

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.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Биоразрушаемые композитные материалы на основе
поли(3-гидроксibuтирата) и бактериальной целлюлозы в качестве упаковки
для пищевых продуктов

Научный руководитель _____
подпись, дата

д.б.н., профессор
должность, ученая степень

С.В. Прудникова
инициалы, фамилия

Выпускник _____
подпись, дата

С.Н. Ковригина
инициалы, фамилия

Красноярск 2024

РЕФЕРАТ

Бакалаврская работа по теме «Биоразрушаемые композитные материалы на основе поли(3-гидроксибутирата) и бактериальной целлюлозы в качестве упаковки для пищевых продуктов» представлена в объеме 42 страницы текстового документа, содержит 10 иллюстраций, 8 таблиц и 40 использованных источников.

Ключевые слова: биodeградация, адгезивные свойства, поли(3-гидроксибутират), бактериальная целлюлоза.

Цель: оценка возможности применения поли(3-гидроксибутирата) [П(ЗГБ)] и его композита с бактериальной целлюлозой (БЦ) в качестве биodeградируемой упаковки для пищевых продуктов.

Задачи:

1. Исследовать биodeградацию образцов гомополимера П(ЗГБ) и композита П(ЗГБ)/БЦ в соотношении 50/50 % в почвенных лабораторных микроэкосистемах;
2. Оценить адгезивные свойства поверхности П(ЗГБ) и П(ЗГБ)/БЦ в отношении типовых штаммов грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas fluorescens*.
3. Сравнить численность микроорганизмов *E. coli* и *P. fluorescens* при контакте с поверхностью образцов в течение 72 часов инкубации.

Актуальность: использование биоразлагаемых полимерных материалов в качестве замены синтетических пластиков – одно из необходимых направлений в современном мире для дальнейшего использования более экологичных материалов в различных сферах.

Основные выводы и результаты исследования:

1. Изучение деградации образцов полимеров в почве в лабораторных условиях показало, что за 6 месяцев экспозиции убыль массы образца П(ЗГБ) достигла 37,1 %, композитные образцы П(ЗГБ)/БЦ 50/50 % за это время достигли полного разложения.
2. Численность микроорганизмов в почве на поверхности образцов полимеров обоих типов увеличивалась в течение экспозиции по сравнению с исходной.
3. Численность бактерий *P. fluorescens* и *E. coli* была ниже на поверхности образца П(ЗГБ), что обусловлено его более сильными гидрофобными свойствами по сравнению с композитом П(ЗГБ)/БЦ
4. Численность бактерий *E. coli* и *P. fluorescens* снижалась при контакте с поверхностью образцов П(ЗГБ) в течение 72 часов экспозиции в 8,9 и 5,8 раз по сравнению с исходной. На поверхности композитного материала П(ЗГБ)/БЦ наблюдали рост численности *E. coli*, тогда как количество *P. fluorescens* на его поверхности не превышало исходных значений.

Содержание

Введение.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	6
1.1 Загрязнение окружающей среды пластиковыми отходами.....	6
1.2 Упаковочные материалы, антимикробные добавки.....	7
1.3 Применение полигидроксиалканоатов в качестве упаковочного материала.....	8
1.3.1 Получение полигидроксиалканоатов и их свойства.....	9
1.4 Применение бактериальной целлюлозы в качестве упаковочного материала.....	11
1.4.1 Способы получения бактериальной целлюлозы, свойства и другие сферы её применения.....	12
1.5 Биоразлагаемость полимерных материалов.....	14
1.6 Деструкция полимерных материалов в почве.....	16
1.7 Образование биопленок и адгезия микроорганизмов.....	17
Глава 2. Объекты и методы исследования.....	20
2.1 Объекты исследования.....	20
2.2 Методы исследования.....	20
2.2.1 Исследование динамики деградации образцов полимеров в почве....	20
2.2.2 Исследование адгезии тест-культур бактерий на поверхности образцов полимеров.....	22
2.2.3 Исследование динамики численности тест-культур бактерий при контакте с поверхностью образцов полимеров.....	24
Глава 3. Результаты.....	25
Заключение.....	33
Список использованных источников.....	34
Приложение А.....	40
Приложение Б.....	41
Приложение В.....	42

Введение

В настоящее время рост загрязнения пластиком является глобальной проблемой. Уже несколько десятилетий существуют серьезные проблемы по утилизации и накоплению пластиковых отходов из-за нерационального использования пластмасс для различных целей, включая упаковку, транспортировку, сельское хозяйство и др. Упаковочные пластмассы имеют ряд преимуществ, но они не подвергаются биодegradации и требуют длительного времени на разложение. Пластик способствует ухудшению состояния окружающей среды и усугубляет проблему изменения климата не только из-за засорения территорий, но и из-за влияния на атмосферу. Из материалов этой категории только 9% перерабатываются, 12% сжигаются, а остальные попадают и накапливаются в окружающей среде. Частью прогресса в области упаковки пищевых продуктов является использование полимерных материалов на биологической основе, что позволяет учитывать экологические проблемы. Биополимеры, как альтернатива нефтехимическим материалам, имеют ряд преимуществ, среди которых нетоксичность и способность к биоразложению [20, 22, 23, 25].

Одним из основных свойств биоразлагаемых полимеров является их способность к деструкции в природных условиях. Поскольку полимерные материалы и композиты на их основе считаются потенциальными аналогами традиционным пластмассам, необходимость биоразложения после использования объясняется отсутствием их накопления в природе. Данное свойство биоразлагаемых материалов активно изучается, в связи с потребностью их внедрения в разные сферы, а полигидроксиалканоаты и композитные материалы на их основе считаются достойными кандидатами на постепенную замену синтетическим полимерам.

Целью работы являлась оценка возможности применения поли(3-гидроксибутирата) [П(ЗГБ)] и его композита с бактериальной целлюлозой (БЦ) в качестве биодegradируемой упаковки для пищевых продуктов.

В задачи исследования входило:

1. Исследовать биodeградацию образцов гомополимера П(ЗГБ) и композита П(ЗГБ)/БЦ в соотношении 50/50 % в почвенных лабораторных микроэкосистемах;
2. Оценить адгезивные свойства поверхности П(ЗГБ) и П(ЗГБ)/БЦ в отношении типовых штаммов грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas fluorescens*.
3. Сравнить численность микроорганизмов *E. coli* и *P. fluorescens* при контакте с поверхностью образцов в течение 72 часов инкубации.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Загрязнение окружающей среды пластиковыми отходами

Упаковка считается одной из прогрессирующей областей использования пластмасс. В этих целях используются самые разные материалы. Низкая стоимость и эстетическая привлекательность играют решающую роль в стремительно растущем спросе на изготовление упаковок из пластических масс. Однако эти материалы имеют существенные недостатки, включая склонность к возможному загрязнению при контакте с пищевыми продуктами их остаточными мономерами, которые не вступили в реакцию при синтезе полимеров [3].

С увеличением производства синтетических полимерных материалов продолжает нарастать проблема их утилизации. В настоящее время основным способом решения проблемы полимерного мусора считается – создание полимерных материалов, способных к биодegradации в условиях окружающей среды при помощи микроорганизмов с образованием безвредных для живой и неживой природы веществ. Биополимеры обладают множеством преимуществ по сравнению с традиционными пластиками и считаются перспективной заменой синтетических полимеров, однако высокая стоимость производства ограничивает их применение. Обычно, полимерный материал считается биоразлагаемым, если в почве или воде он распадается за шесть месяцев до углекислого газа и воды. При наличии других продуктов распада или остатков, следует проводить исследование на наличие токсичных веществ. Кроме того, при разложении полимеров на биологической основе (полилактидов, полигликолидов, полигидроксиалканоатов) выбросы CO_2 почти в два раза ниже по сравнению с выбросами от материалов на нефтяной основе (полиэтилена, полиэтилентерефталата, полипропилена и др.) [3, 4, 21, 31].

1.2 Упаковочные материалы, антимикробные добавки

Изначальными функциями упаковки являлись предохранение от порчи и транспортировка с сохранением качества. В настоящее время упаковка должна соответствовать ряду требований, поскольку она рассматривается как продукт связи производителя, продавца и потребителя. Альтернативы синтетическим материалам, которые используются в упаковке пищевых продуктов, кроме биоразлагаемости должны обладать способностью защитить продукт от окружающей среды, избегая процессов загрязнения, появления излишней влажности и окисления, а также быть достаточно прозрачными, чтобы сквозь них можно было увидеть продукт [14, 19].

Антимикробные добавки, которыми наполняют упаковочный материал, позволяют создать дополнительный барьер и снизить рост поверхностной микрофлоры, что позволяет обезопасить продукты питания от микробиологического риска. Упаковочные пленки с антимикробным и антиокислительным действием несут в себе определенные консервирующие свойства, что позволяет увеличить срок годности пищевых продуктов [15].

Природные соединения имеют как доступность, так и высокую активность, что делает их применение перспективным. Например, многообещающей антимикробной добавкой считается экстракт коры березы (ЭКБ). ЭКБ – многокомпонентная смесь, содержащая бетулин, ацетат бетулина, аллобетулин, изобетулин, олеаноловую кислоту и другие вещества. Бетулин применяют в качестве модификатора упаковочных полимерных материалов. Высокая температура плавления экстракта бересты дает возможность его введения непосредственно на стадии переработки полимера [13, 15].

Наибольшую антимикробную активность полимерная пленка, модифицированная экстрактом коры березы, оказывает на дрожжи. В результате чего, ЭКБ, содержащий бетулин позволяет достигнуть существенного бактерицидного эффекта, без ухудшения физико-механических свойств и негативного воздействия на санитарно-химические и

органолептические показатели материала. Введение данного экстракта в полимерные композиции снижает время биodeградации, что связано с действием ЭКБ в качестве противомикробной добавки. Все это создает предпосылки к использованию полученного материала для упаковки пищевых продуктов [6, 7, 13, 16].

1.3 Применение полигидроксиалканоатов в качестве упаковочного материала

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – полимеры на биологической основе, являются биосовместимыми и биоразлагаемыми. Они вырабатываются различными прокариотами в виде внутриклеточных гранул. Считается, что ПГА способны заменить нефтехимические полимеры. Коммерческая доступность позволяет применять их в фармацевтике, медицине, косметической промышленности и т.д. [28].

Считается, что полигидроксибутират (ПГБ) довольно похож на распространенные синтетические полимеры, такие как полиэтилен и полипропилен. Кроме этого, биосовместимость ПГА позволяет им быть пригодными для биомедицинского применения. Например, ПГБ обладает низкой токсичностью, поскольку *in vivo* он разлагается до D-3-гидроксимасляной кислоты, которая является компонентом крови человека. Эти характеристики позволяют ПГА быть перспективными вариантами замены обычных синтетических полимеров в широком спектре применений в различных отраслях. К которым относятся и биоразлагаемая (одноразовая) упаковка для пищевых продуктов, и биоматериалы (швы, пластыри, каркасы для регенерации тканей, устройства для контролируемого высвобождения лекарственных средств) [24, 25].

В работе P. Vostrejs et al. (2020) изучалась эффективность лигнина, выделенного из виноградных косточек, в качестве добавки, которая удаляет радикалы полигидроксиалканоатов. Полученный лигнин оказался эффективным антиоксидантом при добавлении в пленку ПГБ/ПГА. Это

повышало степень кристалличности и жесткости пленки, а также способствовало снижению проницаемости пленок для кислорода и углекислого газа. Кроме этого, была подтверждена способность пленок ПГБ/ПГА, содержащих лигнин, разлагаться в компосте. Эти результаты показали, что изучаемые пленки могут расширить область применения полигидроксиалканоатов в сфере пищевой упаковки в качестве биоактивных биоразлагаемых пленок. Свойства этих материалов и результаты биодеградации показали, что пленки ПГА/ПГБ с лигнином виноградных косточек не загрязняют окружающую среду по истечении срока службы [38, 39].

1.3.1 Получение полигидроксиалканоатов и их свойства

Полигидроксиалканоаты продуцируются и накапливаются внутриклеточно широким спектром микроорганизмов в условиях дефицита питательных веществ и при наличии избыточного источника углерода. Они поддаются биологическому разложению в условиях промышленного компостирования, а в некоторых случаях и в естественных условиях. Данный материал завоевал большой интерес в секторе упаковки пищевых продуктов благодаря своим физическим свойствам, сходным с некоторыми нефтехимическими полимерами, используемыми в производстве упаковки, такими как полипропилен (PP) и полиэтилен низкой плотности [25].

Полигидроксиалканоаты возможно получать с использованием природных и возобновляемых ресурсов, включая пищевые и промышленные отходы и затем изготавливать изделия для упаковочных целей. Возможность быть повторно использованными или механически переработанными и попасть в компост, дает возможность замкнуть процесс в цикл. Поскольку полученный компост можно использовать как источник углерода для производства новых ПГА [25, 28, 40].

Большинство видов бактерий, продуцирующих ПГА, являются грамотрицательными представителями родов: *Azohydromonas*, *Burkholderia*,

Pseudomonas и *Cupriavidus*. Наиболее широко изученным является *Cupriavidus necator*. Также продуцирование ПГА было описано у грамположительных бактерий в родах: *Bacillus*, *Caryophanon*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Microlunatus*, *Microcystis*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Staphylococcus* и *Streptomyces* [25].

Сейчас представлено значительное разнообразие ПГА, у которых мономерный состав и физико-химические свойства варьируются в зависимости от штамма бактерии, источника углерода и используемых условий культивирования. В настоящий момент, известно о существовании более 150 различных мономеров ПГА, из которых наиболее распространенными и изученными являются 3-гидроксibuтират и 3-гидроксивалерат [25, 26, 40].

Поли(3-гидроксibuтират) (ПГБ) – наиболее изученный и широко используемый из ПГА. Его биосинтез по сравнению с другими ПГА является более простым и эффективным в плане выхода полимеров. Поскольку ПГБ – полукристаллический полимер, на его механические свойства влияет соотношение кристаллической и аморфной частей. Соответственно, его применение зависит от требований продукта, т.е. где необходимо сохранение гибкости и подвижности ПГБ не подходит из-за своей кристалличности и хрупкости. Для снижения кристалличности ПГБ смешивают с более гибкими полимерами (например поликапролактон), что делает его более пластичным. Ввиду этих свойств ПГБ имеет ряд недостатков, которые ограничивают масштабы его внедрения. В совокупности с его высокой стоимостью, из-за синтеза, основанного на биотехнологических методах, его использование в упаковке пищевых продуктов, по-прежнему, ограничено. В результате чего, он все еще не может конкурировать с пластиками, получаемыми из нефтехимической продукции [38, 39, 40].

1.4 Применение бактериальной целлюлозы в качестве упаковочного материала

Целлюлоза – наиболее распространенный полисахарид, который синтезируется растениями, животными и микроорганизмами. При биосинтезе целлюлозы источниками углерода являются моно- и олигосахариды: глюкоза, фруктоза, сахароза, маннит и т.д. [9, 30]. Растительная и бактериальная целлюлозы имеют общую основу, но также содержат и заметные различия. Растительные волокна состоят из целлюлозы только на 40-70% и содержат примеси, лигнин, гемицеллюлозу, пектин. Бактериальная целлюлоза является биополимером, синтезируемым микроорганизмами, и состоит из нановолокон целлюлозы, обладающих высокой чистотой и прочностью, не требующих последующей рафинирующей обработки [17, 30, 33, 34].

Бактериальная целлюлоза – материал, синтезируемый внеклеточно определенными типами бактерий, такими как *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Cetobacter*, *Gluconobacter*, *Komagateibacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella* and *Sarcina ventriculi*. Среди них наиболее эффективными и наиболее используемыми для производства целлюлозы являются *Gluconacetobacter xylinum*, *Gluconacetobacter hansenii* и *Gluconacetobacter pasteurianus* [11, 33].

Биосовместимость и механические свойства бактериальной целлюлозы вызвали интерес к её использованию в различных областях применения, включая биомедицину и др. Кроме того, бактериальная целлюлоза нашла применение в умной и активной упаковке, а также может использоваться в качестве съедобной упаковки. Были разработаны пищевые антимикробные пленки на основе бактериальной целлюлозы с использованием в качестве активного компонента бычьего лактоферрина. Получившиеся пленки снижали жизнеспособность *E. coli* и *S. aureus*, в дальнейшем были предложены для использования при непосредственном контакте с скоропортящимися пищевыми продуктами. Также были разработаны пленки на основе бактериальной целлюлозы, содержащие сорбиновую кислоту в

качестве антимикробного агента. Было выяснено, что концентрация сорбиновой кислоты и растворимость пленок в воде влияли на эффективность антимикробных свойств [11, 22, 33].

Кроме того, интерес к бактериальной целлюлозе вызван возможностью получения на ее основе биокomпозиционных материалов с заданными свойствами, поскольку гель-пленка на ее основе – уникальная матрица-носитель для различных лекарственных препаратов, в частности с антибактериальным и регенерирующим действием [12].

1.4.1 Способы получения бактериальной целлюлозы, свойства и другие сферы её применения

В результате того, что бактериальная целлюлоза (БЦ) широко применяется во многих областях, большое внимание уделяется эффективным способам ее получения с помощью различных штаммов бактерий с различными условиями культивирования, которые зависят от дальнейшего назначения. Известно, что условия ферментации могут оказывать существенное влияние на свойства БЦ, включая упаковку фибрилл, плотность, пористость и механическую прочность пленок БЦ. Существует множество способов выращивания, но их обобщают в два основных: стационарное и глубинное культивирование (статическое и динамическое). С помощью первого способа можно получать пленки БЦ, однако у него есть существенный недостаток – высокая стоимость производства из-за использования ручного труда. Вторым способом бактериальная целлюлоза синтезируется в виде сфер с различным диаметром или волокон. Для промышленного производства второй способ считается более подходящим, т.к. может осуществляться в ферментерах и быть максимально автоматизирован. Самой распространенной бактерией для производства БЦ является *Komagataeibacter xylinus*. Это аэробная бактерия, способная эффективно метаболизировать широкий спектр источников углерода и азота для получения БЦ [11, 34].

Свойства БЦ обусловлены особой ориентацией гликозидных цепей, где многочисленные внутримолекулярные и межцепочечные водородные связи придают ей высокую прочность в сочетании с гибкостью. У бактериальной целлюлозы значительно тоньше волокна, нежели у целлюлозы растительного происхождения. БЦ имеет высокопористую структуру с высокой проницаемостью для жидкостей, благоприятную для адгезии и пролиферации клеток. Кроме того, она является биоразлагаемым, биосовместимым, неаллергенным полимером и не проявляет цитотоксичности. Ее полезные свойства, такие как высокая прочность на разрыв, эластичность, высокая влагоудерживающая способность (98%), газопроницаемость, нановолокнистая структура, делают БЦ перспективным материалом. Однако у нее отсутствует внутренняя антибактериальная активность, что препятствует более широкому применению. В связи с этим множество преимуществ имеет дополнительная модификация БЦ с целью повышения антимикробной активности, например, в сочетании с хитозаном, альгинатом, частицами наносеребра подавляется рост патогенных микроорганизмов *E. coli*, *C. albicans* и *Staphylococcus aureus* [11, 17, 30, 34].

Сейчас БЦ используется в основном, как медицинский материал. Ее не используют в чистом виде, но модифицируют для конкретных задач. Заинтересованность в биомедицинском использовании определяется характеристиками БЦ: внутренняя биосовместимость, структурная изменчивость, механическая прочность, трехмерная волокнистая структура, пористость, удержание воды и прозрачность, в том числе в областях заживления ран, доставки лекарств, тканевой инженерии и искусственных кровеносных сосудов. Кроме того, БЦ обладает потенциалом в косметической отрасли из-за своих свойств, таких как биосовместимость, способность удерживать воду, способность поглощать и выделять вещества, а также отличные свойства адгезии к коже [11].

Более того, бактериальная целлюлоза широко используется в биоремедиации и применяется в качестве добавки для повышения прочности

бумаги из переработанного сырья. Также известно, что с ее использованием получают биобетон, благодаря своей пористой структуре волокон БЦ модифицирует вязкость в самоуплотняющемся бетоне, позволяя ему дольше оставаться устойчивым к разрушениям [11, 21, 34].

1.5 Биоразлагаемость полимерных материалов

Полимеры – одни из наиболее важных материалов, используемых в пищевой упаковке. Они имеют большое преимущество перед другими материалами. Интерес к использованию возобновляемых и биоразлагаемых полимеров за последнее время возрос. Остро стоит вопрос настоятельной необходимости замены синтетических пластмасс нефтяного происхождения, которые являются невозобновляемыми и не поддающимися биологическому разложению. Их использование привело к значительному накоплению отходов (в основном отходов одноразовой упаковки пищевых продуктов). Кроме этого, в вопросе замены синтетических пластмасс важно получение экономического преимущества в затратах на производство за счет использования недорогих промышленных побочных продуктов [8, 24].

Самым распространенным крупнотоннажным полимером является полиэтилен. Однако при введении в матрицу основного полимера биodeградирующей добавки можно способствовать его ускоренному разложению. Так, с помощью добавления натурального каучука к полиэтилену, ему придается способность к биоразложению. Это возможно благодаря тому, что натуральный каучук является природным полимером, способным к биологической деструкции. Кроме того, он не накапливается в природе и вырабатывается растениями, что объясняет возможность его распада под действием бактерий и грибов. В настоящее время проведены исследования по биodeградации натурального каучука и композитов с его содержанием [1].

От других пластиков биополимеры и биопластики отличаются способностью биоразлагаться. Их преимуществом является способность

разлагаться на натуральные компоненты, что освобождает от отдельного сбора, сортировки, переработки для повторного использования. Для того, чтобы использовать способность к биоразложению по максимуму эти материалы должны собираться совместно с органическими отходами и компостироваться в аэробных или анаэробных условиях [5].

Решение проблемы полимерных отходов заключается в синтезе и использовании полимеров, которые деградируют в определенных условиях и в течение некоторого периода времени. Полимерные материалы широко распространились благодаря своим отличным механическим и теплофизическим свойствам, а также высокой стабильности. Их различия приходится на химический состав, механические свойства и области применения. Одним из главных аспектов, регулирующим процесс биодegradации полимера, является состав и структура материала [8].

Биоразложение – гетерогенный процесс, поскольку полимеры состоят не из одного химически однородного компонента. Биодegradация является химическим разложением материалов бактериями или другими биологическими агентами. Она осуществляется ферментативной системой живых микроорганизмов и происходит в два этапа. Биоразложению полимера сопутствует ухудшение некоторых механических, оптических и электрических свойств. Это происходит, поскольку обычные механические свойства полимера определяются длиной полимерных цепей в материале, соответственно, их разложение является одной из наиболее важных причин изменения некоторых механических свойств. Кроме этого, биоразлагаемость зависит от происхождения полимера, его химической структуры и условий окружающей среды. От биоразлагаемых пластмасс требуется быть разлагаемыми в определенных средах, например почве, компосте или морской среде. Биодegradуемость зависит от гидролизуемых и окисляемых химических структур, баланса гидрофобности и молекулярных масс. На скорость разложения также влияют и физические свойства, такие как

кристалличность, температура плавления или стеклования, а также морфология, в том числе поверхность и толщина [8].

1.6 Деструкция полимерных материалов в почве

Биодеградация – необратимый процесс, который разрушает химическую и физическую структуру материала в определенных условиях окружающей среды [21]. Разложение полигидроксиалканоатов возможно в различных средах, например, в почве, соленых и пресных водах. Несмотря на это, было установлено, что почва является наиболее естественной средой для их разложения. На процесс биодеградации способны влиять различные факторы, а именно, активность микроорганизмов, характеристики почвы и ее тип, химический состав и структура полимера, молекулярная масса, температура, воздействие UV-излучения, влажность, pH, содержание питательных веществ и кислорода. Кроме того, площадь поверхности полимерных материалов также оказывает влияние на скорость биодеградации. Например, меньшая площадь поверхности ограничивает рост микроорганизмов, как и увеличение толщины образца уменьшает скорость деградации. Также, скорость биодеградации зависит от проникновения влаги в полимерный материал [2, 10, 18, 39].

В процессе биодеградации полигидроксиалканоатов участвуют два типа микроорганизмов: первый физически разлагает полимер, а второй питается побочными продуктами разложения (масляная кислота, валериановая кислота и т.д.). Многие бактерии имеют способности к разложению полимеров короткой и средней длины. Наиболее эффективными почвенными деструкторами ПГА являются микромицеты, среди которых широко распространены представители рода *Penicillium*. Однако значительное количество видов бактерий также принимает участие в биодеградации. Наиболее известные роды: *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Aspergillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*,

Streptomyces, *Variovorax*. Грибы также являются эффективными биодеструкторами, к ним можно отнести *Ascomycota*, *Basidiomycetes*, *Deuteromycetes*, *Zygomycotina*, *Mixomycetes*, *Mastigomycetes*, *Fusarium*. Кроме того, известно, что грибы разлагают ПГА более активно из-за повышенной подвижности грибной ПГА-деполимеразы [25, 35, 36].

Механизм биоразложения различается в зависимости от типа полимера, микроорганизмов и условий окружающей среды. Показателями процесса биоразрушения ПГА являются такие факторы, как: убыль массы, изменение молекулярномассовых показателей и кристалличности. А скорость разложения полигидроксиалканоатов зависит от кристалличности и сополимерной структуры. В ходе процесса биоразрушения полимерных образцов и убыли их массы изменяется морфология поверхности. Внешнее состояние прессованных объемных форм подвергается изменениям: поверхность материала приобретает шероховатость, на ней формируются поры и углубления, а также могут развиваться глубинные повреждения образцов, которые выражаются наличием потемнений, не подвергающихся механическому удалению без разрушения образца [10, 21, 37, 39].

1.7 Образование биопленок и адгезия микроорганизмов

Биопленки представляют собой сидячие микробные сообщества, растущие на поверхностях, часто встроенные в матрицу из внеклеточных полимерных веществ. Описания биопленок менялись на протяжении многих лет, но основные характеристики зачастую сохраняются. Биопленка прикреплена к субстрату и состоит из множества бактерий, совместно прикрепленных с помощью физических придатков и внеклеточных полимерных веществ. Основными требованиями для роста биопленки являются сами микроорганизмы и субстрат. Если исключить один из этих ингредиентов, биопленка образовываться не будет. Однако следует отметить, что без воды подвижность бактерий и доступность питательных веществ снижаются, а осмотическое давление становится менее жизнеспособным для

большинства бактерий. Рост биопленки регулируется целым рядом физических, химических и биологических процессов [27].

Преимущества образования биопленки для бактерий многочисленны, например, защита от антибиотиков, дезинфицирующих средств и динамичных сред. Межклеточные коммуникации внутри биопленки быстро стимулируют повышающую и понижающую регуляцию экспрессии генов, обеспечивая временную адаптацию, такую как фенотипическая изменчивость и способность выживать в условиях дефицита питательных веществ. Около 99% мировой популяции бактерий находятся в виде биопленки на различных стадиях роста, и пленки столь же разнообразны, сколь многочисленны бактерии [27].

Прикрепление клетки к субстрату называется адгезией, а прикрепление клетки к клетке называется когезией. Именно механизмы, лежащие в основе этих форм прикрепления, в конечном счете определяют адгезивные и когезионные свойства, которые будет проявлять биопленка [27].

За последние несколько десятилетий рост биопленок наблюдался во многих промышленных и бытовых областях. В большинстве случаев этот рост был пагубным. Многие отрасли промышленности страдают от негативных последствий роста биопленок того или иного типа. Порча продукта, снижение эффективности производства, коррозия, неприятные запахи, неприглядность, инфекции, засорение труб и выход из строя оборудования - примеры пагубного воздействия биопленок. Соответственно, существует большой промышленный интерес к разработке материалов и методов, которые могут удалять и активно предотвращать образование биопленок [27].

Накопление микроорганизмов на собирающей поверхности было описано как процесс, состоящий из трех стадий: адсорбция, или накопление организма на собирающей поверхности; прикрепление, или уплотнение поверхности раздела между организмом и коллектором, часто включающее

образование полимерных мостиков между организмом и коллектором; колонизация, или рост и деление организмов на поверхности коллектора [27].

Pseudomonas aeruginosa – универсальный условно-патогенный микроорганизм, вызывающий порчу пищевых продуктов и молока, который не только приводит к значительному сокращению срока хранения молочных продуктов и может расти, размножаться в холодильнике, но и способна процветать в различных средах, начиная от воды и почвы, заканчивая тканями растений и животных. Она обладает способностью образовывать биопленки, сложные адгезивно структурированные микробные сообщества и имеет высокую устойчивость к антибактериальным средствам, что затрудняет уничтожение бактерий [29].

Микроорганизмы в биопленках становятся более устойчивыми к противомикробным средствам, включая те, которые часто используются для очистки поверхностей в пищевой промышленности, что ограничивает их эффективность. В результате эти микроорганизмы могут не только загрязнять пищевые продукты, контактирующие с этими поверхностями, подвергая риску здоровье потребителей, но и способны понизить срок хранения пищевых продуктов. Условия, характерные для промышленности, такие как поверхность из нержавеющей стали, высокая активность воды, нейтральный pH и наличие питательных веществ в сочетании с недостаточной очисткой оборудования, могут способствовать адгезии бактерий [32].

Глава 2. Объекты и методы исследования

2.1 Объекты исследования

Объектами исследования служили образцы биополимеров: поли(3-гидроксибутирата) [П(ЗГБ)] и композитного состава П(ЗГБ) и бактериальной целлюлозы [П(ЗГБ)/БЦ] в соотношении 50/50 вес. %. Образцы полимеров были изготовлены в виде объемных прессованных форм размером 0,9×0,9×0,3 мм, путем холодного прессования сухих порошковых смесей с помощью автоматического лабораторного прессы Carver Auto Series Plus (Carver Inc, США).

Поли(3-гидроксибутират) был синтезирован бактериями *Cupriavidus necator* B10646, бактериальная целлюлоза была синтезирована бактериями *Komagataeibacter xylinus* B-12068. Культивирование микроорганизмов, выделение и очистка полимеров, а также изготовление прессованных объемных форм проводилось на базе лаборатории Инновационных препаратов и материалов ИФБиТ.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Исследование динамики деградации образцов полимеров в почве

Исследование деградации образцов полимеров проводили в лабораторных условиях. В пластиковые контейнеры насыпали 155 г полевой почвы и увлажняли до 50% влажности. Образцы в 3-х кратной повторности были помещены в мешочки из органзы (рис.1) и заложены по центру контейнеров в почву на глубину 1 см. Контейнеры инкубировали при температуре 26 С° с поддержанием постоянной влажности почвы. Перед размещением в почве для всех образцов был зафиксирован исходный вес.

Убыль массы образцов определяли в течение 6 месяцев экспозиции. Для этого каждый месяц мешочки изымали из контейнеров, образцы извлекали и механически очищали от остатков почвы, затем просушивали в

сушильном шкафу при температуре 60 С° в течение 1 часа и взвешивали на аналитических весах Ohaus PA-512C (Ohaus, США). После чего образцы возвращали в почву.



Рисунок 1 - Исходные образцы полимеров П(ЗГБ) (сверху) и П(ЗГБ)/БЦ 50/50% (снизу) в мешочках из органзы

Удельную скорость биodeградации (β , сут⁻¹) определяли, по формуле:

$$\beta = \frac{\ln \frac{x_1}{x_2}}{\tau},$$

где X_1 – средний вес до и X_2 – средний вес после экспозиции (мг);

τ – время (сутки).

Для проведения микробиологического анализа почвы проводили отбор почвенных проб (1 г) с поверхности образцов полимерных материалов. Динамику численности микроорганизмов исследовали в течение 5 месяцев.

Количественное определение численности бактерий проводили высеvom из почвенных суспензий из разведений 10^4 - 10^5 на мясопептонный агар (МПА) (Nutrient agar, HiMedia, Индия). Численность грибов определяли на сусло-агаре, высеvom суспензий из разведений 10^2 - 10^3 (рис. 2, 3). Бактериологический посев проводился методом Коха, в чашки вносили 50 мкл бактериальной суспензии и растирали шпателем Дригальского до впитывания суспензии в агар. Посев был проведен в трех повторностях для каждого разведения. Чашки с сусло-агаром инкубировали в термостате при

25 °С, МПА – при 28 °С. Подсчет выросших колоний производили через 3-7 суток.

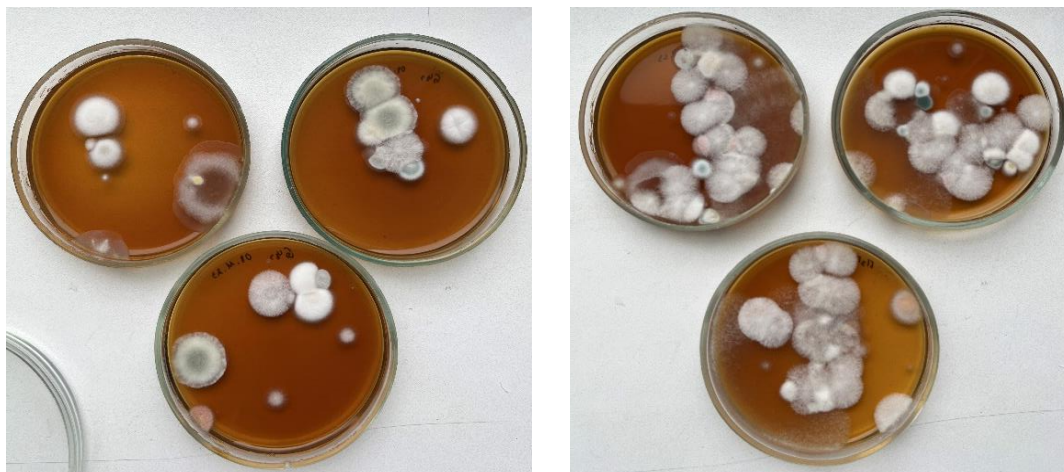


Рисунок 2 - Рост колоний грибов на сусло-агаре при высеве почвы с поверхности образцов П(ЗГБ)/БЦ 50/50% (слева) и П(ЗГБ) (справа)

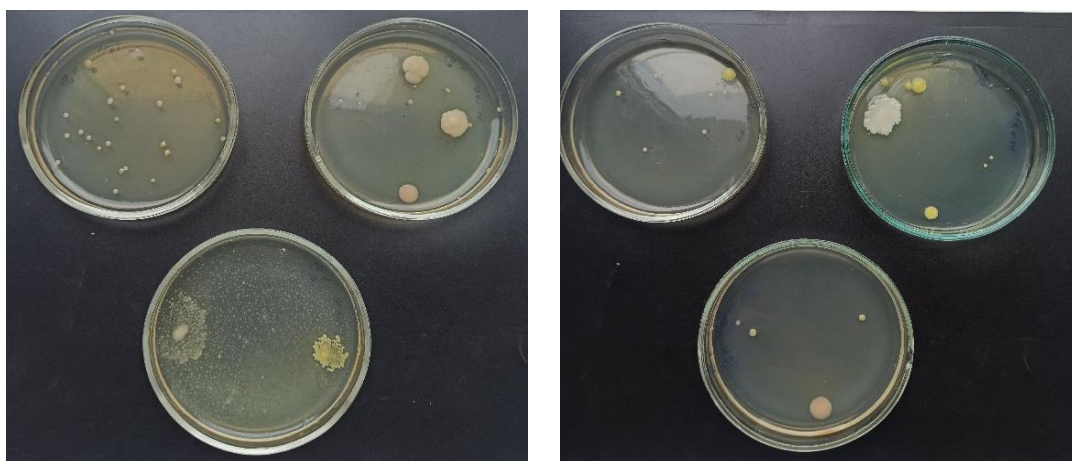


Рисунок 3 - Рост колоний бактерий на МПА при высеве почвы с поверхности образцов П(ЗГБ)/БЦ 50/50% (слева) и П(ЗГБ) (справа)

2.2.2 Исследование адгезии тест-культур бактерий на поверхности образцов полимеров

Для оценки адгезии были использованы тест-культуры стандартных штаммов грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas fluorescens*.

Для проведения эксперимента культуры микроорганизмов были посеяны на скошенный агар и инкубированы в термостате (30 С°) в течение

24 часов. Из суточной культуры бактерий делали суспензию в стерильной водопроводной воде. В пробирки со стерильным питательным бульоном (Nutrient broth, HiMedia, Индия) вносили суспензию бактерий. Оптическую плотность определяли с помощью денситометра DEN-1 (Biosan, Латвия) и доводили до 0,8 единиц по стандарту мутности МакФарланда, что соответствовало численности $2,2 \times 10^8$ кл/мл.

Образцы обрабатывали 70 % этанолом в течение 5 минут, после чего трижды промывали в стерильной воде. Затем образцы помещали в пробирки с мясопептонным бульоном, содержащим тест культуру бактерий, и инкубировали сутки при 30 °С. После чего образцы сначала промывали в стерильной воде для смывания не закрепившихся клеток, а затем вортиксовали в пробирке со стерильной водой, используя Biosan Vortex V-1 plus, чтобы отделить адгезированные клетки бактерий.

После вортиксирования полученную бактериальную суспензию *E. coli* высевали на дифференциально-диагностическую среду – агар Эндо (Endo Agar, HiMedia, Индия) (рис. 4), суспензию *P. fluorescens* - на МПА. Бактериологический посев проводился методом Коха из разведений 10^4 - 10^6 в трех повторностях. Чашки помещали в термостат при 30 °С, учет колоний проводили на 1-3 сутки.

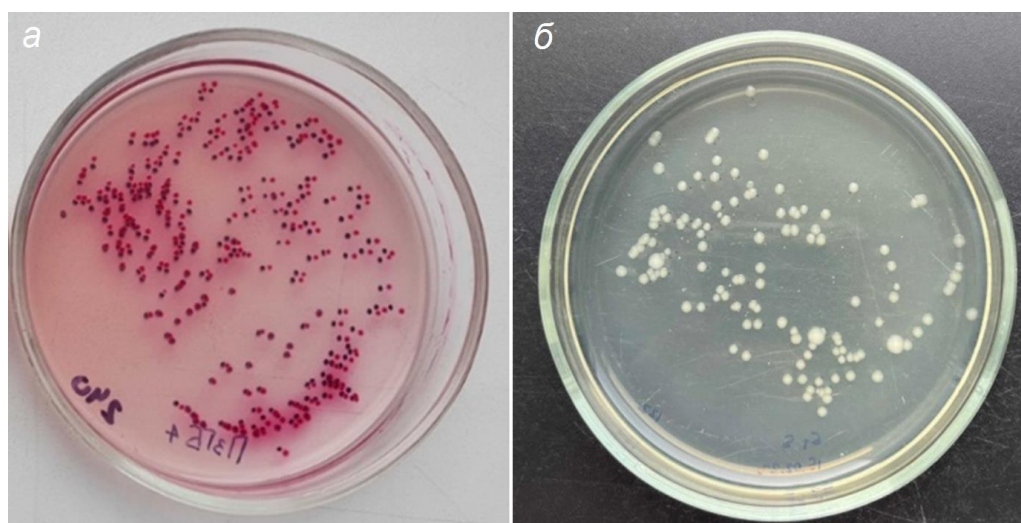


Рисунок 4 - Колонии *E. coli* (а) и *P. fluorescens* (б)

2.2.3 Исследование динамики численности тест-культур бактерий при контакте с поверхностью образцов полимеров

Исследование численности микроорганизмов при контакте с поверхностью полимерных образцов проводили с использованием техники принудительной контаминации (Федотова, Мяленко, 2016). Образцы полимеров размером обрабатывали 70 % этанолом в течении 5 минут, трижды промывали стерильной водой и раскладывали в стерильные чашки Петри с двойным слоем фильтровальной бумаги, увлажненной 2 мл стерильной воды. На поверхность образцов асептически наносили 100 мкл суспензии бактерий *E. coli* или *P. fluorescens* с титром $2,2 \times 10^8$ клеток в 1 мл, распределяя каплю по поверхности, затем помещали чашки в термостат и инкубировали при 30 °С в течение 3-х суток. Через 24, 48 и 72 часа экспозиции образцы помещали в пробирки со стерильной водой, встряхивали на шейкере Bio Vortex V1 (Biosan, Латвия) в течение минуты для того, чтобы отделить адгезированные клетки бактерий.

Полученные бактериальные суспензии высевали в чашки Петри на агаризованную среду: *E. coli* - на агар Эндо, *P. fluorescens* - на МПА. Бактериологический посев проводился методом Коха из разведений 10^3 - 10^5 в трех повторностях. Чашки помещали в термостат при 30 °С, учет колоний проводили на 1-3 сутки.

Глава 3. Результаты

Страницы 25-32 изъяты в связи с авторским правом.

Заключение

1. Изучение деградации образцов полимеров в почве в лабораторных условиях показало, что за 6 месяцев экспозиции убыль массы образца П(ЗГБ) достигла 37,1 %, композитные образцы П(ЗГБ)/БЦ 50/50 % за это время достигли полного разложения.
2. Численность микроорганизмов в почве на поверхности образцов полимеров увеличивалась в течение экспозиции по сравнению с исходной. На поверхности композитных материалов П(ЗГБ)/БЦ численность бактерий была в 2,4 раза выше, а грибов - в 1,2 раза ниже, чем на поверхности П(ЗГБ).
3. Численность бактерий *P. fluorescens* и *E. coli* была ниже на поверхности образца П(ЗГБ), что обусловлено его более сильными гидрофобными свойствами по сравнению с композитом П(ЗГБ)/БЦ.
4. Численность бактерий снижалась при контакте с поверхностью образцов П(ЗГБ). Через 72 часа численность *P. fluorescens* и *E. coli* была в 5,8 и 8,9 раза меньше по сравнению с исходной. На поверхности композитного материала П(ЗГБ)/БЦ наблюдали рост численности *E. coli* на 3 сутки в 1,8 раза по сравнению с исходной, тогда как количество *P. fluorescens* на поверхности П(ЗГБ)/БЦ не превышало исходных значений.

Список использованных источников

1. Алексеев Е. И. Биоразложение композиций на основе полиэтилена и натурального каучука с добавлением фосфолипидного концентрата / Е. И. Алексеев, В. В. Янов, Л. А. Зенитова // Вестник Технологического университета. – 2022. – Т. 25, № 8. – С. 126-130.
2. Бояндин А.Н. Биодegradация полигидроксиалканоатов почвенными микробиоценозами различной структуры и выявление микроорганизмов-деструкторов / А. Н. Бояндин, С. В. Прудникова, М. Л. Филипенко [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 1. – С. 35.
3. Закирова А.Ш. Биодegradируемые пленочные материалы. Часть 1. Биодegradируемые пленочные материалы на основе синтетических и микробиологически синтезированных полимеров / А.Ш. Закирова, З.А. Канарская, О.С. Михайлова, С.В. Василенко // Вестник Казанского технологического университета. 2014. №9.
4. Зубков И. Н. Получение полигидроксиалканоата с помощью культуры *Pseudomonas helmanticensis* в нестерильных средах, содержащих глицерин и додецилсульфат натрия / И.Н. Зубков, Ю.С. Букин, П.Н. Сорокоумов, С.М. Шишлянников // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. №3 (42).
5. Зубова О. А. Биоразлагаемые полимеры и перспектива их применения / О. А. Зубова, Э. Х. Сакаева // Химия. Экология. Урбанистика. – 2019.
6. Мяленко Д.М. Разработка инновационной упаковки для пищевой модифицированной природными антимикробными и антиоксидантными компонентами / Д. М. Мяленко, Н. С. Головань, О.Б. Федотова // Znanstvena Misel. – 2019. – №. 8-1. – С. 3-5.
7. Нагорный М. Ю. Упаковочный материал с антимикробными свойствами / М.Ю. Нагорный, О.Б. Федотова // Молочная промышленность. – 2013. – №. 4. – С. 50-51.

8. Пантюхов П.В. Термоокислительная деструкция биоразлагаемых полимерных материалов / П. В. Пантюхов, А. К. Зыкова, Е. Е. Масталыгина [и др.] // Плехановский научный бюллетень. – 2018. – № 1(13). – С. 71-75.
9. Погорелова, Н. А. Морфологические особенности строения бактериальной целлюлозы и нанокompозитов на ее основе для изготовления современных раневых покрытий / Н. А. Погорелова, С. В. Чернигова, Е. А. Рогачев // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2019. – № 4(36). – С. 131-141.
10. Прудникова С.В. Закономерности биоразрушения полигидроксиалканоатов на территории Вьетнама и Центральной Сибири / С. В. Прудникова, К. И. Коробихина, А. Н. Бояндин, Т. Г. Волова // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология. – 2012. – Т. 5, № 3. – С. 311-321.
11. Рогова Е.А. Состояние и перспективы совершенствования способов получения и использования бактериальной целлюлозы (обзор) /Е.А. Рогова, Ю.Д. Алашкевич, В.А. Кожухов, И.Р. Лапин, Е.Г. Киселев // Химия растительного сырья. 2022. №4.
12. Сапунова Н. Б. Биоматериалы на основе бактериальной целлюлозы для регенеративной медицины / Н. Б. Сапунова, А. О. Богатырева, Н. В. Ревина [и др.] // Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14, № 5. – С. 205-206.
13. Тверитникова И. С. Разработка упаковочных материалов с антимикробными свойствами и способностью к биоразложению / И. С. Тверитникова, И. А. Кириш, О. В. Безнаева, О. А. Банникова, М. И. Губанова, Ю. А. Филинская, Ю. В. Фролова, Т. А. Кондратова // Вестник Технологического университета. – 2021. – Т. 24. – №. 7. – С. 78-83.
14. Ухарцева И. Ю. Полимерные упаковочные материалы для пищевой промышленности: классификация, функции и требования (обзор) /

- И.Ю. Ухарцева, Е. А. Цветкова, В. А. Гольдаде // – Пластические массы. – 2019. – №9-10. – С. 56-64.
15. Чудайкина А.В. Инновационные системы упаковок в пищевой промышленности / А.В. Чудайкина, Е.В. Суровцова, Л.Г. Коляда, Е.В. Тарасюк // Качество в обработке материалов. – 2020. – №. 1. – С. 64-69.
 16. Шалаева А. В. Полиэтиленовая пленка с антимикробными свойствами / А.В. Шалаева, О.Б. Федотова // Пищевая промышленность. – 2011. – №. 1. – С. 22-23.
 17. Шидловский И.П. Свойства композитов бактериальной целлюлозы и наночастиц серебра / И. П. Шидловский, А. А. Шумилова, Е. И. Шишацкая, Т. Г. Волова // Биофизика. – 2018. – Т. 63, № 4. – С. 669-676. – DOI 10.1134/S0006302918040051.
 18. Altaee N. et al. Biodegradation of different formulations of polyhydroxybutyrate films in soil / N. Altaee, G.A. El-Hiti, A. Fahdi et al. //SpringerPlus. – 2016. – Т. 5. – С. 1-12.
 19. Arrieta M.P. Bionanocomposite films based on plasticized PLA–PHB/cellulose nanocrystal blends / M.P. Arrieta, E. Fortunati, F. Dominici, J. Lopez, J.M. Kenny // Carbohydrate Polymers, Volume 121, 2015, Pages 265-275.
 20. Baghi F. Advancements in biodegradable active films for food packaging: Effects of nano/microcapsule incorporation/ F. Baghi, A. Gharsallaoui, E. Dumas, S. Ghnimi // Foods. – 2022. – Т. 11. – №. 5. – С. 760.
 21. Bueno F. et al. Biodegradability of bacterial cellulose polymer below the soil and its effects on soil bacteria diversity / L. Fultz, C. Husseneder, M. Keenan, S. Sathivel //Polymer Degradation and Stability. – 2023. – Т. 217. – С. 110535.
 22. Camargo M. S. A. Evaluation of Wet Bacterial Cellulose Degradation in Different Environmental Conditions / M. S. A. Camargo, A. P. Cercal, V. F. Silveira, K. C. B. Mancinelli, R. M. M. Gern, M. C. F. Garcia, G. P. Apati,

- A. L. dos SantosSchneider, A. P. T. Pezzin // *Macromolecular Symposia*. – 2020. – T. 394. – №. 1. – C. 2000149.
23. Dey S. Degradation of Plastics Waste and Its Effects on Biological Ecosystems: A Scientific Analysis and Comprehensive Review / S. Dey, G.T.N. Veerendra, P.S.S.A. Babu et al. // *Biomedical Materials & Devices*. – 2024. – T. 2. – №. 1. – C. 70-112.
24. Etxabide A. Polyhydroxybutyrate (PHB) produced from red grape pomace: Effect of purification processes on structural, thermal and antioxidant properties / A. Etxabide, P. A. Kilmartin, P. Guerrero, K. de la Caba, D. O. Hooks, M. West, T. Singh // *International Journal of Biological Macromolecules*. – Volume 217. – 2022. – Pages 449-456.
25. Fernandes M. Factors affecting polyhydroxyalkanoates biodegradation in soil / M. Fernandes, A. Salvador, M. M. Alves, A. A. Vicente // *Polymer Degradation and Stability*. – 2020. – T. 182. – C. 109408.
26. Garcia-Garcia D. Innovative solutions and challenges to increase the use of Poly(3-hydroxybutyrate) in food packaging and disposables / D. Garcia-Garcia, L. Quiles-Carrillo, R. Balart, S. Torres-Giner, M.P. Arrietta // *European Polymer Journal*. – 2022. – T. 178. – C. 111505.
27. Garrett T. R. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces/ T. R. Garrett, M. Bhakoo, Z. Zhang// *Progress in Natural Science*. – Volume 18. – Issue 9. – 2008. – Pages 1049-1056.
28. Kim J. Biodegradation Studies of Polyhydroxybutyrate and Polyhydroxybutyrate-co-Polyhydroxyvalerate Films in Soil / J. Kim, N.S. Gupta, L.B. Bezek, J. Linn, K.K. Bejagam, S. Banerjee, J.H. Dumont, S. Y. Nam, H.W. Kang, C.H. Park et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – T. 24. – №. 8. – C. 7638.
29. Liu Y. Inhibition of bacterial adhesion and biofilm formation of sulfonated chitosan against *Pseudomonas aeruginosa* / Y. Liu, Y. Jiang, J. Zhu, J. Huang, H. Zhang // *Carbohydrate Polymers*. – Volume 206. – 2019. – Pages 412-419.

30. Pogorelova N. Bacterial Cellulose Nanocomposites: Morphology and Mechanical Properties / N. Pogorelova, E. Rogachev, I. Digel, S. Chernigova, D. Nadin // *Materials*. – 2020. – T. 13. – №. 12. – C. 2849.
31. Prudnikova S. V. Biodegradation of microbial plastic poly(3-hydroxybutyrate) in soil ecosystems at different latitudes / S. V. Prudnikova, E. G. Kiselev, A. V. Demidenko, I. V. Nemtsev, E. I. Shishatskaya, S. Thomas, T. G. Volova // *Giant*. – 2024. – C. 100288.
32. Silva M. P. Modelling adhesion and biofilm formation by *Bacillus cereus* isolated from dairy products as a function of pH, temperature and time / M.P. da Silva, P.E. Fernandes, N.J. Pimentel-Filho, N.J. de Andrade, R.B.T. Alves, M.R. Eller, W.E.L. Peña // *International Dairy Journal*. – 2022. – T. 134. – C. 105472.
33. Torres F. G. Bacterial cellulose nanocomposites: An all-nano type of material / F.G. Torres, J.J. Arroyo, O.P. Troncoso // *Materials Science and Engineering: C*. – Volume 98. – 2019. – Pages 1277-1293.
34. Volova T.G. Bacterial Cellulose (BC) and BC Composites: Production and Properties / T.G. Volova, S.V. Prudnikova, E.G. Kiselev, I.V. Nemtsev, A.D. Vasiliev, A.P. Kuzmin, E.I. Shishatskaya // *Nanomaterials*. – 2022. – T. 12. – №. 2. – C. 192.
35. Volova T. G. Biodegradation of polyhydroxyalkanoates (PHAs) in tropical coastal waters and identification of PHA-degrading bacteria // *Polymer degradation and stability*. – 2010. – T. 95. – №. 12. – C. 2350-2359.
36. Volova, T. G. Biodegradation of Polyhydroxyalkanoates in Natural Soils / T. G. Volova, A. N. Boyandin, S. V. Prudnikova // *Journal of Siberian Federal University. Biology*. – 2015. – Vol. 8, No. 2. – P. 152-167.
37. Vroman I. Biodegradable polymers / I. Vroman, L. Tighzert // *Materials*. – 2009. – T. 2. – №. 2. – C. 307-344.
38. Vostrejs P. Active biodegradable packaging films modified with grape seeds lignin / P. Vostrejs, D. Adamcova, M.D. Vaverkova, V. Enev, M.

- Kalina, M. Machovsky, M. Sourkova, I. Marova, A. Kovalcik //RSC advances. – 2020. – Т. 10. – №. 49. – С. 29202-29213.
39. Yean O. S. Degradation of polyhydroxyalkanoate (PHA): a review / O. S. Yean, C. J. Yee, S. Kumar // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2017. – Т. 10. – №. 2. – С. 211-225.
40. Zhou W. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) synthesis and degradation by microbes and applications towards a circular economy / W. Zhou, S. Bergsma, D. I. Colpa, G.J.W. Euverink, J. Krooneman //Journal of Environmental Management. – 2023. – Т. 341. – С. 118033.

Приложение А

Таблица 1 – Динамика снижения массы образцов П(ЗГБ) и П(ЗГБ)/БЦ в течение 6 месяцев экспозиции в почве

Время экспозиции, месяц	Вес образцов П(ЗГБ), г	Вес образцов П(ЗГБ)/БЦ 50/50 %, г
0	0,436 ± 0,017	0,427 ± 0,007
1	0,433 ± 0,018	0,381 ± 0,032
2	0,403 ± 0,021	0,316 ± 0,031
3	0,373 ± 0,028	0,240 ± 0,04
4	0,356 ± 0,027	0,188 ± 0,03
5	0,326 ± 0,029	0,094 ± 0,027
6	0,274 ± 0,031	0

Таблица 2 – Показатели остаточной массы (%) в течение 6 месяцев экспозиции ПЗГБ 100% и БЦ/ПЗГБ 50%/50% в почве

Время экспозиции, месяц	Остаток массы образца, %	
	П(ЗГБ)	П(ЗГБ)/БЦ 50/50 %
0	100	100
1	99,4	89,2
2	92,4	74,0
3	85,6	56,2
4	81,6	44,0
5	74,7	22,1
6	62,9	0

Таблица 3 – Определение удельной скорости биodeградации, сут⁻¹

Период экспозиции, месяц	П(ЗГБ)	П(ЗГБ)/БЦ 50/50%
1	0,004	0,0002
2	0,006	0,002
3	0,009	0,003
4	0,008	0,002
5	0,023	0,003
6	0,152	0,006

Приложение Б

Таблица 4 – Численность бактерий в соскобах почвы с поверхности образцов полимерных материалов

Период экспозиции, месяц	П(ЗГБ)	П(ЗГБ)/БЦ 50/50%
1	$(14 \pm 2,67) \times 10^6$	$(4,67 \pm 0,89) \times 10^6$
2	$(14,67 \pm 0,89) \times 10^6$	$(15,3 \pm 1,78) \times 10^6$
3	$(22 \pm 2,67) \times 10^6$	$(18,67 \pm 3,56) \times 10^6$
4	$(20 \pm 2,67) \times 10^6$	$(31,3 \pm 2,2) \times 10^6$
5	$(54 \pm 1,3) \times 10^6$	$(42,67 \pm 4,4) \times 10^6$

Таблица 5 – Численность грибов в соскобах почвы с поверхности образцов полимерных материалов

Период экспозиции, месяц	П(ЗГБ)	П(ЗГБ)/БЦ 50/50%
1	$(2,3 \pm 0,089) \times 10^5$	$(1,67 \pm 0,089) \times 10^5$
2	$(2,067 \pm 0,2) \times 10^5$	$(1,4 \pm 0,27) \times 10^5$
3	$(2,2 \pm 0,27) \times 10^5$	$(1,93 \pm 0,18) \times 10^5$
4	$(2,6 \pm 0,27) \times 10^5$	$(2,6 \pm 0,27) \times 10^5$
5	$(5,3 \pm 0,62) \times 10^5$	$(3,13 \pm 0,36) \times 10^5$

Приложение В

Таблица 6 – Численность микроорганизмов на поверхности образцов (клеток/мм²)

	<i>E. coli</i>	<i>P. fluorescens</i>
П(ЗГБ) 100%	$(54,12 \pm 3,14) \times 10^3$	$(36,86 \pm 6,8) \times 10^3$
П(ЗГБ)/БЦ 50%/50%	$(579,6 \pm 68,5) \times 10^3$	$(49,4 \pm 3,14) \times 10^3$

Таблица 7 – Динамика численности бактерий *E. coli* на поверхности полимерных образцов разного состава (КОЕ/образец)

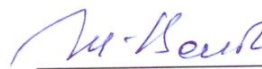
Тип полимера	Срок инкубации, час		
	24	48	72
П(ЗГБ)	$(2,767 \pm 0,115) \times 10^8$	$(0,933 \pm 0,057) \times 10^8$	$(0,253 \pm 0,022) \times 10^8$
П(ЗГБ)/БЦ	$(0,413 \pm 0,048) \times 10^8$	$(1,060 \pm 0,053) \times 10^8$	$(3,853 \pm 0,382) \times 10^8$

Таблица 8 – Динамика численности бактерий *P. fluorescens* на поверхности полимерных образцов разного состава (КОЕ/образец)

Тип полимера	Срок инкубации, ч		
	24	48	72
П(ЗГБ)	$(0,033 \pm 0,009) \times 10^8$	$(0,146 \pm 0,022) \times 10^8$	$(0,380 \pm 0,026) \times 10^8$
П(ЗГБ)/БЦ	$(0,060 \pm 0,013) \times 10^8$	$(0,273 \pm 0,036) \times 10^8$	$(0,740 \pm 0,026) \times 10^8$

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
« 21 » июня 2024 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА
06.03.01 – Биология

Биоразрушаемые композитные материалы на основе
поли(3-гидроксibuтирата) и бактериальной целлюлозы в качестве упаковки
для пищевых продуктов

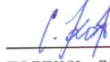
Научный руководитель


подпись, дата

д.б.н., профессор
должность, ученая степень

С.В. Прудникова
инициалы, фамилия

Выпускник

 13.06.24
подпись, дата

С.Н. Ковригина
инициалы, фамилия

Красноярск 2024