frontiers in microbiol.*, 2012, **3**: 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00225>.
71. DIN 38412-30:1989-03. German standard methods for the examination of water, waste water and sludge; bio-assays (group I); determining the tolerance of daphnia to the toxicity of waste water by way of a dilution series (L 30).
72. Witt U., Einig T., Yamamoto M., Deckwer W.-D., Muller R.-J. Biodegradation of aliphatic–aromatic copolyesters: evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates. *Chemosphere*, 2001, **44**, no. 2: 289–299. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00162-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00162-4).
73. Tuominen J., Kylmä J., Kapanen A., Venelampi O., Itävaara M., Sappälä J. Biodegradation of Lactic Acid Based Polymers under Controlled Composting Conditions and Evaluation of the Ecotoxicological Impact. *Biomacromolecules*, 2002, **3**, no. 3: 445–455. <http://doi.org/10.1021/bm0101522>.
74. Lannalainen J., Juvonen R.I., Vaajasaari K., Karp M. A new flash method for measuring the toxicity of solid and colored samples. *Chemosphere*, 1999, **38**, no. 5: 1069–1083. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00352-X](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00352-X).
75. Salehpour S., Jonoobi M., Ahmadzadeh M., Siracusa V., Rafieian F., Oksman K. Biodegradation and ecotoxicological impact of cellulose nanocomposites in municipal solid waste composting. *International journal of Biological Macromolecules*, 2018, **111**: 264–270. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.027>.
76. Souza P.M.S., Sommag M, L.R.D., Marin-Morales M.A., Morales A.R. PBAT biodegradable mulch films: Study of ecotoxicological impacts using *Allium cepa*, *Lactuca sativa* and HepG2/C3A cell culture. *Chemosphere*, 2020, **256**: 126985. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126985>.
77. Calmon A., Guillaume S., Bellon-Maurel V., Feuilloley O., Silvestre F. Evaluation of Material Biodegradability in Real Conditions-Development of a Burial Test and an Analysis Methodology Based on Numerical Vision. *J. of Environmental Polymer Degradation*, 1999, **7**: 157–166. <https://doi.org/10.1023/A:1022849706383>.
78. Gautam N., Kaur I. Soil burial biodegradation studies of starch grafted polyethylene and polyethylene and identification of *Rhizobium meliloti* therefrom. *J. Environmental Chem. and Ecotoxicology*, 2013, **5**, no. 6: 147–158.
79. Siakeng R., Jawaid M., Asim M., Siengchin S. Accelerated weathering and soil Burial effect on biodegradability, color and texture of coir/pineapple leaf fibres/ PLA biocomposites. *Polymers*, 2020, **12**: 458–470. <https://doi.org/10.3390/polym12020458>.
80. Pekhtashova Ye.M. Biopovrezhdeniya i zashchita neprodovol'stvennykh tovarov [Biodamage and protection of non-food products]. *Masterstvo*, Moskva, 2002: 224.
81. GOST 9.053-75. Materialy nemetallicheskiye i izdeliya s ikh primeneniye. Metod ispytaniya na mikrobiologicheskuyu stoykost' v prirodnykh usloviyakh v atmosphere [Non-metallic materials and products with their use. Test method for microbiological resistance in natural conditions in the atmosphere].

Received 03.10.2021

V.V. Boiko,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine
e-mail: valboyko54@gmail.com

S.V. Riabov,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine
e-mail: sergii.riabov@gmail.com

L.V. Kobrina

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine
e-mail: kobrina.larisa@gmail.com

T.V. Dmitrieva

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivske shose, Kyiv, 02160, Ukraine

REVIEW OF EVALUATION METHODS FOR BIODEGRADABILITY OF POLYMERIC MATERIALS

Development and further use of biodegradable polymeric materials requires prior assessment the degree of their biodegradation. There are a large number of methods developed taking into account the specifics of the destruction of polymeric materials. The purpose of this review is to systematize scientific and technical information regarding methods for assessing the biodegradation of polymeric materials. Laboratory methods of researches, including the following: influence of abiotic factors (temperature, moisture, UV irradiation), impact of microorganisms (fungi, bacteria, yeast), respiratory methods (Sturm, Zahn-Wellness, etc.), conditions of composting, enzyme analysis methods, ecotoxicity tests are given. Test methods in both aqueous and solid media are also presented. The parameters of biodegradability, which determine the degree of destruction (mass, strain strength, molecular weight distribution, temperature characteristics, macro- and microstructure of samples, etc.) or the composition and properties of the biological system in which biodegradation takes place (acidity, respiratory activity, chemical and microbiological composition of soil or other biological environment, etc.) are considered as well. Advantages of laboratory methods for studying the biodegradation of polymeric materials could be realized in the given directions: varying of the experimental conditions (temperature, humidity, UV and IR radiation, the presence of aggressive media, etc.), biochemical compositions of the environment; study of the ability of individual strains of microorganisms to dispose of polymer composites and targeted selection of the most active microbial associations (in particular, for the manufacture of special biocomposts); utilize of simple and fast methodical approaches and modern devices for evaluation experiments. However, laboratory methods do not always allow modeling a set of endogenous and exogenous factors that define the process of biodegradation in the natural environment. Therefore, this review also considers methods for assessing biodegradation in the environment. So, the essence of the test regarding the samples' burial in the ground is given. International standards governing methods for assessing the biodegradability of organic substances and polymeric materials are summarized. Applying different test methods, one can evaluate the whole process of biodegradation of polymeric materials, consisting of several stages, which occur regardless the type of microorganisms and accompanying abiotic factors, and can be represented as follows: adhesion → colonization → biodeterioration → biofragmentation → assimilation → mineralization.

Thus, the adhesion and colonization of microorganisms can be estimated by visual, bioindicator and spectral methods. Abiotic degradation and biodeterioration are associated with physical tests (e.g., thermal and physico-mechanical). Biofragmentation is detected by identifying fragments of lower molecular weight (i.e. by chromatographic methods). In turn, assimilation is assessed by the amount of metabolites produced using, for example, respirometric methods or involving analysis of microbial biomass (e.g., macroscopic and microscopic observations). The most productive should be considered a comprehensive approach to the study of biodegradation of polymers. To determine the reliable kinetic parameters and link the mechanism of this process, it is necessary to carry out a comparative analysis of the results of physical, chemical, microbiological experiments, which are carried out in both laboratory and natural conditions.

Key words: biodegradable polymeric materials, test methods, evaluation of biodegradation, parameters of control.