

УДК 502.51

НОВЫЕ БИОКОМПОЗИТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ
НА ОСНОВЕ ВОЛОКНИСТЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦ

© 2015 г. Член-корреспондент РАН А. Г. Дедов, Е. С. Лобакова,
П. Б. Кашеева, Е. А. Иванова, Р. К. Идиатулов, Д. А. Санджиева,
С. Г. Васильева, академик РАН В. М. Бузник, академик РАН М. П. Кирпичников

Поступило 16.01.2015 г.

DOI: 10.7868/S0869565215160136

Создание и применение новых функциональных материалов — одно из приоритетных направлений в фундаментальной и прикладной науке. Особенно перспективными являются композитные материалы, в частности биокompозиты. Главные задачи в области композитных материалов — нахождение у них новых свойств или существенное усиление функциональных свойств исходных компонентов [1, 2].

В настоящей работе сообщается о синтезе новых функциональных биокompозитных материалов (БКМ) на основе волокнистых полимерных матриц. Разработанный нами БКМ — материал со сложной иерархической структурой, имеющий в основе нетканый полимерный материал (НПМ) с инкорпорированными наполнителями различной природы, включая специализированный растительный клеточно-структурированный материал (КСМ) и активированный уголь, и иммобилизованными микроорганизмами [3]. Преимущество полученных БКМ заключается в максимальной реализации потенциала всех компонентов, что приводит к формированию новых свойств. Комбинирование полимерной матрицы с биогенными наполнителями решает задачу обеспечения микроорганизмов эссенциальными элементами, а варьирование состава штаммов или иммобилизация ассоциаций микроорганизмов позволяет реагировать на “окружение” и в соответствии с ним изменять биохимическую функциональность. Фактически речь идет о создании “умных” БКМ.

При синтезе БКМ осуществлялся алгоритм поэтапной “сборки”, что дало возможность на каждой стадии формирования варьировать функциональные свойства. Такой подход позволяет получить новые функциональные БКМ с заданными свойствами.

Биокompозитные материалы создавали в соответствии с иерархической структурой, схема которой представлена на рис. 1. Материалы синтезировали следующим образом. В процессе синтеза в НПМ (рис. 1а) инкорпорировали наполнители, комплементарные к различным микроорганизмам. Таким образом, получался БКМ-1 (рис. 1б). Далее матрицу насыщали живыми биологическими объектами (штаммами или ассоциациями бактерий), способными селективно деструктировать различные токсичные внешние субстраты. При этом формируются БКМ-2 (рис. 1в).

Синтез НПМ осуществляли методом аэродинамического формования [4, 5] волокон из сополимера акрилонитрила с метилметакрилатом (СПАН). Были исследованы БКМ-2 на основе СПАН, имеющие наилучшие структурно-механические характеристики и функциональные свойства. Выбор химического состава полимерной матрицы определяется механическими, структурными, сорбционными и гидрофильно-гидрофобными свойствами полимера. Однако во всех случаях матрица должна быть нетоксичной и должна обеспечивать микроорганизмам благоприятные условия жизнедеятельности. Токсичность полученных НПМ определяли с помощью разработанного нами биолюминесцентного экспресс-теста на основе люминесцирующих бактерий *Photobacterium phosphoreum* [6]. Было показано, что исследуемые НПМ удовлетворяют отмеченным условиям.

Инкорпорирование биогенных наполнителей в состав волокон матриц необходимо в связи с тем, что сама полимерная матрица не является нативной средой обитания микроорганизмов и не обеспечивает их рост и функционирование в основном из-за недостатка биологически эссенци-

Российский государственный университет нефти и газа
им. И. М. Губкина, Москва
E-mail: delya_sand@mail.ru
Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова
ОАО “ВНИИСВ”, Тверь

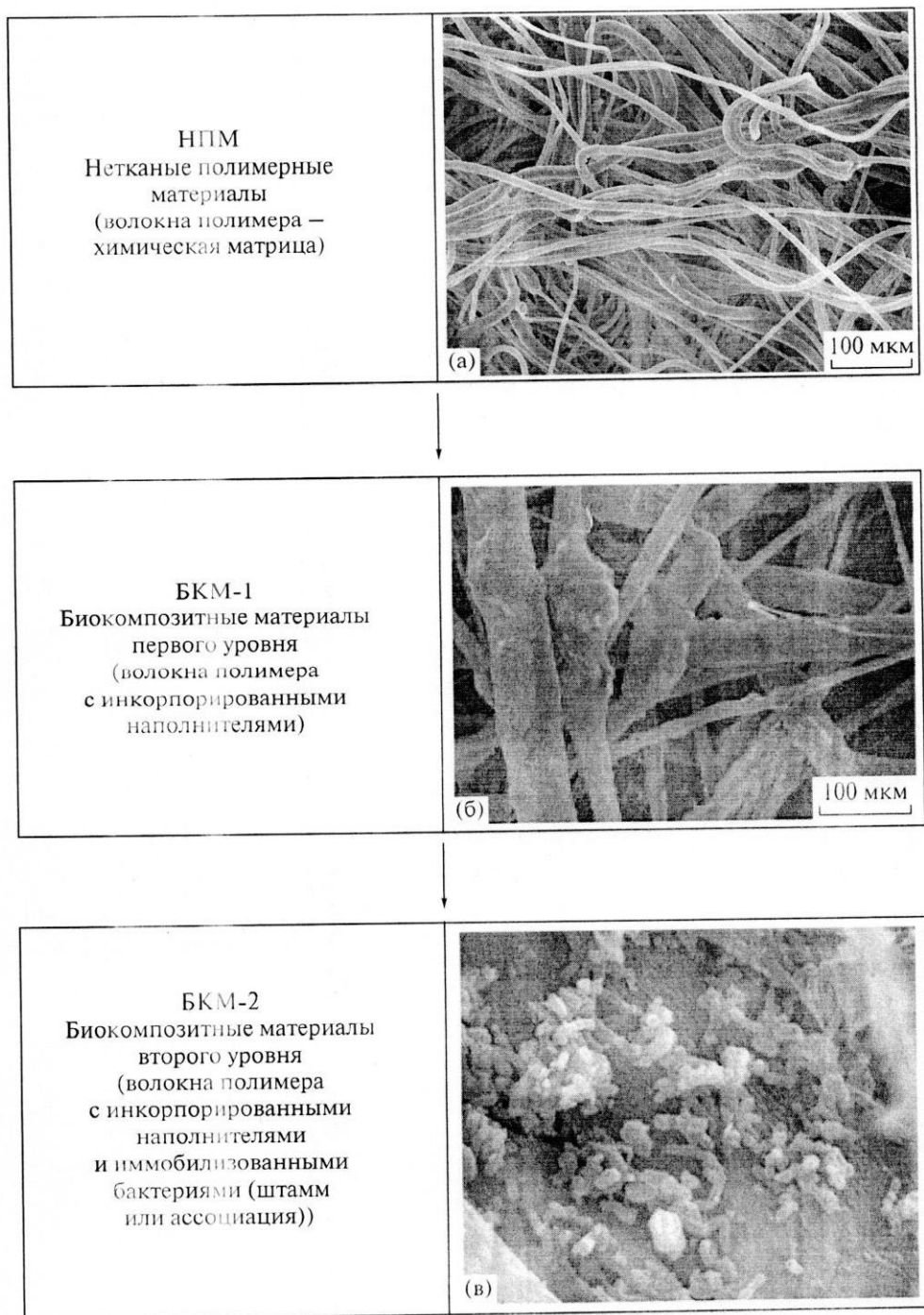


Рис. 1. Иерархическая структура биокомпозитных материалов.

альных элементов — азота, фосфора, магния, калия. В качестве источника таких элементов мы использовали КСМ (мох, ряска) и/или КСМ в сочетании с активированным углем: смеси мох-уголь и уголь-ряска. При получении БКМ-1 в процессе синтеза волокнистой полимерной матрицы методом аэродинамического формования добавляли КСМ и/или уголь. Известно,

что наиболее перспективными для иммобилизации бактерий являются природные и синтетические мелкодисперсные материалы с шероховатой внешней поверхностью и с различными поверхностными повреждениями, обладающие развитой системой пор с внутренними полостями разного объема. К таким материалам относят КСМ. Включение их в состав НПМ, например, таких

как водные микроскопические растения семейства Lemnaceae (*Wolffia arrhiza* и *Lemna minor*, *L. minuscula*) и растения рода *Sphagnum*, обладающих всеми перечисленными свойствами, позволяет значительно облегчить иммобилизацию и функционирование микроорганизмов. Бактериальные клетки могут активно заселять как поверхность частиц КСМ, так и внутренние полости. Большим преимуществом всех указанных растительных компонентов в качестве наполнителей в составе полимерных материалов является то, что они практически не содержат слабобиодеградируемый растительный компонент лигнин.

Для приготовления приданной композиции к полученному раствору полимера добавляли измельченный наполнитель, дисперсность которого составляла не более 50–60 мкм. Следует отметить, что технология получения полимерной матрицы с инкорпорированными биогенными элементами позволяла в процессе синтеза широко варьировать как источник биогенных элементов, так и морфологическую структуру БКМ-1.

Получение БКМ-2 представляет собой иммобилизацию микроорганизмов на полимерном сорбенте, содержащем инкорпорированные биогенные наполнители. При этом выбор штамма или ассоциации бактерий определялся задачей, для решения которой создавался данный материал.

Для иммобилизации микроорганизмов НПМ с инкорпорированными питательными элементами растительного или абиогенного происхождения (БКМ-1) выдерживали в суспензии микроорганизмов, после чего неприкрепившиеся клетки микроорганизмов удаляли промыванием в дистиллированной воде. Степень иммобилизации определяли по приросту биомассы микроорганизмов весовым методом. Степень бактериальной загрузки НПМ в среднем составила 100–180 мг сухой массы клеток на 1 г матрицы и зависела от начальной плотности клеточной суспензии и времени иммобилизации.

Для проверки жизнеспособности бактерий в структуре БКМ-2 применяли метод конфокальной микроскопии с использованием двухкомпонентного люминесцентного красителя LIVE/DEAD L7012 ("Bac Light Bacterial Viability Kits"). При исследовании БКМ-2 в лазерном конфокальном микроскопе жизнеспособность бактерий в структуре БКМ-2 была подтверждена интенсивным зеленым свечением живых бактериальных клеток (работа выполнена за счет средств гранта 14–50–00029 РФ).

Исследование характера сорбции бактериальных культур на БКМ-2 и определение морфофункционального состояния бактерий-деструкторов проводили методом сканирующей электронной микроскопии (работа выполнена за счет средств гранта 14–50–00029 РФ).

Поверхность волокон НПМ в основном гладкая, диаметр волокон варьируется в широких пределах от 10–15 до 160 мкм (рис. 1а), расстояние между волокнами в структуре всех матриц достигает 600–700 мкм, что намного превышает размеры микробных клеток (1–4 мкм), используемых для иммобилизации. Это позволяет микробным клеткам активно заселять и межволоконное пространство НПМ.

Матрицы с инкорпорированным КСМ способствовали большей иммобилизации бактериальных клеток на поверхности волокон и в межволоконном пространстве. На волокнах БКМ-2 на основе СПАН с инкорпорированными биогенными наполнителями помимо монослоя клеток на некоторых участках обнаружены скопления бактериальных клеток в виде микроколоний в результате их активного деления. Следует отметить, что значительная доля бактериальных клеток предпочтительно иммобилизуется на поверхности КСМ (рис. 1в).

Оценку функционального потенциала созданного БКМ-2 по биодеградации проводили в различных водных средах, содержащих модельные смеси углеводородов, нефть, а также образцы реальных сточных вод. Для синтеза БКМ-2 были инкорпорированы КСМ растений семейства Lemnaceae (*Wolffia arrhiza* и *Lemna minuscula*), уголь и ассоциация углеводородоокисляющих бактерий (УОБ). Была выбрана ассоциация УОБ на основе видов *Rhodococcus qingshengii* (KJ004514) и *Leucobacter aridicollis* (KJ004515).

Созданные нами БКМ-2 проявили высокую эффективность при биодеградации модельной смеси *n*-алканов ($C_{15}H_{32}$, $C_{16}H_{34}$, $C_{18}H_{38}$). Концентрация *n*-алканов составляла 600 мг/л в водном растворе. Эта концентрация соответствует средней концентрации нефтепродуктов в сточных водах предприятий нефтегазовой отрасли.

Методом ГХ-МС было установлено, что скорость биодеградации углеводородов в присутствии БКМ-2 остается высокой в течение 7 сут и концентрация углеводородов снижается с 600 до 10 мг/л. Остаточная концентрация 10 мг/л соответствует ПДК для морских сбросов.

Интересные результаты были получены при исследовании функциональной активности БКМ-2 при биодеградации образца сточной воды нефтегазового предприятия.

Результаты исследования сточной воды методом ГХ-МС показали, что сточная вода содержит широкий спектр углеводородов различных классов, в том числе и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Эти соединения – наиболее трудноразлагаемые поллютанты, обладающие канцерогенными, тератогенными, мутагенными и токсичными свойствами по отношению к живым организмам.

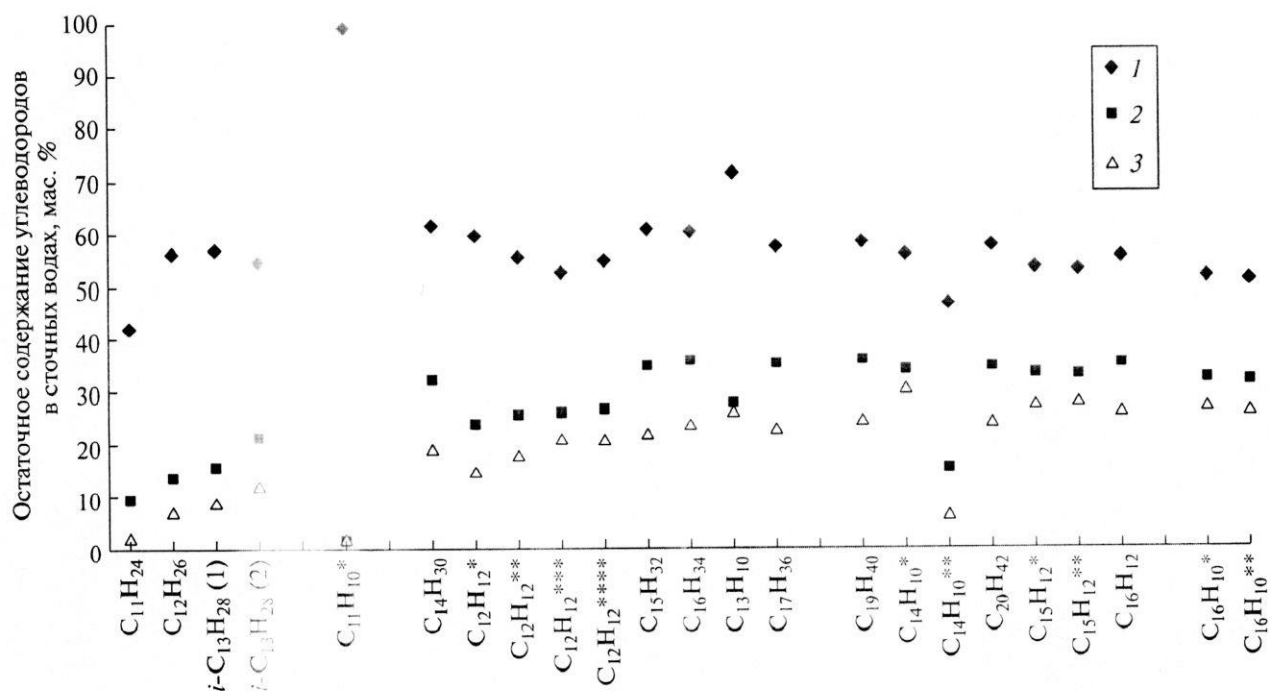


Рис. 2. Изменение содержания углеводородов в сточной воде в присутствии БКМ-2. Продолжительность эксперимента – 7 сут, $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Метод анализа ГХ-МС.

$\text{C}_{11}\text{H}_{10}^*$ – 2-метилнафталин, $\text{C}_{12}\text{H}_{12}^*$ – 1,4-диметилнафталин, $\text{C}_{12}\text{H}_{12}^{**}$ – 2,6-диметилнафталин, $\text{C}_{12}\text{H}_{12}^{***}$ – 1,3-диметилнафталин, $\text{C}_{12}\text{H}_{12}^{****}$ – 1,5-диметилнафталин, $\text{C}_{14}\text{H}_{10}^*$ – фенантрен, $\text{C}_{14}\text{H}_{10}^{**}$ – антрацен, $\text{C}_{15}\text{H}_{12}^*$ – 1-метилфенантрен, $\text{C}_{15}\text{H}_{12}^{**}$ – 1-метилантрацен, $\text{C}_{16}\text{H}_{10}^*$ – флуорантен, $\text{C}_{16}\text{H}_{10}^{**}$ – пирен. Формулы без звездочек соответствуют *n*-алканам.

Продолжительность эксперимента, сут: 1 (1), 3 (2), 7 (3).

На рис. 2 показаны результаты изменения углеводородного состава сточной воды в присутствии БКМ-2 в течение 7 сут. Видно, что на 7-е сутки эксперимента биodeградации подверглись 82% алканов. Степень биodeградации производных нафталина составила 83%. Самая низкая степень биodeградации у флуорена – 74%. Степень биodeградации трициклических ароматических углеводородов составила 77%. Важно отметить, что наблюдается 69%-я и 94%-я деградация антрацена и фенантрена соответственно. Это мож-

но объяснить тем, что антрацен является менее доступным для биоокисления субстратом, несмотря на одинаковое число конденсированных ароматических колец в молекулах фенантрена и антрацена. Его растворимость ниже, чем у других ПАУ с тремя конденсированными кольцами, и сорбционная способность в отношении твердых поверхностей выше [7]. Концентрация 2-метилнафталина резко снизилась, что, может быть, в большей степени связано с его более высокой летучестью, чем с биodeградацией [8, 9]. Таким об-

Таблица 1. Сравнительные характеристики биокomпозитных материалов, используемых для биodeградации нефти

Биокomпозитный материал	Степень биodeградации нефти, %	Литература
Биопрепарат на основе смеси цеолита и УОБ	75	[10]
Композиция из гидрофобизированных опилок и УОБ	77	[11]
Органический сорбент с иммобилизованными нефтеокисляющими микроорганизмами	85	[12]
Комплексный биопрепарат, включающий аэробные нефтеокисляющие микроорганизмы	80	[13]
БКМ-2	98	Наши данные

разом, УОБ в структуре БКМ-2 способны эффективно изменять не только алканы, но и более токсические компоненты, такие как ароматические и полиароматические углеводороды.

В табл. 1 приведены данные по биодegradации нефти материалом БКМ-2 и наиболее высокие показатели по биодegradации нефти другими известными препаратами. Можно видеть, что разработанный нами БКМ-2 весьма эффективен.

Таким образом, созданы новые функциональные биокomпозитные материалы. Показана их функциональная активность в биодegradации нефти и нефтепродуктов в водных средах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 13–03–12214), Минобрнауки России (в рамках выполнения базовой части государственного задания “Организация проведения научных исследований”, анкета № 1422) и Российского научного фонда (грант 14–50–00029).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hagiwara Y., Suzuki H. *Fracture Mechanics* (in Japanese). Tokyo: Ohmsha Publ., 2000.
2. Sanchez C. *Hybrid Materials a Domain Where Chemistry, Physics and Biology Meet*. P: Univ. Pierre et Marie Curie, 2009.
3. Дедов А.Г., Иванова Е.А., Касеева П.Б., Идиатулов Р.К., Кирпичников М.П., Лобакова Е.С., Васильева С.Г., Шаропова А.Н., Дольникова Г.А., Белоусова Е.Е. Биогибридный материал для сорбции и дегradации нефти и нефтепродуктов. Заявка на пат. РФ 2014113604 от 08.04.2014.
4. Dedov A.G., Belousova E.E., Kascheyeva P.B., Belyaeva E.I., Omarova E.O., Lobakova E.S., Ivanova E.A., Idiatulov R.K., Garis A.V., Buznik V.M. // *Theor. Foundations Chem. Eng.* 2014. V. 48. № 5. P. 706–715.
5. Генис А.В., Усов В.В., Идиатулов Р.К. Установка для получения сорбционно-фильтрующих нетканых материалов из растворов полимеров аэродинамическим формованием. Пат. РФ 62931 // Бюл. Изобр. 2007. № 13.
6. Дедов А.Г., Исмаилов А.Д., Лобакова Е.С., Касеева П.Б. и др. Определение токсичности нефтесорбентов на основе нетканых полимерных материалов биоллюминесцентным методом // *Хим. технология*. 2013. № 11. С. 672–679.
7. Ленёва Н.А., Колумуцева М.П., Баскунов Б.П., Головлева Л.А. Дегradация фенантрена и антрацена бактериями рода *Rhodococcus* // *Прикл. биохимия и микробиология*. 2009. Т. 45. № 2. С. 188–194.
8. Kuyukina M.S., Rubtsova E.V., Ivshina I.B., Ivanov R.V., Lozinsky V.I. Selective Adsorption of Hydrocarbon-Oxidizing *Rhodococcus* Cells in a Column with Hydrophobized Poly(acrylamide) Cryogel // *J. Microbiol. Methods*. 2009. V. 79. P. 76–81.
9. Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Makarov S.O., Litvinenko L.V., Cunningham C.J., Philp J.C. Effect of Biosurfactants on Crude Oil Desorption and Mobilization in a Soil System // *Environ. Intern.* 2005. V. 31. № 2. P. 155–161.
10. Скребняк Е.А., Ботвинко И.В., Винокуров В.А., Малахова Д.В. Способ получения биопрепарата для восстановления водоемов, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Пат. РФ 2327649 // Бюл. Изобр. 20.09.2006.
11. Podorozhko E.A., Lozinsky V.I., Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivorutchko A.B., Philp J.C., Cunningham C.J. Hydrophobised Sawdust as a Carrier for Immobilization of the Hydrocarbon-Oxidizing Bacterium *Rhodococcus ruber* // *Bioresource Technol.* 2008. V. 99. № 6. P. 2001–2008.
12. Морозов Н.В., Хуснетдинова Л.З., Жукова О.В. Использование иммобилизованных на органическом сорбенте нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки воды от нефти // *Фундам. исслед.* 2011. № 12. С. 576–579.
13. Сваровская Л.И., Писарева С.И., Алтунина Л.К. Биопрепарат для очистки почвы и воды от нефти и нефтепродуктов. Пат. РФ 2361686 // Бюл. Изобр. 20.02.2009.