Региональная конференция по научно-техническому творчеству школьников «Лабиринты науки».
Тематическая секция конференции: ЭКОЛОГИЯ

Государственное образовательное автономное учреждение дополнительного образования Ярославской области Центр детско-юношеского технического творчества,
Детский технопарк «Кванториум».
Объединение Наноквантум.

Исследование:

«Экологическая замена упаковочного материала»

Возрастная группа 3 (10-11 класс)

Исследование выполнили:

Вачина Дарина Викторовна,
учащаяся МОУ СОШ №29, 11 класс

Вачина Ульяна Викторовна
учащаяся МОУ СОШ №29, 8 класс

Наставник:

Бахтина Ирина Анатольевна,
педагог дополнительного образования ГОАУ ДО ЯО ЦДЮТТ.

г. Рыбинск, 2022-2023

Оглавление:

Цель, задачи, гипотеза, объект исследования, предмет исследования, сроки и место проведения исследования. 3 стр
1. Полимеры 3 стр
2. Примененные методы исследования 5 стр
3. Ход работы 5 стр
4. Испытания 7 стр
    4.1. Исследование физических свойств 7 стр
    4.2. Влияние температуры на свойства 7 стр
    4.3. Растворимость в воде 7 стр
    4.4. Испытание на устойчивость к агрессивным жидкостям 8 стр
    4.5. Спектрофотометрия 8 стр
    4.6. Атомно-силовая микроскопия 9 стр
    4.7. Исследование моноколоний бактерий 9 стр
    4.8. Микробиологические посевы 9 стр
    4.9. Биодеградация полимеров 9 стр
    4.10. Окрашивание биополимеров 9 стр
5. Экономические расчеты 10 стр
6. Преимущества и недостатки биоразлагаемых полимеров 10 стр
7. Выводы 11 стр
Список использованной литературы и источников: 11 стр
Приложения 12 стр
    1. Оборудование и реактивы 12 стр
    2. Окраска по методу Грама 13 стр
    3. Приготовление среды для выделения бактерий 14 стр
    4. Пересев выбранных колоний 14 стр
    5. Методика отбора почв 14 стр
    6. Фотоальбом: 15 стр

В современном мире остро стоит вопрос о загрязнении пластмассовыми отходами. Каждый год 300 миллионов тонн пластика превращается в отходы, которые разлагаются в природе сотни лет и наносят серьёзный ущерб экологии. До 99% пластмассы изготавливается из нефтепродуктов, и лишь малый процент - из крахмала, растительных масел, сахаров и целлюлозы.

Пленки и пакеты на основе биоразлогаемых полимеров могут защищать продукты питания от контакта с микробами и воздухом. Их можно изготавливать из природных материалов и утилизироваться экологическими способами.

Цель: исследовать свойства и биоразложение полимеров, созданных на основе органических соединений.

Задачи:

1. Изучить литературу по органическим полимерам;
2. Установить оптимальный состав и концентрацию компонентов биопластиков экспериментальным путем;
3. Протестировать созданные биопластики на соответствие ГОСТам;
4. Проверить условие биоразложения пластиков при помощи почвенной микробиоты. Смоделировать процесс биодеградации.

Гипотеза: Мы предполагаем, что из органических полимеров можно создать пластик, пригодный для безопасного использования человеком и последующей биодеградации, не наносящий ущерб окружающей среде.

Объект исследования: упаковочные материалы.

Предмет исследования: свойства биоразлагаемых пленок из органических полимеров.

Сроки и место проведения исследования: Лаборатория Наноквантум детского технопарка «Кванториум» г.Рыбинск. Исследования были проведены в июне 2022- июне 2023 с использованием оборудования и реактивов (Приложение1).

1. Полимеры — это удивительный, уникальный класс химических веществ, которые можно с некоторой долей справедливости назвать венцом эволюции неживого мира, потому что это класс веществ, который породил жизнь. Это вещества, которые обладают поразительным разнообразием, изменчивостью

физических свойств, структуры и химического состава. К полимерам принадлежат не только такие вещества, как пластик, но и белки, из которых мы состоим, полисахариды типа целлюлозы, ДНК и РНК, которые программируют наследственность в живом мире.

Полимерные материалы, получили огромное распространение в технологиях и в нашей жизни. Речь не только о пластике, но и о многих других формах полимеров (тефлон, кевлар). Полимеры сейчас применяются, например, для создания многих деталей самолетов, поскольку они могут быть очень прочными и в то же время они очень легкими.

Производство полимеров представляет собой одну из развивающихся отраслей промышленности. В цивилизованных странах на одного человека производится 85-90 кг полимеров в год. Полимерами могут быть как представители органического, так и неорганического класса. Они представляют собой высокомолекулярные вещества из повторяющихся звеньев [1].

Для получения биоразлагаемых пленок и дальнейшего исследования будем использовать наиболее известные биополимеры: крахмал, альгина́т на́трия, каррагинан, агар и желатин.

Крахма́л $(C_6H_{10}O_5)n$ - смесь полисахаридов амилозы и амилопектина, мономером которых является альфа-глюкоза. Крахмал (Фото1), синтезируемый разными растениями в хлоропластах несколько, различается по структуре зёрен, степени полимеризации молекул, строению полимерных цепей и физико-химическим свойствам [2].

Альгина́т на́трия $(C_6H_7O_6Na)n)$ - органическая натриевая соль альгиновой кислоты (Фото2). Звенья гулуроновой и маннуроновой кислот, связанные в основном 1,4-{3-гликозидными связями, с небольшими разветвлениями. В карбоксильных группах водород замещён на натрий.

Каррагинан $C_{24}H_{36}O_{25}S_2$ – семейство линейных сульфатных полисахаридов, получаемых из красных морских водорослей (Фото3). Название происходит от англ. carrageen moss — английского названия водорослей вида Chondrus crispus Stackh., произрастающих у берегов Ирландии, которое в свою очередь происходит

от ирл. carraigín — «маленькая скала». Студенистые экстракты, полученные из этих водорослей, использовались в качестве пищевых добавок в течение сотен лет [2].

Ага́р-ага́р ($C_{12}H_{18}O_9$)n - смесь полисахаридов агарозы и агаропектина, получаемая путём экстрагирования из красных водорослей (Фото4) (Phyllophora, Gracilaria, Gelidium, Ceramium и др.), произрастающих в Чёрном море, Белом море и Тихом океане, и образующая в водных растворах плотный студень [2].

Желати́н $C_{102}H_{151}O_{39}N_{31}$ - бесцветный или имеющий желтоватый оттенок частично гидролизованный белок коллаген (Фото5), продукт переработки (денатурации) соединительной ткани животных. В зависимости от сырья и целей применения имеет различные торговые названия: кроличий, мездровый, пергаментный, костный, рыбий, столярный [2].

2. Примененные методы исследования

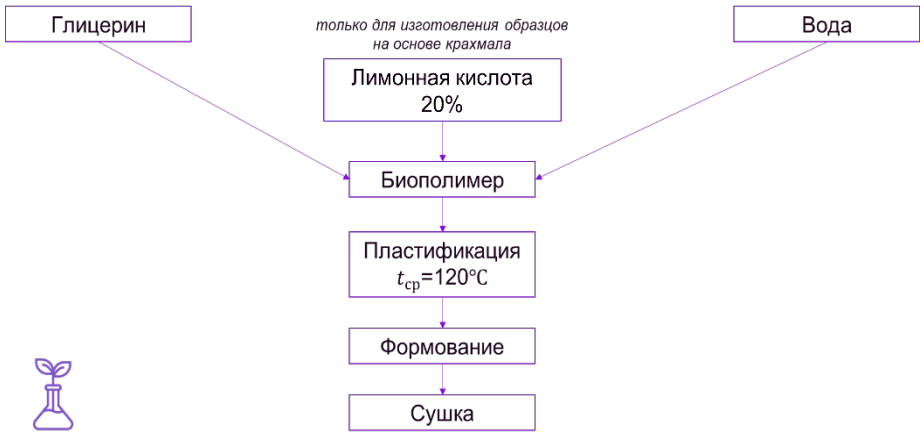
- Экспериментальный - наблюдение, сравнение и измерение в данной работе предполагает отличные результат и полученные данные.
- Микробиологический посев - метод культивирования микроорганизмов на питательных средах для исследования биохимических и биологических свойств в различных биотехнологических целях.
- Оптическая микроскопия - этот метод используется для более подробного исследования образцов полимеров.
- Атомно-силовая микроскопия - это метод изучения поверхности твёрдых тел, основанный на анализе взаимодействий атомов, расположенных на кантилевере и атомов изучаемого образца. Данный метод исследования производиться с применением сканирующего зондового микроскопа (СЗМ).
- Спектрофотометрия - физико-химический метод исследования, основанный на изучении спектров поглощения в УФ, видимой и ИК областях спектра.

3. Ход работы

Выбранные для исследования полимеры широко применяются в пищевой, косметической и медицинской сферах; не токсичны, легко разлагаются до воды и

углекислого газа [4]. Изготовление всех образцов полимеров производим в соответствии со схемой 1, используя различные концентрации глицерина, биополимера, воды и различные их соотношения [5].

Схема 1. Схема изготовления образцов.



В соответствии со схемой 1 изготовили следующие образцы:

- крахмал, глицерин, уксусная кислота, вода – 6 образцов (Фото 9, 12);
- крахмал, глицерин, лимонная кислота, вода – 5 образцов;
- агар, глицерин, лимонная кислота, вода – 4 образца;
- каррагинан, вода, глицерин – 6 образцов;
- каррагинан, вода, глицерин, сахар – 2 образца;
- альгинат натрия, вода, глицерин – 6 образцов (Фото 13, 14);
- желатин, вода, глицерин – 6 образцов;

Для проведения проверки на биоразложение образцов полимеров мы произвели отбор образцов почв в соответствии с методикой [6] (Приложение 5). Из полученных смесей почвенных микроорганизмов на питательных средах (Приложение 3) выделяем моноколонии определяем их при окраске по Граму (Приложение 2) (Фото29). Далее производим оптическую микроскопию (Фото 10,11) и идентификацию полученных образцов микроорганизмов. Для всех колоний было произведено определение микроорганизмов. Выявлено 11 моноколоний кокков - предположительно стрептококки, стафилококки, диплококки, - и 3 колонии бацилл (Фото 16,17,23,25,26,27,28).

Образцы пластиков помещаем на питательные среды с моноколониями микроорганизмов почвы на 10 дней. Производим наблюдение процессов биодеградации (Фото 18,19,20,21,22,24).

4. Испытания Для проведения исследований мы отобрали по два наиболее перспективных образца биополимеров.

4.1. Исследование физических свойств

Таб.1 Физические свойства образцов биополимеров

Свойства	Образцы биополимера на основе				
	крахмала	желатина	агара	каррагинана	альгината натрия
Цвет	прозрачный, белый	прозрачный, желтоватый	полупрозрачный, желтый	прозрачный, белый	прозрачный, бесцветный
Прозрачность	90%	98%	98%	90%	99%
Оптическая микроскопия	Однородная структура	Однородная структура	Однородная структура	Однородная структура	Однородная структура
Гибкость	мягкие, легко складываются	средней твердости, сгибаются с трудом	мягкие, легко складываются	мягкие, легко складываются	мягкие, легко складываются
Прочность	непрочные к разрыву	прочные к разрыву	прочные к разрыву	прочные к разрыву	непрочные к разрыву

Вывод: наибольшую прозрачность показал образец на основе альгината натрия, более твердым и менее гибким оказался образец на основе желатина, прочность к разрыву показали образцы на основе желатина, агара и каррагинана. Оптическая микроскопия показала однородность структуры у всех образцов.

4.2. Влияние температуры на свойства

Таб. 2. Температурное воздействие на образцы

Температурное воздействие	Образцы биополимера на основе				
	крахмала	желатина	агара	каррагинана	альгината натрия
-25˚C	устойчив	устойчив	устойчив	устойчив	устойчив
25˚C	устойчив	устойчив	устойчив	устойчив	устойчив

Вывод: все образцы показали устойчивость к различным температурам.

4.3. Растворимость в воде

Таб. 3. Испытание на устойчивость к воде

Время погружения (комнатная температура)	Образцы биополимера на основе				
	крахмала	желатина	агара	каррагинана	альгината натрия
2 минуты	нерастворим	растворим	нерастворим	растворим	растворим
30 минут	нерастворим	растворим	нерастворим	растворим	растворим
24 часа	нерастворим	растворим	нерастворим	растворим	растворим

Вывод: устойчивость к воде показали образцы из крахмала и агара.

4.4. Испытание на устойчивость к агрессивным жидкостям

Проверка и испытание в соответствии ГОСТ 33756-2016. «…упаковка потребительская полимерная» [7.8] (Фото 10, 11, 12).

Таб.4. Испытание на устойчивость к агрессивным жидкостям

Свойства	Образцы биополимера на основе				
	крахмала	желатина	агара	каррагинана	альгината натрия
Устойчивость к растворению в серной кислоте (4М)	устойчив	не устойчив	устойчив	не устойчив	устойчив
Устойчивость к растворению в уксусной кислоте (6М)	устойчив	не устойчив	устойчив	не устойчив	устойчив
Устойчивость к растворению в соляной кислоте (4М)	устойчив	устойчив	не устойчив	не устойчив	устойчив
Устойчивость к растворению в NaOH (4М)	устойчив	устойчив	устойчив	не устойчив	устойчив
Устойчивость к растворению в этиловом спирте (70%)	устойчив	не устойчив	устойчив	не устойчив	устойчив
Устойчивость к имитации желудочного сока РН 1,5-2,0	устойчив	устойчив	устойчив	устойчив	устойчив

Вывод: устойчивость к агрессивным средам показали образцы из крахмала.

4.5. Спектрофотометрия (Фото 41)

Таб.5. Результаты спектрофотометрии

Виды пластика на основе	Длина волны													
	200		300		400		500		600		700		800	
	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A	T	A
Крахмала	0,12 %	2,94 %	26,1 %	0,58 %	66,6 %	0,18 %	73,8 %	0,13 %	77,0 %	0,11 %	75,8 %	0,12 %	66,4 %	0,18 %
Желатина	0%	3,00 %	31,2 %	0,51 %	78,2 %	0,11 %	85,4 %	0,07 %	85,1 %	0,70 %	87,4 %	0,06 %	87,7 %	0,06 %
Агара	0%	3,00 %	17,3 %	0,76 %	66,0 %	0,18 %	74,9 %	0,13 %	80,3 %	0,10 %	79,9 %	0,10 %	82,9 %	0,08 %
Каррагинана	0,10 %	2,98 %	30,5 %	0,52 %	54,5 %	0,26 %	54,1 %	0,27 %	56,5 %	0,25 %	57,9 %	0,24 %	60,4 %	0,22 %
Альгината	0,04 %	3,00 %	60,1 %	0,22 %	72,3 %	0,14 %	77,0 %	0,12 %	83,3 %	0,08 %	84,4 %	0,08 %	83,9 %	0,08 %

(Т – пропускная способность, А – отражательная способность)

Вывод: все плёнки прозрачны, пропускают волны видимого спектра. Имеют слабую отражающую способность. Плёнки на основе крахмала имеют матовый эффект.

4.6. Атомно-силовая микроскопия

Образцы были исследованы на сканирующем зондовом микроскопе (СЗМ) "Nanotutor". Произведены снимки участков образцов размером 10 на 10 микрометров (Фото 31,32,33,37). Для исследования были отобраны три экземпляра биопластика на основе крахмала, каррагинана и агара (Фото 34,35,36). **Вывод:** все образцы на поверхности имеют мелкозернистую структуру, у каждого образца разные размеры зёрен и расстояние между ними. Образцы на основе крахмала и каррагинана имеют на поверхности мелкозернистую структуру, размер зерен менее 1 нм, расстояние между зернами около 2 нм.

4.7. Исследование моноколоний бактерий

Определение микроорганизмов проводили при помощи световой микроскопии при увеличении в 1000 раз. Микропрепараты окрашивались по методу Грама (Фото 26,27,28,29).

4.8. Микробиологические посевы

Для исследования свойств биодеградации были произведены посевы почвенных микроорганизмов (Приложение4) (Фото 16,17). Затем культивировались моноколонии бактерий, в которые были помешены кусочки образцов наших биопластиков (Фото15,18,19,20,21).

4.9. Биодеградация полимеров

За 10 дней было выявлено устойчивые признаки разложения (на разных стадиях) всех видов изготовленных биопластиков в 14-ти моноколониях микроорганизмов. Для всех колоний было произведено определение микроорганизмов. Выявлено 11 моноколоний кокков и 3 колонии бацилл.

Через 20 (двадцать) дней образцов биополимеров, помещенных в почву методом компостирования (Фото 46,47,48,49), не обнаружено. Разложение образцов производилось в увлажненной почве при комнатной температуре.

4.10. Окрашивание биополимеров

Для окрашивания биополимеров используем три вида красителей: зеленый краситель – хлорофильная вытяжка из мха сфагнума, оранжевый – из

каратиноидов цедры апельсинов и красный краситель из антоцианов бетацианинов красной свеклы. Все пигменты были добавлены в рецептурную смесь биопластиков из крахмала и желатина (Фото 48,50,51).

Вывод: цвет полученных образцов устойчивый, равномерный. Основные физические свойства не изменились.

5. Экономические расчеты

Таб.6. Сравнение характеристик сырья

	ПЭТ	Целлюлоза	Желатин	Агар	Крахмал	Глицерин
Цена (руб/т)	200 тыс.	230 тыс.	510 тыс.	1,5 млн.	50 тыс.	100 тыс.
Производство в России 2021 (т/год)	655 тыс.	8,765 млн	932	36,2 (2012 год)	324 тыс.	1,6 тыс.
Экослед	**негативный**	**негативный**	нейтральный	нейтральный	нейтральный	**негативный**

Вывод: на основании изученного рынка упаковочного материала, цен и объемов производства сырья для упаковки [9], можно сделать следующие выводы: объем выпуска материалов для производства биоразлагаемых пластиков в тысячи раз меньше, чем сегодня требует рынок; цена на сырье для производства биополимеров сопоставимо и даже ниже чем сырье с негативным экоследом.

6. Преимущества и недостатки биоразлагаемых полимеров

Таб.7. Сравнение

Преимущества	Недостатки
Изготавливается из возобновляемых материалов;	Для синтеза биополимеров может потребоваться большее количество растительного материала;
Требуется меньше энергии, чем для производства пластиковых полимеров;	Для производства потребуется больше земли сельскохозяйственного назначения;
Упаковка не токсична для окружающей среды и человека;	Потребуется построить много новых перерабатывающих заводов;
Выпуск биоразлагаемой упаковки помогает снизить зависимость от нефти и сократить выбросы CO_2;	Производство новых растений является дорогостоящим, трудоемким и загрязняющим окружающую среду процессом, который займет много лет;
Отходы не накапливаются со временем;	Для эффективного компостирования отходов требуются специальные компостирующие установки;
Простая утилизация – компостирование;	

6. Выводы:

- Наша гипотеза подтвердилась, и мы достигли цели. Из органических полимеров и пластификатора мы создали биоразлагаемый пластик.
- В зависимости от соотношения пластификатора и основного вещества значительно меняются физические свойства биополимеров, что позволяет использовать их в разных сферах.
- Созданные на основе органических полимеров биопластики способны разлагаться под действием почвенной микробиоты.
- Биопластики – экономически выгодная замена существующим аналогам упаковочного материала.
- Биоразлогаемые пластики на основе крахмала, желатина и агара идеальная замена пищевой упаковки.
- Технологический процесс получения биоразлагаемого пластика в лабораторных условиях легко масштабировать для производства упаковочного материала в промышленных масштабах.

7. Список использованной литературы и источников:

1. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://100urokov.ru/predmety/organicheskie-i-neorganicheskie-polimery - Дата доступа: 15 сентября 2022.
2. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://chemiday.com/ru/encyclopedia/ - Дата доступа:27.09.2022.
3. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://ru.wikipedia.org/wiki/ Дата доступа: 28 сентября 2022
4. Лукин Н.Д., Усачев И.С. Технология получения термопластичных крахмалов // Вестник ВГУИТ. 2015. №4 (66).
5. Колпакова В. В., Усачев И.С., Сарджвеладзе А.С., Соломин Д. А., Ананьев В.В., Васильев И. Ю. Совершенствование технологии применения термопластичного крахмала для биоразлагаемой полимерной пленки // Пищевая промышленность. 2017. №8.
6. Коростелева Л., Горьковенко В. Анализ почвенной микрофлоры в агроценозах Центральной зоны Краснодарского края // Защита растений. 2006. №8.
7. ГОСТ 33756-2016. Межгосударственный стандарт, упаковка потребительская полимерная, общие технические условия // 2017.
8. ГОСТ 33837-2016. Межгосударственный стандарт, упаковка полимерная для пищевой продукции, общие технические условия // 2017.

9. Платформа бизнес-данных [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://www.statista.com/ – Дата доступа:10.02.2023.

Приложения:

1. Оборудование и реактивы.

Для проведения экспериментов использовалось оборудование и реактивы лаборатории Наноквантума.

Оборудование:

- Стол лабораторный с химически стойким покрытием;
- Воронка (диаметр 36 мм) ГОСТ 25336-82;
- Колба мерная с пробкой вместимостью100 $см^3$; ГОСТ 1770-74;
- Колба мерная с пробкой, вместимостью 50 $см^3$; ГОСТ 1770-74;
- Пипетка градуированная ГОСТ 29227, вместимостью 1$см^3$;
- Пипетка градуированная ГОСТ 29227, вместимостью 2$см^3$;
- Пипетка градуированная ГОСТ 29227, вместимостью 5$см^3$;
- Промывалка из полипропилена под дистиллированную воду объемом 500 $см^3$ с загнутой трубкой, расположенной по центру крышки;
- Стакан химический вместимостью 100 $см^3$; ГОСТ 25336-82;
- Стакан химический вместимостью 50 $см^3$; ГОСТ 25336-82;
- Цилиндр мерный, вместимостью 10 $см^3$; ГОСТ 1770-74;
- Сушильный шкаф 120 л, 300^oC, нерж. сталь, вентилятор, регулируемый программируемый;
- Морозильная камера с мин температурой -25^oC;
- Оптический микроскоп, совмещенный с зондовым микроскопом MicProbe;
- Сканирующий зондовый микроскоп с двумя измерительными головками (вольфрамовый зонд и кремниевый зонд) (NanoTuter);
- Технологическая установка изготовления наноигл;
- Весы лабораторные электронные дискретность 0,1 г; калибровка внешняя;
- Весы электронные аналитические, наибольший предел взвешивания 210 г. дискретность 0,0001 г. внутренняя калибровка;
- Магнитная мешалка с подогревом;
- Палочка стеклянная L200 d5, ГОСТ 21400-75;
- Лопатка (для сыпучих веществ) узкая;
- Пипетки Пастера объемом 3 мл;
- Плитка нагревательная лабораторная с индикацией температуры и регулировками;
- Электронный термометр;
- Набор покровных стекол;
- Набор предметных стекол;
- Чашка Петри стеклянные;
- Петля микробиологическая нихромовая (d=3 мм);
- Колба коническая 50 мл (лабораторная, тип КН-коническая, с цилиндрической горловиной, термостойкая);

- Колба коническая 100 мл (лабораторная, тип КН-коническая, с цилиндрической горловиной, термостойкая);
- Пинцет;
- Скальпель со сменными лезвиями;
- Ноутбук с программным обеспечением и выходом в интернет.

Реактивы:
- Вода дистиллированная;
- Крахмал растворимый ЧДА ГОСТ 10163-76 (Амилодекстрин);
- Натрий альгинат 99,00% общего назначения;
- Каппа каррагинан, пищевая добавка Е407;
- Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар) по ТУ 9398-020-78095326-2006;
- Желатин пищевой Марка П-11 ГОСТ 11293-89;
- Глицерин ЧДА ГОСТ 6259-75;
- Лимонная кислота 1-водная ХЧ ГОСТ 3652-69;
- Уксусная кислота концентрацией 70%, ГОСТ Р 55982-2014;
- Метиленовый голубой, ЧДА, индикатор (метиленовый синий) ТУ 6-09-40-5171-84

2. Окраска по методу Грама

Окрашивание по методу Грама позволяет определить форму, а также толщину стенки бактерий.

Окрашивание по методу Грама следует проводить только для колоний бактерий с отрицательными результатами теста на наличие каталазы.

Процедура окрашивания:

1) Нанесите на предметное стекло каплю физиологического раствора;
2) С помощью зубочистки подцепите колонию бактерий и перенесите ее в каплю физиологического раствора на предметном стекле;
3) Суспендируйте колонию в растворе;
4) Высушите суспензию на воздухе;
5) Зафиксируйте препарат с помощью пламени. Для этого следует взять предметное стекло пинцетом и несколько раз провести внешней поверхностью стекла (обратной от нанесенного образа) по пламени зажигалки или спиртовки;
6) Отрежьте от фильтровальной бумаги квадратный фрагмент размером 1х1см;
7) Накройте квадратный фрагментом фильтровальной — бумаги зафиксированный препарат;
8) Нанесите на фрагмент фильтровальной бумаги каплю генцианвиолета и оставьте на 2 минуты, для того чтобы препарат пропитался красителем;
9) Уберите фрагмент фильтровальной бумаги с препарата;
10) Нанесите на препарат каплю раствора Люголя и оставьте на 1 минуту:
11) Смойте краситель с препарата с помощью изопропилового спирта (потребуется примерно 1 мл);
12) Промойте препарат под струей проточной воды;

13) Отрежьте от фильтровальной бумаги ещё один квадратный фрагмент размером 1х1 см;
14) Накройте квадратный фрагментом фильтровальной бумаги зафиксированный препарат;
15) Нанесите на фрагмент фильтровальной бумаги каплю фуксина и оставьте на 1 минуту, для того чтобы препарат пропитался красителем;
16) Промойте препарат под струей проточной воды;
17) Высушите полученный препарат.
Изучите полученный препарат пол микроскопом при увеличении х40-х500. Бактерии, окрашенные в фиолетовый цвет, являются грамположительными (Грам (+)), розовые — грамотрицательными (Грам (-))

3. Приготовление среды для выделения бактерий
1) Высыпьте в термостойкий стакан 13,4 г. питательной среды: Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар)" по ТУ 9398-020-78095326-2006;
2) Добавьте в стакан 200 мл дистиллированной воды;
3) Перемешайте содержимое стакана с помощью шпателя или ложки;
4) Подогрейте стакан в водяной бане или микроволновой печи до полного растворения компонентов;
5) Охладите полученный раствор до 45-50°С;
6) На дно чашек Петри налейте тонкий слой (3-5 мм) полученного раствора среды (слой среды должен быть ниже уровня секционных разделителей);
Среда в чашках Петри будет готова к использованию после застывания.
3. Нанесение образцов на питательную среду
1) Обмакните ватную палочку в раствор, образовавшийся при измельчении образца;
2) Аккуратно, стараясь не повредить поверхность среды, нанесите образец на поверхность одной секции чашки Петри;
3) Поместите чашки Петри с нанесенными образами в темное место на 3-7дней;

4. Пересев выбранных колоний
1) Нанесите на предметное стекло каплю физиологического раствора;
2) С помощью зубочистки, подцепите выбранную колонию бактерий и перенесите в каплю физиологического раствора на предметном стекле;
3) Разболтайте колонию в растворе (перемешайте до получения однородной суспензии);
4) Обмакните ватную палочку в полученную суспензию;
5) Аккуратно, стараясь не повредить поверхность среды, нанесите образец на поверхность одной секции чашки Петри;
6) Поместите чашки Петри с нанесенными колониями в темное место на 3-7 дней.

5. Методика отбора почв

Образцы почвы освобождают от крупных включений (корни, щебень, стекло и т. п.), крупные почвенные агрегаты дробят. Почву доводят до воздушно-

сухого состояния, тщательно перемешивают и высыпают на стерильную бумагу. Затем готовят средний образец почвы одного участка массой 0,5 кг.

Отобранную почву тщательно размельчают и просеивают через стерильное сито (размер ячеек 3 мм), высыпают на стерильную бумагу, хорошо перемешивают. Готовят навеску (30 г) и вносят ее в стерильную чашку с гладкой поверхностью. Почву растирают с 10-15 мл стерильной воды, которую отливают из колбы, содержащей 270 мл стерильной водопроводной воды. После растирания в течение 5 мин почву переносят в упомянутую колбу с водой. Почву, оставшуюся на чашке, смывают в колбу водой, которую берут из нее же. Затем колбу с почвой тщательно встряхивают в течение 10 мин (или обрабатывают 3 мин на мешалке механического диспергатора (размельчитель тканей РТ-2 и др.).

Из полученной суспензии без отстаивания готовят разведения. Из первоначальной взвеси (1:10) отбирают стерильной пипеткой 1 мл и вносят в пробирку с 9 мл стерильной воды, тщательно перемешивают.

6. Фотоальбом:



Фото 1. Крахмал.



Фото 2. Альгинат натрия.



Фото 3. Каррагинан.



Фото 4. Агар.



Фото 5. Желатин.



Фото 6. Изготовление образцов из крахмала.

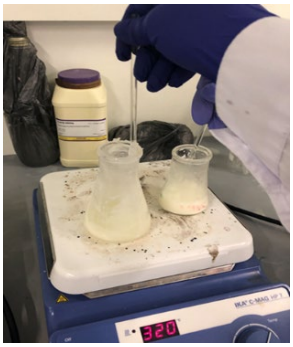


Фото 7. Изготовление образцов из крахмала.



Фото 8. Изготовление образцов из крахмала.

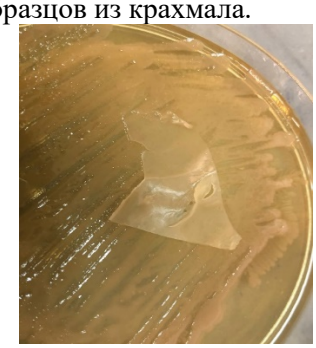


Фото 9 . Посев колоний на полимер на основе крахмала.

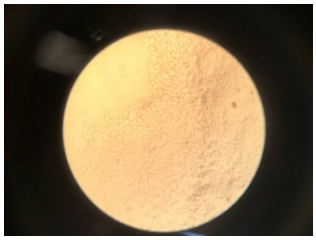


Фото. 10 Образец из альгината под микроскопом, х1000.

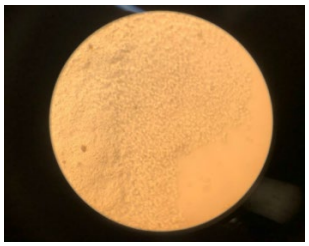


Фото. 11 Образец из крахмала под микроскопом, х1000.

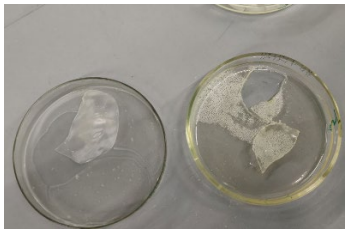


Фото 12. Образцы из крахмала (слева) и желатина (справа).

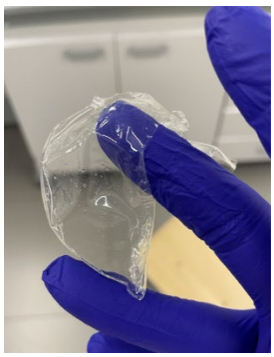


Фото 13. Образец из альгината.



Фото 14. Образец из альгината.



Фото 15. Биодеградация образца из пластика на основе крахмала.

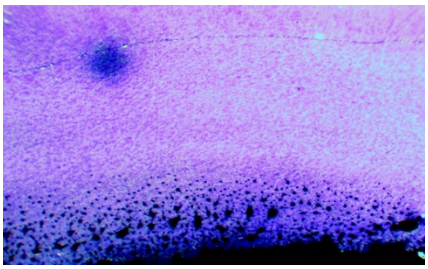


Фото 16. Моноколониальные посевы, Х1000.

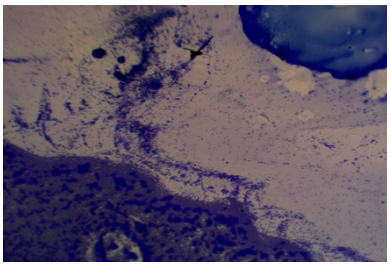


Фото 17. Моноколониальные посевы, Х1000.

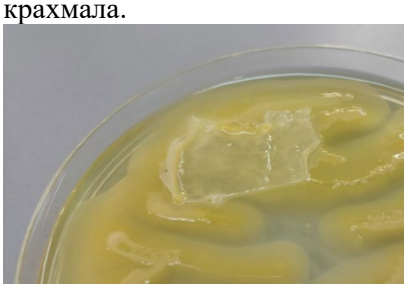


Фото 18. Биодеградация образца из пластика.



Фото 19. Биодеградация образца из пластика.



Фото 20. Биодеградация образца из пластика.



Фото 21. Биодеградация образца из пластика.



Фото 22. биодеградация образца из пластика в моноколонии кокков.

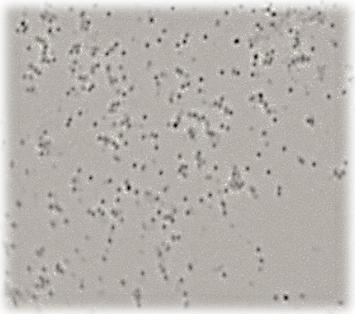


Фото 23. моноколония кокков, х1000.



Фото 24. Биодеградация образца из пластика в моноколонии бацилл.

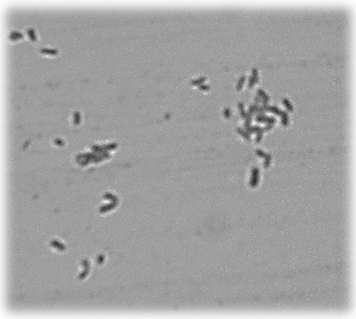


Фото 25. Моноколонии бацилл, х1000.

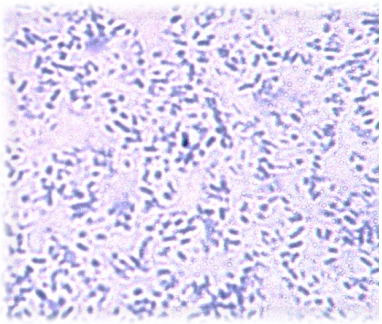


Фото 26. Моноколонии бацилл, х1000.

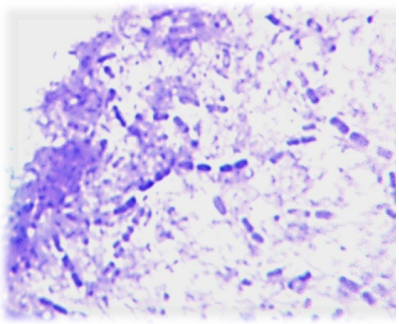


Фото 27. Моноколонии бацилл, х1000.

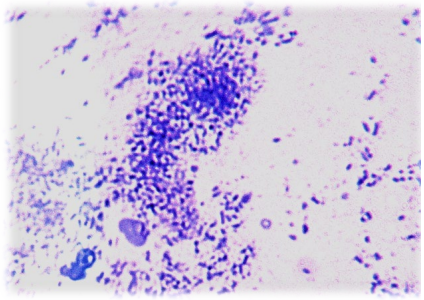


Фото 28. Моноколония стафилококков, х1000 .

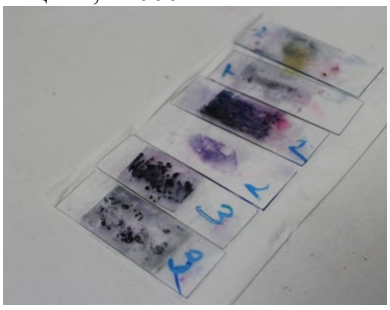


Фото 29 Окраска по Граму.



Фото 30. Формовка образцов.

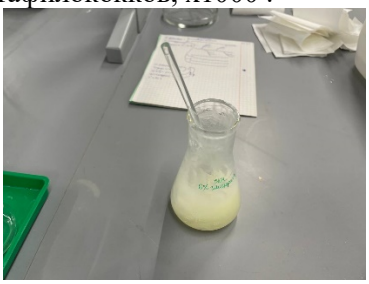


Фото 31 Подготовка образца.



Фото 32. Блок управление СЗМ.



Фото 33. Установка блока сканирования СЗМ.

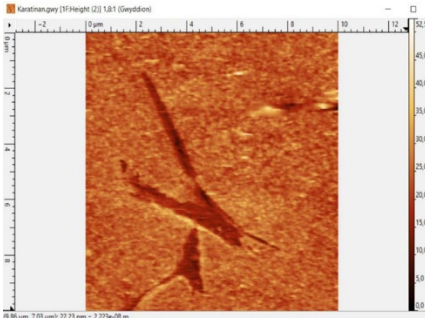


Фото 34. Атомно-силовая микроскопия образца на основе каррагинана.

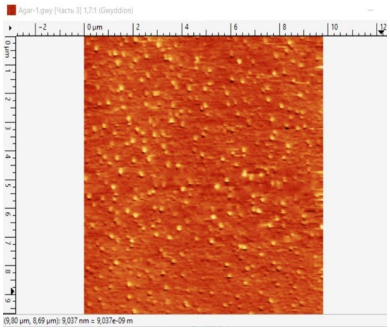


Фото 35. Атомно-силовая микроскопия образца на основе агара.

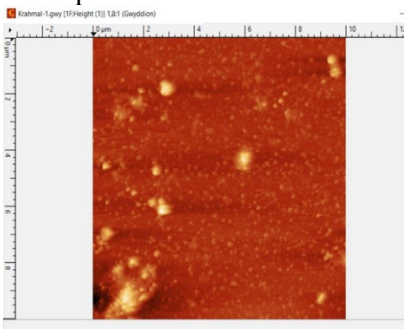


Фото 36. Атомно-силовая микроскопия образца на основе крахмала.

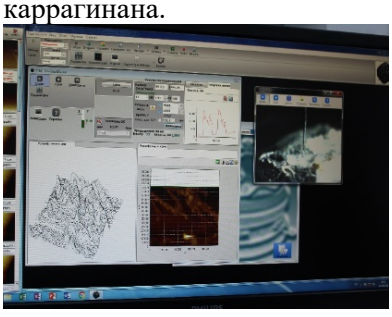


Фото 37. Процесс сканирование на СЗМ.



Фото 38. Образец на основе каррагинана.



Фото 39. Образец на основе желатина.



Фото 40. Образец на основе альгината.



Фото 41 Спектрофотометрия.



Фото 42 Приготовление навески.



Фото 43. Приготовление растворов.

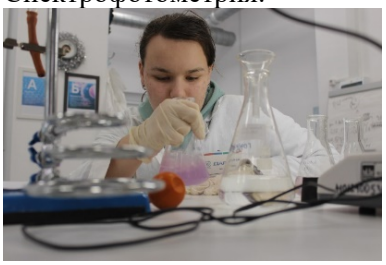


Фото 44. Подготовка растворов.



Фото 45. Проведение измерений и испытаний.



Фото 46. Биоразложение методом компостирования.



Фото 47. Биоразложение методом компостирования.



Фото 48 Образцы биопластика с природными красителями



Фото 49. Биоразложение методом компостирования (5 дней).



Фото 50. Дарина с образцами биопластиков с природными красителями.



Фото 51. Испытание биопластиков с природными красителями.



Фото 52. Испытание биопластиков



Фото 53. Испытание биопластиков



54 Ульяна за работой над проектом