

СИНТЕЗ БИОТЕХНОЛОГИЧНЫХ СОПОЛИМЕРОВ 3 И 4 ПОЛИГИДРОКСИБУТИРАТА В ПОЛЬЗУ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Синельникова А.М.

Научный руководитель - д. б. н., профессор Волова Т.Г., к. б. н., с. н. с. Жила Н.О.

Сибирский федеральный университет

Синтетические полимеры широко распространились с середины 1940-х годов и уже с 1975 года вышли на третье место после стекла, бумаги и картона по применению для упаковки. К концу двадцатого века по данным многих российских и зарубежных исследователей производство синтетических пластмасс в мире достигло 130 млн.т/год. Пластик стал играть значительную роль в промышленности и экономике. Кроме того, заметным стало его влияние на окружающую среду. Производство полимеров из ископаемых горючих материалов растёт намного быстрее, чем производство других групп потребляемых материалов, потому что главным качеством материалов оставалась стойкость к внешним воздействиям.

Многие полимеры (например, всем известный полистирол) способны сохранять свои свойства длительное время, поэтому возникает проблема их утилизации по окончании срока службы. Истощение нефтяных ресурсов и угроза нарушения биосферного равновесия полимерными отходами на Земле послужило началом развития сравнительно молодой науки по изучению и созданию совместимых с природой материалов.

Еще до «расцвета» пластика (в 1925 году) установили, что полигидроксимасляная кислота - это питательное вещество и среда для хранения микроорганизмов. Под их воздействием полимер на основе гидроксимасляной кислоты полностью разлагается до углекислого газа и воды, не оказывая действия на окружающую среду. Поли-3(4)-гидроксибутират и его сополимеры, которые относятся к семейству микробных полигидроксиалканоатов (ПГА), являются запасом углерода и энергии в клетках микроорганизмов. По своим базовым характеристикам эти полимеры близки к синтетическим (полипропилену и полиэтилену), но обладают рядом уникальных свойств, главными из которых являются биосовместимость с живой тканью организма и биодеструкция во времени. Так, пластины и волокна разрушаются в тканях организма в течение нескольких месяцев, а для биодеградациии пленок, внесенных в почву, требуется всего несколько недель. Конечным продуктом биодеградациии в почве является двуокись углерода, а в живом организме - 3-изомасляная кислота, которая является одним из компонентов крови.

Перспективными областями использования являются: производство биоразлагаемых пластмасс, упаковок и материалов одноразового пользования, изготовления рассасывающихся шовных нитей, повязок, тампонов, пластин, стержней, эндопротезов, для создания лекарственных препаратов пролонгированного действия, систем медленного высвобождения стимуляторов роста растений, минеральных удобрений и агрохимикатов.

Сам процесс биосинтеза практически не даёт побочных продуктов, которые не могли бы быть использованы, производство ПГБ является безотходным. Низкая энергоёмкость уникальна и заслуживает внимания в условиях энергетического кризиса.

Организация НАТО выделяет немалые инвестиции для развития этого направления, приводятся обширные и глубокие исследования в этой области в Европе, США и Японии.

Итак, биосовместимость, биodeградебельность, безотходное производство, низкая энергоемкость позволяет нам исследовать ПГА и постепенно заменять ими синтетические пластики, восстанавливая окружающую среду и экономя ресурсы.

Среди наиболее перспективных продуцентов ПГА известны виды *Azotobacter*, *Bacillus*, *Methylmonas*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*. Из-за способности бактерии *Ralstonia eutropha* (бывшее систематическое название *Alcaligenes eutrophus*) аккумулировать ПГА различного состава с высокими выходами на субстратах в последнее время ей стало уделяться должное внимание.

В связи с тем, что технологические характеристики полимеров различны (определяются составом мономеров и молекулярной массой), нужно учитывать цели использования полимера. Для меня представляет интерес ознакомиться с работами по синтезу биополимеров разными исследователями. Кроме этого хочется более подробно изучить синтез сополимеров 3 и 4 гидроксимасляной кислоты, т.к. они более пластичны, менее кристалличны, поэтому позволяют получить более биотехнологичный полимер. В связи с чем с научным руководителем выделили конкретную цель изучить влияние условий культивирования на величину молекулярной массы сополимеров 3 и 4 гидроксibuтирата в гетеротрофных условиях штаммом-продуцентом *Ralstonia eutropha*

Для этого поставили перед собой следующие задачи:

1. Оценить способность к росту *R.eutropha* в гетеротрофных условиях питания;
2. Изучить возможность получения сополимеров 3 и 4 гидроксимасляной кислоты у штамма *R.eutropha* B5786.

Для решения поставленных задач проводились некоторые эксперименты по интенсивности роста бактерий на среде Шлегеля.

На первом этапе выращивали бактерий в солевом растворе Шлегеля на термостатируемой качалке при температуре 30°C.

Источник углерода - фруктоза (7-10 г/л) и масляная кислота (не более 4 г/л).

Источник мономеров 4-гидроксibuтирата - бутандиол различных концентраций.

Затем культивировали на среде Шлегеля с уменьшенной на 60% от потребности бактерий концентрацией азота в режиме накопления полимера ($\text{NH}_4\text{Cl} - 0.4$ г/л). Периодически отбирали пробы культуры и измеряли их оптическую плотность на фотоколориметре КФК-2МП, при разведении пробы дистиллированной водой 1:5 и $\lambda=440$ нм (длина оптического пути 1 мм).

Биомассу бактерий в культуре определяли весовым способом. Центрифугирование 10 мин. при 6000g., время сушки бюксов- 1 сутки, температура-105°C.

Концентрацию фруктозы измеряли на фотоколориметре КФК-2МП при длине волны 540 нм (длина оптического пути 5 мм). Концентрацию фруктозы рассчитывали по калибровочному графику.

Концентрацию азота рассчитывали по калибровочному графику. Оптическую плотность измеряли на фотоколориметре КФК-2МП при длине волны 400 нм (длина оптического пути 10 мм).

Концентрацию органических кислот определяли на хромато-масс-спектрометре GCD plus ("Hewlett Packard", USA) в условиях, аналогичных для определения содержания и состава полимера.

Обобщив результаты экспериментов мною были сделаны следующие выводы:

1. На таких углеродных субстратах как глюкоза и фруктоза бактерии штамма *R. eutropha* B5786 способны синтезировать сополимер 3-гидроксимасляной и 4-гидроксимасляной (3С4/4С4) кислот.

2. Установлено, что для бактерий штамма *R. eutropha* B5786 наилучшими для накопления биомассы являются гетеротрофные условия, где субстратом была фруктоза, а бутандиол, добавленный в концентрации 20 мл/л (5 мл к нашему объему) обеспечивает максимальный выход биомассы.

Некоторая информация по биосинтезу сополимеров 3 и 4 гидроксимасляной кислоты бактериями штамма *R. eutropha* B5786 уже получена в нашем институте Биофизики СО РАН, планируется дальнейшая работа по данной теме. Государственная политика направлена на стимулирование уровня производства и потребления биоматериалов, что облегчает задачи современных исследователей и способствует восстановлению окружающей среды, экономии нефтяных ресурсов и использованию лекарственных препаратов пролонгированного действия.