

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Т. Г. Волова
«_____» _____ 20 ____ г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

код и наименование направления

Влияние геометрии изделий, изготовленных из поли(3-гидроксibuтирата),
синтезированного на различных C-субстратах, на биодegradацию

тема

Руководитель _____
подпись, дата

доцент, канд. техн. наук С.В.Барановский
должность, учёная степень, инициалы, фамилия

Выпускник _____
подпись, дата

А.А.Богатова
инициалы, фамилия

Красноярск 2021

РЕФЕРАТ

Дипломная работа на тему: «Влияние геометрии изделий, изготовленных из поли(3-гидроксibuтирата), синтезированного на различных С-субстратах, на биодеградацию» содержит 37 страниц и включает в себя 51 литературный источник, 2 таблицы, 1 формулу, 11 рисунков.

БИОСИНТЕЗ, П(ЗГБ), ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ФОРМЫ, БИОДЕГРАДАЦИЯ.

Цель работы - исследовать биодеградацию геометрических форм из П(ЗГБ), синтезированных на разных С-субстратах: глицерина и глюкозы.

Актуальность данной работы заключается в исследовании биодеградации геометрической форм из ПЗГБ, синтезируемого штаммом бактерии *Cupriavidus eutrophus* В10646 на перспективном С-субстрате - глицерине. Биодеструкция происходит в почвенной среде под влиянием биологических процессов, происходящих в почве при участии микроорганизмов.

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	2
СОДЕРЖАНИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
1. Обзор литературы	6
1.1 Характеристика и свойства ПГА	6
1.2 Биосинтез ПГА	9
1.3 Свойства ПГА в зависимости от С-субстрата	10
1.4 Древесные полимерные композиты	12
1.5 Биодegradация ПГА	15
2. Материалы и методы	17
2.1 Объект исследования	17
2.2 Биосинтез бактерий <i>Cupriavidus eutrophus</i> B10646.	17
2.3 Выделение и очистка полимера	19
2.4 Изготовление геометрических изделий из ПЗГБ	20
2.4.1 Получение полимерных таблеток	20
2.4.2 Получение полимерных гранул	21
2.4.3 Получение полимерных пленок	21
2.5 Исследование биодegradации геометрических форм из ПЗГБ	21
2.6 Методы выделения почвенных деструкторов	22
2.7 Исследование молекулярно-массовых характеристик	23
3. Результаты и обсуждение	24
3.1 Дegradация образцов в почвенных микрoэcosystemах	24
3.2 Молекулярно-массовые характеристики образцов ПЗГБ	28
3.2 Микробиологический анализ образцов почвы	29
ВЫВОДЫ	32
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	33

ВВЕДЕНИЕ

Одной из самых актуальных научных проблем в сфере жизнедеятельности человека является неразрушаемость синтетических полимерных материалов в природной среде. Масштабы их применения огромны и уже превысили количество выше 300 миллионов тонн в год. Полиэтиленовый мусор загрязняет огромные территории на континентах и в мировом океане. Подобные загрязнения ведут к необратимым последствиям, таким как снижение некоторых видов живых организмов, нарушение механизма саморегулирования в биосфере. Эти изменения уже стали критическими для некоторых районов и скоро станут критическими для всего мира. В настоящее время применение неразрушаемых синтетических пластиков во всех сферах жизнедеятельности человека стало глобальной экологической проблемой [43].

Различные методы были предложены для решения проблем, связанных с пластиковыми отходами. Они включают переработку, рекуперацию энергии, запрет определенных продуктов и производство биоразлагаемых пластиков. Полигидроксиалканоаты (ПГА) – полиэфиры микробиологического происхождения, эндогенно синтезируются многими прокариотами в особых условиях, при избытке углеродного субстрата и дефиците минеральных элементов (азота, фосфора) в среде. *Bacillus*, *Azotobacter*, *Alcaligenes*, *Methylmonas*, *Pseudomonas* – микроорганизмы, которые чаще всего используются при синтезировании ПГА. ПГА обладают рядом уникальных свойств: биосовместимость, оптическая активность, термопластичность, антиоксидантные свойства и биоразрушаемость.

Эти свойства позволяют их использовать, как перспективные материалы в различных сферах: медицине и хирургии (разработка скаффолдов), сельском хозяйстве (покрытие пестицидов и гербицидов), пищевой промышленности (биоразрушаемые упаковочные материалы) и др. В наше время рынок

биоразлагаемых полимеров очень быстро развивается. Производство ПГА стало важной частью агрохимических комплексов многих стран, таких как Японии, США, страны Евросоюза [48].

С увеличением объема производства и расширением областей применения возникает и необходимость изучения процессов разрушения в природных условиях (почве, грунтовых водах, водоемах) [47]. Полимеры разрушаются под воздействием микроорганизмов до продуктов, чье нахождение в среде является безопасным.

Цель работы: Исследовать биодеградацию геометрических форм из П(ЗГБ), синтезированных на разных С-субстратах: глицерина и глюкозы.

Для достижения этой цели необходимы выполнить следующие задачи:

1. Отработать методику изготовления и получить образцы различных геометрических форм из П(ЗГБ), полученного на разных С-субстратах: гранул ПЗГБ; гранул ПЗГБ + опилки; таблеток ПЗГБ; таблеток ПЗГБ + опилки; пленок из ПЗГБ.

2. Исследовать влияние изготовленных форм образцов ПГА, полученных на разных С-субстратах, на скорость биодеградации.

3. Исследовать биодеструкцию образцов в почвенных микроэкосистемах и их влияние на почвенные микроорганизмы.

1. Обзор литературы

1.1 Характеристика и свойства ПГА

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – класс полиэфиров, которые синтезируют прокариоты в специфических условиях для накопления энергии и углерода. Они являются биоразлагаемыми, гидрофобными, нетоксичными и полностью возобновляемыми. Культивирование микроорганизмов для получения ПГА происходит при избытке питательного субстрата и при недостатке минерального элемента (азота, фосфора, серы, магния).

С каждым годом выявляют все больше продуцентов ПГА. К настоящему моменту известно более 300 продуцентов: анаэробы, аэробы, гетеротрофы, хемиоргано- и хемотрофы, фототрофные организмы, археобактерии, полипростековые бактерии и другие.[8]. Гранулы ПГА в цитоплазме можно обнаружить с помощью оптического микроскопа, они способны влиять на размер и морфологию бактерий при сверхпродукции (рисунок 1).



Рисунок 1 – Гранулы ПГА, локализованные в цитоплазме *Wautersia eutropha* B 5786 [49]

Главными преимуществами полигидроксиалканоатов - биосовместимость и биоразлагаемость. Высокая биосовместимость, особенно у поли-3-гидроксибутирата, возможна из-за мономера 3-гидрооксипропановой кислоты, который является естественным метаболитом клеток и тканей организмов. Биоразложение происходит клеточными и гуморальными путями, поэтому протекает без выраженных воспалительных реакций.

Так же ПГА обладают рядом физико-химических свойств, таких как кристалличность, механическая прочность, температурные характеристики, скорость биораспада, эластичность. Этими свойствами можно управлять в процессе ферментации, изменяя состав среды и концентрацию веществ. [20, 39].

Свойства ПГА зависят от их строения, прежде всего, они определяются строением боковых групп в полимерной цепи, а также расстоянием между эфирными группами в молекуле. В зависимости от количества атомов углерода в мономерных звеньях, ПГА можно разделить на три группы:

- короткоцепочечные (short-chain-length, SCL) ПГА включают мономеры с количеством атомов углерода от 3 до 5. Самыми распространенными являются поли(3-гидроксибутират), и его сополимеры с гидроксивалератом. Полимер состоит из углерода (81%), водорода (7,03%) и кислорода (37,16 %) [46];
- среднецепочечные (medium-chain-length, MCL) ПГА, имеющие в своем составе от 6 до 14 атомов углерода. Для синтеза средней длины цепи в качестве продуцента специально используют псевдомонад, а в качестве субстрата алифатические углеводороды, такие как n-алканы, n-алканоаты, или n-алканола [46, 31];
- длиноцепочечные (long-chain-length LNL) ПГА включает мономерный состав свыше 14 атомов углерода, часто являются сополимерами.

Свойства этих полимеров меняются очень значительно в зависимости от типа и соотношения мономеров в полимерной цепи. В результате этого на базе

ПГА можно иметь целый спектр материалов с различными физико-механическими свойствами, пригодными для различных применений [8].

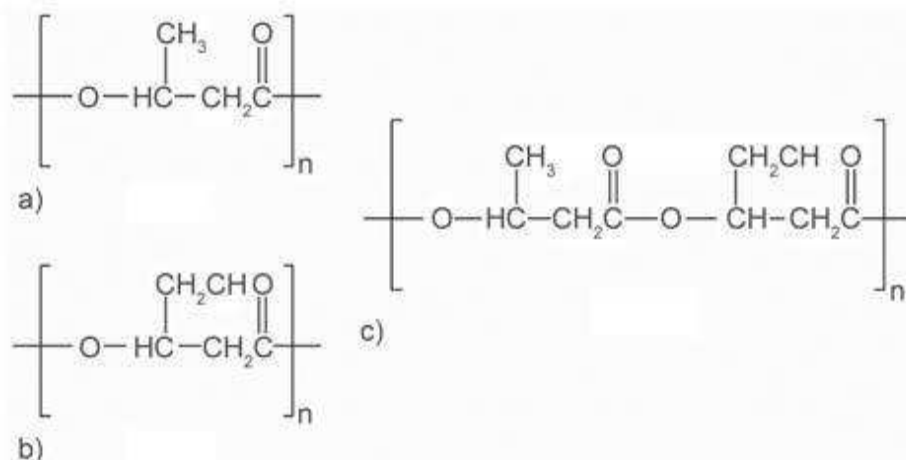


Рисунок 2 - Химическая структура некоторых ПГА: а) ПЗГБ, б) ПГВ, с) ПГВБ [44]

Поли-3-гидроксибутират (ПЗГБ) – это полимер 3-гидроксимасляной кислоты, является первым обнаруженным полимером, и соответственно, наиболее полно охарактеризованным. [49]. ПЗГБ способен полностью разрушаться, является очень гидрофобным, в тоже время аналогичен обычному пластику с точки зрения температуры плавления, кристалличности, молекулярной массы и предела прочности при растяжении. Так же обладает хорошей кислородной проницаемостью и стойкостью к ультрафиолету. В тоже время имеет ряд недостатков, таких как хрупкость, низкая деформируемость, трудная обработка традиционными технологиями для термопластов (за счет быстрой термической деструкции) и высокая себестоимость [17].

Благодаря своим уникальным свойствам сферы применения ПГА обширны: в промышленности бытовой утвари, в качестве упаковочных материалов, в медицине. В медицине область использования потенциально широка и может включать сердечно-сосудистую хирургию, ортопедию, клеточную и тканевую инженерию. Полигидроксиалканоаты обладают гемосовместимыми свойствами, так как небольшая доля концентрации ПГА

содержится в крови человека. Это дает перспективу использовать ПГА в качестве системы доставки лекарственных средств [49].

1.2 Биосинтез ПГА

ПГА синтезируются в ходе сложного многоступенчатого биосинтетического процесса, каждую стадию которого катализируют специфические ферменты. Микроорганизмы способны культивировать ПГА при избытке углерода в среде и недостатке некоторых химических веществ. Некоторые бактерии могут синтезировать ПГА только при избытке углерода и недостатке питательных веществ, таких как N, P, Mg, K, O или S, например, *Bacillus Megatherium*, *Cupriavidus necator* [9, 15]. Другие же способны накапливать полимер в фазе роста и без нехватки питательных веществ, например, *Alcaliegenes Latus* и рекомбинантная *E. Coli* [1].

Наиболее распространенным для синтеза ПГА является двухстадийный процесс культивирования. Во время первого этапа бактерии растут без ограничений до определенной концентрации. Затем рост клеток ограничивают предельными питательными веществами при избытке углерода. На этой стадии и происходит накопление ПГА в продуцентах, что способствует их увеличению по размеру и весу, однако количественно культура не растет [12].

Различные виды бактерий накапливают внутриклеточные полигидроксиалканоаты в виде гранул как депо энергии и углерода. Бактерии способны накапливать ПГА до 90% от сухой клеточной массы [37]. Они хранятся во внутриклеточных гранулах внутри клетки, так как нерастворимы в воде. Путем полимеризации растворимых промежуточных продуктов в нерастворимые молекулы, клетка не претерпевает изменений осмотического состояния. Таким образом предотвращается утечка этих ценных соединений из клетки и питательное вещество останется доступным при минимальных затратах энергии [25]. Поверхность гранулы ПГА покрыта слоем фосфолипидов и белков. Фазины, класс белков, являются преобладающими соединениями на поверхности гранул. Они влияют на количество и размер гранулы ПГА [26].

Наиболее изученный метаболический путь изучен на примере ПЗГБ, он является характерным для большинства ПГА (рисунок 3). На первой этапе происходит образование ацетоацетила-КоА, путем объединения двух молекул ацетил-КоА 3-кетотиолазой. Ацетоацетил-КоА-редуктаза восстанавливает ацетоацетил-КоА с помощью НАДН до 3-гидроксибутирил-КоА. Затем происходит полимеризация 3-гидроксибутирил-СоА в ПЗГБ с помощью синтазы ПГБ, вместе с этим высвобождается коэнзим-А [27].

Во время нормального роста бактерий 3-кетотиолаза будет подавляться свободным коэнзимом А, выходящим из цикла Кребса. Однако при ограничении питательных веществ избыток ацетил-КоА направляется в биосинтез ПЗГБ [28].

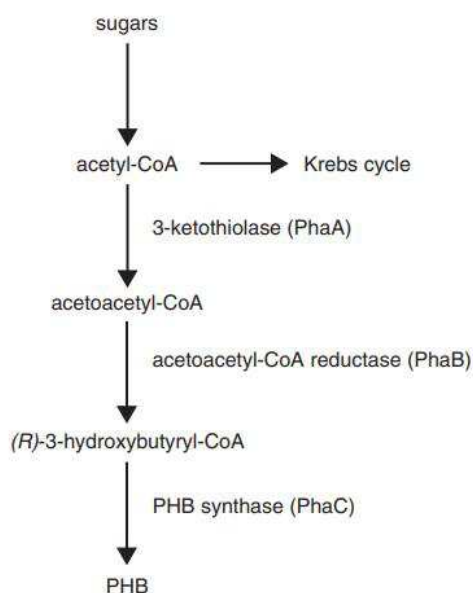


Рисунок 3 – Синтез ПЗГБ в бактериальной клетке [27].

1.3 Свойства ПГА в зависимости от С-субстрата

В связи с растущим спросом на ПГА возникает задача сократить стоимость производства. Себестоимость полимера в значительной степени зависит от стоимости углеродного субстрата для культивирования.

Использование дешевых субстратов (в том числе отходы) для синтеза ПГА снизит себестоимость полимера. С недавних пор в качестве перспективного субстрата рассматривают глицерин, масштабы производства которого увеличиваются.

Глицерин является побочным продуктом при получении биодизеля переэтерификацией жироподобных субстратов. Неочищенный глицерин используется в качестве углерода для процессов получения 2,3-бутандиола, янтарной кислоты, полигидроксиалканоатов [30].

В метаболическом пути при синтезе ПГА глюкоза преобразуется в пируват по пути Энтера-Дудорова и 2-кето-3-дезоксиглюконовому пути и конветируется до ацетил-СоА, а глицерин метаболизируется в пируват с образованием глицеральдегида-3-фосфата в качестве интермедиата [19].

Однако производительность ПГА по глицерину значительно ниже, чем по глюкозе [3]. В таблице представлены сравнительные данные по ПЗГБ, синтезированного на глюкозе и глицерине бактериями *S.pescator*.

Таблица 1 - Сравнение кинетических параметров и продуктивности *S. pescator*, выращенных на глицерине и глюкозе в соответствии со стратегией ограничения азота [40]

Субстрат	$M_{(max\ ч)}$	$K\ (г/л)$	$Y_{(г\ клеток/г\ субстрата)}$	Плотность клеток $_{(г/л)}$	Выход ПОБ $_{(г/г\ субстрата)}$	Производительность ПОБ $_{(г/л/ч)}$
Глицерин	0,11	0,18	0,41	75	0,2	0,92
Глюкоза	0,18	0,08	0,48	164	0,3	2,42

Клетки, выращенные на глицерине, имели экспоненциальный рост (0,11 ч) при максимальной удельной скорости роста, что составляет 60% от нормы по глюкозе (0,18 ч). *S. pescator*, выращенный на глицерине, имел константу Михаэлиса выше (0,18 г/л), что больше на 0,1 г/л по сравнению с глюкозой.

Экономический коэффициент был относительно схож - 0,41 г/г для глицерина и 0,48 г/г для глюкозы. Глюкозой является хорошим источником углерода для синтеза ПГА, а глицерин – приемлемым. Более медленный темп роста и более низкая урожайность может привести к относительно более низкой продуктивности ПГА.

Сравнение термических и механических свойств пленок на основе глюкозы и глицерина показали, что температура плавления (T_m), температура стеклования (T_g) были очень схожи. Для глюкозы они составили 175,1 и 3,8; для глицерина 176,4 и 3,2. Молекулярная масса ПЗГБ на основе глицерина была ниже в сравнении с глюкозным (550 кДа против 890 кДа).

Кристалличность глицерина на основе ПЗГБ составляет примерно 65%, что указывает на то, что этот полимер может быть жестким пластиком, похожим на ПЗГБ на основе глюкозы, в котором кристалличность равна 70%. Измеренные модуль Юнга и предел прочности при растяжении ПЗГБ на основе глицерина - 0,8 и 22 МПа соответственно, в то время как удлинение при разрыве составляет 6,4%; на основе глюкозы – 0,7, 32 МПа и 5,9%. Это указывает на то, что относительно более низкая молекулярная масса ПЗГБ на основе глицерина не оказывает сильного воздействия на свойства материала.

Тем не менее, ПЗГБ на основе глицерина имеет аналогичные механические свойства, как и на основе глюкозы. Благодаря доступности и невысокой цене, глицерин следует рассматривать как подходящий доступный источник углерода для производства П(ЗГБ) [40].

1.4 Древесные полимерные композиты

На протяжении последних лет расширялось применение древесных пластиковых композитов (WPC) в целях решения проблем, связанных с накоплением пластиковых отходов на свалках и в окружающей среде, особенно в океане. WPC используется во многих областях экономики, от компонентов автомобильной промышленности до компонентов конструкции здания, таких

как настил и перила. Наиболее распространенными являются полиэтилен, поливинилхлорид и полипропилен, они используются в коммерческих WPC [5, 6]. Однако, такие композиты не способны к биологическому разложению и не подлежат вторичной переработке в текущем пластике из-за сложности материалов.

С ростом экологических проблем и накопления пластикового мусора, растет потребность замены полимеров на биоразлагаемые. Наибольший интерес представляют полигидроксиалканоаты (ПГА), которые синтезируются внутриклеточно многими бактериями и археями [38]. ПГА представляются семейство сложных полиэфиров, их физико-химические свойства наиболее близки к свойствам полипропилена [7]. Они наиболее привлекательны для композитных материалов поскольку имеют более высокий поток расплава и, следовательно, обеспечивают лучшее перемешивание во времени по сравнению с полиолефинами на нефтяной основе [14].

Биокомпозиты на основе ПГВБ с добавлением 30 мас.% WP показал увеличение модуля Юнга на 70,4% ($4,6 \pm 0,1$ ГПа) по сравнению с чистым ПГВБ ($2,7 \pm 0,2$ ГПа). Однако эта закономерность сохраняется для композитов с менее 30 мас.% WP, далее идет уменьшение упругости при растяжении. Такой же принцип работает для механических свойств биокомпозитов ПГБ / WP. При исследовании прочности на растяжение наблюдалось уменьшение от $33,4 \pm 1,2$ МПа для ПГВБ до $22,8 \pm 1,4$ МПа для биокомпозита 40 мас.% WP.

Увеличение древесного волокна способствует уменьшению прочности при разрыве, составляя от 3,0 до 0,6% для ПГВБ до 0,6 - 0,2 (%) для биокомпозита из 40 мас.% WP [35]. СЭМ-микрофотографии показали однородную дисперсию WP в матрице, что является важным параметром при определении конечных свойств биокомпозитов. Волокна были замечены в биокомпозитах, наиболее четко прослеживающиеся волокна с содержанием более чем 20 мас.% WP. Древесное волокно увеличивает процент поглощения воды пропорционально процентного содержания. Для чистого полимера и биокомпозитов с 10 и 20 мас.% WP поглощение воды оставалось ниже 2,5% в

период 15 - 12 ч. Однако биокompозиты с более высоким содержанием WP показали значительное увеличение абсорбции воды после 21 - 84 ч (5,5% для композиции 70/30 и 8,8% для композиции 60/40) из-за гидрофильного характера WP.

Биодеградация чистых образцов с содержанием 20 мас.% WP показали меньшую потерю в механических свойствах за 12 месяцев. Образцы, изготовленные с 50 мас.% WP выявили постепенное снижение прочности на растяжение композитов. Эти биокompозиты были с выраженными дефектами поверхности, что объясняется деградацией древесных частиц в результате воздействия грибов, вызываемых влагой [4].

В настоящее время проводятся обширные исследования для лучшего понимания физических и механических свойств композитов ПГА / древесины. Среди всех ПГА наибольшую распространенность получили поли(3-гидроксибутирата) (ПЗГБ) и сополимера поли(3-гидроксибутират-со-3-гидроксивалерат) (ПГВБ) для использования в WPS [36].

Для улучшения свойств ПГА используются нуклеирующие агенты для повышения скорости кристаллизации. Нитрид бора, тальк [34, 13], лигнин [21], оротиновая кислота и сахарин [29] для ПГВБ, причем БН является наиболее эффективным агентом на сегодняшний день. В исследование волокон ПГВБ/бамбуковой целлюлозы (20% от массы) добавляли нитрат бора, что способствовало зарождению и кристаллизации ПГВБ, о чем свидетельствует увеличение температуры кристаллизации [41].

Для достижения важных коммерческих свойств композитов используется экструзионная обработка. Увеличение содержания древесного волокна способствует уменьшению средней прочности на растяжение и увеличению среднего коэффициента упругости. Средняя прочность на растяжение и средний модуль упругости при растяжении были значительно уменьшены при обработке с наименьшей скоростью вращения шнека (5 об / мин) и самой низкой скоростью подачи (10 см³ / мин) [41].

После обработки экструзией было обнаружено, что молекулярная масса M_w матрицы ПГВБ в древесных композитах ПГВБ в среднем была ниже по различным композитам (M_w 350-500 кДа) по сравнению с чистым полимером (M_w 500-650 кДа) из-за более высокой скорости распада композита, что связано с добавлением древесных волокон. При измерении поведения тепловой деградации с помощью TGA было замечено, что древесное волокно влияет на термическое разложение. Начальная и пиковая температура разложения постепенно уменьшались с увеличением содержания древесного волокна. Эти результаты показывают, что термическая стабильность ПГВБ уменьшалась с добавлением древесных волокон. Однако это снижение было недостаточно значительным, чтобы привести к снижению механических характеристик матрицы ПГВБ. Кроме этого, древесные волокна, независимо от их соотношения, способствуют кристаллизации ПГВБ, которая отражается в увеличении скорости кристаллизации, не влияя на механические свойства.

1.5 Биодегградация ПГА

ПГА под воздействием ПГА-деструкторов подвергаются изменениям в молекулярной массе и механических свойствах, в то же время дают выход веществам, которые обеспечивают рост микроорганизмам. В биологически активных средах идут процессы гидролиза и фотохимического разрушения полимеров. Биодегградация ПГА изучается с использованием разнообразных внутриклеточных и внеклеточных гидролазных ферментов, которые являются ПГА-деполимеразами, производимые различными микроорганизмами [16].

Внеклеточные ПГА-деполимеразы гидролизуют полукристаллический ПГА до мономеров и олигомеров, которые в последствие могут обрабатываться микроорганизмами в качестве источников углерода. В аэробных условиях эти метаболиты затем превращаются в энергию, углекислый газ и воду или, в анаэробных условиях, в энергию, метан и воду [23]. Некоторые виды бактерий и грибов, например *Pseudomonas*, *Actinomadura*, *Penicillium* *Aspergillus* spp.,

Microbispora, *Saccharomonospora*, *Streptomyces*, *Thermoactinomyces* и *Bacillus* spp способны разлагать ПГА как аэробно, так и анаэробно. Анаэробный ил, содержащий несколько микроорганизмов, может разлагать ПГА в различных средах, таких как почва, соль и пресная вода. Однако было обнаружено, что почва является наиболее естественной средой для деградации ПГА [2].

Для понимания закономерностей деградации ПГА, исследуется их разрушаемость в различных модельных средах (буферные растворы, растворы ферментов, кровь, культуры клеток,) при различных значениях pH, температуры, солености и т.д. Биодegradацию изучают на полимерах различного химического состава, которые изначально имеют разные молекулярно-массовые характеристики и степень кристалличности. Также изучают процесс разрушения различных геометрических форм из ПГА. Уменьшение общего и молекулярного веса образцов, кристалличности полимера указывают на биодеструкцию [50].

В исследование были экспонированы образцы ПГА в фосфатный буфер при различной температуре в течение 6 месяцев. Сополимеры такие как ПЗГБ/4ГБ потеряли $\frac{1}{2}$ от исходной массы, а полимеры не изменили исходных весовых значений [11]. ПГА могут деградировать в буферных растворах, но это – медленный процесс, длящийся несколько месяцев. На скорость деградации положительно влияет добавление пластификаторов и создание сополимеров[45], а также УФ-излучение[33].

Процесс биодegradации зависит от количества, вида и активности микроорганизмов-деструкторов, а также от природной среды: температуры, влажности[51].

Сополимеры ПГА, которые подвержены биодegradации анаэробно, имеют различные важные сельскохозяйственные применения, такие как капсулирование семян и удобрений, биоразлагаемые пластиковые пленки для защиты растений и биоразлагаемые контейнеры для тепличных хозяйств. Кроме того, такие сополимеры могут быть использованы для покрытия гербицидов и инсектицидов [23].

2. Материалы и методы

2.1 Объект исследования

В работе исследовался процесс биodeградации геометрических изделий из ПЗГБ, синтезируемого бактериями *Cupriavidus eutrophus* B-10646 на различных С-субстратах. Объектами эксперимента являлись пленки, таблетки и гранулы, изготовленные из ПЗГБ, синтезированного на глюкозе или глицерине в качестве источника углерода.

2.2 Биосинтез бактерий *Cupriavidus eutrophus* B10646.

Получение биополимера производилось по технологии культивирования бактерий *Cupriavidus eutrophus* B10646 в ферментере, используя стратегию ограничения азота.

При культивировании важным аспектом является соблюдение стерильности. Если произойдет контаминация культуры, то процесс биосинтеза не даст нужного результата, а также культура может вовсе погибнуть.

Необходима предварительная стерилизация всей посуды (колбы, пробирки) в автоклаве насыщенным водяным паром при давлении в 1 атм. Для приготовления маточных растворов используют навески сухих солей и растворяют при комнатной температуре дистиллированной водой. В качестве минеральной среды используется смесь из четырёх маточных растворов:

Таблица 2 – Состав питательных сред

Раствор	Компонент	Концентрация (г/л)
Раствор А	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	9,1
	KH_2PO_4	1,5
Раствор Б	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,2
Раствор В	$\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$	5,0
Раствор Г	H_3BO_3	0,288

	$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,03
	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,008
	$\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	0,008
	$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,176
	$\text{NaMoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,05
	NiCl	0,008

Раствор А – необходимое количество фосфата калия и фосфата натрия растворяют при перемешивании в дистиллированной воде.

Раствор Б – навеску сульфата магния растворяют в дистиллированной воде.

Раствор В - навеску лимоннокислого железа вносят в колбу и доводят до метки дистиллированной водой, затем кипятят до полного растворения и раствор вновь доводят водой до метки.

Раствор Г – в колбу вносят поочередно навески солей, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают до полного растворения.

Растворы А, Б, В и Г стерилизуются при 121°C, давлении 1 атм в течение 45 минут.

Раствор глюкозы готовят с концентрацией 500 г/л. Готовый раствор насосом перекачивают в ёмкость через стерилизующий фильтр.

В качестве источника азота использовали мочевины концентрацией 60г/л. Готовый раствор насосом перекачивают в ёмкость через стерилизующий фильтр.

Инокулят получали методом смыва музейной культуры с поверхности среды в стерильную колбу объемом 2 литра с 1 литром полной среды Шлегеля. Для культивирования бактерий за основу принята солевая среда Шлегеля: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ – 9.1; KH_2PO_4 – 1.5; $\text{MgSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ – 0.2; $\text{Fe}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.025 (г/л) и сбалансированная кислотнo-солевая среда (Волова, 2004). Источником железа служит раствор лимоннокислого железа (5 г/л), который вводят из расчета 5 мл/л. Микроэлементы добавляли в среду по прописи Хоагланда из расчета 3 мл

стандартного раствора на 1 л среды. Стандартный раствор микроэлементов содержит: H_3BO_3 – 0,228; $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,03; $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,008; $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,008; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,176; $\text{NaMoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,05; NiCl – 0,008 (г/л).

Музейную культуру выращивают в жидкой солевой среде Шлегеля со стартовой концентрацией глюкозы или глицерина 10 г/л.

Далее колбы помещаются в шейкер инкубатор Innova 44 при температуре 30 °C и 250 об/мин в течение 20-22 часов. Оптическая плотность инокулята после смыва из пробирок должна составлять не менее 0,1 г/л, а перед культивированием в ферментере не менее 0,2 г/л [24].

Культивирование бактерий проводится на опытном производстве Сибирского Федерального Университета, с использованием ферментёра Bioengineering NLF 22 с объёмом аппарата 30 л и рабочем объёме от 10 до 20 л при температуре 30 °C.

Оптическая плотность инокулята после смыва из пробирок должна составлять не менее 0,1 г/л, а перед культивированием в ферментере не менее 0,2 г/л [24].

Провели два культивирования, где в качестве основного источника углерода использовали глюкозу или глицерин.

2.3 Выделение и очистка полимера

При достижении необходимой концентрации полимера в клетке останавливают процесс биосинтеза. Культуральную жидкость концентрируют до 300 – 350 г/л в вакуум-выпарной установке «УВВ-50», затем перистальтическим насосом Ismatec Flowmaster FMT300 подается в сборник для упаренной суспензии.

Дальнейшее концентрирование суспензия помещается в центрифугу Avanti. На выходе получается бактериальная паста с влажностью 50-60%, которая подвергается лиофильной сушке в сублимационной установке

ИshinBioBase. Процесс лиофильной сушки начинается с заморозки биомассы до $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ и последующим нагреванием до $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$ при давлении в камере 40 Па. Биомасса с влажностью не более 0,5% используется для получения полимера. Бактериальная масса помещается в экстрактор, заливается дихлорметаном в соотношении 1:5 и 2 часа экстрагируется при температуре 40°C и интенсивном перемешивании. Далее полученная пульпа фильтруется и полученный фильтрат собирается в осадителе, к полученному экстракту добавляется этанол 1:2 соответственно. После перемешивания, полученный полимер отделяется от растворителя на фильтре. На первом этапе происходит удаление растворителя под вакуумом, затем полимер отжимается и продувается воздухом для удаления паров растворителя и высушивается в сушильном шкафу.

2.4 Изготовление геометрических изделий из ПЗГБ

2.4.1 Получение полимерных таблеток

Для изготовления таблеток необходимо измельчить полимер ударно-сдвиговым воздействием на ультрацентрифужной мельнице ZM 200 «Retsch». Размол проводится с использованием ситов диаметром отверстий 2 мм, 1 мм, 0,5 мм при скорости вращения ротора 18000 об/мин.

На следующем этапе полученный полимер помещается в просеивающую машину AS 200 Control Retsch, с заранее установленными ситами различного диаметра. Последовательность сит сверху вниз: 800 мкм, 500 мкм, 300 мкм, 100 мкм. Фракционирование происходит методом мокрого отсева с ситовым ускорением 1.5 mm/G , в течении 20 минут. После окончания фракционирования полимерная фракция помещается в сушильный шкаф, где происходит удаление излишков влаги и сушка частиц. Таким же образом идет измельчение березовых опилок. Для получения таблеток делали навески по 50 мг и изготавливали в таблетпрессе. Таблетки с березовыми опилками изготавливали в соотношении 20% опилок и 80% порошка полимера. Характеристика образцов: высота $2,46 \pm 0,035\text{ мкм}$; диаметр $6,03 \pm 0,014\text{ мкм}$

2.4.2 Получение полимерных гранул

Навеску полимера в размере 20 грамм растворяли в 400 мл. дихлорметана. Колба ставится на лабораторные плитки с магнитными мешалками (Heidolph Instruments D-91126 Schwabach) при температуре 50°C до полного растворения. Для изготовления гранул с березовыми опилками после полного растворения полимера добавили 5,87 гр. и продолжили перемешивание. После полного растворения идет осаждение полимера этанолом объёмом 800мл. в холодильнике (Бирюса-151). Полимер отфильтровали из раствора вакуумным насосом (Millipore WP6122050). С помощью гранулятора (Fimar 12/S) из полученной массы изготовили гранулы из чистого П(ЗГБ), П(ЗГБ) + опилки в соотношении 78% полимера и 32% опилок. Характеристика гранул: длина 1 см, диаметр $1,6 \pm 0,32$ мкм для композитных гранул; длина 1 см, диаметр $2,41 \pm 0,076$ для гранул из П(ЗГБ).

2.4.3 Получение полимерных пленок

Пленки для эксперимента были получены методом полива расплава полимера на твердую зеркальную поверхность чашки Петри и испарение из него основной массы растворителей. Для изготовления пленок навеску в 50 гр. полимера растворяли в 200 мл. дихлорметана. После полного растворения полимер отфильтровали через плотную органзу и равномерно вылили на нижнюю часть обеззараженной спиртом чашки Петри. После чего пленки были нарезаны на квадраты размером 1*1 см, высотой $0,047 \pm 0,0039$ мк.

2.5 Исследование биodeградации геометрических форм из ПЗГБ

Деградация образцов исследовалась в почвенных микросистемах. Контейнеры заполняли влажной землей (400гр), в центре которых были заложены образцы в 4-х кратной повторности в мешочках из органзы на глубине 1 см. Инкубировали при комнатной температуре (21-23°C) с

поддержанием влажности на постоянном уровне. Образцы извлекались каждые 4 недели и взвешивались на лабораторных весах Ohaus PA-512C.



Рисунок 4 – Фото почвенных микроэкосистем

2.6 Методы выделения почвенных деструкторов

Для анализа почвенной микрофлоры использовались общепринятые микробиологические методы. Посев образцов почвы осуществлялся на твердые питательные среды для определения численности грибов и бактерий. Мясопептонный агар использовали для определения аммонификаторов; крахмало-аммиачный агар – прототрофных бактерий, усваивающих азот; среда Эшби – олигонитрофильных и азотфиксирующих бактерий; среда Сабуро – грибов. Для посева бактерий использовали три разведения 10^5 , 10^6 , 10^7 , для грибов 10^2 , 10^3 . Инкубировали в течение 7 дней: бактерии при $30\text{ }^\circ\text{C}$, грибы при $25\text{ }^\circ\text{C}$.

Для выявления микроорганизмов-деструкторов методом смыва с пленок и таблеток были взяты пробы, которые высевали на специализированную среду, которая в качестве источника углерода содержала 0,25% порошкообразного ПГА. Рост микроорганизмов, обладающих деполимеразной активностью, сопровождался образованием вокруг колоний на поверхности агаризованной среды характерных прозрачных зон.

Количество микроорганизмов в исследуемых образцах (X) определяли по формуле:

$$X = \frac{a \times b}{c \times d}, \text{ где:}$$

a – среднее количество колоний на чашке Петри; b – разведение, из которого сделан высев; c – количество вносимой суспензии, мл; d – объем суспензии, мл.

2.7 Исследование молекулярно-массовых характеристик

Навески полимера весом 15 мг растворяли в 1,5 мл хлороформа, полученный раствор фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Молекулярно-массовые характеристики исследовали на хроматографе Technologies 1260 Infinity с использованием калибровочных стандартов Agilent PS-H EasiVial. Получили средневесовую (M_w) и среднечисловую (M_n) молекулярную массу, полидисперсность (D).

3. Результаты и обсуждение

Изъято 8 страниц

ВЫВОДЫ

1. Получены образцы с разной геометрической формой – пленки, гранулы, таблетки, в том числе с наполнителем – березовыми опилками. Кроме того, изготовлены два варианта образцов из П(ЗГБ), синтезированного как на глицерине, так и на глюкозе.

2. Исследование процесса биodeградации в почве показало, что к окончанию экспозиции пленочные образцы разрушились практически полностью, таблеточные формы разрушались медленнее и менее всего деградировали гранулы. Добавление опилок в качестве наполнителя ускорило скорость деградации таблеток и гранул в 2-3 раза. Существенного влияния углеродного субстрата (глюкоза, глицерин) на биодеструкцию образцов в почве не выявлено.

3. В процессе биodeградации в почве образцов из П(ЗГБ) доля аммонификаторов, олигонитрофильных и азотфиксаторов, микромицетов увеличилась, что указывает на стимулирующее влияние П(ЗГБ) как источника углерода на почвенную микрофлору. Установлено, что численность бактерий-деструкторов ПГА на пленочных образцах в несколько раз превышала численность деструкторов на таблетках. Значимого влияния углеродного субстрата (глюкоза, глицерин) на почвенную микрофлору не выявлено.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Akaraonye E. Production of polyhydroxyalkanoates: the future green materials of choice / E. Akaraonye, T. Keshavarz, I. Roy // *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. - 2010. - № 85. - P. 732–743.
2. Altaee N. Biodegradation of different formulations of polyhydroxybutyrate films in soil / N. Altaee, G.A. El-Hiti, A Fahdil // *SpringerPlus*. – 2016.- V. 5 – P. 762.
3. Cavalheiro J.M.B.T.Poly(3-hydroxybutyrate) production by *Cupriavidus necator* using waste glycerol / J.M.B.T. Cavalheiro, M.C.M.D. de Almeida, C Grandfils, M.M.R. da Fonseca // *Process Biochem.* – 2009. – V. 44 – P. 509–515.
4. Chan C. Mechanical and physical stability of polyhydroxyalkanoate (PHA)-based wood plastic composites (WPCs) under natural weathering / C. M. Chan, S. Pratt, P. Halley, D. Richardson, A. Werker, B. Laycock, L.J. Vandi // *Polymer Testing* – 2018. – P. 1-34.
5. Chan, C. M. Mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate-co 3-hydroxyvalerate)/wood flour composites: Effect of interface modifiers / C. M. Chan, L.J. Vandi, S. Pratt, P. Halley, D. Richardson, A. Werker, B. Laycock // *Journal of applied polymer science*. –2018 – V. 135 – P. 46828.
6. Chan, C. M. Wood-PHA Composites: Mapping Opportunities / C.M. Chan, L.J. Vandi, S. Pratt, D. Richardson, A. Werker, B. Laycock // *Polymers*. –2018 – V. 10 – P. 1 – 15.
7. Chen G. Polyhydroxyalkanoates, in: R. Smith (Ed.) *Biodegradable polymers for industrial applications* / CRC Press, Cambridge. – 2005. – P. 32-56.
8. Chen G.Q. *Plastics from Bacteria: Natural Functions and Applications*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. - 2010. – P. 449.
9. Chiara S. Extraction of polyhydroxyalkanoates from mixed microbial cultures: impact on polymer quality and recovery / S. Chiara, F. Abbondanzi, P. Galletti, L. Giorgini, L. Mazzocchetti, C. Torri, E. Tagliavini // *Bioresource Technology*. - 2015. - № 189. - P.195 — 202

10. Damalas, C. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators / C. A. Damalas, I. G. Eleftherohorinos // *Int. J. Environ. Res. Public Health* -2011. -Vol. 8.- P. 1402 – 1419.
11. Doi Y. Biodegradation of microbial poly(hydroxyalkanoates) / Y. Doi, Y. Kanesawa, N. Tanahashi // *Makromol. Chem. Rapid. Commun.* – 1989. –V.10 – P. 227–230.
12. Doi, Y. *Microbial Polyesters* / New York, USA: VCH Publishers. – 1990
13. Fernandes E. G. Bio-Based Polymeric Composites Comprising Wood Flour as Filler / E.G. Fernandes, M. Pietrini, E. Chiellini // *Biomacromolecules.* – 2004. – V. 5(4) – P. 1200-1205.
14. Gatenholm P. Biodegradable natural composites I. processing and properties / P. Gatenholm, J. Kubat, A. Mathiasson // *Journal of Applied Polymer Sci.* – 1992. – P. 1667
15. Hanson A. J. Community proteomics provides functional insight into polyhydroxyalkanoate production by a mixed microbial culture cultivated on fermented dairy manure / A. J. Hanson, N. M. Guho, A. J. Paszczyński, E. R. Coats // *Applied Microbiology Biotechnology.* - 2016. - №100. — P. 7957 – 7976.
16. Hiraishi T. Protein engineering of enzymes involved in bioplastic metabolism / T. Hiraishi, S Taguchi // *Protein engineering — technology and application.* – 2013. - P. 133 – 165.
17. Janigova I. Thermal degradation of plasticized poly(3-hydroxybutyrate) investigated by DSC / I. Janigova, I Lacik, I Chodak // *Bratislava: Polymer Degradation and Stability.* - 2002. – P. 35-41.
18. Jiang L. Study of Poly(3-hydroxybutyrate- co -3-hydroxyvalerate) (PHBV)/Bamboo Pulp Fiber Composites: Effects of Nucleation Agent and Compatibilizer / L. Jiang, J. Huang, J. Qian, F. Chen // *Journal of Polymers and the Environment.* – 2008. – V.16(2) – P. 83-93.

19. Khanna, S. Microbiol conversion of glycerol: present status and future prospects / S.Khanna, A. Goyal, V.S. Moholkar, // Crit. Rev. Biotechnol. - 2012. – P. 235–262.
20. Khanna, S. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates / S. Khanna, K. Ashok // Proc. Biochem., 2004. – P. 607 – 619.
21. Kovalcik A. Effect of surface modification of beech wood flour on mechanical and thermal properties of poly (3-hydroxybutyrate)/wood flour composites / A. Kovalcik, R. Wimmer, H. Marta, M. Koller // Holzforschung. – 2009. – V. 63(5) – P. 565 – 570.
22. Lee E. Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by newly isolated Agrobacterium sp. SH-1 and GW-04 from structurally unrelated single carbon substrates / E. Y. Lee, S. H. Kang, C. Y. Choi // Biosynthesis J. Ferment. Bioeng. – 1995. – P. 328-334.
23. Martínez-Tobón D. Polyhydroxybutyrate (PHB) biodegradation using bacterial strains with demonstrated and predicted PHB depolymerase activity / D. Martínez-Tobón, M. Gul, A. Elias, D. Sauvageau // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2018. - V.102. – P. 8049–8067.
24. Miller N.D. On the biodegradation of poly – B – hydroxybutyrate homopolymer and poly – B – hydroxybutyrate - hydroxyvalerate colymers //Biomaterials. – 1987. – Tom 8. – Cтp. 130 – 137.
25. Peters, V. and Rehm, B.H.A. In vivo monitoring of PHA granule formation using GFP-labeled PHA synthases / FEMS Microbiol Lett .-2005.- V.248 – P. 93–100.
26. Po'tter M. Regulation of phasin expression and PHA granule formation in Ralstonia eutropha H16 / M Po'tter, M.H. Madkour, F Mayer, A. Steinbu'chel // Microbiology. -2002.- V. 148 – P. 2413–2426.
27. Po'tter, M. and Steinbu'chel, A. Poly(3-hydroxybutyrate) granule-associated proteins: impacts on poly(3-hydroxybutyrate) synthesis and degradation / Biomacromolecules. -2005.- V. 6 – P. 552–560.

28. Ratledge, C. and Kristiansen, B. Basic Biotechnology, 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press, 2001. P. – 568.
29. Ren H. Effects of Lignophenols on Mechanical Performance of Biocomposites Based on Polyhydroxybutyrate (PHB) and Polypropylene (PP) Reinforced with Pulp Fibers / H. Ren, Z. Liu, H. Zhai, Y. Cao // *Bioresources*. – 2014. – V.10(1) – P.432-447.
30. Rodríguez Contreras A. Influence of glycerol on poly(3-hydroxybutyrate) production by *Cupriavidus necator* and *Burkholderias acchari* / A. Rodríguez Contreras, M. Koller, M.M. de Sousa Dias // *Biochem. Eng. J.* - 2015.- P. 50–57.
31. Shang L. Optimization of propionic acid feeding for production of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in fed-batch of *Ralstonia eutropha* / L. Shang, J. H. Do, D. D. Fan, M. Jiang, H. N. Chang, J. Chin. // *Chem. Eng.* – 2003. – P. 220-223.
32. Shibata M. Biodegradable polyester composites reinforced with short abaca fiber / M. Shibata, K.I. Takachiyo, K. Ozawa, R. Yosomiya // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2002.- V. 85(1) – P. 129-138.
33. Shangguan, Y. The mechanical properties and in vitro biodegradation and biocompatibility of UV-treated poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) / Y. Shangguan, Y. Wang, Q. Wu // *Biomaterials*. –2006. –V.27 № 11. – P. 2349-2357.
34. Silva D.A.K. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/wood powder biocomposites: Thermal and mechanical properties and water absorption profile / D.A.K. Silva, V. da Silva, K. Batista, A.J. Zattera // *Journal of Reinforced Plastics and Composites* . – 2014. – V. 33(8) – P.741-748.
35. Singh S. Wood fiber reinforced bacterial bioplastic composites: Fabrication and performance evaluation / S. Singh, A. K. Mohanty, M. Misra // *Composites Science and Technology* – 2007. – V. 67 – P. 1753–1763.
36. Srubar W.V. Mechanisms and impact of fiber–matrix compatibilization techniques on the material characterization of PHBV/oak wood flour engineered

biobased composites / W.V. Srubar, S. Pilla, Z.C. Wright, C.A. Ryan, J.P. Greene, C.W. Frank, S.L. Billington // *Composites Sci. Technol.* – 2012. – V.72 – P.708-715.

37. Steinbüchel, A. and Lütke-Eversloh, T. Metabolic engineering and pathway construction for biotechnological production of relevant polyhydroxyalkanoates in microorganisms / *Biochem Eng.* – 2003.- J 16.- P. 81–96.

38. Sudesh K. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters / K. Sudesh, G. Abe, Y. Doi // *Prog. Polym. Sci.* – 2000. – V. 25 – P. 1503-1555.

39. Sudesh, K. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters / K. Sudesh., H. Abe, Y. Doi // *Prog. Polym. Sci.* - 2000.- P.1503-1555.

40. Tanadchangsaeng N, Yu J. Microbial synthesis of polyhydroxybutyrate from glycerol: gluconeogenesis, molecular weight and material properties of biopolyester / *Biotechnol Bioeng.* – 2012. – V. 109(11) – P. 2808-2818.

41. Vandi L.J. Extrusion of wood fibre reinforced poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) biocomposites: Statistical analysis of the effect of processing conditions on mechanical performance / L.J. Vandi, C. M. Chan, A. Werker, D. Richardson, B. Laycock, S. Pratt // *Polymer Degradation and Stability.* – 2018. – P. 1–35.

42. Verlinden R.A.J. Bacterial synthesis of biodegradable polyhydroxyalkanoates / R.A.J. Verlinden, D.J. Hill, M.A. Kenward, C.D. Williams, I. Radecka // *Microbiol.* -2007/- V. 102(6) – P.1437–1449.

43. Volova T. Degradable Polyhydroxyalkanoates of Microbial Origin as a Technical Analog of Non-Degradable Polyolefines/ *Journal of Siberian Federal University. Biology* – 2015. - P.131-151.

44. Wang Y. Preparation and Characterization of Controlled Release Poly(MelamineFormaldehyde) Microcapsules Filled with 2,4-D Isooctyl / Y. Wang, C. Qian, X. Yan, H. Liu // *Ester. Int. J. Polym. Mat. Polym. Biomater.* – 2017 – V. 66 – P. 963–969


45. Yasin M. Polymers for medical devices: VII. Hydroxybutyrate–hydroxyvalerate copolymers: physical and degradative properties of blends with polycaprolacton. *Clinical Materials* / M. Yasin, B. Tighe // Elsevier. - 1992. - V.13. – P. 9-16.
46. Yim K. Synthesis of poly(3hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by recombinant *Escherichia coli* / K. S. Yim, S. Y. Lee, H. N. Chang // *Biotechnol. Bioeng.* – 1996. – P. 495-503.
47. Бояндин А.Н. Биодegradация полигидроксиалканоатов почвенными микробиоценозами различной структуры и выявление микроорганизмов деструкторов/А.Н. Бояндин, С.В. Прудникова, М. Л. Филипенко [и др.]// *Прикладная биохимия и микробиология.* –2012. –Т. 48, № 1. – С. 35–44.
48. Вильданов Ф. Ш. Биоразлагаемые полимеры – современное состояние и перспективы использования /Ф.Ш. Вильданов, Ф.Н. Латыпова, П.А. Красуцкий, Р.Р. Чанышев // *Башкирский химический журнал* - 2012. - Т. 19. № 1. - С. 135-139.
49. Волова Т.Г. Полиоксиалканоаты (ПОА) - биоразрушаемые полимеры для медицины/ Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И. – Новосибирск, Издательство СО РАН. – 2003. – С. 330.
50. Волова, Т.Г. Биоразрушаемые биополимеры: получение, свойства, применение: монография / Т.Г. Волова, Е.И. Шишацкая // Красноярск: Красноярский писатель. - 2011. – С. 400.
51. Прудникова С.В. Закономерности биоразрушения полигидроксиалканоатов на территории Вьетнама и Центральной Сибири / С.В. Прудникова, К. И. Коробихина, А.Н. Бояндин, Т.Г. Волова // *Journal of Siberian Federal University. Biology.* - 2012 №3. - С. 311-321

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 Т. Г. Волова
« 28 » июня 2021 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

код и наименование направления

Влияние геометрии изделий, изготовленных из поли(3-гидроксibuтирата),
синтезированного на различных С-субстратах, на биодеградацию

тема

Руководитель



Выпускник

подпись, дата



подпись, дата

доцент, канд. техн. наук

С.В.Барановский

должность, учёная степень, инициалы, фамилия

А.А.Богатова

инициалы, фамилия

Красноярск 2021