

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
Заведующий кафедрой

_____ Т.Г. Волова
« _____ » _____ 2024 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Микробиологическая деградация пленок из полигидроксиалканоатов в
лабораторных и полевых условиях

06.04.01 Биологи

06.04.01.01 Микробиология и биотехнология

Руководители	_____	<u>проф., д-р биол. наук</u>	<u>С. В. Прудникова</u>
	_____	<u>доцент, канд. техн. наук</u>	<u>С. В. Барановский</u>
Выпускник	_____		<u>Е. М. Канцерева</u>
Рецензент	_____	<u>н.с., канд. биол. наук</u>	<u>Г. И. Антонов</u>

Красноярск 2024

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация на тему «Микробиологическая деградация пленок из полигидроксиалканоатов в лабораторных и полевых условиях» содержит 47 страниц текстового документа, 69 использованных источников и 20 рисунков.

Ключевые слова: биополимеры, полигидроксиалканоаты, биodeградация, почвенный микробиоценоз, фитотоксические свойства почвы.

Цель работы – оценить биodeградацию образцов пленок поли(3-гидроксибутирата) и поли(3-гидроксибутират-*co*-3-гидроксивалерата) под действием почвенных микроорганизмов в лабораторных и природных условиях.

Задачи: 1. Оценить динамику изменения массы пленок, полученных из П(ЗГБ) и П(ЗГБ-*co*-ЗГВ), при деградации в лабораторных условиях и природных условиях (в таежной, луговой и пахотной почвах). 2. Провести микробиологический анализ почвы с поверхности образцов полимерных пленок, оценить изменение численности грибов и бактерий в ходе экспозиции пленок. 3. Исследовать влияние разных концентраций П(ЗГБ) на численность и таксономический состав почвенного микробного сообщества и фитотоксические свойства почвы.

Актуальность: исследования направлены на разработку биodeградируемых и экологически чистых материалов, способных стать заменителями синтетических пластмасс.

Основные выводы и результаты исследования:

В лабораторных почвенных микроэкосистемах наиболее интенсивно происходила деградация наливных пленок П(ЗГБ), потерю 50% массы наблюдали через 30 суток. Экструзионные пленки П(ЗГБ) были подвержены более медленному разложению, чем наливные, потеря 50% массы отмечена через 90 суток. Кривые деградации наливных и экструзионных пленок П(ЗГБ-*co*-ЗГВ) имели схожий характер, потеря 50% массы была отмечена через 60 и 75 суток. В природных условиях максимальное снижение массы пленок сополимера П(ЗГБ-*co*-ЗГВ) за 10 месяцев было отмечено в пахотной почве – 10%, менее выраженное снижение наблюдали в таежной почве – 3,8%. Убыль массы пленок П(ЗГБ) в пахотной и таежной почвах составила 4,3 и 5%. В луговой почве снижение массы пленок всех типов не выходило за пределы статистической погрешности. Увеличение численности бактерий и грибов на поверхности полимерных образцов в ходе экспозиции в пахотной и таежной почвах согласуется с более быстрой деградацией пленок в почвах данных экосистем. Слабое изменение численности микроорганизмов в луговой почве привело к отсутствию значимой деградации пленок. При содержании П(ЗГБ) в почве менее 1% негативного влияния на почвенный микробиоценоз и развитие растений кресс-салата не наблюдается. Высокие концентрации П(ЗГБ) приводят к селективному воздействию на почвенный микробиоценоз в сторону увеличения доли протеобактерий и дрожжевых грибов.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	7
1.1 Пластиковое загрязнение и переход на биоразлагаемые полимеры	7
1.2 Полигидроксиалканоаты как альтернатива синтетическим полимерным материалам	9
1.3 Биосинтез полигидроксиалконатов микроорганизмами	11
1.4 Разложение полигидроксиалконатов микробным сообществом в почвах	12
1.5 Факторы, влияющие на биodeградацию полимеров в почве	14
2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	16
2.1 Объекты исследования.....	16
2.2 Исследование биodeградации образцов пленок из ПГА в лабораторных условиях	16
2.3 Исследование биodeградации образцов пленок из ПГА в природных условиях	17
2.4 Микробиологический анализ почвы	18
2.5 Определение фитотоксичности почвы, содержащей разные концентрации П(ЗГБ).....	19
3 РЕЗУЛЬТАТЫ	21
3.1 Дeградация пленок из П(ЗГБ) и П(ЗГБ- <i>co</i> -ЗГВ) в лабораторных условиях	21
3.1.1 Динамика изменения массы пленок при деградации в лабораторных условиях	21
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	38
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	39

ВВЕДЕНИЕ

Традиционные синтетические полимеры обладают высокой универсальностью, низкой стоимостью и широко используются в промышленном и бытовом секторе. Такие синтетические полимеры, как полиэтилен, полипропилен, полистирол и другие, являются неотъемлемой частью современного промышленного и бытового производства благодаря своей универсальности, низкой стоимости и многочисленным полезным свойствам. Однако обычно их получают из не возобновляемых ресурсов, доступность которых может быть сопряжена с экономическими и экологическими проблемами в краткосрочном сценарии. Основным недостатком этих полимеров является то, что они производятся из нефтепродуктов, что приводит к исчерпанию этих природных ресурсов и увеличению негативного воздействия на окружающую среду. Сохранение доступности нефти и газа, используемых для производства традиционных полимеров, может стать серьезной проблемой в краткосрочной перспективе из-за экономических и экологических факторов [22].

В свете этих проблем активно ищутся альтернативные, более устойчивые решения, например – биополимеры, получаемые из возобновляемых ресурсов, таких как растения или микроорганизмы. Биополимеры предлагают более экологически чистый вариант для производства полимерных материалов, уменьшая зависимость от нефти и снижая негативное воздействие на окружающую среду. Исследования в области биополимеров активно ведутся с целью разработки более устойчивых и экологически дружелюбных альтернатив традиционным синтетическим полимерам.

Такие перспективные материалы, как полигидроксиалканоаты (ПГА), представляют собой пример биополимеров, способных биоразлагаться в окружающей среде. Расширенное использование биополимеров усилило необходимость понимания их поведения в сценарии истечения срока службы.

Хотя они могут разлагаться за меньшее время, чем традиционные полимеры, понимание механизмов разложения в различных условиях будет способствовать дальнейшим разработкам в этой области.

Среди перспективных «зеленых» пластиков – полигидроксиалканоаты (ПГА), биоразрушаемые полиэфиры монокарбоновых кислот, синтезируемые различными микроорганизмами [23]. ПГА – это семейство полимеров различной химической структуры, различающихся базовыми физико-химическими свойствами, которые приобрели большое значение из-за их структурного разнообразия и близкой аналогии с пластмассами [53].

Полигидроксиалканоаты, в том числе поли(3-гидроксибутират) П(ЗГБ) – это уникальный класс химических соединений, в полной мере соответствующий определению «биополимеры» [30, 43]. Несмотря на то, что П(ЗГБ) активно продвигается в качестве заменителя синтетических пластмасс, его биодegradация в окружающей среде зависит от многих факторов и требует определенных условий [38]. Время разложения изделий из биополимеров может зависеть от их морфологии, пористости, степени кристалличности полимера, температуры окружающей среды, pH, концентрации солей, микробной плотности и биоразнообразия [30]. Учитывая, что большая часть пластиковых отходов будет попадать в почву и контактировать с почвенной микробиотой – основным инструментом их биодegradации, важными вопросами являются определение сроков биодegradации образцов ПГА в естественной среде, оценка влияния ПГА на почвенную микробиоту и растительный покров почвы. Ответы на эти вопросы дадут понимание, того насколько различается деградационный потенциал у почв разного типа, каковы предельные концентрации ПГА в почве, не оказывающие существенного влияния на развитие растений.

Цель работы – оценить биодegradацию образцов пленок гомополимера поли(3-гидроксибутирата) и сополимера поли(3-гидроксибутират-*co*-3-гидроксивалерата) под действием почвенных микроорганизмов в лабораторных и природных условиях.

В задачи исследования входило:

1. Оценить динамику изменения массы пленок, полученных из П(ЗГБ) и П(ЗГБ-*co*-ЗГВ), при деградации в лабораторных условиях и природных условиях в почвах разных экосистем (таежная, луговая, агроэкосистема).

2. Провести микробиологический анализ почвы с поверхности образцов полимерных пленок, оценить изменение численности грибов и бактерий в ходе экспозиции пленок

3. Исследовать влияние разных концентраций П(ЗГБ) на численность и таксономический состав почвенного микробного сообщества и фитотоксические свойства почвы.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Пластиковое загрязнение и переход на биоразлагаемые полимеры

Пластиковое загрязнение в настоящее время представляет собой глобальный и очевидный экологический кризис, вызывающий серьезную озабоченность в мировом сообществе [17], а также способствует повышению выбросов парниковых газов и изменению климата [60]. Так называемые “обычные” пластмассы представляют собой синтетические и полусинтетические полимерные соединения, которые производятся в основном из ископаемых источников углерода, таких как сырая нефть и природный газ. Специфические характеристики пластмасс, включая долговечность, технологичность и низкую стоимость производства, привели к их широкому использованию в обширных и разнообразных областях применения по всему миру, начиная с 20-го века. Пакеты являются основным сектором рынка, в котором используются пластмассы, и в основном предназначены для немедленной утилизации [3]. Этот факт представляет собой экологическую проблему, поскольку обычные пластмассы очень устойчивы к биологическому разложению. Упаковки обычно состоят из обычных пластмасс, таких как полиэтилен или полипропилен, которые не поддаются биологическому разложению и поэтому накапливаются на свалках и в морской среде [1]. Они вызывают загрязнение и угрожают глобальному биоразнообразию и воздействует на окружающую среду [56]. Эти побочные эффекты и чрезмерное использование пластмасс привели к значительным проблемам в процессах переработки отходов [7]. Были предприняты активные усилия по созданию альтернативных пластиковых материалов, которые могут быть конкурентоспособными с экономической точки зрения, изготовленными из возобновляемого сырья и которые могут, предпочтительно, подвергаться биодegradации, не оказывая вредного воздействия на окружающую среду. В настоящее время существующие пластмассы можно разделить на четыре

группы в зависимости от того, считаются ли они биоразлагаемыми и их источника сырья, используемого для производства [45].

В качестве частичного решения проблемы накопления отходов было предложено производить пластмассы на биологической основе, то есть изготовленные из возобновляемых ресурсов, и биоразлагаемые в природной среде (компост, почва, водоемы) в течение небольшого периода времени (недели, месяцы). Биоразлагаемые пластмассы были признаны подходящими для отдельных областей применения с учетом их использования и срока службы [48]. Такие материалы не токсичные и безвредные для окружающей среды [8].

Биоразлагаемые полимеры представляют собой типы пластиков, подверженных полному биологическому распаду в окружающей среде при активном участии микроорганизмов. В контексте биоцикла углерода процесс ассимиляции разложившегося материала микроорганизмами обеспечивает возвращение углерода в экосистему в качестве питательного источника. Этот процесс имеет существенное значение для минимизации экологического следа пластика, ускорения его естественного цикла разложения и снижения негативного воздействия на окружающую среду. В настоящее время биополимеры потенциально могут конкурировать с обычными пластмассами благодаря своим характеристикам, которые могут включать высокую степень полимеризации, кристалличность и нерастворимость в воде. [2].

По определению, биопластик — это либо биооснова, либо биоразлагаемый материал, либо сочетание того и другого [21, 31, 35]. Полимер на биооснове получают из углеродных источников биомассы, таких как растительные жиры, целлюлоза или кукурузный крахмал. Биополимер может быть полностью или частично биоосновой [32]. Полимеры на биооснове являются более экологичными материалами, чем полимеры на нефтяной основе. Растения, из которых получают биомассу для синтеза биополимеров, поглощают CO_2 в процессе роста, таким образом снижается чистый углеродный след от производства биопластика [4]. Кроме того, сами

биополимеры при утилизации в мусоросжигательной печи выделяют меньшее количество CO₂ по сравнению с обычными нефтепластиками [21]. Существует важное различие между биомассой первого и второго поколения: первая относится к пищевой биомассе (например, сахарный тростник), а вторая - к несъедобной биомассе (лигноцеллюлозные материалы) [32]. Использование биомассы второго поколения, такой как лесные отходы, для синтеза биопластиков, способных заменить нефтепластики в их применении, значительно смягчит последствия изменения климата благодаря меньшему углеродному следу [16].

Для того чтобы биопластики заменили традиционные нефтепластики, необходимо решить ряд проблем. Необходимо снизить стоимость их производства, улучшить их термомеханические и барьерные свойства, повысить скорость биоразложения и расширить доступность. По мере того, как рынок биопластиков продолжает стремительно расти, увеличиваются общие производственные мощности, а значит, снижаются цены на продукцию [32].

Таким образом, чрезмерное использование не разлагаемых пластмасс вызывает ряд экологических проблем, что приводит к переходу на биоразлагаемые пластмассы. Полигидроксиалканоаты являются перспективными биоразлагаемыми пластмассами, которые могут быть произведены многими микробами с использованием различных субстратов из отходов исходного сырья [67].

1.2 Полигидроксиалканоаты как альтернатива синтетическим полимерным материалам

Среди биологических и биоразлагаемых полимеров полигидроксиалканоаты (ПГА) считаются перспективной альтернативой устойчивым к разложению пластмассам, полученным из ископаемого сырья. ПГА представляют собой большое семейство полимеров бактериального происхождения; они демонстрируют широкий спектр химических составов и

свойств в зависимости от штамма-производителя, источника углерода, используемого для питания, и процесса ферментации. ПГА можно разделить на две подгруппы: ПГА с короткой длиной цепи (scl-ПГА), состоящие из мономеров с 3-5 атомами углерода, и ПГА со средней длиной цепи (mcl-ПГА), состоящие из мономеров с 6-14 атомами углерода. Физико-химические свойства между ними различаются: scl-ПГА являются жесткими и хрупкими полимерами, тогда как mcl-ПГА обычно более резиновые и пластичные [49].

Поли(3-гидроксибутират) – один из самых распространенных и лучше всего охарактеризованных типов ПГА. Обладая высокой кристалличностью (>50 %), он является относительно хрупким и жестким полимером [17]. Получение сополимера с валериановой кислотой вызывает присоединение 3-гидроксивалерата (ГВ) и приводит к образованию менее жесткого и хрупкого сополимера поли(3-гидроксибутират-co-3-гидроксивалерата), который легче перерабатывать для коммерческого применения [34].

Уникальные свойства ПГА, включая его способность к полному биоразложению и активной ассимиляции микроорганизмами, делают данный полимер ценным инструментом в разработке экологически устойчивых материалов. В результате использования полимеров ПГА достигается переход к более устойчивым альтернативам пластиков, способным минимизировать антропогенное воздействие на биосферу и улучшить характеристики экологической области.

Доминирующими бактериями-разрушителями ПГА в аэробных и анаэробных условиях являются представители родов *Variovorax*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Cupriavidus*, *Mycobacterium* и *Streptomyces* [38]. Для большинства этих бактерий способ воздействия на полимер заключается в выработке внеклеточных ферментов, называемых гидролазами и деполимеразами, которые способны расщеплять ПГА на небольшие молекулы, проникающие через бактериальную мембрану и используемые бактериями в качестве источников углерода и энергии [55].

1.3 Биосинтез полигидроксиалканатов микроорганизмами

ПГА представляют собой биополиэфиры, которые естественным образом накапливаются внутриклеточно в широком спектре микроорганизмов, таких как бактериальные и архейные клетки. Они образуются в результате ферментации сахаров и липидов и функционируют в основном как соединения для накопления энергии и углерода [59]. Эти сложные полиэфиры образуются, когда рост бактерий ограничен недостатком азота или фосфора или когда доступен избыток источника углерода [2].

О биосинтезе ПГА бактериями известно с 1926 года, когда Лемуан сообщил об образовании поли (3-полигидроксибутирата) в цитоплазме бактерий *Bacillus megaterium* [36]. Биоаккумуляция ПГА распространена в областях бактерий и архей, причем организмы, продуцирующие ПГА, принадлежат более чем к 70 родам [50, 66]. Большинство видов бактерий, продуцирующих полигидроксиалканаты, граммотрицательны из родов *Azohydromonas*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* и *Cupriavidus* [66] и *Cupriavidus necator* (ранее *Wautersia eutropha*) является наиболее широко изученным. Продукция полигидроксиалканатов грамположительными бактериями была описана у родов *Bacillus*, *Caryophanon*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Microlunatus*, *Microcystis*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Staphylococcus* и *Streptomyces* [27]. Полигидроксиалканаты также обнаружены у архей, но преимущественно у галоархей, включая роды *Haloferax*, *Halalkalicoccus*, *Haloarcula*, *Halostagnicola*, *Haloterrigena*, *Natrialba* и другие [39].

К настоящему времени идентифицировано около 150 различных мономеров ПГА [44]. Тенденция такова, что это число будет быстро увеличиваться из-за синтеза новых полигидроксиалканатов в результате химических или физических модификаций [14]. ПГА образуются биологическим путем из разнообразных источников углерода, таких как метан, спирты, этанол, алканы, октаны, алкановые кислоты, олеиновая кислота, а также фруктоза или глюкоза [19, 41]. Потоки отходов, например, стоки заводов

по производству растительного масла, отходы масла для жарки, отходы уксуса, отработанные жиры, пищевые отходы и сельскохозяйственные отходы, также были зарегистрированы в качестве альтернативных источников углерода для биосинтеза ПГА [37]. Были проведены обширные исследования с целью увеличения производства ПГА из более доступных источников углерода и отходов, что позволит снизить затраты на производство. [38]. В этом контексте совместное культивирование различных штаммов микроорганизмов было применено в качестве стратегии снижения производственных затрат. В этих случаях первый микроорганизм превращает углеродный субстрат в метаболит, который позже может быть потреблен вторым микроорганизмом для производства ПГА. Например, *Cupriavidus necator* не может эффективно метаболизировать сахара, сыворотку или крахмалистые отходы, но при культивировании вместе с бактериями, продуцирующими молочную кислоту, эти субстраты могут быть преобразованы в лактат, который затем может быть использован *C. necator* для производства ПГА [9].

В настоящее время исследования ПГА привлекают больше внимания из-за потенциально широкого применения, основанного на разнообразных свойствах различных типов полигидроксиалканатов [42]. Тип ПГА в основном зависит от категории источников углерода [28] и микробного сообщества, участвующего в утилизации источников углерода [67]. Для снижения затрат на производство ПГА приоритет отдается низкозатратному возобновляемому исходному материалу и потокам отходов [58].

1.4 Разложение полигидроксиалканатов микробным сообществом в почвах

Некоторые микроорганизмы способны разлагать полигидроксиалканаты с помощью внутриклеточных ферментов деполимераз и использовать его в качестве источника энергии и углерода [13, 62]. В окружающей среде различные микроорганизмы продуцируют и высвобождают внеклеточные ферменты, которые могут разлагать полигидроксиалканаты [54], такие как

ПГА-гидролазы и ПГА-деполимеразы [25]. Мергарт и Свингс [5] идентифицировали 695 видов микроорганизмов, способных разлагать ПГБ. Обычно деполимеразы катализируют гидролиз, образуя свободный D-3-гидроксибутират, который затем окисляется до ацетоацетата NAD-специфической дегидрогеназой. Известно, что NADH, пируват и 2-оксоглутарат ингибируют этот фермент. Ацетоацетат окончательно превращается в ацетоацетил-КоА с помощью ацетоацетат или сукцинатно-КоА трансферазы. Таким образом, ацетоацетил-КоА является одновременно предшественником синтеза и продуктом деградации ПГБ [18].

Большое разнообразие микроорганизмов, присутствующих в почве, увеличивает возможность обнаружения микроорганизмов, способных разлагать биоразлагаемые пластиковые отходы. Поскольку почва может содержать микроорганизмы, обладающие такой способностью, она считалась средой с отличной способностью к разложению ПГА. Однако до сих пор ведутся дискуссии о том, какие полигидроксиалканаты деградируют активнее и в каких условиях окружающей среды [47].

Группой ученых СФУ были проведены исследования биodeградации образцов ПГА разного химического состава в почвах различных климатических зон – резко континентальный климат (Сибирь, Эвенкия) и тропический климат (Вьетнам, Индия). Среди бактерий чаще всего выделяют виды-деструкторы ПГА, принадлежащие к родам *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Burkholderia*, среди грибов наиболее известны представители отделов *Ascomycota* и *Zygomycota*, которые могут быть более эффективными деструкторами, чем бактерии [6, 15, 29]. Различные виды рода *Penicillium*, способные синтезировать ферменты ПГА-деполимеразы, выделяются из разных регионов – от субарктической зоны Центральной Эвенкии до субэкваториальной Южной Индии [12, 33, 40]. Вид грибов *Purpureocillium lilacinum* также является распространенным деструктором, особенно в тропических почвах [26, 46, 51]. Анализ таксономического состава микроорганизмов-деструкторов показывает, что в почвах разного типа

комплекс доминирующих ПГА-деструкторов может сильно различаться. Например, бактерии рода *Burkholderia* были обнаружены преимущественно в тропических регионах и встречались не только в красных почвах Индии (Коттаям), но и в желтых феррсиалитных почвах Вьетнама (Ханой, Нячанг) [12, 52]. С другой стороны, бактерии рода *Pseudomonas* были выделены из почв северных регионов – дерново-подзолистой почвы в пригороде Красноярска [11] и криогенной почвы Центральной Эвенкии [52].

Результаты исследования деградации ПГА в реальных природных условиях показывают, что этот процесс происходит с различной активностью в зависимости от региона исследований, климатических и погодных условий, типа природной экосистемы и ее микробной составляющей. Так, периоды полураспада ПГА, или потери 50% массы образца полимера, в зависимости от региона исследований и погодных условий варьируются от 68,5 до 270 дней в сибирских почвах [11], от 16 до 380 дней в тропических почвах Вьетнама [12], от 28 до 48 суток в мангровых экосистемах [61], от 43 до 75 суток садовой почве в зависимости от глубины погружения [65], до 304 недель в компосте из активного ила очистных сооружений [57]. В ходе исследований был обнаружен интересный факт, что деградация пленок П(ЗГБ) в тропических почвах происходила медленнее, чем в сибирских: срок, за который образцы теряли 50% массы, составил 126,4 и 64,8 суток соответственно [52].

1.5 Факторы, влияющие на биodeградацию полимеров в почве

Биологическое разложение — это необратимый процесс, который разрушает химическую и физическую структуру материала в определенных условиях окружающей среды. На скорость разложения может влиять множество факторов таких как площадь поверхности, механическая прочность, кристалличность, морфология, гидрофильность, влагоудерживающая способность почвы, рН почвы, температура, содержание влаги, доступность кислорода, освещенность, текстура почвы и обилие

микроорганизмов. Бактерии и грибы являются основными организмами, ответственными за разложение полимерных соединений [19].

Биополимеры могут разлагаться в естественных условиях, таких как почва, но смесь с другими материалами может изменять свойства полимера и, следовательно, влиять на процесс биодegradации. Состав микробных сообществ в почве также существенно влияет на биодegradацию. Эти экологические и физико-химические факторы меняются в разное время года и в разных слоях почвы. Важно знать, как эти факторы влияют на биодegradацию ПГА, чтобы понять влияние биополимеров на природу при лабораторных испытаниях, так и в окружающей среде [19]. Биоразложение композитов происходит только в благоприятной среде с высокой температурой и влажностью при наличии соответствующих микробов [24]. Процент микробов, разлагающий биополимер полигидроксibuтират, составляют от 0,2 до 11,4% [32]. Следовательно, несмотря на присутствие в почвенном микробиоме микроорганизмов-деструкторов, их метаболический потенциал может быть лимитирован неблагоприятными условиями окружающей среды, например, дефицитом свободной воды, неоптимальными значениями pH или температурным режимом почвы. Таким образом, даже для полностью биоразлагаемых материалов, в состав которых входят ПГА, необходимо создавать благоприятные условия для их утилизации, если природные почвенно-климатические условия не оптимальные.

2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Объектами исследования служили образцы пленок из ПГА двух типов: гомополимера П(ЗГБ) и сополимера П(ЗГБ-*co*-ЗГВ), содержание 3-гидроксивалерата составляло 15 % и 45 %. Пленки были получены методом полива и экструзионным методом; размеры 10×30 мм (рис. 1).

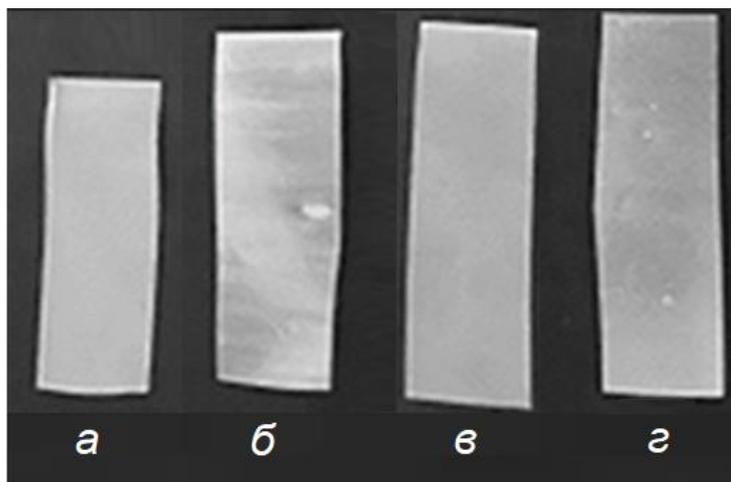


Рисунок 1 – Образцы пленок из ПГА, полученные разными методами: П(ЗГБ) получены методом полива (а) и экструзии (б); П(ЗГБ-*co*-ЗГВ) получены методом полива (в) и экструзии (з).

Молекулярную массу ПГА определяли методом гельпроникающей хроматографии на жидкостном хроматографе (Agilent Technologies 1260 Infinity, США). Определяли средневесовую молекулярную массу (M_w), среднечисловую молекулярную массу (M_n) и рассчитывали полидисперсность (D) по формуле: $D = M_w/M_n$.

2.2 Исследование биodeградации образцов пленок из ПГА в лабораторных условиях

Сравнительное исследование биodeградации пленок П(ЗГБ) и П(ЗГБ-*co*-ЗГВ) проводили в лабораторных условиях в почвенных микрoэcosystemах. В

пластиковые контейнеры объемом 250 см³ засыпали по 200 г почвы и закладывали предварительно взвешенные образцы пленок, упакованные в ячеистый материал из органзы, на глубину 2–2,5 см. В каждый контейнер помещали по 3 одинаковых образца П(ЗГБ) или П(ЗГБ-со-ЗГВ) (ЗГВ – 45 %). Толщина образцов пленок П(ЗГБ) и П(ЗГБ-со-ЗГВ), изготовленных методом полива, составляла $0,17\pm 0,01$ мм; толщина пленок, изготовленных методом экструзии, – $0,30\pm 0,03$ мм.

Контейнеры инкубировали в климатической камере Фитотрон-ЛиА-2 (Россия) при постоянной температуре 21 °С и влажности почвы 50 %. Длительность эксперимента составила 150 суток, уменьшение массы образцов наблюдали в динамике.

2.3 Исследование биodeградации образцов пленок из ПГА в природных условиях

Для полевого эксперимента были выбраны 3 участка, расположенные в разных экосистемах: природные экосистемы – луговой и таежный участки, и агроценоз – участок с пахотной почвой. Луговой участок расположен в районе пос. Манского (Красноярский край), на этой территории находится лесостепная зона с преобладанием подзолистых и луговых почв. Таежный участок расположен в районе пос. В. Бирюса, зона смешанных лесов с преобладанием дерново-подзолистой почвы. Агроценоз – участок расположен в районе села Дрокино, почва – чернозем.

На каждом участке были заложены предварительно взвешенные образцы ПГА, изготовленные методом экструзии; толщина пленок П(ЗГБ-со-ЗГВ) (ЗГВ – 15%) составляла $0,20\pm 0,01$ мм, толщина пленок П(ЗГБ) – $0,35\pm 0,02$ мм. Образцы размещали на глубине 3-5 см в сетчатых мешочках из органзы (рис. 2). Эксперимент проводили в трехкратной повторности. Закладка образцов была произведена 7 июля 2023 года. Анализ убыли массы образцов и

микробиологический анализ почвы проводили в октябре 2024 года (через 3,5 месяца экспозиции) и в мае 2024 года (через 10 месяцев экспозиции).

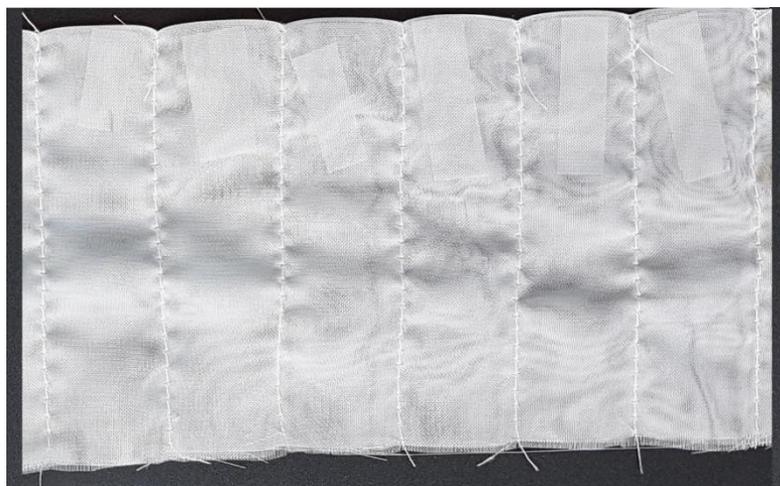


Рисунок 2 – Размещение образцов пленок из ППА, в мешочках из органзы

2.4 Микробиологический анализ почвы

Микробиологический анализ почвы проводили перед размещением образцов и периодически в течение экспозиции пленок в почве. Анализ проводили общепринятыми методами почвенной микробиологии [68]: численность бактерий определяли на мясопептонном агаре, а численность грибов на сусло-агаре. Посев производили в трехкратной повторности из разведений до 1×10^6 . Чашки с посевами выдерживали в термостате при температуре 30 °С для бактерий и 25 °С для грибов. Учет числа выросших колоний проводили на 3–7 сутки после посева.

Идентификацию культивируемых бактерий, доминирующих в почвенных образцах, проводили на основе анализа чистых культур, полученных из изолированных колоний (рис. 3). Отбирали доминирующие морфотипы, которые пересевали в пробирки на скошенный питательный агар и анализировали суточные культуры. Цитоморфологические признаки изучали на прижизненных препаратах, окрашенных метиленовым синим; грампринадлежность устанавливали методом Грегерсена с использованием 3%

раствора КОН. Видовую принадлежность определяли с использованием метода матрично-активированной лазерной десорбции/ ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF MS) на масс-спектрометре Bio Type Microflex LT/SH (Bruker, Германия) в КГБУЗ «Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства».

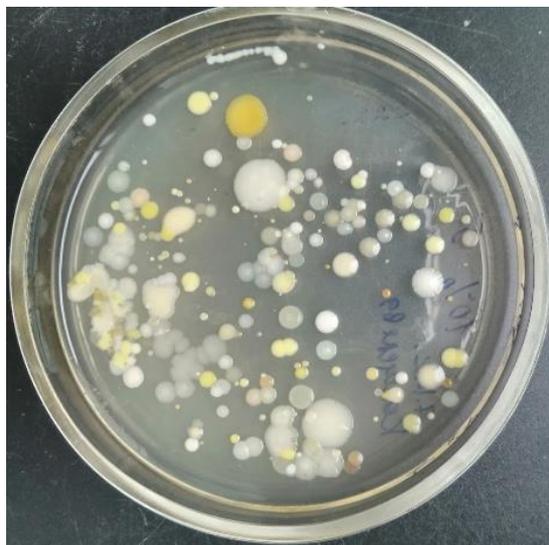


Рисунок 3 – Чашка Петри с питательным агаром и бактериальными колониями

Идентификацию микромицетов проводили на основании культурально-морфологических признаков по определителям [69, 64]. Микроскопирование проводили на прижизненных препаратах, окрашенных метиленовым синим.

2.5 Определение фитотоксичности почвы, содержащей разные концентрации П(ЗГБ)

Исследование влияния разных концентраций П(ЗГБ) на фитотоксические свойства почвы проводили в лабораторных условиях на тестовой культуре растений – кресс-салат (*Lepidium sativum* L). Растения выращивали в климатической камере Фитотрон-ЛиА-2 (Россия) в пластиковых контейнерах объемом 0,3 л, заполненных полевой почвой (200 г), в каждый было высажено по 10 семян (рис. 4).

Вместе с семенами в почву вносили порошкообразный полимер П(ЗГБ) в концентрации 0,2; 0,5; 0,7; 1,0; 5,0 и 10% от массы почвы. В камере поддерживался суточный цикл температуры и освещенности в шестиступенчатом режиме «ночь – раннее утро – позднее утро – день – ранний вечер – поздний вечер». Температура изменялась в пределах от 10 °С ночью до 18 °С днем. Освещенность изменялась от 0 до 300 мкмоль/м²/с с шагом 100 мкмоль/м²/с. Минимальную влажность почвы поддерживали на уровне 50 %.



Рисунок 4 – Тестовые растения кресс-салата в климатической камере

Растения выращивали в течение 40 суток; анализировали всхожесть и развитие кресс-салата, а также определяли численность микроорганизмов в почве (бактерий и микромицетов) и таксономический состав доминирующих представителей.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Дегградация пленок из П(ЗГБ) и П(ЗГБ-*co*-ЗГВ) в лабораторных условиях

3.1.1 Динамика изменения массы пленок при дегградации в лабораторных условиях

Страницы 21-37 изъяты в связи с авторским правом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам работы были сделаны следующие выводы:

1) В лабораторных условиях наиболее интенсивно происходила деградация наливных пленок из П(ЗГБ), потерю 50% массы наблюдали через 30 суток экспозиции в почвенных микроэкосистемах. Экструзионные пленки П(ЗГБ) были подвержены более медленному разложению, чем наливные, потеря 50% массы отмечена через 90 суток. Кривые деградации наливных и экструзионных пленок П(ЗГБ-*co*-ЗГВ) имели схожий характер, потеря 50% массы была отмечена через 60 и 75 суток.

2) В природных условиях максимальное снижение массы пленок сополимера П(ЗГБ-*co*-ЗГВ) за 10 месяцев было отмечено в пахотной почве – 10%, менее выраженное снижение наблюдали в таежной почве – 3,8%. Убыль массы пленок гомополимера П(ЗГБ) в пахотной и таежной почвах составила 4,3 и 5%. В луговой почве снижение массы пленок всех типов не выходило за пределы статистической погрешности.

3) Увеличение численности бактерий и грибов на поверхности полимерных образцов в ходе экспозиции в пахотной и таежной почвах согласуется с более быстрой деградацией пленок в почвах данных экосистем. С другой стороны, слабое изменение численности микроорганизмов в луговой почве привело к отсутствию значимой деградации полимерных образцов.

4) При содержании П(ЗГБ) в почве менее 1% негативного влияния на почвенный микробиоценоз и развитие растений кресс-салата не наблюдается. Высокие концентрации П(ЗГБ) приводят к селективному воздействию на почвенный микробиоценоз в сторону увеличения доли протеобактерий (*Achromobacter*, *Brevundimonas*, *Ochrobactrum*, *Pseudoxanthomonas*, *Sphingobium*) и дрожжевых грибов (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Hortaea werneckii*).

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Al Mamun A. et al. Microplastics in human food chains: Food becoming a threat to health safety //Science of the Total Environment. – 2023. – Vol. 858. – P. 159834.
2. Al-Mansoub M. A. et al. Chemical composition, antiproliferative and antioxidant attributes of ethanolic extract of resinous sediment from *Etlingera elatior* (Jack.) inflorescence //Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2021. – Vol. 57. – P. e18954.
3. Asgher M. et al. Bio-based active food packaging materials: Sustainable alternative to conventional petrochemical-based packaging materials //Food Research International. – 2020. – Vol. 137. – P. 109625.
4. Atiwesh G. et al. Environmental impact of bioplastic use: A review //Heliyon. – 2021. – Vol. 7. – Is. 9. – P. e07918
5. Awasthi S. K. et al. A comprehensive review on recent advancements in biodegradation and sustainable management of biopolymers //Environmental Pollution. – 2022. – Vol. 307. – P. 119600.
6. Awasthi S.K., Kumar M., Kumar V., Sarsaiya S., Anerao P., Ghosh P., Singh L., Liu H., Zhang Z., Awasthi M.K. A comprehensive review on recent advancements in biodegradation and sustainable management of biopolymers // Environmental Pollution. – 2022. – Vol. 307. – P. 119600.
7. Baranwal J. et al. Biopolymer: A sustainable material for food and medical applications //Polymers. – 2022. – Vol. 14. – Is. 5. – P. 983.
8. Bhatia S. K. et al. Biowaste-to-bioplastic (polyhydroxyalkanoates): Conversion technologies, strategies, challenges, and perspective //Bioresource Technology. – 2021. – Vol. 326. – P. 124733.
9. Bosco F. et al. PHA production from Cheese Whey and “Scotta”: Comparison between a consortium and a pure culture of *Leuconostoc mesenteroides* //Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – Is. 12. – P. 2426.

10. Boyandin A. N. et al. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates in tropical soils //International Biodeterioration & Biodegradation. – 2013. – Vol. 83. – P. 77-84.
11. Boyandin A.N., Prudnikova S.V., Filipenko M.L., Khrapov E.A., Vasil'ev A.D., Volova T.G. Biodegradation of polyhydroxyalkanoates by soil microbial communities of different structures and detection of PHA degrading microorganisms // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2012. – Vol. 48. – P. 28-36.
12. Boyandin A.N., Prudnikova S.V., Karpov V.A., Ivonin V.N., Đỗ N.L., Nguyễn T.H., Lê T.M.H., Filichev N.L., Levin A.L., Filipenko M.L., Volova T.G., Gitelson I.I. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates in tropical soils // International Biodeterioration and Biodegradation. – 2013. – Vol. 83. – P. 77-84.
13. Briassoulis D., Tserotas P., Athanasoulia I. G. Alternative optimization routes for improving the performance of poly (3-hydroxybutyrate) (PHB) based plastics //Journal of Cleaner Production. – 2021. – Vol. 318. – P. 128555.
14. Choi S. Y. et al. Microbial polyhydroxyalkanoates and nonnatural polyesters //Advanced Materials. – 2020. – Vol. 32. – Is. 35. – P. 1907138.
15. Dalton B., Bhagabati P., De Micco J., Padamati R.B., O'Connor K. A review on biological synthesis of the biodegradable polymers polyhydroxyalkanoates and the development of multiple applications // Catalysts. – 2022. – Vol. 12. – P. 319.
16. de Paula F. C. et al. Prospective biodegradable plastics from biomass conversion processes //Biofuels-state of development. – 2018. – P. 245-272.
17. Derippe G. et al. Marine biodegradation of tailor-made polyhydroxyalkanoates (PHA) influenced by the chemical structure and associated bacterial communities //Journal of Hazardous Materials. – 2024. – Vol. 462. – P. 132782.

18. Donkor L. et al. Bio-based and sustainable food packaging systems: Relevance, challenges, and prospects //Applied Food Research. – 2023. – Vol. 3. – Is. 2. – P. 100356.
19. Fernandes M. et al. Factors affecting polyhydroxyalkanoates biodegradation in soil //Polymer Degradation and Stability. – 2020. – Vol. 182. – P. 109408.
20. Ferreira J. A., Åkesson D. Aerobic and anaerobic degradation pathways of PHA / M. Koller (Ed.) The handbook of polyhydroxyalkanoates. – Boca Raton: CRC Press, 2020. – P. 317-338.
21. Fredi G., Dorigato A. Recycling of bioplastic waste: A review //Advanced Industrial and Engineering Polymer Research. – 2021. – Vol. 4. – Is. 3. – P. 159-177.
22. Gil-Castell O. et al. Influence of substrate and temperature on the biodegradation of polyester-based materials: Polylactide and poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) as model cases //Polymer Degradation and Stability. – 2020. – Vol. 180. – P. 109288.
23. Gunning M. A. et al. Mechanical and biodegradation performance of short natural fibre polyhydroxybutyrate composites //Polymer Testing. – 2013. – Vol. 32. – Is. 8. – P. 1603-1611.
24. Haider T. P. et al. Plastics of the future? The impact of biodegradable polymers on the environment and on society //Angewandte Chemie International Edition. – 2019. – Vol. 58. – Is. 1. – P. 50-62.
25. Hassan M. A. et al. Statistical optimization studies for polyhydroxybutyrate (PHB) production by novel *Bacillus subtilis* using agricultural and industrial wastes //International journal of environmental science and technology. – 2019. – Vol. 16. – P. 3497-3512.
26. Hisano T., Kasuya K.I., Tezuka Y., Ishii N., Kobayashi T., Shiraki M., Oroudjev E., Hansma H., Iwata T., Doi Y., Saito T., Miki K. The crystal structure of polyhydroxybutyrate depolymerase from *Penicillium funiculosum* provides insights into the recognition and degradation of

- biopolyesters // *Journal of Molecular Biology*. – 2006. – Vol. 356. – P. 993–1004.
27. Kaniuk Ł., Stachewicz U. Development and advantages of biodegradable PHA polymers based on electrospun PHBV fibers for tissue engineering and other biomedical applications // *ACS biomaterials science & engineering*. – 2021. – Vol. 7. – Is. 12. – P. 5339-5362.
 28. Khatami K. et al. Waste to bioplastics: How close are we to sustainable polyhydroxyalkanoates production? // *Waste Management*. – 2021. – Vol. 119. – P. 374-388.
 29. Kim D.Y., Rhee Y.H. Biodegradation of microbial and synthetic polyesters by fungi // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2003. – Vol. 61. – P. 300-308.
 30. Koller M., Mukherjee A. Polyhydroxyalkanoates–linking properties, applications, and end-of-life options // *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*. – 2020. – Vol. 34. – Is. 3. – P. 115-129.
 31. Lackner M., Mukherjee A., Koller M. What Are “Bioplastics”? Defining Renewability, Biosynthesis, Biodegradability, and Biocompatibility // *Polymers*. – 2023. – Vol. 15. – Is. 24. – P. 4695.
 32. Lamberti F. M., Román-Ramírez L. A., Wood J. Recycling of bioplastics: routes and benefits // *Journal of Polymers and the Environment*. – 2020. – Vol. 28. – Is. 10. – P. 2551-2571.
 33. Lee K.M., Gimore D.F., Huss M.J. Fungal degradation of the bioplastic PHB (Poly-3-hydroxy-butyric acid) // *Journal of Polymers and the Environment*. – 2005. – Vol. 13. – P. 213-219
 34. Lemechko P., Le Fellic M., Bruzard S. Production of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) using agro-industrial effluents with tunable proportion of 3-hydroxyvalerate monomer units // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2019. – Vol. 128. – P. 429-434.

35. Lin L. et al. Emerging heterogeneous catalysts for biomass conversion: studies of the reaction mechanism //Chemical Society Reviews. – 2021. – Vol. 50. – Is. 20. – P. 11270-11292.
36. Liu Y. et al. Accelerated biodegradation of PLA/PHB-blended nonwovens by a microbial community //RSC advance. – 2019. – Vol. 9. – Is. 18. – P. 10386-10394.
37. Mastropetros S. G. et al. Biopolymers production from microalgae and cyanobacteria cultivated in wastewater: Recent advances //Biotechnology Advances. – 2022. – Vol. 60. – P. 107999.
38. Meereboer K. W., Misra M., Mohanty A. K. Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites //Green Chemistry. – 2020. – Vol. 22. – Is. 17. – P. 5519-5558.
39. Mitra R. et al. Current developments on polyhydroxyalkanoates synthesis by using halophiles as a promising cell factory //Microbial Cell Factories. – 2020. – Vol. 19. – P. 1-30.
40. Montagna L.S., Montanheiro T.L.dA., Borges A.C., Koga-Ito C.Y., Lemes A.P., Rezende M.C. Biodegradation of PHBV/GNS nanocomposites by *Penicillium funiculosum* // Journal of Applied Polymer Science. – 2017. – Vol. 134. – P. 44234.
41. Muneer F. et al. Microbial polyhydroxyalkanoates (PHAs): efficient replacement of synthetic polymers //Journal of Polymers and the Environment. – 2020. – Vol. 28. – P. 2301-2323.
42. Nanda S. et al. Innovations in applications and prospects of bioplastics and biopolymers: A review //Environmental Chemistry Letters. – 2022. – Vol. 20. – Is. 1. – P. 379-395.
43. Nandakumar A., Chuah J. A., Sudesh K. Bioplastics: A boon or bane? //Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2021. – Vol. 147. – P. 111237.
44. Narancic T. et al. Recent advances in bioplastics: application and biodegradation //Polymers. – 2020. – Vol. 12. – Is. 4. – P. 920.

45. Naser A. Z., Deiab I., Darras B. M. Poly (lactic acid)(PLA) and polyhydroxyalkanoates (PHAs), green alternatives to petroleum-based plastics: a review //RSC advances. – 2021. – Vol. 11. – Is. 28. – P. 17151-17196.
46. Oda Y., Osaka H., Urakami T., Tonomura K. Purification and properties of poly (3-hydroxybutyrate) depolymerase from the fungus *Paecilomyces lilacinus* D218 // Current Microbiology. – 1997. – Vol. 34. – P. 230-232.
47. Pandey A. et al. Sustainable applications of polyhydroxyalkanoates in various fields: A critical review //International Journal of Biological Macromolecules. – 2022. – Vol. 221. – P. 1184-1201.
48. Paul-Pont I. et al. Discussion about suitable applications for biodegradable plastics regarding their sources, uses and end of life //Waste Management. – 2023. – Vol. 157. – P. 242-248.
49. Pérez-Rivero C., Hernandez-Raquet G. Polyhydroxyalkanoates: une alternative ‘bio’aux plastiques traditionnels //Innovations Agronomiques. – 2017. – Vol. 58. – P. 99-112.
50. Pfeifer K. et al. Archaea biotechnology //Biotechnology Advances. – 2021. – Vol. 47. – P. 107668.
51. Prudnikova S.V., Evgrafova S.Y., Volova T.G. Metabolic activity of cryogenic soils in the subarctic zone of Siberia towards “green” bioplastics // Chemosphere. – 2021. – Vol. 263. – P. 128180.
52. Prudnikova S.V., Kiselev E.G., Demidenko A.V., Nemtsev I.V., Shishatskaya E.I., Thomas S., Volova T.G. Biodegradation of microbial plastic poly (3-hydroxybutyrate) in soil ecosystems at different latitudes // Giant. – 2024. – P. 100288.
53. Reddy C. S. K. et al. Polyhydroxyalkanoates: an overview // Bioresource technology. – 2003. – Vol. 87. – Is. 2. – P. 137-146.
54. Reddy M. S. B. et al. A comparative review of natural and synthetic biopolymer composite scaffolds //Polymers. – 2021. – Vol. 13. – Is. 7. – P. 1105.

55. Roohi, Zaheer M. R., Kuddus M. PHB (poly β hydroxybutyrate) and its enzymatic degradation //Polymers for Advanced Technologies. – 2018. – Vol. 29. – Is. 1. – P. 30-40.
56. Rosenboom J. G., Langer R., Traverso G. Bioplastics for a circular economy //Nature Reviews Materials. – 2022. – T. Vol. – Is. 2. – P. 117-137.
57. Rutkowska M., Krasowska K., Heimowska A., Adamus G., Sobota M., et al. Environmental degradation of blends of atactic poly [(R, S)-3-hydroxybutyrate] with natural PHBV in Baltic Sea water and compost with activated sludge // Journal of Polymers and the Environment. – 2008. – Vol. 16. – P. 183-191.
58. Sabapathy P. C. et al. Recent developments in Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production–A review //Bioresource technology. – 2020. – Vol. 306. – P. 123132.
59. Saratale R. G. et al. A comprehensive overview and recent advances on polyhydroxyalkanoates (PHA) production using various organic waste streams //Bioresource technology. – 2021. – Vol. 325. – P. 124685.
60. Shen M. et al. (Micro) plastic crisis: un-ignorable contribution to global greenhouse gas emissions and climate change //Journal of Cleaner Production. – 2020. – Vol. 254. – P. 120138.
61. Sridewi N., Bhubalan K., Sudesh K. Degradation of commercially important polyhydroxyalkanoates in tropical mangrove ecosystem // Polymer Degradation and Stability. – 2006. – Vol. 91. – Is. 12. – P. 2931-2940.
62. Tiso T. et al. The metabolic potential of plastics as biotechnological carbon sources–review and targets for the future //Metabolic engineering. – 2022. – Vol. 71. – P. 77-98.
63. Volova, T. G. et al. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates with different chemical compositions and their biodegradability // Microbial ecology. – 2017. – Vol. 73. – P. 353-367.

64. Watanabe T. Pictorial atlas of soil fungi: morphologies of fungi and key species. – CRC Press, 2002. – 486 p.
65. Yew S.-P., Tang H.-Y., Sudesh K. Photocatalytic activity and biodegradation of polyhydroxybutyrate films containing titanium dioxide // Polymer Degradation and Stability. – 2006. – Vol. 91. – P. 1800-1807.
66. Zaaba N. F., Jaafar M. A review on degradation mechanisms of polylactic acid: Hydrolytic, photodegradative, microbial, and enzymatic degradation // Polymer Engineering & Science. – 2020. – Vol. 60. – Is. 9. – P. 2061-2075.
67. Zhou W. et al. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) synthesis and degradation by microbes and applications towards a circular economy // Journal of Environmental Management. – 2023. – Vol. 341. – P. 118033.
68. Нетрусов А. И. и др. Практикум по микробиологии / под ред. // А.И. Нетрусова. – М.: Академия. – 2005.
69. Сагтон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов // М.: Мир. – 2001 – 486 с.

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
Заведующий кафедрой

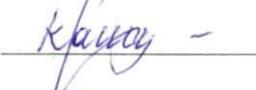
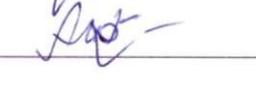
 Т.Г. Волова
«24» июля 2024 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Микробиологическая деградация пленок из полигидроксиалканоатов в
лабораторных и полевых условиях

06.04.01 Биологи

06.04.01.01 Микробиология и биотехнология

Руководители		проф., д-р биол. наук	<u>С. В. Прудникова</u>
		доцент, канд. техн. наук	<u>С. В. Барановский</u>
Выпускник			<u>Е. М. Канцерева</u>
Рецензент		с.н.с., канд. биол. наук	<u>Г. И. Антонов</u>

Красноярск 2024