

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-106

КОМПОЗИТНЫЕ ГИДРОГЕЛЕВЫЕ МАТРИЦЫ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

COMPOSITE HYDROGEL MATRICES FOR IMMOBILIZATION OF MICROORGANISMS

Д. А. Тарасова, И. А. Черенков

Удмуртский государственный университет, Ижевск

D. A. Tarasova, I. A. Cherenkov

Udmurt State University, Izhevsk

✉ dashatarasova20@mail.ru

Аннотация

Одним из классических методов биотехнологии является иммобилизация клеток в гидрогели, которые имитируют естественные условия для микроорганизмов. Цель работы — разработка технологии получения многокомпонентных гидрогелевых носителей на основе биосовместимых полимеров (ПВС и лигнина) для иммобилизации микроорганизмов, утилизирующих органические отходы.

Abstract

One of the classic methods of biotechnology is the immobilization of cells into hydrogels that mimic the natural conditions for microorganisms. The aim of the work is to develop a technology for the production of multicomponent hydrogel carriers based on biocompatible polymers (PVA and lignin) for the immobilization of microorganisms that recycle organic waste.

Одним из классических биотехнологических методов, который предполагает включение живых клеток в изолированную фазу, отделенную от фазы свободного раствора, но способную обмениваться с ним питательными веществами и продуктами обмена, является иммобилизация клеток [1, 2]. Включение клеток в гидрогели является наиболее безопасным методом их иммобилизации, поскольку гелевая среда в определенной мере имитирует матрикс биопленок, что приближает состояние микробных клеток к естественным условиям [3]. Использование таких биосовместимых гидрогелевых конструкторов для иммобилизации микроорганизмов с целью очистки сточных вод от органических отходов — перспективное направление экологических биотехнологий.

Основной идеей работы является улучшение качества гидрогелевых носителей на основе поливинилового спирта путем добавления в их состав природных наполнителей, призванных регулировать деградационные, биосовместимые, адсорбционные и гидратационные свойства.

Цель работы — разработка технологии получения многокомпонентных гидрогелевых носителей на основе биосовместимых полимеров (поливиниловый спирт, лигнин) для дальнейшей иммобилизации микроорганизмов, утилизирующих органические и неорганические отходы, а также исследование физических, гидратационных и сорбционных свойств полученных конструкторов, в том числе с иммобилизованными клетками.

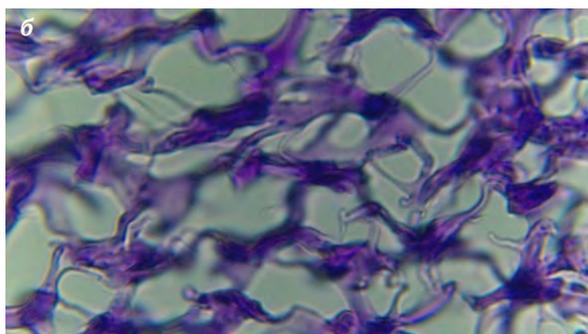
Гидрогелевые носители получали путем сшивания синтетической полимерной матрицы из ПВС в сочетании с альгинатом натрия (АН). Сшивание проводилось в водном растворе CaCl_2 и H_3BO_3 ($\text{C}(\text{CaCl}_2) = 0,5 \%$, $\text{C}(\text{CaCl}_2) = 1,0 \%$) в течение суток. Вторичная сшивка проводилась в 0,9 М растворе Na_2SO_4 в течение 48 ч. В работе было исследовано несколько многокомпонентных систем на основе ПВС и АН, представленных в таблице, с добавлением желатина, активированного угля и лигнина.

Для выбора оптимальной концентрации Na_2SO_4 была проведена серия экспериментов с использованием 0,9; 0,5 и 0,2 М растворов Na_2SO_4 , в результате которых оптимальной концентрацией Na_2SO_4 для проведения опытов является 0,9 М, поскольку конструкторы дольше сохраняли свою форму, не слипались и не растворялись.

Была изучена внутренняя структура полученных образцов ПВС/АН. Для этого были получены срезы гидрогелей на криостате (см. рисунок): гидрогель, полученный стандартным методом, обладает пористой равномерной структурой и имеет большую площадь внутренней поверхности.

Многокомпонентные гидрогелевые носители

Гидрогелевый носитель, обозначение	Дополнительный компонент, %
ПВС/АН	-
ПВС/желатин/АН	0,25
ПВС/акт. уголь/АН	0,5
ПВС/лигнин/АН	1,0
ПВС/лигнин/АН	0,5
ПВС/лигнин/АН	0,25



Гидрогели ПВС/АН: *a* — после шивания в течение первого дня в $\text{CaCl}_2 + \text{H}_3\text{BO}_3$; *б* — срез гидрогеля, полученный стандартным методом, окрашивание крезильным фиолетовым. Увеличение объектива $\times 40$

Добавление желатина приводит к образованию более плотного гидрогеля с желтоватым оттенком, который со временем превращается в желеобразную массу и становится бесцветным. Аналогичные результаты наблюдаются при использовании активированного угля, когда полимерные конструкции, включающие лигнин, представляют собой трехмерные структуры с поперечными связями. Эти структуры сохраняют свою форму дольше, чем предыдущие варианты, и характеризуются плотной структурой.

Были изучены гидратационные свойства: в первые часы наблюдался быстрый рост массы, что указывает на быструю абсорбцию молекул растворителя гидрогелем. Потеря массы происходила в течение первых суток.

Сорбционные свойства ПВС/АН и ПВС/лигнин/АН были изучены в стандартном растворе метиленового голубого. Результат исследования дает основание предполагать наибольшую адекватность представления сорбционных характеристик гидрогелевых шариков с лигнином с использованием математической модели Фрейндлиха, согласно которой адсорбция происходит на гетерогенном слое сорбента с неопределенным количеством активных центров связывания.

Таким образом, экспериментально обоснована возможность получения гидрогелевых носителей. Такие материалы обладают потенциалом для создания структур разной формы с целью иммобилизации биологических материалов и разработки искусственного внеклеточного матрикса, имитирующего биопленки. Благодаря используемым наполнителям можно контролировать скорость разложения и гидродинамическую стабильность конструкций, что делает их подходящими для применения в системах водоочистки.

Литература

1. Woodward J. Methods of immobilization of microbial cells // J. Microbiol. Methods. 1988. Vol. 8, № 1-2. P. 91-102.
2. Толмачева И. А. Биотехнология: учеб. пособие / Перм. гос. ун-т. Пермь, 2022. 177 с.
3. Lieleg O., Ribbeck K. Biological Hydrogels as Selective Diffusion Barriers // Trends Cell Biol. 2011. Vol. 21. P. 543-551.