

# Бактериальная целлюлоза

Новый материал стал открытием века, пройдя путь от десерта и витаминизированного напитка до имплантата и электронной бумаги



Давид Матуа

**В** 1838 году французский ученый Ансельм Пайен выделил целлюлозу из древесных волокон и определил ее химическую формулу:  $C_6H_{10}O_5$ .

Древесина содержит 35–45% целлюлозы, которую приходится осваивать химическими методами, добавляясь от углеводов, пектиновых соединений, лигнина, диоксида кремния и смолистых веществ.

Древесная целлюлоза характеризуется высокой отражающей способностью, контрастностью, гибкостью, низкой стоимостью и используется во всем мире для производства бумаги.

На полвека позднее, в 1886 году, профессор Адриан Браун получил

бактериальный аналог растительной целлюлозы и синтезировал из нее т.н. «желатиновый мат». Несколькими десятилетиями позднее другой химик с похожей фамилией — С. Броун — получил тот же материал путем ферментации сока сахарного тростника, собранного в Луизиане.

Впрочем, человечеству материал известен гораздо более 150 лет. Из бактериальной целлюлозы, не зная о ее научно-практическом потенциале, в Юго-Восточной Азии готовили традиционное блюдо, известное европейцам как *pata de coco*.

Первое научное исследование о получении бактериальной целлюлозы было опубликовано в 1931 году Тарром и Хиббертом, которые провели серию

экспериментов по выращиванию бактерий *A. xylinum* на культуральных средах.

Бактериальная, или микробная, целлюлоза образует гелевую пленку с отчетливой архитектурой из кристаллических микрофибрилл и, хотя сам природный полимер занимает в полученной пленке только 1%, материал как в исходном виде, так и в дегидратированном обладает замечательными свойствами, отличными от растительной целлюлозы. Что открывает перед ним огромные перспективы.

Сейчас бактериальную целлюлозу используют в хирургии, кулинарии, текстильной промышленности, много надежд связано с появлением этого соединения в регенеративной медицине и электронике.

Текущие исследования направлены на поиск новых применений и способов промышленного производства.

## Acetobacter Xylinum

Бактериальная целлюлоза может продуцироваться грамотрицательными бактериями *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Alcaligenes* и грамположительными бактериями *Sarcina ventriculi*.

Наиболее эффективными производителями целлюлозы считаются три бактерии: *A. xylinum*, *A. hansenii* и *A. pasteurianus*. Но для базовых и прикладных исследований целлюлозы из трех названных выбрали грамотрицательную, палочковидную, строго аэробную бактерию *Acetobacter Xylinum* (другое название *Glucanacetobacter xylinus*) — благодаря ее всеядности, способности производить значительные объемы полимера из источников углерода и азота широкого диапазона.

## Структура

Целлюлоза состоит из углерода, кислорода, водорода и классифицируется как полисахарид — углевод, обладающий

полимерными характеристиками, с прямой полимерной цепью, основные звенья которых удерживаются бета-связями.

Хотя бактериальная целлюлоза имеет ту же молекулярную формулу, что и растительная целлюлоза, она имеет существенно отличающиеся пространственную структуру и макромолекулярные свойства.

Субфбриллы бактериальной целлюлозы кристаллизуются в микрофбриллы (диаметром от 2 до 4 нм), которые, в свою очередь, группируются в пучки, образующие «ленты». Эти волокна в сто раз тоньше целлюлозных волокон, получаемых при варке древесины.

Бактериальная целлюлоза отличается от своего растительного аналога высоким показателем кристалличности (более 60%), что установлено методом рентгеновского, ядерного магнитного резонанса, рамановской спектроскопии и инфракрасного анализа.

Фибриллы в слоях бактериальной целлюлозы связаны межфибриллярными водородными связями, как и в бумаге, произведенной из древесной целлюлозы, но плотность межфибриллярных водородных связей в новом материале оказывается значительно выше, а общая площадь контакта больше – благодаря значительно более тонким и протяженным фибриллам.

Фибриллы нерастворимы и в силу своей конфигурации имеют прочность, сопоставимую с прочностью стали. Структура целлюлозы в стенках ячеек подобна прядям стекловолнока или опорным стержням в железобетоне.

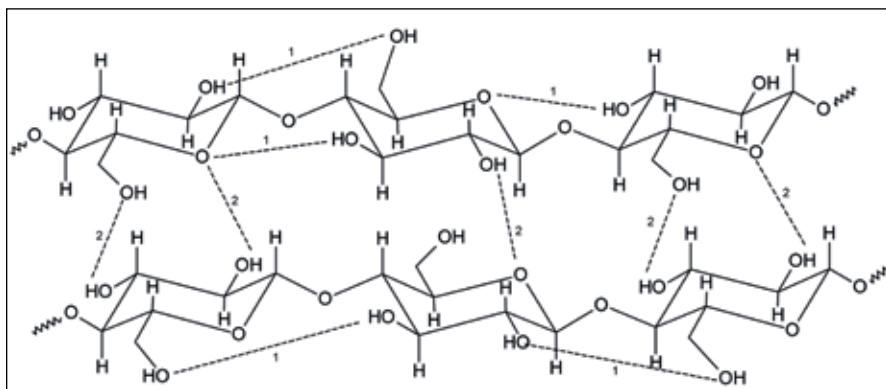
Пленка бактериальной целлюлозы, представляющая из себя совокупность фибрилл шириной менее 130 нм, – очень жесткий материал, особенно если пытаться разорвать ее через плоскость роста. По этому показателю (модуль Юнга) бактериальная целлюлоза демонстрирует прочность в 15 ГПа по всей плоскости листа, тогда как самые высокие значения для полимерных пленок или листов не превышают 10 ГПа.

Полученные результаты по Юнгу не зависят от температуры и выбранного процесса культивирования.

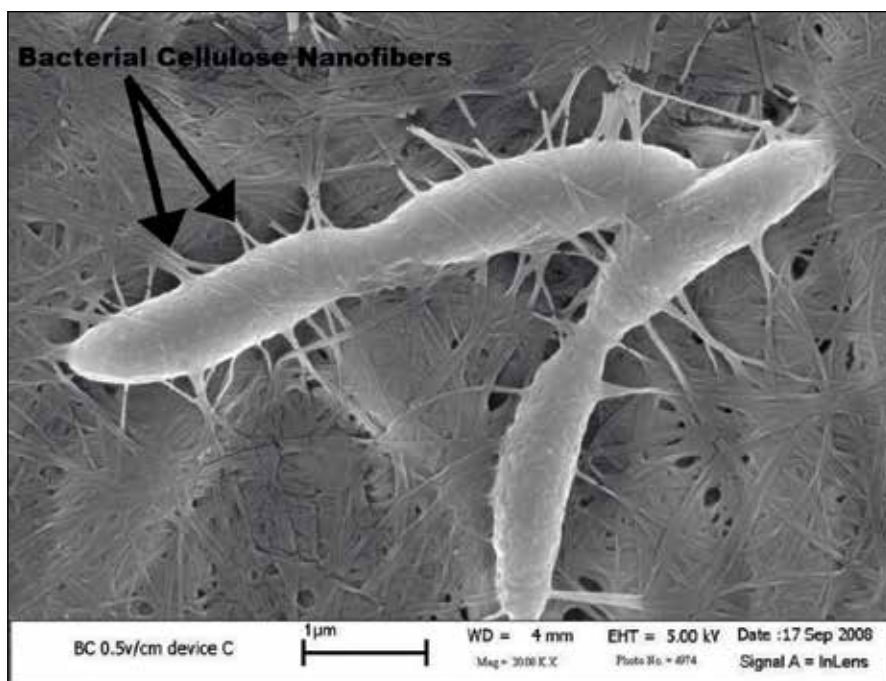
### Химия процесса

Химически – получение бактериальной целлюлозы представляет из себя синтез уридин-дифосфоглюкозы (UDPGlc) с последующей полимеризацией глюкозы в длинные и неразветвленные цепи ( $\beta$ -1  $\rightarrow$  4-глюкановая цепь).

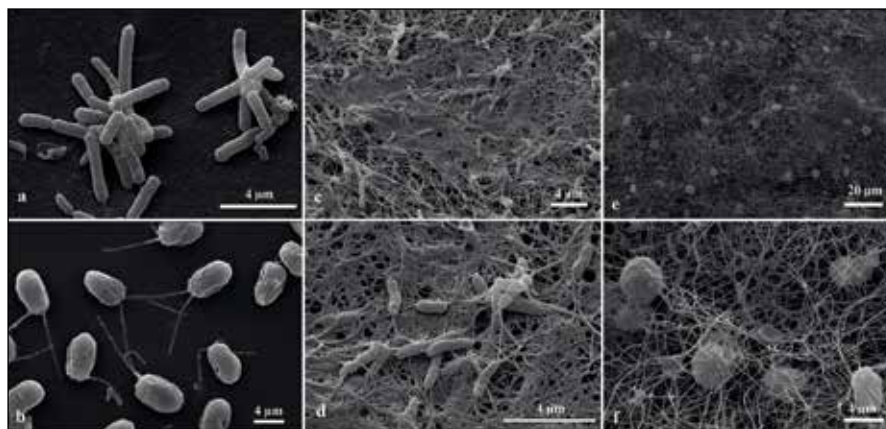
Критическими факторами при организации производства целлюлозы



Структура водородных связей между полимерными волокнами целлюлозы.



Бактерии *Acetobacter Xylinum* в окружении производимых ими нанофибрилл микробной целлюлозы.



Сканирующая электронная микрофотография (а) целлюлозо-производящих бактерий *A. aceti*, (b) микроводорослей *C. reinhardtii*, (c) бактериальной целлюлозы, продуцированной *A. aceti*, (d) изображения бактериальной целлюлозы, продуцируемой *A. aceti*, с большим увеличением, и (e) живой биоматериал, полученный из целлюлозного геля и иммобилизованных микроводорослей *C. reinhardtii*, культивируемых в чашке Петри, (f) изображение с большим увеличением (e), показывающее захваченные микроводоросли в бактериальных целлюлозных волокнах.

являются питательная среда, условия окружающей среды и образование побочных продуктов.

Ферментация происходит в присутствии углерода, азота и других макро- и микроэлементов, необходимых для роста бактерий.

Эффективность синтеза максимальна, когда бактерии обильно снабжаются углеродом и в ограниченном количестве — азотом.

Глюкоза и сахароза — наиболее часто используемые источники углерода при производстве целлюлозы, а ранее в этой роли были испытаны фруктоза, мальтоза, сиалоза, крахмал и глицерин.

Иногда для увеличения выхода продукта применяют этанол.

Проблема применения глюкозы заключается в том, что глюконовая кислота, образуемая в качестве побочного продукта, снижает pH культуры и, тем самым, уменьшает выработку целлюлозы.

Исследования показали, что производство глюконовой кислоты может быть уменьшено в присутствии лигносульфоната или при добавлении органических кислот, в частности уксусной кислоты.

Использование мелассовой среды в ферментере, а также компонентов мелассы сахарного тростника для определенных штаммов бактерий также показали увеличение производства целлюлозы.

Добавление дополнительного азота обычно снижает выработку целлюлозы, в то время как добавление молекул-предшественников, таких как аминокислоты и метионин, улучшает выход продукта.

Пиридоксин, никотиновая кислота, п-аминобензойная кислота и биотин являются витаминами, важными для производства целлюлозы, тогда как пантотенат и рибофлавин подавляют продуктивность бактерий.

В реакторах, где процесс проходит по более сложным сценариям, для предотвращения комкования или коагуляции бактериальной целлюлозы — добавляют водорастворимые полисахариды, такие как агар, ацетан и альгинат натрия.

Другими значимыми факторами окружающей среды являются pH, температура и растворенный кислород. Оптимальная температура составляет от 28 до 30°C, оптимальный pH — в диапазоне 4,0–6,0.

Контроль pH особенно важен в статических культурах, так как накопленные глюконовой, уксусной или молочной кислоты снижают pH до уровня меньше допустимого.

Количеством растворенного кислорода можно управлять, регулируя скорость перемешивания.

Образование целлюлозы происходит на границе раздела воздух/целлюлоза, то есть на поверхности слоя, а не на границе раздела среда/целлюлоза, поэтому большая площадь поверхности важна для производительности, а кислород является важным фактором производства.

После индукции, в стадии быстрого роста, толщина слоя неуклонно увеличивается.

При этом замечена необычная геометрия роста. Фибриллы не всегда являются линейными и содержат в некоторых направлениях «трехсторонние точки ветвления».

## Свойства

Бактериальная целлюлоза придает свойства химической устойчивости, механической прочности и гибкости тканям, в которых она содержится.

«Старший брат» нашего материала, растительная целлюлоза, нуждается в химической очистке от гемицеллюлозы, лигнина и ряда других веществ, причем эти примеси полностью не удаляются. Бактериальная же целлюлоза изначально получается без примесей.

Хотя результатом деятельности бактерий является гель с высоким содержанием воды и твердая часть в геле составляет менее 1%, это почти чистая целлюлоза, не нуждающаяся в дальнейшей очистке. С одной оговоркой — часть бактерий «застревает» в созданных ими волокнах, и трупки бактерий представляют собой остаточный белок, что может быть существенно для медицинских применений.

Влагодержание растительной целлюлозы составляет 60%, бактериальная же целлюлоза имеет показатель удержания воды 1000% (в 17 раз больше).

Бактериальная целлюлоза характеризуется высокой чистотой, экстраординарной прочностью и при этом — эластичностью, повышенной влагодерживающей способностью и гидрофильностью, ультрадисперсной сетчатой архитектурой, колоссальной прочностью на растяжение в результате большего количества звеньев полимерной цепочки, нежели у растительного аналога, и прекрасной формуемостью.

Бактериальная целлюлоза устойчива к воздействию химических сред, в том числе при высоких температурах.

Важно, что материал может быть получен на различных субстратах.

Если в ходе биосинтеза добавить желатин, то образуется плотная и однородная пленка с улучшенной оптической прозрачностью и повышенной гигроскопичностью.

## Хирургия и медицина

Полученной с помощью *Acetobacter xylinum* пленке нашли различные применения в медицине, и первое из них — искусственная кожа.

Если пленку смочить физраствором, она приобретает прозрачность, эластичность и плотность — свойства, схожие с человеческой кожей. Кроме того, она обладает селективной проницаемостью для газов и пара, оставаясь барьером для воды и бактерий.

Материал играет активную роль в стимулировании регенеративных процессов, помогая восстановлению базальной мембраны и ускоряя эпителизацию и рубцевание ран. Ожоги, обработанные микробно-целлюлозными покрытиями, заживают быстрее и оставляют меньше рубцов.

Способность удерживать значительные объемы влаги обеспечивает необходимый уровень влажности в месте поражения, что имеет решающее значение для заживления, и, одновременно, благодаря высокой сорбционной способности, пленка удаляет экссудат (избыточные выделения) из раневой поверхности.

Зарегистрированы торговые марки медицинского применения — *Dermafill*, для регенерации кожи (компания *Dermafill Xylinum*) и *XCell* (*Xylos Corporation*), который используется для лечения трофических язв и незаживающих ран.

Проведены исследования, показавшие эффективность обработки традиционных перевязочных средств микробной целлюлозой. В дополнение к известному свойству отводить экссудат из раны, микробная целлюлоза позволяет абсорбировать жидкие лекарственные формы и доставлять их в место повреждения.

Вероятно, гель-пленка микробной целлюлозы будет применяться в будущем как матрица-носитель для лекарств наряду с существующими трансдермальными терапевтическими системами.

Исследователи рассчитывают применять новое биологическое вещество в качестве искусственного хряща, прекурсора костной ткани и как универсальное покрытие при разных видах травм.

Ключевые свойства, востребованные при определении медицинских применений, заключается в высокой формуемости и биологической совместимости материала.



▲ Проведенные на собаках испытания показали, что трансплантаты из бактериальной целлюлозы, интегрированные в дефекты брюшной стенки, активно прорастают коллагеновой тканью и капиллярами, создавая плотный послеоперационный рубец.

▼ В регенеративной челюстной хирургии широко применяются продукты компаний Bioprocess и Gengiflex, прошедшие клинические испытания: как зубные имплантаты и в качестве покрытия для восстановления тканей пародонта.



▲ Прошедшая клинические испытания пленка XCell производства Xylos Corporation используется для лечения трофических язв и незаживающих ран.

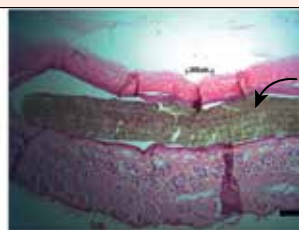
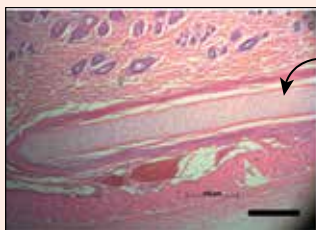
◀ Искусственный сосуд из бактериальной целлюлозы, надетый на трубку из красного стекла (символизирующую кровоток).



▲ Перевязочный материал из бактериальной целлюлозы, который накладывается на зоны поражений, в частности, при термических и химических ожогах большой площади.



▲ Трубки из бактериальной целлюлозы были использованы в качестве импланта во время операции по реконструкции трахеи.



▲ Бактериальный наноцеллюлозный гидрогель в роли имплантата для регенерации ушного хряща продемонстрировал лучшую биосовместимость в сравнении с материалами-предшественниками. На фото: спустя 1 неделю после внутрикожной имплантации аутентичного хряща (слева), уплотненного гидрогеля бактериальной целлюлозы (в центре) и полимерного импланта Gore-Tex (справа), имплантаты указаны стрелкой.



▲ Бактериальная целлюлоза в пищевой промышленности. Coco de nut, или nata de coco — традиционный филиппинский десерт из ферментированного (переработанного бактериями) кокосового молока.

▼ Боковой срез культуры бактериальной целлюлозы, показывающий целлюлозную пленку на поверхности (белый «гель»), слой роста и колонии бактерий/дрожжей (темно-коричневые структуры). Пузырьки — углекислый газ, продуцируемый дрожжами.



Длинные полые трубки из микробной целлюлозы можно использовать в качестве имплантатов сердечно-сосудистой системы, пищеварительного тракта, мочевыводящих путей и трахеи. Микробная целлюлоза уже была опробована для изготовления синтетических кровеносных сосудов, стентов и клапанов сердца.

Сетчатые мембраны из целлюлозы применялись в качестве противогрыжевой сетки, планируется использовать их для замещения твердой мозговой оболочки головного мозга.

Специфические модификации микробной целлюлозы делают возможным выпуск хрящоподобных заменителей мениска, ушной раковины и носовой перегородки, а также трубок для регенерации нервов.

Таким образом, микробная целлюлоза используется как растворимый каркас для направленной регенерации тканей.

Bioprocess и Gengiflex — торговые марки двух прошедших клинические испытания продуктов, которые широко применяются в костной регенеративной хирургии и как зубные имплантаты.

Ярким примером использования является восстановление тканей пародонта путем отделения эпителиальных клеток полости рта и соединительной ткани десны от поверхности обработанного корня.

Из бактериальной целлюлозы создаются биофильтры.

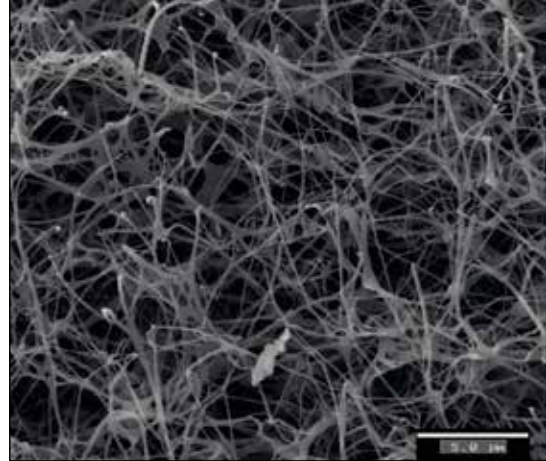
Материал нашел свое применение в качестве добавки в косметической промышленности.

Значительные перспективы у материала — в сегменте очистки сточных вод.

## Текстиль, мембраны, электронная бумага

Хотя древесная целлюлоза во много раз дешевле микробной, можно представить себе применения, в которых будет востребована сверхпрочная бумага.

В текстильной промышленности бактериальную целлюлозу рассматривают как материал для создания новых тканей. Уже действуют небольшие производства по выпуску образцов, пошиты первые линии органической одежды.



▲ Микрофотография образца бактериальной целлюлозы: когерентная трехмерная сеть, образованная соединенными между собой волокнами целлюлозы.

Бактериальная целлюлоза используется в качестве фильтрующей мембраны в акустических системах и наушниках высокой четкости от Sony Corporation.

Материал может оказаться отличным кандидатом для использования в качестве подложки для электронной бумаги. На листы толщиной приблизительно 100 микрон, что соответствует толщине обычной бумаги, наносятся растворы, содержащие проводящие присадки и электрохромные красители.

Электрохромные красители изменяют цвет от прозрачного до темного при подаче напряжения, что, теоретически, позволит сформировать изображение. Разработка находится в начальной стадии и пока далека до серийного производства.

Ожидается, что бактериальная целлюлоза будет применяться в электронных устройствах: электронных книгах, планшетах, электронных газетах, динамических обоях, перезаписываемых картах и учебных пособиях.

Другой пример возможного использования бактериальной целлюлозы в электронной промышленности — производство органических светодиодов.

## Еда

Бактериальную целлюлозу столетиями употребляют в пищу на Филиппинах в качестве десерта.

Бактерия *Acetobacter xylinum* входит в состав культуры симбиотических микроорганизмов, которую называют чайным грибом. Чайный грибок, довольно широко распространенный в России, обладает множеством целебных и питательных свойств.

Микробная целлюлоза с 1992 года используется в Японии в качестве добавки к диетическим напиткам, в частности, из нее изготавливают ферментированный чай.

Сейчас бактериальная целлюлоза широко используется в пищевой промышленности в качестве загустителя для поддержания вязкости пищи и в качестве стабилизирующего агента.

Благодаря своей уникальной текстуре и высокому содержанию клетчатки, бактериальная целлюлоза может стать компонентом многих пищевых продуктов.

Наиболее известной добавкой является Cellulon, который применяется как загуститель, текстурирующий агент и/или восстановитель калорий.

## Производство и цена

Бактерия *A. Xylinum* превращает углеродные соединения в целлюлозу с эффективностью около 50%.

Статический способ и перемешивание являются обычными при лабораторном получении бактериальной целлюлозы.

Но оба этих способа не подходят для крупномасштабного производства, так как статический метод дает невысокий выход продукта, а перемешивание приводит к появлению значительного количества мутаций из-за слишком быстрой смены поколений.

Избежать описанных состояний позволяет использование реактора. Реактор сокращает время культивирования и в то же время ингибирует превращение штаммов в целлюлозо-негативные.

Обычно используются реакторы с вращающимся диском, или роторный биопленочный контактор, или биореактор, оснащенный спиновым фильтром, или реактор с силиконовой мембраной.

Биосинтез бактериальной целлюлозы экологически безупречен, однако недешев, так как требует значительного количества сахара. Существуют и такие технологические проблемы, как поддержание чистых бактериальных культур, обеспечение оптимальных субстратов.

Первые эксперименты по организации выпуска материала показали, что его стоимость примерно в 50 раз выше, чем выпуск растительной целлюлозы. Но в случае с медицинскими применениями или в электронной промышленности затраты оказываются оправданными, что подтвердили вышедшие в розницу продукты компаний Sony, Xylos, Dermafill.

Значительное внимание при планировании производства уделяется источникам сырья. В случае кооперации с отраслями, поставляющими отходы с высоким содержанием моносахаров, а также на фоне увеличения объемов и рационализации процессов — перспективы самого широкого распространения нового материала возрастают. ■



▲ Бактериальная целлюлоза используется в качестве фильтрующей мембраны в акустических системах и наушниках высокой четкости от Sony Corporation.



▲ Устойчивость к высоким температурам делает материал безопасным при контакте с источниками света. Финская ChemArts Summer Schools в 2016 году разработала линию светильников из нового материала.

▼ Кожа из бактериальной целлюлозы, при производстве которой ни одно животное не пострадало.





▲ Волокно наноллозы (Nanollose), подготовленное для прядения.



▲ Один из этапов производства наноллозы.



▲ Оборудование для производства нитей наноллозы.



◀ Австралийская Nanollose наладила промышленное производство волокна из бактериальной целлюлозы, базовым сырьем для получения которой стали отходы кокосов. Гэри Касс, один из директоров компании, держит в руках волокнистую основу для ткани Nanollose.

Готовая ткань Nanollose. ▶  
 Специалисты считают, что наноллоза, экологически чистое вискозное волокно, произведет революцию на рынке текстиля.  
 К 2018 году мировой рынок наноллозы составил 70 млн \$, а к 2021 его объем достигнет 530 млн \$.



◀ Бактериальная целлюлоза, производится бактериями *Acetobacter*, *Sarcina ventriculi* и *Agrobacterium*. По сравнению с растительной целлюлозой микробная целлюлоза более химически чиста, не содержит лигнина, обладает более высокой влагоудерживающей способностью и гидрофильностью, большей прочностью на растяжение в результате большей полимеризации, ультрадисперсной сетчатой архитектурой. Бактериальная целлюлоза — универсальный конструкционный материал, позволяющий придавать ей разнообразные формы. Помимо текстильного применения найдена возможность использования материала в медицинских, фармацевтических и косметических целях.



▲ Итальянский бренд Orange Fiber в сотрудничестве с Политехническим университетом Милана запатентовал и внедряет технологию получения наноллозы из отходов цитрусовых, объем которых в Италии достигает 700 000 тонн ежегодно.

▲ Первичную переработку отходов в волокно компания Orange Fiber осуществляет в Италии, затем волокно отправляется в Испанию для прядения. Пряжа возвращается в Италию и превращается в ткань в Комо, административном центре Ломбардии.

▼ Производство хлопка нарушает экологию планеты, т.к. нуждается в значительном количестве пахотных земель и колоссальном объеме пресной воды для орошения. Дизайнер Донна Франклин, вдохновленная цветком хмеля, изготовила платье из микробной целлюлозы, полученной при ферментации отходов производства пива.

