

**БИОСИНТЕЗ БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ И ЕЁ ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ
С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОДУКТОВ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ****П.А. Горбатова^{1,2}**¹ Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН, г. Бийск, Россия² Бийский технологический институт (филиал) «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», г. Бийск, Россия

Наноцеллюлоза представляет собой новый вид биоразлагаемых материалов с наноразмерной структурой, который может быть использован в биомедицине, фармацевтике и технических областях. Наноцеллюлоза представлена тремя разновидностями: кристаллами наноцеллюлозы, фибриллами наноцеллюлозы и бактериальной наноцеллюлозой (БНЦ) в зависимости от структуры и источников целлюлозы. Термин БНЦ применим ко всей целлюлозе, полученной в результате микробиального синтеза, поскольку микроорганизмы создают структуры целлюлозы только на наноуровне. В отличие от БНЦ, производство кристаллов и фибрилл наноцеллюлозы, включает в себя на первом этапе извлечение целлюлозы из природных целлюлозосодержащих источников, а затем кислотный гидролиз и механическую дезинтеграцию целлюлозы, соответственно. Производство БНЦ представляет собой процесс «снизу-вверх», который включает в себя использование богатых органикой субстратов для синтеза БНЦ без дополнительных этапов обработки целлюлозы для получения наноразмерной структуры [1].

БНЦ химически эквивалентна растительной целлюлозе, но обладает высокой степенью кристалличности, высокой степенью полимеризации и высокой химической чистотой (не содержит лигнина, гемицеллюлоз, пектина), а также уникальной трехмерной сетчатой структурой из нановолокон целлюлозы. Уникальная структура придает БНЦ отличные свойства, включая высокую прочность на растяжение во влажном состоянии, большую площадь поверхности, высокую влагоудерживающую способность и эластичность. Эти преимущества делают БНЦ идеальным кандидатом в качестве возобновляемых источников целлюлозных материалов [2].

Процесс биосинтеза БНЦ представляет собой ферментацию различных гидролизатов определенными видами бактерий. К ним относятся *Acetobacter* (*Komagataeibacter*), *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Pseudomonas*, *Aerobacter*, *Achromobacter* [3]. В основном в качестве микроорганизмов-продуцентов БНЦ используются индивидуальные штаммы, однако для них характерно спонтанное снижение способности синтезировать целлюлозу и заметное снижение продуктивности в промышленных условиях, особенно это относится к генно-инженерным штаммам. Поэтому выдвинута концепция использования микробных консорциумов, адаптивность которых повышается за счет синергетического воздействия на общий обмен веществ. Симбиотическая культура *Medusomyces gisevii*, производящая целлюлозу, демонстрирует адаптивность, способность функционировать в экстремальных условиях и устойчивость к загрязнению [4, 5].

Широкому внедрению БНЦ препятствует ее высокая себестоимость. Одним из путей снижения себестоимости производства является использование дешевого сырья. Среди последних тенденций – концепция производства БНЦ с использованием растительного сырья для получения питательных сред из ферментативного гидролизата предварительно обработанного сырья. В качестве претендентов для получения субстратов активно рассматривается мискантус [6, 7] и шелуха овса [4]. Важным аспектом является правильный выбор целлюлозосодержащего сырья. Мискантус – энергетическая культура, занимающая одно из лидирующих мест в мире среди целлюлозного сырья [8–11]. Как и любой другой тип целлюлозного сырья, мискантус состоит из целлюлозы, гемицеллюлоз, лигнина, жировой фракции и минеральных компонентов, которые все прочно связаны друг с другом, образуя композитную матрицу. Предварительная обработка целлюлозного сырья является ключевым этапом, определяющим успешность последующих стадий ферментативного гидролиза и микробиального биосинтеза [6, 12].

Нативная БНЦ обычно модифицируется для улучшения функциональных свойств [13], при этом химические модификации происходят в реакциях между гидроксильными группами БНЦ и соответствующими химическими веществами. Продукты модификации могут быть использованы в качестве передовых материалов для получения пленок, носимых датчиков, целлюлозных наносфер, аэрогелей, гидрогелей и нанокомпозитов. Перспективным направлением химической функционализации БНЦ является ее нитрование [14].

Гибкие физические датчики в настоящее время привлекают все большее внимание из-за их широкого применения в мониторинге движения человека и персонализированной медицине. Такие датчики реагируют на физические, химические и биологические изменения и преобразуют их в измеряемые или регистрируемые сигналы. БНЦ может выступать в качестве субстрата в сочетании с активными материалами, которые широко используются в областях, связанных с датчиками и накоплением энергии. Основными преимуществами БНЦ как субстрата являются возобновляемость, биоразлагаемость, биосовместимость, гибкость, механическая прочность, большой удельной площадью поверхности и наноразмерные волокна. Для создания сенсорных материалов применяют, как нативную БНЦ, так и производные на ее основе, которые получают, в частности, методами химической функционализации, такими как окисление, гидротермический синтез и нитрование. В результате реакции нитрования в синтезированных нитратах БНЦ происходит преобразование полярности, что в ходе анализа усиливает межфазную связь между субстратом и анализируемым материалом посредством ковалентных связей [15].

Анализ публикаций [16–20] показывает возможность синтеза нитратов БНЦ с удовлетворительными функциональными свойствами целевых нитратов, что позволяет рассматривать БНЦ в качестве перспективного прекурсора нитратов целлюлозы (НЦ). Отличия между нитратами БНЦ и НЦ на основе растительной целлюлозы заключаются в высоких показателях вязкости, что обусловлено высокой степенью полимеризации БНЦ, и наноразмерной сетчатой структуре, которая сохраняется после нитрования БНЦ.

Нитроцеллюлозные мембраны на основе НЦ с микромасштабными пористыми структурами нашли широкое применение в биомедицинских областях, в основном благодаря своей превосходной биосовместимости, уникальным физико-химическим свойствам, например, соответствующий размер пор, большая площадь поверхности, и способность иммобилизовать различные биомолекулы. Нитроцеллюлозные мембраны обычно используются для иммобилизации нуклеиновых кислот в саузерн- и нозерн-блоттинге, а также для иммобилизации белков в вестерн-блоттинге. Они также широко используются в качестве субстратных материалов в различных диагностических устройствах, где происходит связывание антигена с антителом или гибридизация нуклеиновых кислот. В этих биомедицинских областях диффузия, конвекция и реакция связывания биомолекул в НЦ посредством капиллярного потока являются фундаментальным физическим процессом. Капиллярный поток зависит от параметров, характеризующих морфологию пор: пористости и размера пор [21–23].

Жидкие нитроцеллюлозные бинты с нанопорами эффективны при заживлении ран, особенно для ран в труднодоступных местах. Нанопористость показала улучшенный антибактериальный эффект и нетоксичность для самой раны. После нанесения нитроцеллюлозный бинт быстро высыхает, образуя пленку, и обеспечивает водонепроницаемую защиту кожи [24]. Воздухопроницаемость нитроцеллюлозных пленок может быть повышена при смешивании нитроцеллюлозы и нанопористого графена: полученные композитные мембраны демонстрируют превосходные антибактериальные свойства широкого спектра действия и снижают риск микробной инфекции для организма после травмы [25].

В работе [26] описана возможность применения НЦ в качестве компонента для изготовления магнитных микрогранул. Для получения нового и недорогого магнитного носителя используются НЦ и магнетит в качестве полимера и магнитного материала, соответственно. Технология магнитных носителей нашла широкое применение в качестве адсорбентов для селективного извлечения из жидкостей, содержащих другие взвешенные твердые частицы, очистки сточных вод посредством электростатической адсорбции, магнитных носителей для иммобилизованных или адсорбированных ферментов и белков, а также для использования при подготовке иммунологических анализов.

Новым направлением для изучения и разработки является применение НЦ в системе доставки лекарств для лечения пародонтита. Система формирующегося *in situ* геля основана на индуцированной водой инверсии фаз, первоначально она включает полимерный раствор, содержащий препарат, который превращается в гелеобразную или твердую матрицу после инъекции и воздействия водной жидкости. НЦ представляют собой эфиры целлюлозы, которые нерастворимы в воде, но растворимы в полярных растворителях, что делает НЦ перспективным полимером для использования в системе формирующегося *in situ* геля [27]. Тот же принцип лечения, но с использованием более концентрированных растворов НЦ, содержащих левофлоксацин и салициловую кислоту, представлен авторами [28] для лечения акне.

Таким образом, нитрование БНЦ открывает новые высокотехнологичные области применения в медицине: многочисленные диагностические мембраны, бинты для заживления ран в труднодоступных местах, магнитные носители, гели для доставки лекарств для лечения пародонтита и акне. Важно отметить, что научная гипотеза о биосинтезе БНЦ из ферментативных гидролизатов предварительнообработанного целлюлозосодержащего сырья [5] в качестве прекурсора НЦ значительно обосновывает снижение стоимости уникального полимера и расширяет возможности наноразмерных НЦ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-13-00107, <https://rscf.ru/project/22-13-00107>

Литература

1. Wang Y., Wang, Z., Lin, Y., et al. Nanocellulose from agro-industrial wastes: A review on sources, production, applications, and current challenges // *Food Research International*. – 2024. – P. 114741. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114741>.
2. Zhong C. Industrial-scale production and applications of bacterial cellulose // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2020. – Vol. 8. – P. 605374. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.605374>.
3. Katyal M., Singh R., Mahajan R., et al. Bacterial cellulose: Nature's greener tool for industries // *Biotechnology and Applied Biochemistry*. – 2023. – Vol. 70. – № 5. – P. 1629–1640. DOI: <https://doi.org/10.1002/bab.2460>.
4. Skiba E.A. et al. Biosynthesis of bacterial nanocellulose from low-cost cellulosic feedstocks: effect of microbial producer // *International journal of molecular sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 18. – P. 14401. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241814401>.
5. Digel I. et al. Bacterial cellulose produced by *Medusomyces gisevii* on glucose and sucrose: biosynthesis and structural properties // *Cellulose*. – 2023. – Vol. 30. – № 18. – P. 11439–11453. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2607212/v1>.
6. Kashcheyeva E.I., Korchagina A.A., Gismatulina Y.A., et al. Simultaneous production of cellulose nitrates and bacterial cellulose from lignocellulose of energy crop // *Polymers*. – 2024. – Vol. 16. – P. 42. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym16010042>.
7. Sukhikh S., Babich O., Ivanova S., et al. Production of nanocellulose from miscanthus biomass // *Current research in green and sustainable chemistry*. – 2024. – P. 100412. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2024.100412>.
8. Liu W.; You L.; Wang S.; et al. Screening of Miscanthus Genotypes for Sustainable Production of Microcrystalline Cellulose and Cellulose Nanocrystals // *Agronomy*. – 2024. – Vol. 14. – P. 1255. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy14061255>.
9. Shavyrkina N.A., Budaeva V.V., Skiba E.A., et al. Review of Current Prospects for Using Miscanthus-Based Polymers // *Polymers*. – 2023. – Vol. 15. – P. 3097. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15143097>.
10. Mironova G.F., Budaeva V.V., Skiba E.A., et al. Recent Advances in Miscanthus Macromolecule Conversion: // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 16. – P. 13001. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241613001>.
11. Dorogina O.V. et al. Identification of Populations by ISSR Markers and a Histochemical Determination of Transient Starch in Species of the Genus *Miscanthus* Anderss // *Contemporary Problems of Ecology*. – 2023. – Vol. 16. – № 1. – P. 67–75. DOI: [10.1134/S199542552301002X](https://doi.org/10.1134/S199542552301002X).
12. Skiba E.A., Shavyrkina, N.A., Yang, F., et al. Complete Cycle from Feedstock *Miscanthus Giganteus* to Target Product Bacterial Nanocellulose // *Advances in Engineering Technology Research*. – 2024. – Vol. 10. – № 1. – P. 375–375. DOI: <https://doi.org/10.56028/aetr.10.1.375.2024>.
13. Stumpf T.R., Yang X., Zhang J., et al. In situ and ex situ modifications of bacterial cellulose for applications in tissue engineering // *Materials Science and Engineering: C*. – 2018. – Vol. 82. – P. 372–383. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.11.121>.
14. Zhang Y., Deng W., Wu M., et al. Tailoring functionality of nanocellulose: current status and critical challenges // *Nanomaterials*. – 2023. – Vol. 13. – P. 1–22. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano13091489>.
15. Huang J., Zhao M., Hao Y., et al. Recent advances in functional bacterial cellulose for wearable physical sensing applications // *Advanced Materials Technologies*. – 2022. – Vol. 7. – № 1. – P. 2100617. DOI: <https://doi.org/10.1002/admt.202100617>.
16. Nursyafiqah J.R. et al. Response surface methodology for optimization of nitrocellulose preparation from nata de coco bacterial cellulose for propellant formulation // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 10. – № 4. – P. e25993. DOI: [10.1016/j.heliyon.2024.e25993](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25993).
17. Sun D.P., Ma B., Zhu C.L., et al. Novel nitrocellulose made from bacterial cellulose // *Journal of Energetic Materials*. – 2010. – Vol. 28. – № 2. – P. 85–97. DOI: <https://doi.org/10.1080/07370650903222551>.
18. Gismatulina Yu. A. Promising energetic polymers from nanostructured bacterial cellulose // *Polymers*. – 2023. – Vol. 15. – № 9. – P. 2213. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym15092213>.
19. Budaeva V.V., Gismatulina Y.A., Mironova G.F., et al. Bacterial nanocellulose nitrates // *Nanomaterials*. – 2019. – Vol. 9. – № 12. – P. 1694. DOI: <https://doi.org/10.3390/nano9121694>.
20. Горбатова П.А., Корчагина А.А., Гисматулина Ю.А. и др. Свойства нитратов целлюлозы, полученных нитрованием бактериальной целлюлозы с использованием смеси азотной и серной кислот // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. – 2024. – Т. 14. – № 2. – С. 236–244. DOI: <https://doi.org/10.21285/achb.915>.
21. Sun S., Feng S., Ji C., et al. Microstructural effects on permeability of Nitrocellulose membranes for biomedical applications // *Journal of Membrane Science*. – 2020. – Vol. 595. – P. 117502. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.117502>.
22. Chen J.L., Njoku D.I., Tang C., et al. Advances in Microfluidic Paper Based Analytical Devices (μPADs): Design, Fabrication, and Applications. *Small Methods*. 2024. P. 2400155. DOI: <https://doi.org/10.3390/mi7050086>.
23. Tang R., Xie M.Y., Li M., et al. Nitrocellulose membrane for paper-based biosensor // *Applied Materials Today*. – 2022. – Vol. 26. – P. 101305. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2021.101305>.
24. Mu X. et al. Nano-porous nitrocellulose liquid bandage modulates cell and cytokine response and accelerates cutaneous wound healing in a mouse model // *Carbohydrate polymers*. – 2016. – Vol. 136. – P. 618–629. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.070>.
25. Du S. et al. A nanoporous graphene/nitrocellulose membrane beneficial to wound healing // *ACS Applied Bio Materials*. – 2021. – Vol. 4. – № 5. – P. 4522–4531. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsabm.1c00261>.
26. Tanyolaç D., Özdural A.R. Preparation of low-cost magnetic nitrocellulose microbeads // *Reactive and Functional Polymers*. – 2000. – Vol. 45. – № 3. – P. 235–242. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(00\)00037-7](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00037-7).
27. Senarat S., Rojviriyi C., Sarunyakasitrin K., et al. Moxifloxacin HCl-incorporated aqueous-induced nitrocellulose-based in situ gel for periodontal pocket delivery // *Gels*. – 2023. – Vol. 9. – № 7. – P. 572. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels9070572>.
28. Khaing E.M., Jitrangsi K., Chomto P., Phaechamud T. Nitrocellulose for prolonged permeation of levofloxacin HCl-salicylic acid in situ gel // *Polymers*. – 2024. – Vol. 16. – № 989. <https://doi.org/10.3390/polym16070989>.