

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«**СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующая кафедрой

_____ Т. Г. Волова

«___» _____ 2023 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Влияние лазерной обработки на адгезивные свойства плёнок из полигидроксиалканоатов при взаимодействии с бактериями на примере *Escherichia coli* и *Micrococcus luteus*

Руководитель _____ д.б.н., профессор С. В. Прудникова

Выпускник _____ О. И. Круглик

Красноярск 2023

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Влияние лазерной обработки на адгезивные свойства плёнок из полигидроксиалканоатов при взаимодействии с бактериями на примере *Escherichia coli* и *Micrococcus luteus*» содержит 38 страниц текстового документа, 7 рисунков, 1 таблицу, 61 использованный источник.

Ключевые слова: адгезия, поверхностные свойства плёнок, биоразлагаемые полимеры, экологическая упаковка, лазерная обработка, полигидроксиалканоаты.

Полигидроксиалканоаты (ПГА) представляют собой отличную альтернативу полимерам, получаемым на нефтехимической основе. Благодаря своим свойствам они являются перспективными материалами и могут использоваться в тканевой инженерии, биомедицине и в области пищевой упаковки. В настоящее время множество исследований сосредоточено на улучшении физико-механических свойств пленок из ПГА и на модификации поверхности для улучшения биосовместимости клеток и/или подавления роста бактерий. Одним из методов изменения поверхностных свойств пленок и адгезивной способности является лазерная обработка. Разработка лазерной модификации полимерных поверхностей является быстрорастущей и развивающейся областью и за последнее десятилетие привлекла значительный научный интерес.

Цель работы заключалась в сравнении адгезивных свойств плёнок из полигидроксиалканоатов разного химического состава после лазерной обработки. В ходе работы были поставлены следующие задачи:

1. Сравнить способность к адгезии клеток микроорганизмов *Escherichia coli* и *Micrococcus luteus* на поверхности плёнок гомополимера 3-гидроксибутирата (ПЗГБ), синтезированного на глицерине или глюкозе в качестве основного С-субстрата, а также плёнок сополимера 3-гидроксибутирата и 3-гидроксиивалерата (ПЗГБ/ЗГВ) с содержанием ЗГВ 10 мол.% и 82 мол.%;

2. Оценить влияние различных вариантов лазерной обработки плёнок из полигидроксиалканоатов на способность к адгезии клеток микроорганизмов *Escherichia coli* и *Micrococcus luteus*;

3. Сравнить взаимодействие клеток грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов с образцами плёнок.

Было выяснено, что лазерная обработка оказала влияние на адгезивные свойства плёнок из ПГА. При контакте с бактериями *M. luteus* и *E. coli* количество клеток на поверхности обработанных плёнок уменьшалось по сравнению с необработанными. Увеличение содержания мономера 3-гидроксиивалерата не повлияло на адгезию клеток *M. luteus*, но снизило количество клеток *E. coli* в 1,3 раза. Адгезивные свойства необработанных плёнок из ПЗГБ, синтезированного на глюкозе и глицерине, достоверно не различались. Адгезивные способности у грамотрицательных бактерий были выше, чем у грамположительных.

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|----|
| ВВЕДЕНИЕ | 4 |
| 1. Обзор литературы | 6 |
| 1.1 Экологическая проблема использования синтетических пластиков | 6 |
| 1.1.1 Использование пластика в качестве упаковочных материалов..... | 6 |
| 1.1.2 Аналоги синтетических пластмасс | 7 |
| 1.2 Биоразлагаемая полимерная упаковка | 10 |
| 1.3 Характеристика полигидроксиалканоатов как альтернативного упаковочного материала | 11 |
| 1.4 Химическая структура полигидроксиалканоатов | 12 |
| 1.5 Микробиологический синтез полигидроксиалканоатов..... | 15 |
| 2. Материалы и методы | 18 |
| 2.1 Объекты исследования | 18 |
| 2.2. План эксперимента | 20 |
| 2.3. Статистическая обработка данных..... | 22 |
| 3. Результаты..... | 23 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 31 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ | 32 |

ВВЕДЕНИЕ

Мировой сектор производства пластмасс быстро развивался, начиная с 1950-х годов, и в настоящее время мировое производство составляет около 450 миллионов тонн в год. В последние годы увеличилось использование пластмасс в ряде отраслей промышленности, медицины, сельского хозяйства, в том числе - в производстве упаковки, бытовых товаров, медицинских изделий, косметических средств и пр. Несмотря на высокое качество и удобство использования, во всем мире уделяется большое внимание негативному воздействию загрязнения окружающей среды пластиком. По оценкам, в мире образуется более 340 миллионов тонн пластиковых отходов, из которых на долю упаковочной промышленности приходится около 46%. Большая часть этих отходов образуется из продукции с коротким сроком службы, в основном менее шести месяцев, по сравнению с отходами строительной отрасли, где средний срок службы составляет 35 лет [2, 4].

В настоящее время остро стоит проблема загрязнения пластиком окружающей среды, во многих регионах загрязнение достигло критического предела. Необходим переход с неразлагаемых нефтехимических пластмасс на более дешевые разлагаемые полимеры. Полигидроксиалканоаты (ПГА), синтезируемые микроорганизмами и подверженные биодegradации, могут стать отличной заменой синтетическим пластмассам [10, 26]. Свойства ПГА зависят от химического состава, однако эти полиэфиры показывают хорошие барьерные свойства и механическую прочность, пригодные для производства высококачественных биоразлагаемых упаковочных материалов. Ожидается, что ПГА найдет широкое применение не только в области пищевой упаковки, но и при создании биомедицинских продуктов и препаратов для сельского хозяйства [37, 47, 52].

При разработке упаковочных материалов важными параметрами, характеризующими биосовместимость образцов при контакте с микроорганизмами, являются свойства поверхности. В целом, модификация

поверхности пленок или компонентов, производимых в качестве упаковочных материалов для пищевых продуктов, необходима для улучшения их поверхностных свойств с точки зрения предотвращения роста бактерий [27]. Шероховатость поверхности на уровне нанометров может определять адгезию [48]. Поэтому для модификации поверхностных свойств изделий из ПГА используются различные методы, включая лазерную обработку.

Цель работы заключалась в сравнении адгезивных свойств плёнок из полигидроксиалканоатов разного химического состава после лазерной обработки.

В ходе работы были поставлены следующие задачи:

1. Сравнить способность к адгезии клеток микроорганизмов *Escherichia coli* и *Micrococcus luteus* на поверхности плёнок гомополимера 3-гидроксибутирата (ПЗГБ), синтезированного на глицерине или глюкозе в качестве основного С-субстрата, а также плёнок сополимера 3-гидроксибутирата и 3-гидроксиивалерата (ПЗГБ/ЗГВ) с содержанием ЗГВ 10 мол.% и 82 мол.%;

2. Оценить влияние различных вариантов лазерной обработки плёнок из полигидроксиалканоатов на способность к адгезии клеток микроорганизмов *Escherichia coli* и *Micrococcus luteus*;

3. Сравнить взаимодействие клеток грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов с образцами плёнок.

1. Обзор литературы

1.1 Экологическая проблема использования синтетических пластиков

1.1.1 Использование пластика в качестве упаковочных материалов

Использование синтетических пластиков на основе продуктов нефтедобычи имеет ряд преимуществ по сравнению с другими материалами благодаря своим свойствам: ударная вязкость, устойчивость к деградации, лёгкость, гибкость и упругость. Они обладают функциональностью, большим разнообразием и широким спектром применения в пищевой промышленности, сельском хозяйстве, фармацевтике и медицине. Поэтому полимеры на нефтяной основе являются такими популярными и востребованными [20]. В течение десятилетий обычные пластмассы, полученные из ископаемых источников, использовались в самых разных отраслях из-за их долговечности, стойкости и низкой стоимости. Однако в последние годы их использование вызывает всё больше проблем из-за быстрой утилизации и медленной деградации [12].

Чрезмерное использование синтетических пластмасс привело к серьезному пагубному воздействию на окружающую среду. Прочность и общая устойчивость к разрушению синтетических пластиков приводит к тому, что при утилизации они сохраняются в окружающей среде в течение длительного неопределенного периода времени, загрязняя не только почву, но и водные экосистемы. По оценкам, десять миллионов тонн синтетических пластмасс ежегодно выбрасывается в океан, их накопление в водоемах угрожает выживанию морской жизни.

В настоящее время одной из основных экологических проблем стало избавление от накопления полимерных отходов. По данным ООН ежегодно человечество производит 300 млн тонн пластиковых отходов, большинство из которых являются небиоразлагаемыми и неперерабатываемыми пластиками, и

лишь около 9% подвергаются переработке, 12% отходов сжигается, а оставшаяся часть накапливается на свалках или выбрасывается в окружающую среду [50]. В 2019 году объем пластиковой упаковки превысил 15 млн. т., что на 26% больше по сравнению с 2009 годом. Независимо от глобальных политических и экономических процессов или пандемий, необходимость сокращения отходов и вызванного ими загрязнения окружающей среды остается очень актуальной [44].

Так как использование пластмасс затрагивает многие сферы жизни, то из-за наличия покрытий, наполнителей и красящих материалов, сортировка является очень проблематичной и, соответственно, переработка является сложным медленным процессом, зависящим от множества характеристик. Сжигание пластика также не является подходящим способом их утилизации из-за выделения большого объема высокотоксичных соединений, а разложение пластмасс длится десятки и сотни лет [20, 37, 53].

Таким образом, существующие упаковочные материалы (в основном состоящие из синтетических полимеров на нефтяной основе) сталкиваются с проблемами окружающей среды и утилизации, и в результате разработка экологически чистых и биологических нанокompозитов в качестве альтернатив послужила стимулом для академических и промышленных исследований [41].

1.1.2 Аналоги синтетических пластмасс

Существует большой спрос на пластиковые материалы из-за вышеперечисленных свойств. Однако озабоченность потребителей по поводу ущерба окружающей среде в результате неправильной утилизации отходов и ограниченных ресурсов нефтехимической промышленности привела к разработке биоразлагаемых пленок в качестве альтернативы обычным пластиковым материалам [36].

Сейчас одной из современных тенденций является производство экологически чистой биodeградируемой упаковки. На данный момент в Японии

и Европе самое благополучное экологическое состояние. В Европе инфраструктура переработки упаковочных материалов развилась благодаря четкой законодательной базе ЕС. В Японии были введены законы по переработке пластмасс. Китай хоть и лидирует среди всех стран по потреблению пластмасс, однако до 80% вторичных полимерных отходов перерабатывается. К сожалению, в России ситуация обстоит намного хуже, до сих пор нет конкретных законов по переработке пластмасс, практически не организована вторичная переработка полимеров, часто появляются несанкционированные свалки [51, 55, 61].

Использование биополимеров вместо синтетических пластмасс может способствовать решению не только проблемы защиты экологической среды, но и рациональной утилизации. Компоненты, из которых создаются современные биоразлагаемые пластики, можно разделить на три основные категории: полимолочная кислота (ПЛА), полигидроксиалканоаты (ПГА) и природные термопластичные биополимеры.

ПЛА считается одним из наиболее перспективных биоразлагаемых полиэфиров, который получают путем ферментации возобновляемого и биоразлагаемого сахарного сырья (кукуруза, сахарный тростник и т.д.) [29]. Хотя ПЛА имеет низкую ударопрочность и ограниченные барьерные и термические свойства, в настоящее время этот полиэфир составляет более пятой части всего рынка биопластиков и в основном используется в производстве протезов, а также различных типов упаковки. ПЛА может полностью заменить полиэтилен высокого давления (ПВД), полиэтилен низкого давления (ПНД) и полиэтилентерефталат (ПЭТ) в качестве упаковочного материала [15, 45].

Что касается ПГА, то они имеют большой потенциал, и объем его рынка в ближайшем будущем значительно увеличится, но в настоящее время их производство все еще достаточно дорогое. Однако ПГА могут быть использованы в качестве альтернативы некоторым традиционным синтетическим полимерам (полипропилен, полиэтилен) благодаря своим

сходным химическим и физическим свойствам. Например, наиболее желательным свойством ПГА как упаковочного материала является его низкая паропроницаемость, сравнимая с ПВД, в то время как другие свойства аналогичны полистиролу [15, 46].

Для получения термопластичных биополимеров полимеры природного происхождения (в основном крахмал) смешивают с пластификаторами (например, сорбитом, глицерином). Примерно 50% коммерчески используемых биопластиков получены из крахмала. Биопластики на его основе не сложны в производстве и широко используются для упаковки [22]. При добавлении пластификаторов крахмал становится термопластичным и может использоваться в качестве заменителя полистирола.

В производстве биопластиков также часто используют целлюлозу, являющейся самым распространенным в природе полисахаридом, из которого можно изготовить целлофановую плёнку. А также целлюлозные волокна используют как пластификатор, добавляя к крахмалу, что делает материал менее гидрофильным и значительно улучшает механические свойства и газопроницаемость [28].

Все вышеперечисленные биопластики могут заменить пластмассы на нефтяной основе в пищевой промышленности (упаковочные материалы), сельском хозяйстве (разрушаемые пленки, обволакиватели семян), фармакологии, медицине и тканевой инженерии [60]. В 2019 году производство биополимеров составило в среднем 2 млн тонн, что составляет почти 0,5% от общего объема производимого пластика в мире (400 млн тонн). Ожидается, что к 2024 г. общее количество полимеров на биооснове увеличится как минимум до 3,1 млн тонн (из них 1,7 биоразлагаемых) [23].

1.2 Биоразлагаемая полимерная упаковка

В настоящее время в мире существует более 100 различных биоразлагаемых полимеров, для которых основным сырьем служат углеводороды, углеводы, животное и растительное сырье [51].

Биополимеры обычно представляют собой полимерные биомолекулы, соответствующим следующим определениям: естественно разлагаемые вещества, происходящие из живых микроорганизмов; изготовлены из органических природных ресурсов; материалы на основе синтетических путей, полученных из биологических ресурсов. Биоразлагаемые упаковочные материалы можно разделить на четыре группы в зависимости от их источника:

1. природные биополимеры (агар, целлюлоза, коллаген, хитозан, гепарин, гиалуроновая кислота, фибрин);
2. природные биополимеры микробного производства или ферментации (поли(3-гидроксibuтират), поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерат));
3. синтетические биополимеры, синтезированные традиционным и химическим путем из биомассы (поли(молочная кислота));
4. синтетические биоразлагаемые полимеры, синтезированные традиционным и химическим путем из нефти (полигликолевая кислота, поливиниловый спирт) [33, 56].

Согласно Международной организации по стандартизации (ISO), пластмассы должны претерпевать значительные изменения в своей химической структуре под действием естественных микроорганизмов, чтобы считаться биоразлагаемыми.

Материал считается биоразлагаемым, если соответствует следующим понятиям:

1. Биоразлагаемость – это биологический процесс, в ходе которого органические вещества полностью преобразуются микроорганизмами в CO₂, воду, метан, энергию или новую биомассу;

2. Возобновляемость – это свойство ресурса, который может быть регенерирован в течение двух поколений, с преимуществами снижения выбросов CO₂ и независимости от невозобновляемых ресурсов, таких как природный газ и нефть;

3. Компостируемость – это свойство материала преобразовываться в течение определённого периода времени в контролируемых условиях (например, компостные кучи) [57].

Биополимеры представляют собой термопластичные материалы, поэтому они обладают такими преимуществами, как короткое время обработки, возможность вторичной переработки, а также способность к биоразложению. Помимо повторного использования или переработки, биополимеры предлагают дополнительные варианты восстановления, такие как компостирование. Будучи полностью интегрированными в естественные циклы или нейтральное сжигание диоксида углерода (CO₂), они решают экологическую проблему загрязнения пластика [3, 5]. Наиболее перспективными являются оксо- и гидроразлагаемые полимерные упаковки. Эти плёнки саморазлагаются и под воздействием факторов окружающей среды, таких как свет, кислород и вода, превращаются в компоненты, не представляющие опасности для здоровья человека и окружающей среды [49].

1.3 Характеристика полигидроксиалканоатов как альтернативного упаковочного материала

В данном исследовании были использованы полимеры гидроксипроизводных алкановых кислот – полигидроксиалканоаты, синтезируемые бактериальными клетками или генетически модифицированными организмами. Они обладают уникальными физико-химическими свойствами, практически не уступающими свойствам синтетических углеводородных полимеров: барьерные и антиоксидантные свойства, гибкость, термопластичность, биоразрушаемость и

биосовместимость. В дополнение к указанному, в естественных условиях полигидроксиалканоаты подвергаются полному разложению за определённый промежуток времени, зависящий от состава полимера [44, 48, 59].

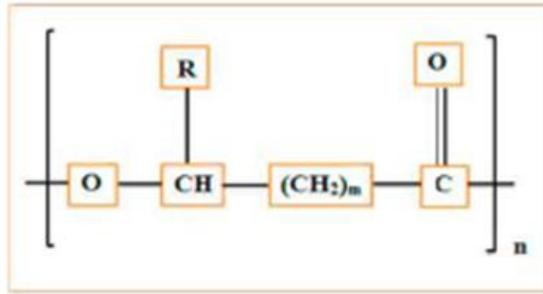
Также эти материалы обладают определёнными механическими свойствами, сравнимыми с полипропиленом и полиэтиленом, но имеют гораздо меньшее удлинение при разрыве и являются более хрупкими [21].

Семейство полимеров ПГА считается биоразлагаемым, нетоксичным, экологически безопасным и может производиться из возобновляемых ресурсов. В настоящее время полимеры ПГА могут конкурировать с обычными пластиками благодаря своим характеристикам, которые могут включать высокую степень кристалличности полимеризации и нерастворимость в воде.

Так же ПГА коммерчески доступны в качестве упаковочных материалов, но, как ни удивительно, они также используются в качестве материалов в медицинском секторе. Более низкое воздействие ПГА на окружающую среду делает их идеальной альтернативой нефтехимическим полимерам, особенно в области упаковки и покрытий [7, 16].

1.4 Химическая структура полигидроксиалканоатов

ПГА имеют в своём составе несколько групп R-гидроксиалкановых кислот. Боковая группа (R) представляет собой цепь, которая может варьироваться от метильной (C1) до тридецильной группы (C13). Вариабельность замещения боковой цепи связана с широким спектром ПГА с различными свойствами и применениями. Заместитель группы R в ПГА может быть химически изменён путём смешивания ненасыщенных связей [25, 41]. Схема основной структуры ПГА показана на рисунке 1.



R - ацильная группа, которая может содержать 1-13 атомов углерода;

m - 1, 2 или 3;

n - от 100 до многих тысяч

Рисунок 1 – Основная структура ПГА

ПГА обычно делят на три группы: ПГА с короткой цепью, содержащей не более пяти атомов углерода (например, Поли-3-гидроксибутират, поли-3-гидроксиивалерат), ПГА со средней длиной цепи, содержащей от 6 до 14 атомов углерода (например, поли-3-гидроксиоктаноат, 3-гидроксигексаноат, 3-гидроксигептаноат, 3-гидроксидеканоат и др.), и ПГА с длинной цепью, содержащей более 14 атомов углерода в основной цепи (например, мономеры 3-гидроксигексадекановой кислоты, а также 3-гидроксиоктадекановой кислоты) [17, 39].

В настоящее время известно более 150 различных мономерных звеньев, позволяющих получать ПГА с различными свойствами. ПГА представляют собой полукристаллические полимеры, и их термические свойства изменяются в зависимости от природы мономерного звена [23].

Поли(3-гидроксибутират) (ПЗГБ) – один из наиболее изученных и охарактеризованных микробных биополимеров из семейства полигидроксиалканоатов (ПГА). Его основными характеристиками являются быстрая биоразлагаемость, низкая токсичность и биосовместимость. Получают ПЗГБ путем бактериальной ферментации, которая протекает в присутствии разнообразных бактерий в качестве внутриклеточного резервного материала.

Известно, что по меньшей мере 75 родов бактерий накапливают ПЗГБ, однако наиболее широко используемым организмом является *Alcaligenes eutrophus*, поскольку он легко выращивается на простой среде и его физиология и биохимия хорошо изучены [9, 54]. Мировое производство ПГА составляет примерно 100 тонн в год, и ожидается, что к 2020 году оно вырастет до 500 000 тонн в год [1].

Тем не менее, использование ПЗГБ было ограничено из-за ряда недостатков, таких как высокая температура плавления, хрупкость из-за высокой кристалличности, низкая температура термического разложения и относительно высокая паропроницаемость [6, 33]. Коммерциализация ПЗГБ будет затруднена до тех пор, пока не будут улучшены его свойства. При добавлении звеньев 3-гидроксивалерата (ЗГВ) в ПЗГБ может быть получен поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерат) (ПЗГБ/ЗГВ), который демонстрирует более низкую температуру плавления и кристалличность по сравнению с ПЗГБ. Однако данный биополимер обладает недостатками – малое удлинение при разрыве и хрупкость [24, 57]. Эти проблемы могут быть решены путем внутренней/внешней пластификации для повышения ударной вязкости, пластичности и удлинения при разрыве; из многих попыток внутренней пластификации ПЗГБ были разработаны сополимеры с 3-гидроксивалератом, 4-гидроксibuтиратом и 3-гидроксиалканоатом с использованием метода бактериальной ферментации. Эти сополимеры, по сравнению с чистым ПЗГБ, обладают лучшими физико-механическими свойствами [11].

Из всех биоразлагаемых пластиков ПЗГБ и ПЗГБ/ЗГВ являются единственными полностью биоразлагаемыми биополимерами, в то время как поли(молочная кислота) не является биоразлагаемым биополимером в любой среде. Она компостируется только внутри промышленного оборудования, демонстрируя очень небольшую минерализацию в большинстве сред. ПЗГБ, ПЗГБ/ЗГВ могут представлять собой многообещающую альтернативу, демонстрирующую экологически чистые характеристики (более низкое

потребление энергии, возобновляемые источники, более низкие выбросы углерода, возможность вторичной переработки, биоразлагаемость) и потенциал для создания биоразлагаемой пищевой упаковки [34].

1.5 Микробиологический синтез полигидроксиалканоатов

ПГА представляют собой биополиэфиры, которые естественным образом накапливаются внутри клеток в широком диапазоне микроорганизмов, таких как клетки бактерий и архей [13, 58]. ПГА производятся путем бактериальной ферментации из растительных сахаров, например, глюкозы. Раньше они не пользовались популярностью среди производителей из-за своей дороговизны, однако предпринимаются попытки снизить затраты производства этих полимеров за счет сбраживаемых сахаров, получаемых из относительно дешевых ресурсов, например, из травы, которая растет в американских прериях [43] или мелассы – отхода при производстве сахара из сахарной свёклы [19]. ПГА синтезируются из таких С-субстратов, как глицерин, жирные кислоты, пальмовое масло, подсолнечное масло и других источниках. При этом тип источника углерода определяет не только состав и молекулярную массу ПГА, но также микроструктуру поверхности и пористость полимерных пленок [42]. Поскольку ПГА нерастворимы в воде, они образуют тельца включения, так называемые гранулы, которые могут составлять до 90% сухого вещества клеток.

Гомополимер или гетерополимер ПГА – это тип биополимерного вещества, которое синтезируется и собирается в цитоплазме различных типов микроорганизмов [32]. В зависимости от условий культивирования штаммы, образующие ПГА, обычно делятся на две группы. Первая группа включает такие виды, как *Ralstonia eutropha* (переименованный в *Cupriavidus necator*), *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas oleovorans* и *Protomonas extorquens*. Они накапливают ПГА при ограничении питательных веществ, таких как фосфор, азот, кислород и магний, и не способны синтезировать ПГА в течение периодов

роста. Вторая группа не требует ограничения питательных веществ, они способны накапливать ПГА различного состава во время фазы роста. К этой группе относят *Alcaligenes latus*, мутантный штамм *Azotobacter vinelandii* и рекомбинантная *Escherichia coli*. Условия культивирования для биосинтеза ПГА являются важным критерием для разработки методов культивирования для крупномасштабного производства ПГА [18, 30, 40].

Микроорганизмы, продуцирующие ПГА, обладают широким органотрофным потенциалом, их можно выращивать на различных субстратах, включая индивидуальные соединения и комбинированные источники углерода. В настоящее время преобладающим источником углерода для производства ПГА являются сахара, однако они имеют недостатки с точки зрения выхода ПГА, например, выход ПГА из глюкозы составляет всего 0,3 - 0,4 г. ПГА на грамм используемой глюкозы. Теоретические коэффициенты выхода ПГА, получаемого из растительных масел, достигают более 1,0 г. ПГА на грамм используемого субстрата. Причина высокого выхода заключается в том, что растительные масла содержат гораздо большее количество атомов углерода на единицу массы [35]. Кроме того, в последнее десятилетие глобальное расширение производства биодизеля привело к массовому производству глицерина. Это снизило цену на глицерин и соответственно сделало его более интересным и доступным источником углерода для бактериальной ферментации [14]. Глицерин является побочным продуктом при производстве биодизеля путем переэтерификации животных и растительных масел и жиров. Количество примесей в глицерине зависит от степени его чистоты [35].

Поскольку микроорганизмы обладают различными физиологическими свойствами и чувствительностью к примесям, которые содержатся в сыром глицерине, общая производительность процесса и выход полимера могут быть снижены, а также в большей или меньшей степени изменить свойства полимера. Например, в недавней работе Shishatskaya E. et al. (2021) было показано как изменяются свойства полученного ПЗГБ в зависимости от используемого субстрата [31]. При использовании глицерина, образцы ПЗГБ,

который обычно считаются высококристаллическим полимером, показали иное соотношение аморфных и кристаллических областей, то есть у ПЗГБ, синтезированного из глицерина, была снижена степень кристалличности. Помимо этого, образцы имели более низкую молекулярную массу, однако температуры плавления и температуры термического разложения были аналогичны соответствующим параметрам П(ЗГБ), синтезированных из глюкозы. Выбор субстрата также повлиял на свойства поверхности плёнок. Образцы ПЗГБ, синтезированного из глюкозы, имели гладкую поверхность, поры практически отсутствовали. Свойства поверхности образцов ПЗГБ, синтезированного из глицерина, отличались в зависимости от типа глицерина. При использовании очищенного субстрата с низким содержанием примесей, поверхность была шероховатой с крупными складками и порами, а плёнки ПЗГБ из сырого глицерина показали поверхностные свойства схожие со свойствами плёнок ПЗГБ из глюкозы, однако имела небольшие складки.

Таким образом, и глюкоза, и глицерин являются перспективными субстратами для биотехнологии, в том числе для синтеза разлагаемых биополимеров, однако нужно учитывать изменения в структуре полимера при использовании различных типов субстратов. В зависимости от доступного источника углерода и биохимических процессов, происходящих в клетке, микроорганизмы могут синтезировать различные типы ПГА. Например, в США и Китае используют природные штаммы *Ralstonia eutropha* для получения сополимеров П(ЗГБ/4ГБ), в Германии и Австрии синтезируют П(ЗГБ) с помощью природных штаммов *Alcaligenes latus* [38]. В настоящее время возможно синтезировать широкий спектр гомополимеров и сополимеров ПГА с определенным составом и соответствующими свойствами.

2. Материалы и методы

2.1 Объекты исследования

Объектами исследования служили четыре образца плёнок: из сополимера 3-гидроксibuтирата и 3-гидроксивалерата (ПЗГБ/ЗГВ) с содержанием ЗГВ 10 мол.% и 82 мол.%, из поли(3-гидроксibuтирата) (ПЗГБ), синтезированного на разных субстратах: глюкоза или глицерин. К каждому образцу плёнки была применена лазерная обработка в четырёх вариантах: расстояние между полосами 0,5 мм; 0,4 мм; 0,3 мм; 0,2 мм (рис. 2). Расстояние самих полос составляло 150 мкм. В качестве контроля была взяты плёнки тех же составов без обработки лазером.

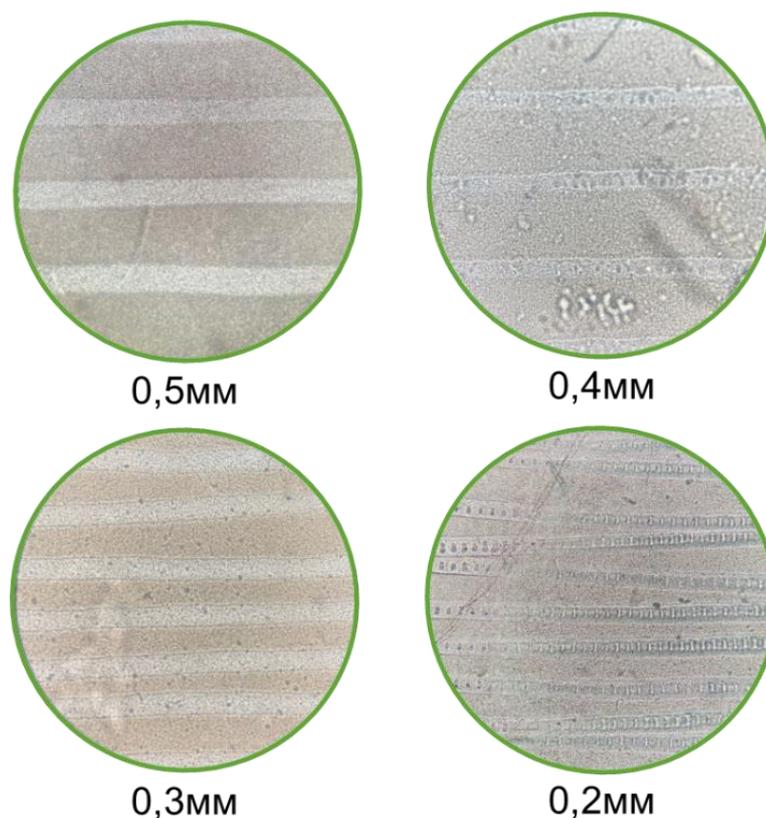


Рисунок 2 – Микрофотографии плёнок, обработанных лазером на разном расстоянии

Образцы плёнок были получены в Лаборатории инновационных препаратов и материалов ИФБиТ. Данные по физико-химическим свойствам плёнок (табл. 1) были предоставлены А.Е. Дудаевым.

Таблица 1 – Физико-химические свойства поверхности плёнок

| Тип лазерной обработки | Свойства | Тип образца | | | |
|-------------------------------|------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|--------------------|
| | | ПЗГБ/ЗГВ 10 мол %. | ПЗГБ/ЗГВ 82 мол %. | ПЗГБ С-глюкоза | ПЗГБ С-глицерин |
| Исходные, без обработки | угол | 91,0 ± 1,1 | 99,3 ± 2,8 | 86,4 ± 1,3 | 89,2 ± 0,5 |
| | полярная | 1,5 ± 0,1 | 0,10 ± 0,03 | 2,2 ± 0,1 | 1,90 ± 0,03 |
| | дисперсная | 35,2 ± 0,3 | 38,0 ± 0,3 | 38,4 ± 0,3 | 35,5 ± 0,2 |
| 0,5 мм между линиями | угол | 83,0 ± 1,3 | 86,6 ± 3,2 | 73,9 ± 1,5 | 84,8 ± 4,5 |
| | полярная | 3,6 ± 0,1 | 2,4 ± 0,1 | 5,8 ± 0,2 | 2,6 ± 0,2 |
| | дисперсная | 35,8 ± 0,7 | 36,7 ± 0,4 | 41,2 ± 0,7 | 38,6 ± 0,4 |
| 0,4 мм между линиями | угол | 75,1 ± 2,7 | 91,3 ± 2,6 | 77,2 ± 1,6 | 75,1 ± 4,5 |
| | полярная | 6,0 ± 0,2 | 1,6 ± 0,1 | 5,4 ± 0,1 | 5,7 ± 0,2 |
| | дисперсная | 38,4 ± 0,5 | 34,5 ± 0,2 | 37,4 ± 0,4 | 39,8 ± 0,3 |
| 0,3 мм между линиями | угол | 84,7 ± 2,1 | 88,6 ± 1,5 | 80,2 ± 1,6 | 97,4 ± 2,4 |
| | полярная | 2,4 ± 0,1 | 2,0 ± 0,1 | 3,9 ± 0,1 | 0,5 ± 0,1 |
| | дисперсная | 39,6 ± 0,6 | 36,2 ± 0,2 | 39,4 ± 0,1 | 34,1 ± 0,5 |
| 0,2 мм между линиями | угол | 81,7 ± 3,2 | 88,9 ± 2,8 | 74,2 ± 1,1 | 83,7 ± 2,0 |
| | полярная | 3,0 ± 0,1 | 1,9 ± 0,1 | 6,0 ± 0,1 | 2,9 ± 0,1 |
| | дисперсная | 41,3 ± 0,2 | 36,1 ± 0,1 | 39,8 ± 0,2 | 38,8 ± 0,6 |

Угол контакта (смачивания) важен везде, где необходимо проверить или оценить интенсивность фазового контакта между жидкими и твердыми веществами. Угол смачивания — это угол, образованный поверхностью жидкости и поверхностью твердого тела, на которое жидкость нанесена. Этот показатель зависит от свойств жидкости, поверхности твердого тела и состояния окружающей среды. В зависимости от величины угла смачивания выделяют гидрофильные и гидрофобные поверхности. Если угол смачивания менее 90° , то поверхность называется гидрофильной, и жидкость по такой поверхности растекается сильно. Углы до 60° можно назвать сверхгидрофильными, вода растекается по поверхности полностью. Твердые тела, угол смачивания на которых равен или превышает 90° , называются гидрофобными. Капли жидкости на гидрофобных поверхностях округляются и площадь контакта становится все меньше.

Дисперсность так же влияет на смачиваемость и соответственно адгезию. Например, алканы и некоторые пластмассы, такие как полиэтилен или полипропилен, образуют исключительно дисперсные взаимодействия. Это является причиной плохой смачиваемости многих пластмасс водой.

2.2. План эксперимента

В работе были исследованы адгезивные свойства плёнок с помощью тестовых культур бактерий: грамотрицательных — *Escherichia coli* и грамположительных — *Micrococcus luteus*. Суспензию бактерий готовили в стерильном мясопептонном бульоне, титр клеток составлял $1 \cdot 10^8$ кл/мл (0,5 ед. по МакФарланду). Оптическую плотность измеряли с помощью денситометра модели DEN-1 (Biosan, Латвия).

Из образцов плёнок вырезали диски диаметром 1 см, дезинфицировали 70% этанолом в течение 5 минут, трижды промывали стерильной водой и раскладывали в 12-луночные планшеты (TPP, Швейцария) (рис. 3). В лунки

асептически вносили по 1 мл бактериальной суспензии. Затем планшеты помещали в термостат и инкубировали сутки при 30 °С.

Спустя сутки каждый образец плёнки трижды промывали в стерильной воде, чтобы отмыть не закрепившиеся клетки. Затем образцы помещали в пробирки типа Эппендорф с коническим дном и встряхивали в стерильном изотоническом растворе NaCl с помощью Bio Vortex V1 (Biosan, Латвия) в течение трёх минут, чтобы отделить адгезированные клетки бактерий.



Рисунок 3 – Образцы плёнок, помещённые в 12-луночный планшет

Из полученной бактериальной суспензии делали разведения 10^1 - 10^6 и высевали по 100 мкл на среду Эндо для *Escherichia coli* и на мясопептонный агар для *Micrococcus luteus*. Перед посевом разливали питательные среды в стерильные чашки Петри по 20-25 мл в каждую. Чашки оставляли в ламинарном шкафу до полного застывания среды. Для засева чашек Петри использовали стерильные шпатели Дригальского. Гладкая поверхность шпателя обеспечивала равномерный посев микроорганизмов на чашках Петри без повреждения агара. Затем чашки Петри убирали в термостат на сутки при 30 °С. Подсчёт выросших колоний производили на 2-5 сутки.

2.3. Статистическая обработка данных

Обработку данных производили с использованием Microsoft Excel 2020. Полученные результаты представлены в виде среднего арифметического и ошибка среднего.

3. Результаты

Страницы 23-30 изъяты в связи с авторским правом

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данной работы было установлено:

1. Увеличение содержания мономера 3-гидроксивалерата в составе сополимера ПЗГБ/ЗГВ не повлияло на адгезию клеток *Micrococcus luteus* на плёнках, но снизило количество адгезированных клеток *Escherichia coli* в 1,3 раза. С-субстрат не повлиял на адгезивные свойства плёнок из гомополимера ПЗГБ, результаты контакта обоих видов микроорганизмов достоверно не различались.

2. Лазерная обработка оказала влияние на адгезивные свойства плёнок из полигидроксиалканоатов. Количество бактерий *M. luteus*, адгезированных на поверхности плёнок, обработанных лазером, уменьшалось по сравнению контрольными необработанными плёнками.

3. При контакте с бактериями *E. coli* в большинстве случаев адгезия клеток на обработанной поверхности не отличалась от значений в контроле, однако лазерная обработка на расстоянии между полосами 0,2 мм значительно снижала количество микроорганизмов.

4. Вид микроорганизма повлиял на результаты: адгезивные способности у грамотрицательных бактерий были выше, чем у грамположительных. Количество клеток *E. coli* на поверхности плёнок разного типа полимеров на два порядка превышало количество *M. luteus*.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Alves M. I. et al. Poly (3-hydroxybutyrate)-P (3HB): Review of production process technology //Industrial Biotechnology. – 2017. – V. 13. – №. 4. – P. 192-208.
2. Arias A., Feijoo G., Moreira M. T. Establishing the multi-criteria roadmap and metrics for the evaluation of active films for food packaging //Current Research in Green and Sustainable Chemistry. – 2021. – V. 4. – P. 100-160.
3. Arrieta M. P. et al. Effect of chitosan and catechin addition on the structural, thermal, mechanical and disintegration properties of plasticized electrospun PLA-PHB biocomposites //Polymer degradation and stability. – 2016. – V. 132. – P. 145-156.
4. Awasthi S. K. et al. A comprehensive review on recent advancements in biodegradation and sustainable management of biopolymers //Environmental Pollution. – 2022. – C. 119600.
5. Barkoula N. M., Garkhail S. K., Peijs T. Biodegradable composites based on flax/polyhydroxybutyrate and its copolymer with hydroxyvalerate //Industrial Crops and Products. – 2010. – V. 31. – №. 1. – P. 34-42.
6. Bhati R., Mallick N. Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer production by the diazotrophic cyanobacterium *Nostoc muscorum* Agardh: Process optimization and polymer characterization //Algal Research. – 2015. – T. 7. – C. 78-85.
7. Branciforti M. C. et al. Crystallinity study of nano-biocomposites based on plasticized poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) with organo-modified montmorillonite //Polymer testing. – 2013. – V. 32. – №. 7. – P. 1253-1260.
8. Brigham C. Biopolymers: Biodegradable alternatives to traditional plastics //Green chemistry. – 2018. – P. 753-770.
9. Bucci D. Z., Tavares L. B. B., Sell I. PHB packaging for the storage of food products //Polymer testing. – 2005. – V. 24. – №. 5. – P. 564-571.

10. Chen G. Q. et al. Polyhydroxyalkanoates (PHA) toward cost competitiveness and functionality //Advanced Industrial and Engineering Polymer Research. – 2020. – T. 3. – №. 1. – C. 1-7.
11. Choi J. S., Park W. H. Effect of biodegradable plasticizers on thermal and mechanical properties of poly (3-hydroxybutyrate) //Polymer testing. – 2004. – V. 23. – №. 4. – P. 455-460.
12. da Costa R. C. et al. Poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)-based nanocomposites for antimicrobial active food packaging containing oregano essential oil //Food Packaging and Shelf Life. – 2020. – V. 26. – P. 100602.
13. Fernandes M. et al. Factors affecting polyhydroxyalkanoates biodegradation in soil //Polymer Degradation and Stability. – 2020. – V. 182. – P. 109408.
14. Hsiao L. J. et al. The production of poly (3-hydroxybutyrate) by thermophilic *Caldimonas manganoxidans* from glycerol //Journal of Polymer Research. – 2018. – T. 25. – C. 1-8.
15. Jabeen N., Majid I., Nayik G. A. Bioplastics and food packaging: A review //Cogent Food & Agriculture. – 2015. – T. 1. – №. 1. – C. 1117749.
16. Jendrossek D., Pfeiffer D. New insights in the formation of polyhydroxyalkanoate granules (carbonosomes) and novel functions of poly (3-hydroxybutyrate) //Environmental microbiology. – 2014. – V. 16. – №. 8. – P. 2357-2373.
17. Kaur G., Roy I. Strategies for large-scale production of polyhydroxyalkanoates //Chemical and biochemical engineering quarterly. – 2015. – T. 29. – №. 2. – C. 157-172.
18. Kaur L. et al. Polyhydroxyalkanoates: Biosynthesis to commercial production-A review //Journal of Microbiology, biotechnology and Food sciences. – 2021. – T. 2021. – C. 1098-1106.
19. Kiselev E. G., Demidenko A. V., Zhila N. O., Shishatskaya E. I., Volova T. G. Sugar beet molasses as a potential C-substrate for PHA production by *Cupriavidus necator* // Bioengineering. – 2022. – Vol. 9. - № 4. – P. 154.

20. Kumar M. et al. Bacterial polyhydroxyalkanoates: Opportunities, challenges, and prospects //Journal of Cleaner Production. – 2020. – V. 263. – P. 121500.
21. Laycock B. et al. The chemomechanical properties of microbial polyhydroxyalkanoates //Progress in polymer science. – 2013. – T. 38. – №. 3-4. – C. 536-583.
22. Marichelvam M. K., Jawaid M., Asim M. Corn and rice starch-based bioplastics as alternative packaging materials //Fibers. – 2019. – T. 7. – №. 4. – C. 32.
23. Mehrpouya M. et al. Additive manufacturing of polyhydroxyalkanoates (PHAs) biopolymers: Materials, printing techniques, and applications //Materials Science and Engineering. – 2021. – V. 127. – P. 112216.
24. Meng D. C. et al. Production of poly (3-hydroxypropionate) and poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxypropionate) from glucose by engineering Escherichia coli //Metabolic Engineering. – 2015. – V. 29. – P. 189-195.
25. Michalski M. C. et al. Adhesion of food emulsions to packaging and equipment surfaces //Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 1999. – V. 149. – №. 1-3. – P. 107-121.
26. Mlalila N. et al. Antimicrobial packaging based on starch, poly (3-hydroxybutyrate) and poly (lactic-co-glycolide) materials and application challenges //Trends in Food Science & Technology. – 2018. – V. 74. – P. 1-11.
27. Ortiz R. et al. Picosecond laser ablation of polyhydroxyalkanoates (PHAs): Comparative study of neat and blended material response //Polymers. – 2020. – T. 12. – №. 1. – C. 127.
28. Porta R. The plastics sunset and the bio-plastics sunrise //Coatings. – 2019. – T. 9. – №. 8. – C. 526.
29. Sanyang M. L. et al. Development and characterization of sugar palm starch and poly (lactic acid) bilayer films //Carbohydrate polymers. – 2016. – T. 146. – C. 36-45.

30. Shahid S. et al. Polyhydroxyalkanoates: Next generation natural biomolecules and a solution for the world's future economy //International Journal of Biological Macromolecules. – 2021. – V. 166. – P. 297-321.
31. Shishatskaya E. et al. Polymer films of poly-3-hydroxybutyrate synthesized by *Cupriavidus necator* from different carbon sources //Journal of Polymers and the Environment. – 2021. – T. 29. – C. 837-850.
32. Singh A. K. et al. Biomedical applications of microbially engineered polyhydroxyalkanoates: An insight into recent advances, bottlenecks, and solutions //Applied microbiology and biotechnology. – 2019. – T. 103. – C. 2007-2032.
33. Smith M.K.M. et al. Sustainable composites from poly (3-hydroxybutyrate)(PHB) bioplastic and agave natural fibre //Green Chemistry. – 2020. – V. 22. – №. 12. – P. 3906-3916.
34. Stoica M. et al. The financial impact of replacing plastic packaging by biodegradable biopolymers-a smart solution for the food industry //Journal of Cleaner Production. – 2020. – V. 277. – P. 124013.
35. Tsuge T. et al. Effect of glycerol and its analogs on polyhydroxyalkanoate biosynthesis by recombinant *Ralstonia eutropha*: a quantitative structure–activity relationship study of chain transfer agents //Polymer degradation and stability. – 2013. – T. 98. – №. 9. – C. 1586-1590.
36. Tyagi P. et al. Advances in barrier coatings and film technologies for achieving sustainable packaging of food products—a review //Trends in Food Science & Technology. – 2021. – V. 115. – P. 461-485.
37. 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.
38. Volova T. G. Modern Biomaterials: World Trends, Place and Role of Microbial Polyhydroxyalkanoates (PHAs) //Journal of Siberian Federal University. Biology. – 2014. – T. 7. – №. 2. – C. 103.

39. Vu D. H. et al. Recycling strategies for polyhydroxyalkanoate-based waste materials: An overview //Bioresource technology. – 2020. – V. 298. – P. 122393.
40. Wang H. et al. Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate homopolymers by *Pseudomonas putida* //Applied microbiology and biotechnology. – 2011. – Т. 89. – С. 1497-1507.
41. Yu H., Yan C., Yao J. Fully biodegradable food packaging materials based on functionalized cellulose nanocrystals/poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanocomposites //Rsc Advances. – 2014. – V. 4. – №. 104. – P. 59792-59802.
42. Zhila N. O., Sapozhnikova K. Y., Kiselev E. G., Vasiliev A. D., Nemtsev I. V., Shishatskaya E. I., Volova T. G. Properties of degradable polyhydroxyalkanoates (phas) synthesized by a new strain, *Cupriavidus necator* IBP/SFU-1, from various carbon sources // Polymers. – 2021. – Vol. 13. - № 18. – P. 3142.
43. Борисов Е. В центре внимания—биоразлагаемые полимеры //The Chemical Journal. – 2005. – №. 5. – С. 68.
44. Бурак Л. Ч. Обзор разработок биоразлагаемых упаковочных материалов для пищевой промышленности //Ползуновский Вестник. – 2023. – №. 1. – С. 91-105.
45. Валеева Н. Ш., Хасанова Г. Б. Биополимеры—перспективный вектор развития полимерной промышленности //Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т. 16. – №. 22. – С. 184-187.
46. Волова Т. Г. и др. Физико-химические свойства полигидроксиалканоатов различного химического строения //Высокомолекулярные соединения. Серия А. – 2013. – Т. 55. – №. 7. – С. 775-775.
47. Гольдаде В. А. Современные тенденции развития полимерной пленочной упаковки //Полимерные материалы и технологии. – 2015. – Т. 1. – №. 1. – С. 63-70.

48. Демиденко, А. В. Технология биосинтеза полигидроксиалканоатов на глицерине и реализация опытного производства: специальность 03.01.06 «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)»: дисс. ... канд. биол. наук / Демиденко А.В.; Сибирский федеральный университет. – Красноярск, 2018. – 142 с.
49. Ермакова Е. А. Применение инновационных решений в создании экологически чистых упаковочных материалов //Сервис в России и за рубежом. – 2014. – №. 2 (49). – С. 116-121.
50. Ермолович О. А. и др. Методы оценки биоразлагаемости полимерных материалов //Биотехнология. – 2005. – №. 4. – С. 47.
51. Касьянов Г. И. Биоразрушаемая упаковка для пищевых продуктов //Вестник науки и образования Северо-запада России. – 2015. – Т. 1. – №. 1. – С. 112-119.
52. Копылова Е. В. и др. Применение биоупаковки как способ повышения экологичности пищевых производств //Национальная (всероссийская) научно-практическая конференция «Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промышленное и техническое использование». – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Камчатский государственный технический университет», 2021. – Т. 2. – №. XII. – С. 10-14.
53. Кудрякова Г. Х. и др. Биоразлагаемая упаковка в пищевой промышленности //Пищевая промышленность. – 2006. – №. 7. – С. 52-54.
54. Легонькова О. А. Биотехнология получения биополимеров для пищевой промышленности: полигидроксиалканоаты //Пищевая промышленность. – 2008. – №. 5. – С. 60-61.
55. Надыкта В. Д. Биоразрушаемая упаковка для пищевых продуктов //Электронный сетевой политематический журнал" Научные труды КубГТУ". – 2017. – №. 5. – С. 80-92.

56. Николаева Е. Д. Биополимеры для клеточной и тканевой инженерии //Журнал Сибирского Федерального Университета. Биология. – 2014. – Т. 7. – №. 2. – С. 222-233.
57. Печугина, С.А. Получение и исследование биоразлагаемых полимерных плёнок на основе сополимера поли(3-гидроксибутирата-со-3-гидроксивалерата) и трибул-о-ацетилцитрата : специальность 06.03.01 «Биология» : бакалаврская работа ; Сибирский федеральный университет. – Красноярск, 2021. – 46 с.
58. Прудникова, С.В. Экологическая роль полигидроксиалканоатов – аналога синтетических пластмасс: закономерности биоразрушения в природной среде и взаимодействия с микроорганизмами/ С. В. Прудникова, Т. Г. Волова. – Красноярск: Красноярский писатель, 2012. – 184 с.
59. Сырвачева Д. А. Синтез и свойства биоразрушаемых полигидроксиалканоатов //Сборник материалов Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспектив Свободный-2015», посвященной 70-летию Великой Победы. – С. 68.
60. Тасекеев М. С., Еремеева Л. М. Производство биополимеров как один из путей решения проблем экологии и АПК: Аналит. обзор //Алматы: НЦ НТИ. – 2009. – С. 7.
61. Татарникова Я. Н. Биоразлагаемая упаковка–альтернатива традиционным упаковочным материалам //ББК У046я43 В52 Редакционная коллегия: д-р техн. наук, проф. Владимир Алексеевич Немтинов (общая редакция); канд. техн. наук, проф. Владимир Григорьевич Мокрозуб. – 2015. – С. 306.

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующая кафедрой

 Т. Г. Волова

«16» июня 2023 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Влияние лазерной обработки на адгезивные свойства плёнок из
полигидроксиалканоатов при взаимодействии с бактериями на примере
Escherichia coli и *Micrococcus luteus*

Руководитель



д.б.н., профессор

С. В. Прудникова

Выпускник



О. И. Круглик

Красноярск 2023