

СИНТЕЗ БИОРАЗРУШАЕМОГО СОПОЛИМЕРА 3- И 4- ГИДРОКСИМАСЛЯННОЙ КИСЛОТЫ (поли(3-ГБ-со-4-ГБ))

Осипова И. В.

Научные руководители – профессор Волова Т.Г., Жила Н.О.

Институт биофизики СО РАН

Интенсивно изучаемые биоразрушаемые полимеры сегодня- это алифатические полиэфиры, синтезированные микроорганизмами, так называемые полигидроксиалканоаты (ПГА). Полигидроксиалканоаты (ПГА) – это класс природных макромолекул, которые синтезируют прокариотические организмы в специфических условиях несбалансированного роста в качестве эндогенного депо энергии и углерода. Полигидроксиалканоаты по ряду физико-химических свойств сходны с широко применяемыми и выпускаемыми в огромных количествах и не разрушаемыми в природной среде синтетическими полимерами (полипропиленом и полиэтиленом). Помимо термопластичности, ПГА обладают оптической активностью, антиоксидантными свойствами, пьезоэлектрическим эффектом и, что самое главное, они характеризуются биоразрушаемостью и биосовместимостью. Совокупность свойств ПГА, делает их перспективными для применения в различных сферах, – медицине, фармакологии, пищевой и косметической промышленности, сельском и коммунальном хозяйстве, радиоэлектронике и других. Одним из перспективных, но трудно синтезируемым и мало изученным ПГА является сополимер 3-гидроксибутирата-со-4-гидроксибутирата (3ГБ-со-4ГБ). Для этого типа ПГА характерны высокие скорости биодеградации *in vivo* и в окружающей среде, он является эластомером, имеет более высокие показатели удлинения при разрыве и относительно высокий предел прочности на разрыв в отличие от большинства общеизвестных полимеров этого класса.

Целью настоящей работы было изучение способности бактерий штамма *R. eutropha* B5786 синтезировать в гетеротрофных условиях сополимеры 3- и 4-гидроксимасляной кислоты и выявление связи между условиями биосинтеза и структурой сополимера для направленного получения образцов заданного состава.

Исследовано влияние 1,4- бутандиола и γ -бутиролактона на биомассу, продукцию и состав ПГА у штамма *R. eutropha* B5786. Бутиролактон и 1,4- бутандиол являются дополнительными углеродными субстратами и индукторами для образования мономеров 4- гидроксимасляной кислоты.

Бактерии выращивали при однократной подачи масляной кислоты в количестве 1г/л, варьировании концентрации 1,4- бутандиола в среде (2-20 г/л) и γ -бутиролактона (2-10 г/л).

Установлено, что 1,4- бутандиол не ингибировал рост бактерий, при концентрации 1,4- бутандиола 20 г/л, урожай биомассы был максимальным и составил 1,6 г/л (Рис.1.)

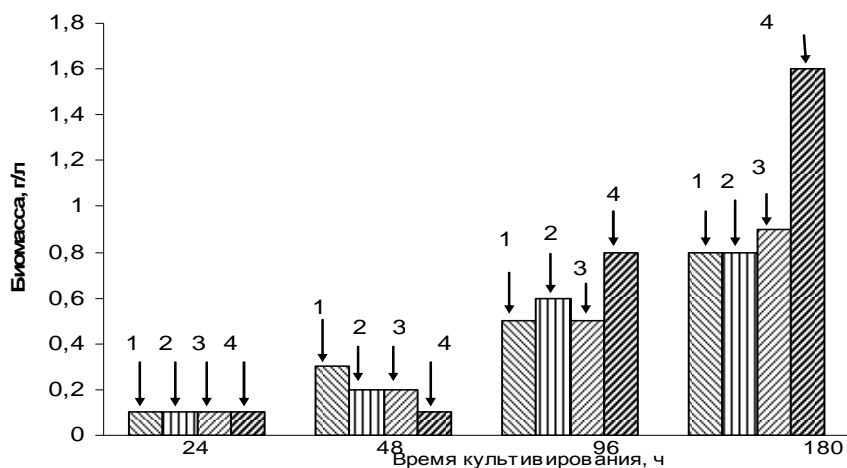


Рис. 1. Динамика накопления биомассы *R. eutropha* B5786. Стрелками обозначены: 1 – 2 г/л 1,4- бутандиола, 2 – 5 г/л 1,4- бутандиола, 3 – 10 г/л 1,4- бутандиола, 4 – 20 г/л 1,4- бутандиола.

Установлено, что 1,4- бутандиол ингибировал синтез ПГА (Таблица 1). При концентрации 1,4- бутандиола в среде 20 г/л, отмечено минимальное содержание ПГА – 12,4%. В качестве доминирующего мономера идентифицирована 3 –гидроксипутират (ЗГБ) (его доля в полимере составляет свыше 98 мол%) и в качестве минорного включения – 3-гидроксивалерат (ЗГВ) (0,3-1,1 мол%). Отмечено, что при увеличении концентрации 1,4- бутандиола, возрастала доля фракции гидроксигексаноата (ЗГГ), однако, не удалось добиться включения фракции 4- гидроксипутирата (4ГБ) в сополимер.

Таблица 1.

Соотношение мономеров в полимере у штамма *R. eutropha* B5786: 1 – 2 г/л 1,4- бутандиола, 2 – 5 г/л 1,4- бутандиола, 3 – 10 г/л 1,4- бутандиола, 4 – 20 г/л 1,4- бутандиола.

Концентрация, г/л	ПГА, % сухого в-ва	мол, %		
		ЗОНС ₄	ЗОНС ₅	ЗОНС ₆
1	27,9	98,4	0,3	1,3
2	22,8	97,2	1,2	1,6
3	20,2	86,4	0,8	12,8
4	12,4	84,5	1,1	14,4

Исследовано влияние γ - бутиролактона на биомассу, продукцию и состав полимера. При, увеличении концентрации бутиролактона, биомасса клеток уменьшалась. Урожай биомассы был минимальным (4,5 г/л), при максимальной концентрации бутиролактона (10 г/л) (Рис.2.).

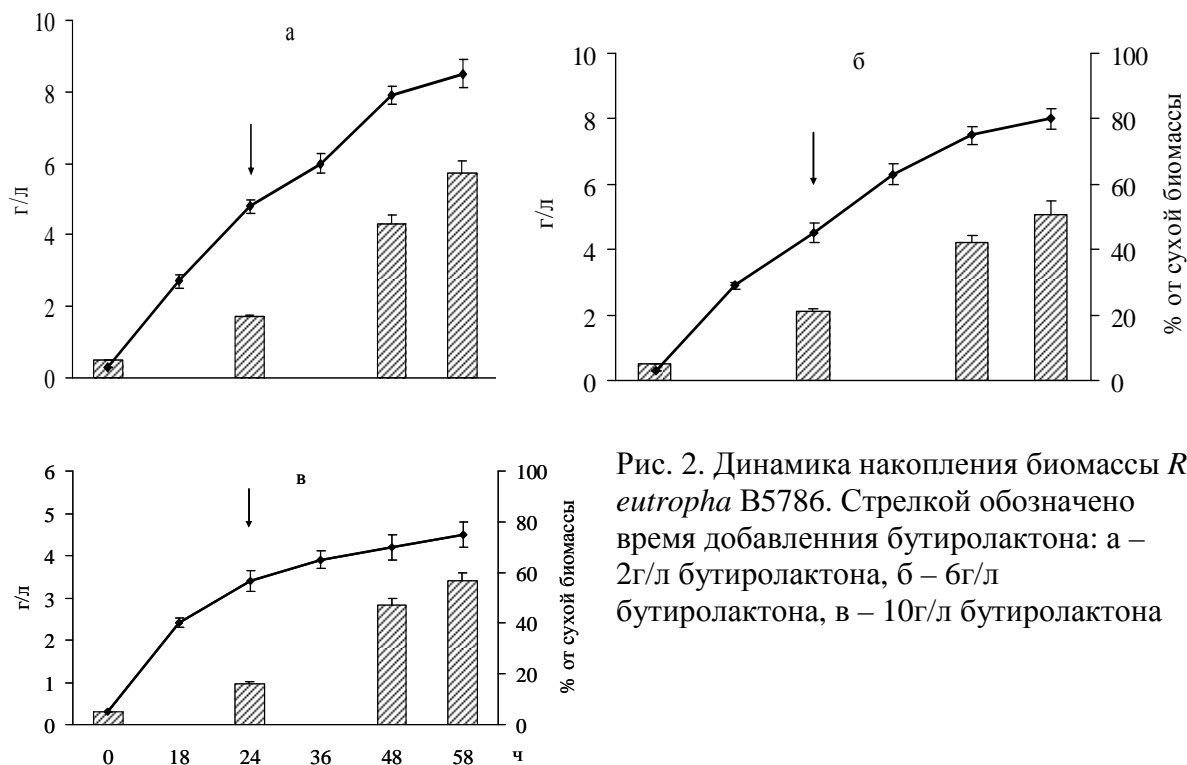


Рис. 2. Динамика накопления биомассы *R. eutropha* B5786. Стрелкой обозначено время добавления бутиролактона: а – 2г/л бутиролактона, б – 6г/л бутиролактона, в – 10г/л бутиролактона

Таблица 2

Соотношение мономеров в полимере у штамма *R. eutropha* B5786 при использовании в качестве ко – субстрата бутиролактона

Концентрация бутиролактона, г/л	Состав полимера, мол.%		
	3ОНС ₄	3ОНС ₅	4ОНС ₄
2.0	98.6	0.5	0.9
6.0	97.9	0.7	1,4
10.0	98.0	0.4	1,6

Синтезированный ПГА на среде с γ -бутиролактоном в концентрации 2-10 г/л содержит сополимер 3- и 4-гидроксимасляной кислоты (поли(3-ГБ-со-4-ГБ)). В качестве доминирующего мономера идентифицирована 3 -гидроксимасляная кислота (ее доля в полимере составляет свыше 97 мол%) и в качестве минорного включения – 4-гидроксibuтират (0,9-1,6 мол%), фракция 4-гидроксibuтирата составила от 0,9 мол% до 1,6 мол% (Таблица 2).

Установлено, что оба типа углеродного субстрата ингибировали рост бактерий и синтез ПГА. При использовании в качестве ко- субстрата γ - бутиролактона в концентрациях 2-6-10 г/л удалось синтезировать сополимер 3-гидроксимасляной и 4-гидроксимасляной (3С4/4С4) кислот.