

# ФИЗИКО-МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ, ПОЛУЧЕННОЙ ПРОДЛЕННЫМ КУЛЬТИВИРОВАНИЕМ

А.Е. Ситникова<sup>1,2</sup>, Н.А. Шавыркина<sup>1,2</sup>, В.В. Будаева<sup>1</sup>, А.А. Корчагина<sup>1</sup>, Н.В. Бычин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), г. Бийск

<sup>2</sup>Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВО «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова», г. Бийск

Бактериальная наноцеллюлоза (БНЦ) обладает уникальными физико-механическими свойствами, вследствие чего имеет огромный прикладной потенциал. Целью данной работы являлось исследование физико-механических свойств образцов БНЦ, синтезированных продуцентом *Medusomyces gisevii* Sa-12 на полусинтетической питательной среде методом продленного культивирования. Образцы БНЦ были высушены на воздухе.

В статье приведены данные по изучению свойств БНЦ, полученной в емкостях различного объема и изготовленных из разных материалов: в ёмкости малого объема 0,25 л (эксперимент № 1, пластиковый контейнер, заполнение 0,20 л), в ёмкости объемом 45 л (эксперимент № 2, эмалированный сосуд, заполнение 8 л) и в ёмкости объемом 17,3 л (эксперимент № 3, стеклянная ёмкость, заполнение 8 л). Данный метод предполагает многократный отъём гель-пленок БНЦ с одной и той же питательной среды без дополнительного внесения инокулята и питательных веществ: пятикратно в эксперименте № 1, семикратно в эксперименте № 2, одиннадцатикратно в эксперименте № 3.

Установлено, что наибольшая толщина образцов БНЦ наблюдается на 6-е сутки культивирования в эксперименте № 1 – 0,020 мм; на 10-е сутки в эксперименте № 2 – 0,020 мм; на 4-е и 7-е сутки культивирования в эксперименте № 3 – 0,013 мм.

Максимальная прочность при разрыве для образцов экспериментальной серии № 1 составила 84 МПа (II отъём БНЦ, 6-е сутки культивирования), для серии № 2 – 177 МПа (III отъём БНЦ, 10-е сутки культивирования), в эксперименте № 3 – 265 МПа (VII отъём БНЦ, 32-сутки культивирования).

Наибольшие значения степени полимеризации зафиксированы в экспериментах № 2 и № 3 (5550), что в 1,5 раза больше, чем в эксперименте № 1 (3750).

Модуль Юнга образцов БНЦ в эксперименте № 1 (1403 МПа) в 3,9 раза меньше, чем модуль Юнга образцов, полученных в эксперименте № 2 (5433 МПа) и в 5,2 раза меньше, чем модуль Юнга образцов, полученных в эксперименте № 3 (7250 МПа).

Отсутствие литературных данных о продленном культивировании БНЦ не позволяет сравнить полученные результаты, но обосновывает несомненный приоритет проведенных исследований.

*Ключевые слова:* бактериальная наноцеллюлоза, модуль Юнга, толщина, прочность при разрыве, степень полимеризации

## ВВЕДЕНИЕ

Бактериальная наноцеллюлоза (БНЦ) – это экологически чистый и возобновляемый материал, вырабатываемый уксуснокислыми бактериями, который состоит из звеньев D-глюкозы, связанных через β-1,4-гликозидные связи. В последние годы БНЦ привлекает все большее внимание благодаря своим уникальным структурным, физико-химическим, механическим и биологическим свойствам [1]. Эти свойства обуславливают её применение в различных областях: благодаря высокой эластичности, прочности и высокой адсорбции лекарственных препаратов БНЦ применяется в медицине в качестве высокоэффективных перевязочных материалов и для создания трансдермальных терапевтических систем [2], в пищевой промышленности БНЦ находит применение в качестве материала для создания биологически разлагаемой упаковки [3], кроме того,

бактериальная наноцеллюлоза применяется в косметологии и даже в электронике [4].

Классическим способом биосинтеза БНЦ является статическое культивирование продуцента, в результате которого получают одну гель-плёнку БНЦ с одной культуральной ёмкости.

Получение БНЦ способом продленного культивирования ранее в научной литературе описано не было.

Целью данной работы являлось исследование физико-механических свойств образцов БНЦ, синтезированных продуцентом *Medusomyces gisevii* Sa-12 на полусинтетической питательной среде методом продленного культивирования.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

В исследовании образцов БНЦ использовался продуцент – симбиотическая культура *Medusomyces*

*gisevii* Sa-12. Культура приобретена ИПХЭТ СО РАН в национальном биоресурсном центре НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика.

Продуцент *Medusomyces gisevii* состоит из разных видов уксуснокислых бактерий и дрожжей. Симбиоз обладает огромным адаптивным потенциалом. Благодаря подвижным симбиотическим отношениям культура легко приспосабливается к изменению внешних условий, стрессам, способна утилизировать различные субстраты, устойчива к фагам [5].

Поддержание жизнеспособности продуцента *Medusomyces gisevii* Sa-12 осуществлялось методом субкультивирования каждые 7 суток.

Исследования проводились на полусинтетической питательной среде. Для приготовления питательной среды дистиллированную воду доводили до кипения, добавляли 5 г/л сухого черного байхового чая «Канди» (ООО «Орими Трейд», Россия) и глюкозу (ООО «Полихром», Россия) в количестве 20 г/л. После чего смесь выдерживали в течение 15 минут, фильтровали через марлевый фильтр и охлаждали до температуры 27°C. Далее питательную среду разливали в ёмкости и вносили симбиотическую культуру *Medusomyces gisevii* Sa-12 в количестве 10 % от объема питательной среды. Биосинтез БНЦ проводили при оптимальной для используемого продуцента температуре 27 °С в климатической камере (Binder-400, Германия) в статических условиях продлённым способом [6]. Ёмкости заполняли средой и инокулятом однократно, далее по истечении определенного времени производили отъём плёнок БНЦ с поверхности культуральных сосудов, а сосуды с оставшейся культуральной средой вновь помещали в климатическую камеру до следующего отъёма плёнок БНЦ и т.д. до полного истощения питательной среды. Биосинтез БНЦ проводился в трех емкостях: пластиковой, объемом 0,25 л (эксперимент № 1), эмалированной, объемом 45 л (эксперимент № 2) и стеклянной, объемом 17,3 л (эксперимент № 3). Объем, заполняемый питательной средой 0,2 л, 8 л и 8 л соответственно. Визуально наблюдая появление гель-плёнок, отъём БНЦ производился по мере их нарастания.

Синтезированные пленки БНЦ содержат бактериальные и дрожжевые клетки, а также другие примеси, которые могут повлиять на физико-механические свойства материала, следовательно, чтобы получить достоверные данные, требуется соответствующая очистка. Для этого полученные гель-пленки БНЦ тёмно-коричневого цвета промывались согласно авторской методике [7] до полупрозрачного белого цвета. После этого образцы высушивали на воздухе в расправленном состоянии.

Прочность определяли на термомеханическом анализаторе ТМА-60. Исследуемые образцы растягивались со скоростью 5 г/мин, до максимальной

нагрузки 500 г. Температура проведения опыта комнатная [8].

Измерение толщины образцов проведено на толщиномере в соответствии с ГОСТ 17035-86. Испытания каждого образца повторялись не менее 5 раз.

Модуль Юнга рассчитывался по формуле (1):

$$E = \frac{\sigma_{sx}}{\left(\frac{\varepsilon_{sx}}{100}\right)} \quad (1)$$

где E – модуль Юнга, МПа;  $\sigma_{sx}$  – условный предел текучести, МПа;  $\varepsilon_{sx}$  – относительное удлинение при пределе текучести, %.

Степень полимеризации (СП), полученных образцов БНЦ, определялась методом, основанным на растворении целлюлозы в кадоксене и последующей вискозиметрии полученного раствора [9,10].

Работа выполнена при использовании оборудования Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск).

В табл. 1 приведены физико-механические свойства образцов БНЦ, полученных в эксперименте № 1.

Табл. 1. Физико-механические свойства образцов БНЦ, полученных в эксперименте № 1

| Кратность отъёма БНЦ | Продолжительность культивирования, сутки | Условный предел текучести, $\sigma_{sx}$ , МПа | Прочность при разрыве, $\sigma_r$ , МПа | Относительное удлинение при пределе текучести, $\varepsilon_{sx}$ , МПа % | Модуль Юнга, E, МПа |
|----------------------|--|--|---|---|---------------------|
| I                    | 3  | 3,06   | 15                                      | 0,32  | 956                 |
| II                   | 6  | 4,91   | <b>84</b>                               | 0,35  | <b>1403</b>         |
| III                  | 9  | 1,08   | 11                                      | 0,13  | 831                 |
| IV                   | 14                                       | 2,52   | 27                                      | 0,31  | 813                 |
| V                    | 22                                       | 2,89   | 14                                      | 0,48  | 602                 |

Максимальные значения прочностных характеристик в эксперименте № 1 были получены на 6 сутки культивирования, то есть для II отъёма БНЦ: прочность при разрыве 84 МПа, модуль Юнга 1403 МПа.

В табл.2 приведены данные о толщине и степени полимеризации плёнок БНЦ, полученных в эксперименте № 1.

Табл. 2. Толщина и степень полимеризации плёнок БНЦ, полученных в эксперименте № 1

| Кратность отъёма БНЦ | Продолжительность культивирования, сутки | Толщина, мм  | СП          |
|----------------------|--|--------------|-------------|
| I                    | 3  | 0,005        | 1750        |
| II                   | 6  | <b>0,020</b> | <b>3750</b> |
| III                  | 9  | 0,007        | 3250        |
| IV                   | 14                                       | 0,010        | 2650        |
| V                    | 22                                       | 0,011        | 1800        |

Толщина образцов БНЦ для данного эксперимента изменяется в пределах 0,005-0,020 мм; степень полимеризации в диапазоне от 1750 до 3750.

Установлено, что образец БНЦ, полученный при отъёме II имеет наибольшую толщину 0,020 мм и степень полимеризации 3750.

Увеличение СП происходит до 6-х суток культивирования, после чего СП снижается.

В табл. 3 приведены физико-механические свойства образцов, полученных в эксперименте № 2.

Табл. 3. Физико-механические свойства образцов БНЦ, полученных в эксперименте № 2

| Кратность отъёма БНЦ | Продолжительность культивирования, сутки | Условный предел текучести, $\sigma_{sx}$ , МПа | Прочность при разрыве, $\sigma_r$ , МПа | Относительное удлинение при пределе текучести, $\epsilon_{sx}$ , МПа % | Модуль Юнга, Е, МПа |
|----------------------|--|--|---|--|---------------------|
| I                    | 3  | 16,30  | 79                                      | 0,30   | <b>5433</b>         |
| II                   | 6  | –  | –                                       | –  | –                   |
| III                  | 10                                       | 16,59  | <b>177</b>                              | 0,47   | 3530                |
| IV                   | 13                                       | –  | –                                       | –  | –                   |
| V                    | 17                                       | 9,88   | 79                                      | 0,40   | 2470                |
| VI                   | 21                                       | –  | –                                       | –  | –                   |
| VII                  | 26                                       | 14,15  | 64                                      | 0,44   | 3216                |

Примечание: «–» означают, что показатели данных образцов не определялись

В данной серии экспериментов наибольшим значением модуля Юнга характеризовался образец, полученный на 3-е сутки культивирования (I отъём БНЦ) – 5433 МПа, а максимальной прочностью при разрыве обладал образец, полученный на 10-е сутки культивирования (III отъём БНЦ) – 176,6 МПа.

В табл. 4 приведены данные о толщине и степени полимеризации плёнок БНЦ, полученных в эксперименте № 2.

Табл. 4. Толщина и степень полимеризации плёнок БНЦ, полученных в эксперименте № 2

| Кратность отъёма БНЦ | Продолжительность культивирования, сутки | Толщина, мм  | СП          |
|----------------------|--|--------------|-------------|
| I                    | 3  | 0,004        | 2700        |
| II                   | 6  | –            | <b>5550</b> |
| III                  | 10                                       | <b>0,020</b> | 3700        |
| IV                   | 13                                       | –            | 3400        |
| V                    | 17                                       | 0,018        | 3350        |
| VI                   | 21                                       | –            | 3350        |
| VII                  | 26                                       | 0,004        | 3550        |

Во второй экспериментальной серии толщина плёнок БНЦ варьирует от 0,004-0,020 мм, максимальная толщина наблюдается на 10-е сутки культивирования (III отъём БНЦ) – 0,020 мм, после чего толщина плёнок постепенно снижается до 0,004 мм на 26-е сутки.

Полученные данные показывают, что в данных условиях проведения эксперимента СП изменяется в широком диапазоне от 2700 (на 3-и сутки культивирования, I отъём БНЦ) до 5500 (на 6-и сутки культивирования, II отъём БНЦ).

В табл. 5 приведены физико-механические свойства образцов БНЦ, полученных в эксперименте № 3.

Табл. 5. Физико-механические свойства образцов БНЦ, полученных в эксперименте № 3

| Кратность отъёма БНЦ | Продолжительность культивирования, сутки | Условный предел текучести, $\sigma_{sx}$ , МПа | Прочность при разрыве, $\sigma_r$ , МПа | Относительное удлинение при пределе текучести, $\epsilon_{sx}$ , МПа % | Модуль Юнга, Е, МПа |
|----------------------|--|--|---|--|---------------------|
| I                    | 4  | 6,26   | 130                                     | 0,30   | 2087                |
| II                   | 7  | 8,72   | 76                                      | 0,23   | 3791                |
| III                  | 10                                       | –  | –                                       | –  | –                   |
| IV                   | 14                                       | 12,80  | 70                                      | 0,28   | 4571                |
| V                    | 19                                       | –  | –                                       | –  | –                   |
| VI                   | 24                                       | 8,70   | 153                                     | 0,12   | <b>7250</b>         |
| VII                  | 32                                       | 10,02  | <b>265</b>                              | 0,20   | 5010                |
| VIII                 | 38                                       | –  | –                                       | –  | –                   |
| IX                   | 44                                       | 11,67  | 75                                      | 0,44   | 2652                |
| X                    | 51                                       | –  | –                                       | –  | –                   |
| XI                   | 62                                       | 27,26  | 91                                      | 0,60   | 4543                |

Примечание: «–» означают, что показатели данных образцов не определялись

Максимальной прочностью при разрыве (265 МПа) обладал образец БНЦ, полученный при VII отъёме, на 32-сутки культивирования.

Наибольшим значением модуля Юнга характеризовался образец БНЦ, полученный на 24-е сутки культивирования (VI отъём БНЦ) – 7250 МПа.

В табл. 6 приведены данные о толщине и степени полимеризации плёнок БНЦ, полученных в эксперименте № 3.

Табл. 6. Толщина и степень полимеризации БНЦ, полученной в эксперименте № 3

| Кратность отъёма БНЦ | Продолжительность культивирования, сутки | Толщина, мм  | СП   |
|----------------------|--|--------------|------|
| I                    | 4  | <b>0,013</b> | 2350 |
| II                   | 7  | <b>0,013</b> | 3500 |
| III                  | 10                                       | –            | 5150 |
| IV                   | 14                                       | 0,008        | 5550 |
| V                    | 19                                       | –            | 5550 |
| VI                   | 24                                       | 0,010        | 5550 |
| VII                  | 32                                       | 0,005        | 4500 |
| VIII                 | 38                                       | –            | 3000 |
| IX                   | 44                                       | 0,005        | 2850 |
| X                    | 51                                       | –            | 2300 |
| XI                   | 62                                       | 0,003        | 2200 |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что образцы БНЦ имеют наибольшую толщину 0,013 мм на 4-е и 7-е сутки культивирования (I и II отъём БНЦ). Максимальные значения степени полимеризации для образцов третьей экспериментальной серии наблюдались на 10-е, 14-е, 19-е и 24-е сутки культивирования (III-VI отъём БНЦ) от 5150 до 5550.

Суммируя полученные данные, можно сказать, что при увеличении объема культуральной среды прочность плёнок при разрыве возрастает: при объеме среды 0,2 л максимальное значение прочности составило 84 МПа, при объеме 8 л (эмалированная ёмкость) – 177 МПа, при объеме 8 л (стеклянная ёмкость) – 265 МПа. Аналогичным образом изменяется и модуль Юнга: 1403 МПа, 5433 МПа и 7250 МПа соответственно. Таким образом, прочность плёнок и модуль Юнга зависят не только от объема культуральной среды, но и от материала, из которого изготовлены ёмкости для культивирования.

Сравнивая физико-механические свойства образцов, полученных в одинаковых условиях проточным и периодическим способами [11], можно отметить, что при использовании проточного способа культивирования прочность на разрыв повышается в 2,5 раза в малом объеме (33,16 МПа против 84,00 МПа), модуль Юнга возрастает в 1,5 раза (933,3 МПа против 1403 МПа).

Наибольшее значение СП для образцов, полученных в пластиковых ёмкостях объемом 0,2 л, составило 3750, для эмалированной и стеклянной ёмкостей с объемом культуральной среды 8 л эти значения были равны и составили 5550, что существенно (в 1,5-2 раза) больше показателей, полученных при периодическом культивировании [12]. При этом толщина плёнок БНЦ не демонстрирует какой-либо зависимости от объема культурального сосуда: для 0,2 л и 8 л (эмалированная ёмкость) максимальная толщина пленки составила 0,020 мм, для 8 л (стеклянная ёмкость) – 0,013 мм. Таким образом, при масштабировании процесса биосинтеза в 40 раз (с 0,2 л до 8 л) СП увеличивается в 1,5 раза независимо от материала изготовления ёмкости.

Полученные образцы гель-плёнок БНЦ были направлены на кафедру факультетской хирургии им. Проф. И.И. Неймарка и госпитальной хирургии ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России (г. Барнаул) и в краевую больницу для исследования возможности применения БНЦ в абдоминальной хирургии (герниология, герметизация кишечного шва, хирургический гемостаз). Использование тонких прозрачных плёнок БНЦ позволило наблюдать процессы заживления и восстановления тканей [13,14].

В результате проведенных исследований было установлено, что модуль Юнга и степень полимеризации образцов БНЦ зависят от объема культурального сосуда.

Методом термомеханического анализа было показано, что модуль Юнга при масштабировании по объёму повышается: для образцов БНЦ, полученных в малой емкости в эксперименте № 1 (объём среды 0,2 л) он в 3,9 раза меньше, чем для образцов, полученных в эксперименте № 2 (объём среды 8 л) и в 5,2 раза меньше, чем для образцов, полученных в эксперименте № 3. При этом толщина образцов не демонстрирует какой-либо зависимости от объема культурального сосуда и материала его изготовления.

При масштабировании по объёму повышается степень полимеризации образцов БНЦ. В экспериментах № 2 и № 3 максимальная степень полимеризации в 1,5 раза больше, чем в эксперименте № 1 (5550 против 3750).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-19-01054).

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Liu, K. Enhanced mechanical properties of bacterial cellulose nanocomposites produced by co-culturing *Gluconacetobacter hansenii* and *Escherichia coli* under static conditions / K. Liu, M.C. Jeffrey // *Carbohydrate Polymers*. – 2019. – Vol. 219. – P. 12-20
2. Громовых, Т.И. Перспективы направленного использования бактериальной целлюлозы в медицине / Т.И. Громовых, С.В. Луценко, Т.Н. Данильчук, Н.Б. Фельдман, Фан Ми Хань // *Интер-Медикал*. – 2015. – № 7 (13). – С. 4-9.
3. Azeredo H.M.C. Bacterial Cellulose as a Raw Material for Food and Food Packaging Applications / H.M.C. Azeredo, H. Barud, C.S. Farinas, V.M. Vasconcellos, A.M. Claro // *Front. Sustain. Food Syst.* – 2019. – 3:7.
4. Esa F. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application / F. Esa, S. M. Tasirin, N. A. Rahman // *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. – 2014. – Vol. 2. – P. 113-119.
5. Yurkevich D.I., Kutysenko V.P. *Medusomyces* (Tea fungus): A scientific history, composition, features of physiology and metabolism. *Biophysics*. 2002, Vol. 47, no. 6, pp. 1035–1048.
6. Будаева В.В., Скиба Е.А., Гладышева Е.К., Шавыркина Н.А., Павлов И.Н., Миронова Г.Ф., Кашеева Е.И., Гисматулина Ю.А., Корчагина А.А., Ситникова А.Е., Голубев Д.С., Шилов А.И., Кузнецов П.С., Сакович Г.В. Инжиниринг стадии биосинтеза бактериальной наноцеллюлозы с помощью *Medusomyces gisevii* SA-12 / *Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы Международного форума, 28-30 октября 2020, Москва*. – М.: ООО «Экспо-Биохим-Технологии». – С. 272-273. DOI 10.37747/2312-640X-2020-18.
7. Gladysheva, E.K. Study of the conditions for the biosynthesis of bacterial cellulose by the producer *Medusomyces gisevii* Sa-12 / E.K. Gladysheva, E.A. Skiba, V.N. Zolotukhin, G.V. Sakovich // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2018. – Т. 54. – № 2. – P. 179-187.
8. ГОСТ 14236-81 (СТ СЭВ 1490-79). Пленки полимерные. Метод испытания на растяжение. Введ. 01.07.81. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 8 с.
9. Hallac B.B. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol / B.B. Hallac, A.J. Ragauskas // *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. – 2011. – Vol. 5. – № 2. – P. 215-225.
10. Голубев Д.С., Гисматулина Ю.А., Гладышева Е.К., Ситникова А.Е., Шавыркина Н.А., Будаева В.В. Степень

полимеризации целлюлозы различного происхождения / Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы VIII Всероссийской конференции с международным участием (5-9 октября 2020 года, г. Барнаул). – Алт. гос. техн. ун-т. – Барнаул: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2020. – С. 306-308.

11. Бычин, Н. В. Термогравиметрические и механические характеристики бактериальной наноцеллюлозы в зависимости от способа получения питательных сред – ферментативных гидролизатов из плодовых оболочек овса / Н. В. Бычин, Д. С. Голубев, Е. А. Скиба // Ползуновский вестник. – 2018. – № 3. – С. 109-115.

12. Гладышева, Е. К. Исследование физико-химических свойств бактериальной целлюлозы, продуцируемой культурой *Medusomyces gisevii* / Е. К. Гладышева // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 5-1. – С. 53-57

13. Zharikov A.N., Lubyansky V.G., Gladysheva E.K., Skiba E.A., Budaeva V.V., Semenova E.N., Motin Yu.G., Zharikov A.A. Prosthetic hernioplasty using bacterial nanocellulose: An experimental study // *Clinical and Experimental Surgery*. – 2018. – P. 59-66.

14. Zharikov A.N., Lubyansky V.G., Gladysheva E.K., Skiba E.A., Budaeva V.V., Semyonova E.N., Zharikov A.A., Sakovich G.V. Early morphological changes in tissues when replacing abdominal wall defects by bacterial nanocellulose in experimental trials // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2018. – P. 95.

*Ситникова Анастасия Евгеньевна – инженер-исследователь, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий*

*Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН); магистрант 2 курса, Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВПО АлтГТУ, тел. +7929-399-0397, e-mail: sitnikova97.97@mail.ru*

*Шавыркина Надежда Александровна – к.т.н., доцент, старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), Бийский технологический институт (филиал) ФГБОУ ВПО АлтГТУ, тел. +7905-927-2709, e-mail: 32nadina@mail.ru*

*Будаева Вера Владимировна, к.х.н., доцент, ведущий научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), e-mail: budaeva@ipcet.ru*

*Корчагина Анна Александровна, к.т.н., научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), e-mail: yakusheva89\_21.ru@mail.ru*

*Бычин Николай Валерьевич, старший научный сотрудник, ведущий инженер, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), тел. (3854) 30-59-85, e-mail: eas08988@mail.ru*

# PHYSICAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF BACTERIAL NANOCELLULOSE OBTAINED BY PROLONGED CULTIVATION

A.E. Sitnikova<sup>1,2</sup>, N.A. Shavyrkina<sup>1,2</sup>, V.V. Budaeva<sup>1</sup>, A.A. Korchagina<sup>1</sup>, N.V. Bychin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (IPCET SB RAS), Biysk

<sup>2</sup> Biysk Technological Institute, Polzunov Altai State Technical University, Biysk

Bacterial nanocellulose (BNC) has unique physical and mechanical properties, as a result of which it has a huge applied potential. The aim of this work was to study the physical and mechanical properties of BNC samples synthesized by the producer of *Medusomyces gisevii* Sa-12 on a semi-synthetic nutrient medium by the method of prolonged cultivation. BNTs samples were air dried.

The article presents data on the study of the properties of BNC obtained in containers of various volumes and made of different materials: in a small-volume container of 0.25 L (experiment No. 1, plastic container, filling 0.20 L), in a container with a volume of 45 L (experiment No. 2, enameled vessel, filling 8 L) and in a container with a volume of 17.3 L (experiment No. 3, glass container, filling 8 L). This method involves multiple weaning of BNC gel films from the same nutrient medium without additional addition of inoculum and nutrients: five times in experiment No. 1, seven times in experiment No. 2, eleven times in experiment No. 3.

It was found that the greatest thickness of BNC samples is observed on the 6<sup>th</sup> day of cultivation in experiment No. 1 – 0.020 mm; on the 10<sup>th</sup> day in experiment No. 2 – 0.020 mm; on the 4<sup>th</sup> and 7<sup>th</sup> days of cultivation in experiment No. 3 – 0.013 mm.

The maximum tensile strength for samples of experimental series No. 1 was 84 MPa (II weaning BNTs, 6<sup>th</sup> day of cultivation), for series No. 2 – 177 MPa (III weaning of BNC, 10<sup>th</sup> day of cultivation), in experiment No. 3 – 265 MPa (VII weaning BNC, 32-day cultivation).

The highest values of the degree of polymerization were recorded in experiments No. 2 and No. 3 (5550), which is 1.5 times more than in experiment No. 1 (3750).

Young's modulus of BNC specimens in experiment No. 1 (1403 MPa) is 3.9 times less than Young's modulus of specimens obtained in experiment No. 2 (5433 MPa) and 5.2 times less than Young's modulus of specimens obtained in experiment No. 3 (7250 MPa).

The lack of literature data on prolonged cultivation of BNC does not allow us to compare the results obtained, but justifies the undoubted priority of the studies performed.

*Key words: bacterial nanocellulose, Young's modulus, thickness, tensile strength, degree of polymerization.*

## REFERENCES

- Liu, K. Enhanced mechanical properties of bacterial cellulose nanocomposites produced by co-culturing *Gluconacetobacter hansenii* and *Escherichia coli* under static conditions / K. Liu, M.C. Jeffrey // *Carbohydrate Polymers*. – 2019. – Vol. 219. – P. 12-20
- Gromovykh, T.I. Prospects for the directed use of bacterial cellulose in medicine / T.I. Gromovykh, S.V. Lutsenko, T.N. Danilchuk, N.B. Feldman, Fan Mi Han // *Inter-Medical*. – 2015. – No. 7 (13). – P. 4-9.
- Azeredo H.M.C. Bacterial Cellulose as a Raw Material for Food and Food Packaging Applications / H.M.C. Azeredo, H. Barud, C.S. Farinas, V.M. Vasconcelos, A.M. Claro // *Front. Sustain. Food Syst.* – 2019. – P. 3-7.
- Esa F. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application / F. Esa, S. M. Tasirin, N. A. Rahman // *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. – 2014. – Vol. 2. – P. 113-119.
- Yurkevich D.I., Kutysenko V.P. *Medusomyces* (Tea fungus): A scientific history, composition, features of physiology and metabolism. *Biophysic*. 2002, Vol. 47, no. 6, pp. 1035–1048.
- Budaeva V.V., Skiba E.A., Gladysheva E.K., Shavyrkina N.A., Pavlov I.N., Mironova G.F., Kashcheyeva E.I., Gismatulina Yu.A., Korchagina A.A., Sitnikova A.E., Golubev D.S., Shilov A.I., Kuznetsov P.S., Sakovich G.V. Engineering of biosynthesis stage of bacterial nanocellulose using *Medusomyces gisevii* SA-12 / *Biotechnology: state of the art and perspectives: the proceedings of International congress, 28-30 October, 2020, Moscow. – Moscow: LTD «Expo-Biohim-Tehnologies»*. – P. 272-273. DOI 10.37747/2312-640X-2020-18.
- Gladysheva, E.K. Study of the conditions for the biosynthesis of bacterial cellulose by the producer *Medusomyces gisevii* Sa-12 / E.K. Gladysheva, E.A. Skiba, V.N. Zolotukhin, G.V. Sakovich // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2018. – T. 54. – № 2. – P. 179-187.
- GOST 14236-81 (ST SEV 1490-79). Polymer films. Tensile test method. Enter. 07/01/81. – M.: Publishing house of standards, 1989. – 8 p.
- Hallac B.B. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol / B.B. Hallac, A.J. Ragauskas // *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. – 2011. – Vol. 5. – № 2. – P. 215-225.
- Golubev D.S., Gismatulina Yu.A., Gladysheva E.K., Sitnikova A.E., Shavyrkina N.A., Budaeva V.V. The degree of polymerization of cellulose of various origins / *New achievements in the chemistry and chemical technology of plant raw materials: materials of the VIII All-Russian conference with international participation (October 5-9, 2020, Barnaul)*. – Alt. state tech. un-t. – Barnaul: Alt. state tech. University, 2020. – P. 306-308.
- Bychin N. V. Thermogravimetric and mechanical properties of bacterial nanocellulose depending on the method of producing a nutrient - enzymatic hydrolysates from fruit shells of oats / N. V. Bychin, D. S. Golubev, E. A. Skiba // *polzunovsky Herald*. – 2018. – No. 3. – P. 109-115. 11.
- Gladyshev, E. K. study of the physico-chemical properties of bacterial cellulose produced by culture *Medusomyces gisevii* / E. K. Gladysheva // *Fundamental research*. - 2015. - № 5-1. - pp. 53-57
- Zharikov A.N., Lubyansky V.G., Gladysheva E.K., Skiba E.A., Budaeva V.V., Semenova E.N., Motin Yu.G., Zharikov A.A. Prosthetic hernioplasty using bacterial nanocellulose: An experimental study // *Clinical and Experimental Surgery*. – 2018. – P. 59-66.

14. Zharikov A.N., Lubyansky V.G., Gladysheva E.K., Skiba E.A., Budaeva V.V., Semyonova E.N., Zharikov A.A., Sakovich G.V. Early morphological changes in tissues when replacing abdominal wall defects by bacterial nanocellulose in experimental trials // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2018. – P. 95.

*Sitnikova Anastasia Evgenievna - Research Engineer, Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 2nd year undergraduate student, Biysk Technological Institute, tel. + 7929-399-0397, e-mail: sitnikova97.97@mail.ru*

*Shavyrkina Nadezhda Aleksandrovna - Candidate of Technical Sciences, Associate Professor, Senior Researcher, Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Biysk Technological Institute, tel. + 7905-927-2709, e-mail: 32nadina@mail.ru*

*Vera Budaeva Vladimirovna, PhD (Chemical sciences), Assistant Professor, Leading Research Officer, Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: budaeva@ipcet.ru*

*Korchagina Anna Aleksandrovna, PhD., Researcher, Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: yakusheva89\_21.ru@mail.ru*

*Bychin Nikolay Valerievich, senior researcher, leading engineer, Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, tel. (3854) 30-59-85, e-mail: eas08988@mail.ru*