

Příprava a modifikace nanovláken pro preferenční růst bakterií

Karel Havlíček <karel.havlicek@tul.cz>, Lucie Svobodová <lucie.svobodova@tul.cz>, Karel Havlíček

Tato práce se v první části zabývá porovnáním základních metod příprav nanovláken na dvou typech polymerů. Připravené materiály byly analyzovány moderními metodami a výsledky byly použity pro výběr nejvhodnějšího způsobu přípravy a následné modifikace nanovláken (z daného polymeru) pro cílovou aplikaci. Druhá část práce řeší různé možnosti modifikací nanovláken pro zajištění jejich specifických vlastností, které by byly vhodné pro preferenční růst bakterií. Předběžné testy a jejich analýzy ukazují velký potenciál modifikovaných nanovláken v této oblasti a v rámci spolupráce s dalšími instituty je snaha o konkrétní aplikace těchto materiálů.

Klíčová slova: nanovlákná, elektrospinning, modifikace, preferenční růst bakterií.

Úvod

Cílem práce je příprava a analýza nanovláknenných materiálů pomocí metod AC a DC elektrospinningu. Na základě porovnání výsledků byl vybrán vhodný polymer a metoda přípravy nanovláken pro jejich následnou modifikaci. Připravené nanovláknenné struktury z polyvinylbutyralu (technologíí Nanospider™) byly modifikovány chemickými a fyzikálními postupy, a to s cílem vytvořit takové povrchové vlastnosti (drsnost, smáčivost, složení aj.), které podporují růst a funkčnost specifických bakterií v daném prostředí. Podpora růstu určitých bakteriálních kmenů je nezbytná v různých oblastech biotechnologického i biomedicínského výzkumu. Nanovláknenné struktury mohou být primárně využity i pro podporu eliminace dusíku a fosforu v odtocích z čistíren odpadních vod (ČOV). ČOV obsahují široké spektrum mikroorganismů, ale jen některé z nich jsou schopny eliminovat polutanty a zabránit tak eutrofizaci vod (přerůstání řas a sinic) a dalším problémům. Cílem je nejen podpořit růst těchto bakterií, ale i zvýšit jejich odolnost (imobilizaci k povrchu) a tedy i jejich metabolickou účinnost.

Pochopením procesu (fyzikálních principů) zvláknování je možné dojít k různým možnostem příprav nanomateriálů (povrchů), které se dají uplatnit v biotechnologickém odvětví. Bakterie mobilizované na povrchu (biofilm) mají řadu výhod oproti bakteriím volně se pohybujícím (ve vzduchu), například vyšší rychlost rozkladu kontaminantů ve vodách pomocí jejich metabolismu a vyšší odolnost vůči toxickým látkám a rychle se měnícímu (nestálému) prostředí [1].

Metodika

Podklady/nosiče na bázi polymerních vláken jsou relativně nové a zatím málo prozkoumané. Vlastnosti nosičů (struktura povrchu, smáčivost, vodivost atd.) mají výrazný vliv na rychlost mikrobiální kolonizace a funkci biofilmu. Pro dané aplikace s cílem podpořit růst jen úzkého spektra bakterií je vhodné použít specifický typ povrchu (složení, drsnost, zeta potenciál, aj.) [2], [3].

Základem této práce byla příprava nanovláken z polyvinylbutyralu (PVB) a polyuretanu (PUR) pomocí pěti zvláknovacích metod – AC elektrospinning, DC elektrospinning z jehly a tyčky, technologie Nanospider™ (DC) a odstředivé elektrostatické zvláknování. Výsledné vzorky nanovláken byly hodnoceny pomocí skenovací elektronové mikroskopie (UHR FE-SEM Carl Zeiss ULTRA Plus) a obrazové analýzy SEM snímků, metody DSC (DSC 3+ instrument, Mettler Toledo), biodegradace (dle normy ISO 14851:1999) a konfokálního mikroskopu (S neox, Sensofar).

Byly připraveny vzorky nanovláken z PVB s inkorporovanými nanočásticemi Fe_3O_4 , Fe_2O_3 , Zn a Nd_2O_3 (od Merck) pro zajištění různých typů povrchů. Tyto aditiva zároveň poskytují bakteriím různé podmínky pro jejich metabolismus (výměna elektronů, vazba polutantů apod.). Například, Fe_3O_4 podporuje vázání amoniakálního dusíku a pokud jsou tyto nanočástice fixovány na jednom místě (v našem případě v polymerní matici PVB) dochází zde k lepším podmínkám pro růst nitrifikačních bakterií [4].

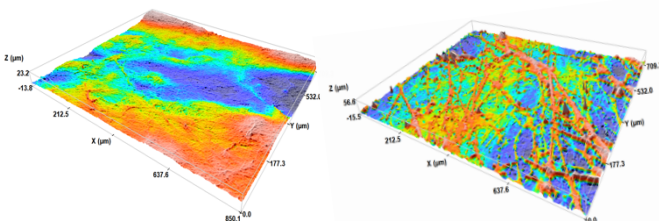
Tabulka 1: Výhody a nevýhody zvláknovacích metod všešle z porovnání výsledků analýz připravených nanovláken

Metoda	Výhody/nevýhody
AC elektrospinning	+ Vyšší produktivita, značná možnost konfigurace zařízení – Bezpečnost práce, vyšší distribuce průměrů vláken
DC elektrospinning z jehly	+ Zákl. testování, jednoduchý set-up, malý \varnothing nanovláken – Nižší produktivita, náchylné na nastavení parametrů
DC elektrospinning z tyčky	+ Zákl. testování, jednoduchý set-up, malý \varnothing nanovláken – Nižší produktivita, dávkování polymer. roztoku
Nanospider™	+ Vysoká produktivita, volba mnoha zvl. parametrů a podmínek (teplota, vlhkost) – Cena
Odst. elektrost. zvl.	+ Příprava speciálních materiálů, rozvoj metody – Velké a neřízené průměry vláken, množství defektů

Dále byly modifikovány nanovlákná PVB za účelem vytvoření vodivých nanostruktur. Bylo přistoupeno k různým druhům modifikací a ve výsledku vzniklo 8 typů vodivých nanovláken a 1 membrána. Vodivé struktury byly připravené buď přímo ze zvláknovací směsi (kombinace PVB, PEO Fe₃O₄ a PANI) pomocí technologie Nanospider™ nebo post procesem, kdy na nanovláknennou PVB vrstvu byly polymerovány polymery PPy (polypyrrol) a PANI (polyanilin). Jeden vzorek byl také připraven nanosením nanovrstvy hliníku (atmosférické plazmochemické nanášení tenkých vrstev) na předem připravená PVB nanovlákná. Veškeré vzorky byly charakterizovány pomocí SEM a v následujících týdnech bude započato biologické testování.

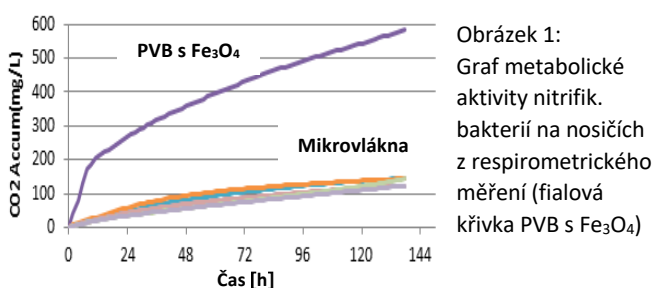
Výsledky a diskuze

Zásadní rozdíly mezi metodami elektrospinningu jsou již shrnuty v tabulce 1. Pro analýzu povrchu přispěly především snímky z konfokálního mikroskopu, kde jsou velmi patrné rozdíly mezi polymery PUR (spíše hladší povrch bez defektů) a PVB (výrazně členitý povrch). Na základě všech výsledků (SEM, obrazová analýza, konfokální mikroskopie, DSC a biodegradace) byl zvolen polymer PVB a metoda Nanospider™ jako nejvhodnější pro přípravu materiálů určených k osídlování mikroorganismy, a to především díky značné drsnosti povrchu, mechanické stabilitě polymeru a dostupnosti modifikací tohoto materiálu.



Obrázek 1: 3D struktura povrchu vzorků PUR a PVB nanovláken připravených technologií Nanospider™

Předběžné biologické testy růstu a funkce nitrifikačních bakterií na nosičích PVB s inkorp. nanočásticemi Fe₃O₄ ukázaly velmi pozitivní výsledky. Metabolická aktivita nitrifikačních bakterií byla mnohonásobně vyšší u těchto nosičů než u nemodifikovaných mikrovláknenných nosičů z PA. Snímky SEM vodivých nanovláken ukazují velkou variabilitu vzorků, které poskytují velmi různorodé prostředí pro růst MO. Mikrobiologické testy budou prováděny v následujících dnech ve výzkumném ústavu v Gironě a podrobnější testování (všech připravených vzorků) se specifickými kmeny bakterií (v laboratorních reaktorech) je již v procesu v naší laboratoři.



Obrázek 1: Graf metabolické aktivity nitrifik. bakterií na nosičích z respirometrického měření (fialová křivka PVB s Fe₃O₄)

Závěr

Nanovlákná, resp. i mikrovlákná v současnosti představují moderní materiály pro tvorbu biofilmu. Navíc, modifikací povrchu vláken lze zajistit a podpořit růst pouze preferenčních bakterií, což zatím ještě nebylo dle dostupné literatury nijak zkoumáno. V současné době provádíme biologická testování modifikovaných vzorků nanovláken a výsledky budou použity pro další zlepšování a konkrétní aplikace v biotechnologiích.

Poděkování

Tato práce byla podpořena z projektu Studentské grantové soutěže (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2019.

Reference

- [1] MAGRÍ, A., et al. (2012). Anammox sludge immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) cryogel carriers. *Bioresour. Technol.* 114, 231–240.
- [2] FELFÖLDI, T., et al. (2015). Texture and type of polymer fiber carrier determine bacterial colonization and biofilm properties in WWT. *Chem. Eng. J.* 264, 824–834.
- [3] LIU, Y., et al. (2017). Effects of different biofilm carriers on biogas production during anaerobic digestion of corn straw. *Bioresour. Technol.* 244, 445–451.
- [4] ZHANG, L., et al. (2018). Ammonium removal by a novel magnetically modified excess sludge. *Clean Tech. and Enviro. Policy.* 20, 2181–2189.