

ИНЖЕНЕРНЫЕ АСПЕКТЫ СИНТЕЗА БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ

В.В. Будаева, И.Н. Павлов, А.Е. Ситникова

Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН, Бийск, Россия

Бактериальная наноцеллюлоза (БНЦ) относится к одному из трех видов целлюлозы с наноразмерной толщиной микрофибрилл, синтез которой осуществляется с помощью бактерии *Acetobacter xylinum*, переименованной позднее в *Glucosonacetobacter xylinum*, в 2012 году в *Comagataeibacter xylinus* [1, 2]. Синтез БНЦ является превосходным природным процессом получения наноразмерной целлюлозы, введение которой в композиционные продукты в иных случаях радикально меняет свойства и открывает горизонты для создания качественно новых продуктов и оказания жизненно необходимых услуг [3–6]. Ценность БНЦ дополнительно обусловлена возможностью получения из неё классической нанокристаллической целлюлозы, но при условии высокой степени кристалличности в нативной БНЦ. Кроме того, области применения БНЦ в виде гидрогеля и в сухом виде постоянно расширяются, включая все новые продукты [7].

Мировое научное сообщество обсуждало возможность создания крупного глобального производства БНЦ мощностью 504 тонны в год, которое могло бы стать не только базовым заводом для совершенствования производства, но и обеспечило потребности в БНЦ, в первую очередь при лечении обширных ран и ожогов в медицине катастроф [5, 8]. Но эта тема осталась на стадии пожеланий и обсуждения, поскольку расчетные капитальные вложения промышленного предприятия для 504 тонн БНЦ в год составляют около 13 млн долларов, стоимость производства БНЦ оценивается в 7,4 млн долларов в год, а чистая прибыль – 3,3 млн долларов в год [3,5]. Поэтому создание собственного производства БНЦ каждая страна рассматривает как острую необходимость в жизнеобеспечении своего населения. Но в РФ, несмотря на известные научные школы исследования БНЦ [9–13], нет собственного производства этого наукоемкого продукта.

Целью наших исследований являлась разработка инженерных аспектов синтеза БНЦ, опираясь на отечественное сырье, особенности географической зоны, уровень развития химии и биотехнологии в РФ, доступность реагентов и оборудования для масштабирования процесса, кадровые ресурсы.

Исследования были начаты в инициативном порядке, но с момента действия гранта РФФИ (2017 г.) стали систематическим с нарастающей скоростью процессом, включающим в себя попытки масштабирования отдельных стадий биосинтеза, предоставление полученных образцов БНЦ всем организациям, проявившим интерес к продукту, и обязательную публичность полученных результатов. Пандемия в начале 2020 года внесла негативные корректировки в деятельность научной группы гранта РФФИ, в частности, стало невозможно предоставлять БНЦ в медицинские университеты и центры, как следствие, отсутствуют новые результаты масштабного эксперимента на животных в РФ. Но неожиданно начали более активно рассматриваться технические области применения БНЦ, в частности в процессах получения наноуглерода.

Разработанные научной группой гранта РФФИ инженерные аспекты синтеза БНЦ включают в себя следующие положения: использование доступных источников углерода, способных обеспечить промышленный биосинтез БНЦ; авторская технология получения питательных сред; стабильность продуцента при масштабировании биосинтеза; статический способ культивирования, как единственно возможный для получения многофункциональной БНЦ; допускаются разновидности статического культивирования БНЦ; возможность получения образцов БНЦ массой десятки кг на первоначальном этапе для оценки качества полупродуктов; последовательность стадий отражает схема аппаратно-технологической установки авторской технологии синтеза БНЦ (рисунок 1); технологическое обеспечение сроков хранения гелевой пленки БНЦ.

Краткое описание разработанной технологии приведено с указанием позиций оборудования (рисунок 1). В качестве источников сырья научно обоснованы и экспериментально подтверждены шелуха овса (промышленные целлюлозосодержащие отходы при производстве геркулеса из овса) [14, 15] и новый для РФ вид энергетических растений мискантус – многолетняя трава, произрастающая с высокой урожайностью в условиях Западной Сибири [16, 17].

Химическая предварительная обработка этих видов сырья (реактор 1, мерник 2, теплообменник 3, фильтр емкостной 4) предполагает получение качественных субстратов [18], ферментативный гидролиз которых (установка водоподготовки 7, 100-л ферментер 9, центрифуга 10) приводит к получению преимущественно глюкозных растворов [19]. Эти глюкозные растворы – основа питательных сред при синтезе БНЦ [20] (емкость культуральной среды 11, стерилизатор 12, инкубатор Binder KV 400 15, ванна промывки 16–19), в качестве продуцента используется симбиотическая культура *Medusomyces gisevii* Sa-12 [21]. Данная схема предполагает стерилизацию готовых образцов гель-пленки БНЦ и упаковку в контейнеры для транспортировки (стерилизатор паровой 20, контейнер 21, – ящик 22). Подробное описание технологии получения БНЦ из шелухи овса приведено в работе [22].

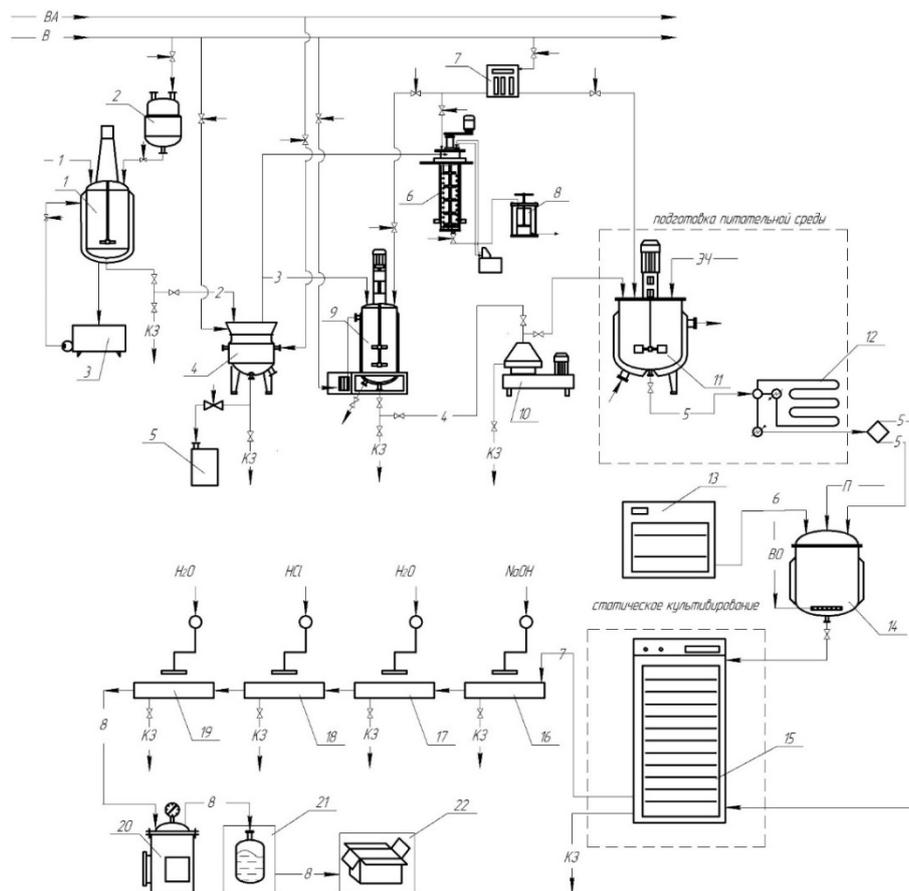


Рисунок 1 – Схема аппаратно-технологической установки технологии синтеза БНЦ: 1 – реактор, 2 – мерник, 3 – теплообменник, 4 – фильтр емкостной, 5 – сборник, 6 – 11-л ферментатор, 7 – установка водоподготовки, 8 – пресс корзиночный, 9 – 100-л ферментер, 10 – центрифуга, 11 – емкость культуральной среды, 12 – стерилизатор, 13 – термостат суховоздушный, 14 – смеситель, 15 – инкубатор Binder KV 400, 16–19 – ванна промывки, 20 – стерилизатор паровой, 21 – контейнер, 22 – ящик.

На полупродукты и целевой продукт БНЦ разработаны технические условия.

Следует подчеркнуть, что научно обоснованные и экспериментально подтвержденные инженерные аспекты синтеза БНЦ соответствуют мировому тренду, утверждающему конкурентоспособность производства БНЦ в отношении технологий выделения целлюлозы из растительного сырья с целью применения в определенных областях. Научоёмкость авторских технических решений обусловлена поиском источников сырья, выбором условий химической предварительной обработки, обоснованием продуцента и обоснованным статическим ведением синтеза БНЦ. Кроме того, проведенное в сжатые сроки масштабирование синтеза БНЦ с получением цельных образцов массой 17 кг, химическая модификация БНЦ в востребованные продукты дополнительно подтверждает лидирующее положение разработанной технологии [23–26].

По мнению автора [3] со ссылками на современные экономические источники рынок БНЦ составит 497,76 млн. долларов США в 2022 году и превысит 700 млн. долларов США в 2026 году. С учетом курса РФ на высокотехнологические производства, в стране имеются все условия для создания собственных заводов синтеза БНЦ.

Работа выполнялась при использовании приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск).

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17–19–01054)

Литература

1. Urbina L., Corcuera M.Á. et al. A review of bacterial cellulose: sustainable production from agricultural waste and applications in various fields // *Cellulose*. 2021. P. 1–25. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04020-4>.
2. Klemm D., Petzold-Welcke K. et al. Biotech nanocellulose: A review on progress in product design and today's state of technical and medical applications // *Carbohydr Polym*. 2021. 254. P. 117313. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117313>
3. Zhong C. Industrial-Scale Production and Applications of Bacterial Cellulose // *Front. Bioeng. Biotechnol*. 2020. 8. P. 605374. doi: 10.3389/fbioe.2020.605374.
4. Klemm, D., Cranston, E.D. et al. Nanocellulose as a natural source for groundbreaking applications in materials science: Today's state // *Mater. Today*. 2018. 21, P. 720–748. doi: 10.1016/j.mattod.2018.02.001.
5. Bacterial NanoCellulose from biotechnology to bio-economy / Edited by Gama M. et al. Elsevier. 2016. 240 p.
6. Anton-Sales I., Roig-Sanchez S. et al. In vivo soft tissue reinforcement with bacterial nanocellulose // *Biomater. Sci*. 2021. 9. P. 3040–3050. doi: 10.1039/d1bm00025j.
7. Gorgieva S. Bacterial cellulose as a versatile platform for research and development of biomedical materials // *Processes* 2020. 8. P. 624. doi: 10.3390/pr8050624.
8. Portela, R., Leal, C.R. et al. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications // *Microb. Biotechnol*. 2019. 12. P. 586–610. doi: 10.1111/1751-7915.13392.
9. Khripunov A.K., Tkachenko A.A. et al. Formation of a composite from se0 nanoparticles stabilized with polyvinylpyrrolidone and Acetobacter xylinum cellulose gel films // *Russian Journal of Applied Chemistry*. 2007. T. 80. № 9. C. 1549–1557.
10. Volova, T.G., Shumilova, A.A. et al. Antibacterial properties of films of cellulose composites with silver nanoparticles and antibiotics // *Polym. Test*. 2018. 65, P. 54–68. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2017.10.023>.
11. Gromovykh, T.I., Pigaleva, M.A. et al. Structural organization of bacterial cellulose: The origin of anisotropy and layered structures // *Carbohydr Polym*. 2020. 237. P. 116140. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116140>.
12. Revin V., Liyaskina E. et al. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products // *Braz J Microbiol*. 2018. 49. P. 151–159. <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.12.012>
13. Stepanov N., Efremenko E. «Deceived» concentrated immobilized cells as biocatalyst for intensive bacterial cellulose production from various sources // *Catalysts*. 2018. Vol. 8, № 1. P. 33. <https://doi.org/10.3390/catal8010033>.
14. Sakovich G.V., Skiba E.A. et al. Technological Fundamentals of Bacterial Nanocellulose Production from Zero Prime-Cost Feedstock // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2017. Vol. 477. P. 357–359. DOI: 10.1134/S1607672917060047.
15. Aleshina L.A. et al. X-ray Diffraction Study of Bacterial Nanocellulose Produced by the *Medusomyces Gisevii* Sa-12 Culture in Enzymatic Hydrolysates of Oat Hulls // *Crystallography Reports*. 2018. Vol. 63, No. 6. P. 955–960.
16. Aleshina L.A., Gladysheva E.K. et al. X-ray Diffraction Study of Bacterial Nanocellulose Produced by *Medusomyces Gisevii* Sa-12 Cultured in Enzymatic Hydrolysates of *Miscanthus* // *Crystallography Reports*. 2019. Vol. 64, No. 6. P. 914–919. doi: 10.1134/S1063774519060026.
17. Sakovich G.V., Skiba E.A. et al. *Miscanthus* is the feedstock for bacterial nanocellulose production // *Doklady Chemistry*. 2020. Vol. 495, Part 2. P. 205–208. DOI: 10.1134/S0012500820120034.
18. Kashcheyeva E.I., Gismatulina Y.A. et al. Pretreatments of Non-Woody Cellulosic Feedstocks for Bacterial Cellulose Synthesis // *Polymers*. 2019. 11(10). P. 1645. doi:10.3390/polym11101645.
19. Sakovich G.V., Skiba E.A. et al. Technological Fundamentals of Bacterial Nanocellulose Production from Zero Prime-Cost Feedstock // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2017. Vol. 477. P. 357–359. DOI: 10.1134/S1607672917060047.
20. Skiba E.A. et al. Self-standardization of quality of bacterial cellulose produced by *Medusomyces gisevii* in nutrient media derived from *Miscanthus* biomass // *Carbohydr Polym*. 2021. 252. P. 117178. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117178>.
21. Gladysheva E.K., Skiba E.A. et al. Study of the Conditions for the Biosynthesis of Bacterial Cellulose by the Producer *Medusomyces gisevii* Sa-12 // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2018. Vol. 54, No. 2. P. 179–187. DOI: 10.1134/S0003683818020035.
22. Skiba E.A., Budaeva V.V. et al. A technology for pilot production of bacterial cellulose from oat hulls // *Chem Eng J*. 2021. 383. P. 123128. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123128>.
23. Gismatulina Yu. A., Gladysheva E.K. et al. Synthesis of bacterial cellulose nitrates // *Russ. Chem. Bull*. 2019. 68 P. 2130–2133. doi:10.1007/s11172-019-2678-x.
24. Budaeva V.V., Gismatulina Y.A. et al. Bacterial Nanocellulose Nitrates. *Nanomaterials*. 2019. 9. P. 1694. doi:10.3390/nano9121694.
25. Shavyrkina N.A., Budaeva V.V. et al. Scale-up of biosynthesis process of bacterial nanocellulose // *Polymers* 2021. 13(12). P. 1920. <https://doi.org/10.3390/polym13121920>.
26. Skiba E.A., Shavyrkina N.A. et al. Biosynthesis of Bacterial Cellulose by Extended Cultivation with Multiple Removal of BC Pellicles // *Polymers*. 2021. 13. P. 2118. <https://doi.org/10.3390/polym13132118>