

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
_____ Т. Г. Волова

« _____ » _____ 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

Влияние состава сред и условий глубинного культивирования на рост
культуры уксуснокислых бактерий *Komagataeibacter xylinus* B-12068 и синтез
бактериальной целлюлозы

Руководитель

подпись

к.т.н.

должность, учёная степень

Е.Г. Киселев

ициалы, фамилия

Выпускник

подпись

К.А. Гармашова

ициалы, фамилия

Красноярск 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	3
1 Обзор литературы	5
1.1 Характеристика и свойства БЦ	5
1.2 Синтез БЦ.....	7
1.3 Потенциальные источники углерода для синтеза БЦ	8
1.4 Различия между бактериальной и растительной целлюлозой	10
1.5 Применение БЦ	10
2. Материалы и методы	12
2.1 Объект исследования	12
2.2 Оборудование	12
2.3 Процесс культивирования БЦ.....	13
2.4 Анализ проб	14
2.4.1 Определение сухой биомассы клеток	14
2.4.2 Определение концентрации глюкозы	15
2.4.3 Определение концентрации азота (качественно)	16
2.4.4 Определение продуктивности среды	16
2.5 Методы обработки данных	16
3 Разработка и оптимизация состава среды для синтеза БЦ	17
Выходы	18
Список используемых источников.....	19

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальную целлюлозу считают универсальным материалом будущего. Уже сейчас ее используют в хирургии, кулинарии, промышленности, фармакологии.

Бактериальная целлюлоза достаточно сильно похожа на растительную, но ее отличает то, что она не участвует в строении клеточной стенки, а также нет присутствия лигнина и других примесей, она химически более чистая, нежели растительная целлюлоза. БЦ могут синтезировать представители родов:

- *Agrobacterium;*
- *Komagataebacter;*
- *Acetobacter, Achromobacter;*
- *Aerobacter;*
- *Sarcina;*
- *Achromobacter;*
- *Pseudomonas;*
- *Salmonella;*
- *Enterobacter;*
- *Rhizobium;*
- *Alcaligenes;*
- *Mycodema.*

Большое распространение на планете Земля среди органических веществ получила растительная целлюлоза (РЦ). В большом количестве РЦ находится в тканях древесины (40-50%), в волокнах льна (60-80%) и хлопка (92-98%). Является одной из главных частей оболочки растительных клеток. Из неё производят хлопок, ткани, целлофан и другие пластичные материалы, например, бумагу. БЦ обладает такими свойствами, которые не наблюдаются в РЦ. Огромное количество растений погибает, ради производства РЦ. Растущий спрос на РЦ привел к увеличению потребления древесины в качестве сырья,

вызывая обезлесение и глобальную экологическую проблему. Поэтому определить оптимальные условия синтеза БЦ важно для экологии нашей планеты [4].

У БЦ есть большой потенциал в будущем в различных областях, таких как биомедицина, электронная и пищевая промышленность.

Целью данной работы была разработка и оптимизация состава среды для синтеза бактериальной целлюлозы штаммом *Komagataebacter xylinus* B-12068.

Исходя из цели, были поставлены следующие задачи:

- Исследовать процесс синтеза БЦ при замене пептона на хлористый аммоний в качестве альтернативного азотного питания;
- Изучить процесс синтеза БЦ при замене дрожжевого экстракта витаминами В2, В3, В12;
- Оценить продуктивность и экономическую эффективность процесса синтеза БЦ на разработанных составах среды. Дать рекомендации наиболее оптимального состава среды.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Характеристика и свойства БЦ

Первые упоминания о БЦ были в 1886 году в статье А. Брауна, который увидел студенистую пленку, покрывающую всю поверхность глюкозосодержащей среды. После Дж. Барша и Х. Хибберт доказали, что по химической структуре она соответствует растительной целлюлозе [1,2].

Структура БЦ существует как основная структура фибрилл, которая состоит из β -1 → 4 глюкановой цепи с молекулярной формулой $(C_6H_{10}O_5)_n$. Бактериальная целлюлоза имеет такую же химическую структуру, что и целлюлоза, полученная из растений (рис. 1.) [7].

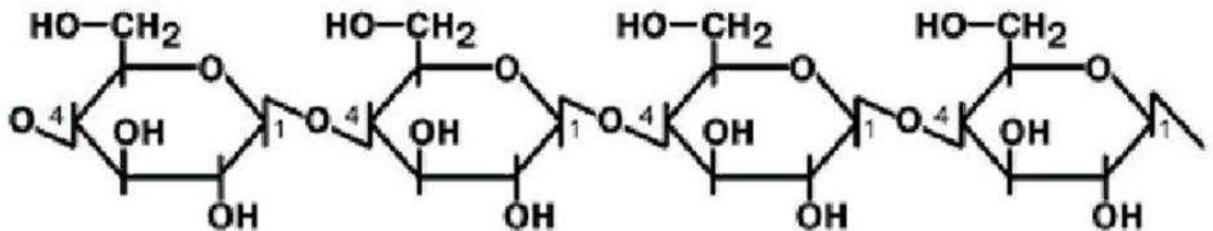


Рисунок 1 - Химическая структура бактериальной целлюлозы.

БЦ состоит из маленьких волокон, которые синтезируются бактериями. Одиночные волокна бактериальной целлюлозы имеют диаметр 50 нм. Длину волокон определить невозможно, так как пучки и волокна переплетены между собой и образуют структуру сетки [18].

Acetobacter - самый ранний штамм, используемый для синтеза БЦ. Потом уже было выявлено, что БЦ может также синтезироваться и другими бактериями, например, такими как Agrobacterium, Pseudomonas, Rhizobium и Escherichia [26].

Среди них *Acetobacter xylinus* (или *Gluconacetobacter xylinus*, *Komagataeibacter xylinus*) в настоящее время считается штаммом с самой высокой способностью синтезировать целлюлозу.

Для синтеза БЦ используют различные среды, например, для культивирования бактерий штамма *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008 используют следующий состав питательной среды (в процентном соотношении):

- Сахарозы - 7;
- Густого кокосового молока - 0,1;
- Дрожжевого экстракта - 0,5;
- Na_2HPO_4 - 0,27;
- K_2HPO_4 - 0,2;
- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0,3;
- Моногидрата лимонной кислоты - 0,115;
- Спирта - 0,5.

Для бактериальной целлюлозы вида *Gluconacetobacter hansenii* исследованы питательные среды, основной частью которых являются отходы какого-то производства, в основном пищевого. В состав среды входили следующие компоненты:

- 10% кукурузного экстракта;
- 0.5% спирта;
- 1.13% уксусной кислоты;
- Экстракты кожуры плодов кофейного дерева (CCH – coffee cherry husk, отношение воды и 1:1).

Биосинтез бактериальной целлюлозы представляет собой полимеризацию УДФ-глюкозы в α -1,4-глюкановые цепи путем взаимодействия разных ферментов, а после образуются микроволокна, путем зачистки пор бактериального материала. Есть три гидроксильные группы на каждом глюкозильном кольце БЦ, так что микроволокна самособираются в

волокнистый пучок диаметром 10-100 нм. За счет большого количества водородных связей, а затем образуют трехмерное нановолокно с большим количеством пор для получения нативной БЦ.

БЦ нерастворима в воде, но может быть диспергирована с образованием сетки, обладающей хорошими функциональными свойствами. При попадании в воду происходит образование непрерывной трехмерной сетки, в которой волокна целлюлозы частично соединяются друг с другом. Такая трехмерная сетка обладает хорошей влагоудерживающей и загущающей способностью [10].

БЦ при диспергировании в воде после образования трехмерной сетки проявляет псевдопластичные свойства. В связи с нерастворимостью в воде БЦ почти не вступает в реакцию с разными добавками. На трехмерную сетку, образованную хорошо соединенными частями волокон целлюлозы, почти не оказывают воздействия кислоты, соли и нагревание. Кроме того, БЦ обладает прекрасным свойством придания хорошей стабильности дисперсиям и эмульсиям нерастворимых веществ, масел и т.д. [23].

Жидкости, содержащие набухшую БЦ, имеют очень большой предел текучести и обладают высокой стабильностью суспензии и дисперсии. Это может быть объяснено тем, что БЦ, состоящая из очень мелких целлюлозных волокон, в жидкости образует непрерывную и достаточно прочную трехмерную сетку посредством целлюлозы, соединенной между собой [6].

Структурная сетка, образованная этим образом, является очень прочной и в воде не растворяется, именно поэтому структура не меняется под действием нагревания и стабильность дисперсии и суспензии сохраняется в том числе и при высоких температурах.

1.2 Синтез БЦ

Синтез БЦ производится при стационарных или глубинных условиях. В зависимости от них целлюлоза принимает различную форму. Процесс образования целлюлозы в статических условиях регулируется воздухом, а

выход зависит от концентрации источника углерода. Увеличение времени роста увеличивает образование БЦ. В условиях глубинного культивирования БЦ синтезируется в виде сфер с различным диаметром, либо в виде волокон. Такой способ культивирования является более подходящим для промышленного производства, так как может осуществляться в ферментах, что максимально автоматизирует процесс и исключает ручной труд. При этом процесс в стационарном состоянии позволяет увеличить производительность БЦ по сравнению с глубинным процессом. Синтез БЦ достигает своего предела, в тот момент, когда пленка растет вниз и захватывает все бактерии.

Бактерии становятся неактивными из-за недостаточного количества кислорода. Несмотря на это, бактериальная целлюлоза, полученная в перемешиваемой культуре, имеет микроструктурные изменения, такие как, низкая степень полимеризации и низкий показатель кристалличности. К тому же у такой БЦ более низкий модуль упругости Юнга, но при этом более высокая водоудерживающая способность и более высокая вязкость суспензии в дезинтегрированной форме, чем у той, которая получена в статической культуре [5].

1.3 Потенциальные источники углерода для синтеза БЦ

Один из наиболее важных факторов, влияющих на выход, продуктивность и скорость синтеза БЦ – источник углерода, используемый при культивировании целлюлозосинтезирующих бактерий. Установлено, что по выходу БЦ сахара можно расположить в следующий ряд: сахароза > глюкоза > ксилоза > лактоза. Изучены многочисленные моно-, ди- и полисахариды, спирты (этанол, глицерин, этиленгликоль), органические кислоты (лимонная, глюконовая) и другие соединения (глюконо-лактон и ометил-глюкоза) [11].

Несмотря на то, что глюкоза служит мономером в образовании БЦ и более широко применяется в качестве источника углерода для культивирования целлюлозосинтезирующих штаммов, её использование достаточно редкое, так

как параллельно с БЦ может накапливаться вторичный продукт – глюконовая кислота [8].

Глюконовая кислота снижает уровень рН питательной среды, из-за чего уменьшается выход целевого продукта. Из этого следует, что концентрация глюкозы – очень важный параметр. Высокая концентрация глюкозы в среде снижает выход БЦ, низкая концентрация глюкозы предпочтительнее для культивирования. установлено, что наиболее предпочтительными источниками углерода для производства БЦ являются D-арабит и D-маннит, которые показали в 6,2- и 3,8- кратное увеличение выхода БЦ, по сравнению с глюкозой.

Приведено сравнительное изучение влияния на биосинтез БЦ шести различных источников углерода, таких как глюкоза, глицерин, маннит, фруктоза, сахароза, галактоза. Наиболее большой выход БЦ обеспечивает сахароза, затем в порядке убывания следуют глицерин, маннит, глюкоза и фруктоза [12].

Галактоза считается наименее подходящим источником углерода. Маннит, фруктоза или глюкоза показали постоянные скорости образования. При добавлении сахарозы-низкий выход, это объясняется тем, что сахароза не может быть утилизирована напрямую. Микроскопические характеристики полученных из этих источников углерода образцов БЦ очень похожи. Все образцы имели одинаковую степень кристалличности. При исследованиях, когда глицерин был источником углерода, результаты разделились. При статическом культивировании выход БЦ на глицериновых средах ниже, чем на глюкозных.

Однако, при культивировании в динамических условиях выход БЦ на глицериновой среде повышался выше, чем на глюкозной среде. Использование мальтозы в качестве субстрата для культивирования БЦ приводит к снижению выхода БЦ в 10 раз по сравнению с глюкозой [25].

1.4 Различия между бактериальной и растительной целлюлозой

Целлюлозу можно разделить на растительную и бактериальную, обе из которых существуют в природе. В независимости от того, что БЦ имеет такую же молекулярную формулу что и растительная целлюлоза они имеют существенно различные макромолекулярные свойства и характеристику [17].

Преимущества БЦ над растительной целлюлозой:

- Химически чистая, не содержит гемицеллюлоз или лигнина;
- Большая способность удерживать воду и гидрофильность;
- Высокая прочность на разрыве в результате большего количества полимеризации;
- Ультрадисперсная сетевая архитектура.

К тому же БЦ может быть получена на различных субстратах, и выращивается любой формы из-за пластичности в процессе формирования и сохраняет все свои свойства. Так же БЦ имеет более кристаллическую структуру по сравнению с растительной целлюлозой и образует характерные лентовидные микрофибриллы. Отличительной чертой БЦ так же являются более тонкие микрофибриллы, которые значительно меньше, чем в растительной целлюлозе и-за этого БЦ более пористая, именно поэтому она используется в чувствительных материалах и фотокатализаторах.

1.5 Применение БЦ

Последнее время БЦ стала актуальной в медицинской сфере. Ее протестировали и успешно используют в качестве раневых повязок (чаще при ожогах). Исследования выявили, что ожоги, обработанные БЦ заживали быстрее, чем после обычного лечения и имели меньше рубцов [24].

БЦ используется не только для внешнего применения, но и для внутренних обработок, например, костных трансплантатов, тканевой

инженерии и регенерации. При формировании БЦ в длинные полые трубы, она может быть использована в качестве замены структур для нескольких различных областей:

- Сердечно - сосудистая система;
- Желудочно - кишечный тракт;
- Мочевые пути;
- Трахея.

Также БЦ может быть смоделирована в сетчатые мембранны, которые могут быть использованы для внутренних запасных структур, например, наружная мембрана мозга, в твердой мозговой оболочке, эта структура также была использована в качестве трансплантатов для взаимодействия с существующим внутренним биологическим материалом [19].

БЦ еще была использована в управляемой регенерации тканей и имплантации зубов. Одним из примеров — это восстановление ткани пародонта путем отделения оральных эпителиальных клеток и десневой соединительной ткани от обработанной поверхности корня.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Объект исследования

Для процесса культивирования использовался штамм уксуснокислых бактерий *Komagataebacter xylinus* B-12068, выделенного на базовой кафедре биотехнологии СФУ, способный синтезировать БЦ. Процесс включает культивирование бактерий-продуцентов на среде, с содержанием углеродосодержащего ростового субстрата с добавлением различных веществ.

Культурально - морфологические особенности штамма: грамотрицателенные, слабо подвижные клетки.

Ростовые характеристики: штамм растет в жидкой среде с источником углерода. Оптимум роста 30°C, pH 4-4,5.

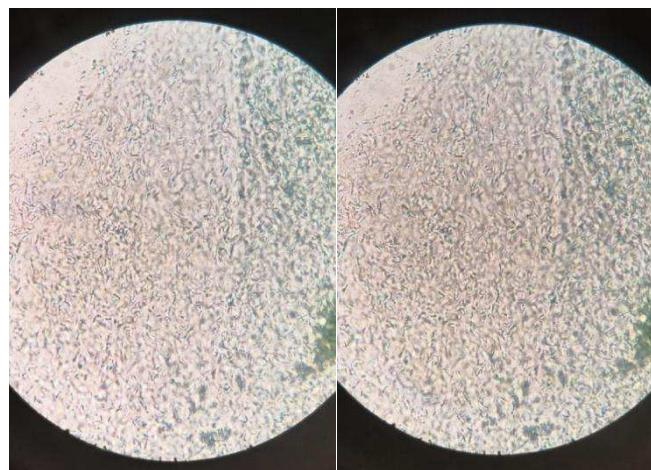


Рисунок 2 - Микрокопирование бактериальной целлюлозы

2.2 Оборудование

Оборудование, на котором проводилась работа (рис. 3.):

1. Шейкер инкубатор Incubator Shaker Innova® серии «New Brunswick Scientific»;
2. Сушильный шкаф Memmert UF260, с принудительной конвекцией и регулировкой температуры;

3. Ламинарный бокс;
4. Спектрофотометр UNICO 2150.



Рисунок 3 - Оборудование, используемое во время работы

2.3 Процесс культивирования БЦ

Культивирование в колбах. Подготовка инокулята.

Бактерии выращивали в условиях, разработанных для синтеза БЦ. Посевной материал получали в строго стерильных условиях путем ресуспензирования музейной культуры, хранящейся на скошенной агаризованной среде. В дальнейшем культуру выращивали в жидкой среде Hestrin-Schramm с концентрацией глюкозы 20 г/л (на 1 л. культуры).

Инокулят получали в строго стерильных условиях в периодическом

режиме с использованием шейкера-инкубатора «Incubator Shaker Innova®» серии 44 («New Brunswick Scientific», США) в стеклянных колбах объемом 2,0 л с коэффициентом заполнения 1/4 при 30 °С и 150 об/мин.

Для выращивания бактерий за основу принята среда Hestrin-Schramm. Делали в 3-х повторах для статистической обработки. Питательная среда содержит [9]:

- Дрожжевой экстракт- 5,0 г/л;
- Пептон- 5,0 г/л;
- Na_2PHO_4 – 2,7 г/л;
- Лимонная кислота- 1,15 г/л;
- Глюкоза- 10 г/л.

2.4 Анализ проб

2.4.1 Определение сухой биомассы клеток

По окончании культивирования биомассу пропускали через фильтр на вакуумном насосе (рис.4а) и сушили в сушильном шкафу при температуре 100 °С в течение 12 часов.

Массу бактериальной целлюлозы определяли на аналитических весах 4-го класса точности.

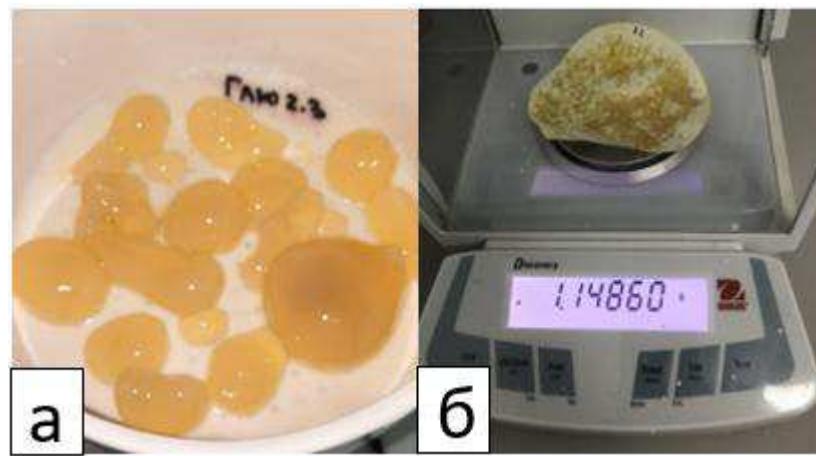


Рисунок 4 - Высушивание до сухого веса (а), взвешивание сухого веса (б)

2.4.2 Определение концентрации глюкозы

Таблица 1 – Пропись реагентов для определения концентрации глюкозы

1-ая пробирка	Опытная проба	40 мкл разбавленной надосадочной жидкости + 2 мл ФХС ¹
2-ая пробирка	Калибратор	40 мкл калибратора из набора «Глюкоза – ФКД» + 2 мл ФХС
3-ая пробирка	Холостая проба	40 мкл дистиллированной воды + 2 мл ФХС

Хорошо встряхнуть пробирки через 5 минут после добавления ФХС и оставить их на 25 минут.

Далее измерить оптическую плотность содержимого всех 3-х пробирок в фотометре, используя кюветы на 5 мм (длина волны 490 нм). В качестве контроля использовать холостую пробу.

Результат рассчитать по формуле:

$$\text{Концетрация глюкозы} = \frac{\text{Оптическая плотность пробы}}{\text{Оптическая плотность калибратора}} * 9 \quad (1)$$

¹ ФХС – ферментно-хромогенная смесь.

2.4.3 Определение концентрации азота (качественно)

1 мл пробы + 10 мл дистиллированной воды. Добавить 1-2 капли 33% KOH и 0,5 мл реактива Неслера. Исходя из цвета реакции определить концентрацию.

2.4.4 Определение продуктивности среды

Продуктивность среды определяли по формуле:

$$\text{Продуктивность среды} = \frac{\text{Масса БЦ}}{\text{Объем среды*часы культивирования}} \quad (2)$$

2.5 Методы обработки данных

Статистическую обработку результатов проводили по стандартным методикам с использованием программного пакета Microsoft Excel для Windows 7.

3 РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА СРЕДЫ ДЛЯ СИНТЕЗА БЦ

Изъято стр. 17-33

ВЫВОДЫ

1. Исследован процесс синтеза БЦ при использовании хлористого аммония в качестве альтернативного азотного питания. Установлено, что оптимальная концентрация 2 г/л и выход БЦ равен 0,31, что на 0,07 уступает классической среде Hestrin-Schramm. Увеличение концентрации до 6 г/л приводит к ингибированию процесса биосинтеза;

2. Исследовано влияние витаминов группы В на биосинтез БЦ. Установлено, что наибольшее влияние оказывает витамин В3 в концентрации 1 мл/л, количество синтезированной целлюлозы составило 0,38 г, что сопоставимо с классической средой Hestrin-Schramm, где выход БЦ так же был равен 0,38г, увеличение концентрации приводит к ингибированию процесса биосинтеза. Витамин В12 влияния на биосинтез не оказывает;

3. Исследована продуктивность процесса биосинтеза БЦ на различных средах. Установлено, что самая большая продуктивность у среды с заменой азотного питания с пептона на хлористый аммоний - $0,646 \cdot 10^{-2}$ г/л*ч, а стоимость за 1 кг БЦ при этом 224803,3 руб. Но при этом самая экономически выгодная среда получилась с заменой дрожжевого экстракта на витамин В3 и пептона на комплекс NH₄CL+MgSO₄, цена за кг БЦ равен 13493,1 руб. что на 96,2% ниже, чем у классической среды Hestrin-Schramm. А ее продуктивность равна $0,600 \cdot 10^{-2}$ г/л*ч.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

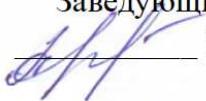
1. Brown, A.J. On an acetic ferment which forms cellulose / A.J. Brown // J. Chem. Soc. Trans. – 1886. - № 49.- P. 432–439.
2. Barsha, J. Structure of the cellulose synthesized by the action of Acetobacter xylinus on fructose and glycerol / J. Barsha, H. Hibbert // Can. J. Res. – 1934. - № 10.- P.170-179.
3. Акимова, Р. И. Изучение ферментативного гидролиза жира в присутствии *Lamblia duodenalis* (*in vitro*) / Р. И. Акимова [и др.] // Паразитология. - 1978. - №12. – С. 10-42.
4. Faezah, E. S. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application /E. S. Faezah [et al.] // Agriculture and Agricultural Science Procedia. – 2014. - № 2. – P. 113-119.
5. Болотова, К.С. Морфологические особенности фибриллярной структуры растительной и бактериальной целлюлозы / К.С. Болотова [и др.] // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. – 2016. - № 6. – С. 153-165.
6. Sangok, B Improvement of bacterial cellulose production by addition of agar in a jar fermentor / B. Sangok [et al.] // Journal of Bioscience and Bioengineering. - 2004. - № 97. - P. 33-38.
7. Гладышева, Е.К. Биосинтез бактериальной целлюлозы на ферментативном гидролзате технической целлюлозы из плодовых оболочек овса / Е. К. Гладышева, Е. А. Скиба // Ползуновский вестник. – 2014. - № 3. – С. 168-173.
8. Бахман, М. А. Биосинтез бактериальной целлюлозы продуцентом *Gluconacetobacter hansenii* в глубинной культуре / М. А. Бахман // Евразийское научное объединение. – 2017. - № 2. – С. 1-5.
9. Siro, I. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review / I. Siro, D. Plackett // Cellulose. – 2020. - № 17. P. 459-494.

10. Yizao, W. Directional fluid induced self-assembly of oriented bacterial cellulose nanofibers for potential biomimetic tissue engineering scaffolds / W. Yizao // Materials Chemistry and Physics. – 2015. – V.4, № 3. – P. 7-11.
11. Keshk, S. Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications / S. Keshk // Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. - 2014. -№ 4. – P. 32-44.
12. Hornung1, M. Optimizing the Production of Bacterial Cellulose in Surface Culture: A Novel Aerosol Bioreactor Working on a Fed Batch Principle / M. Hornung1 [et al.] // Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie. - 2007. - № 1. - P. 35-41.
13. Fua, L. Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair / L. Fua [et al.] // Carbohydrate Polymers. – 2015. -№ 92. – P. 1442-1697.
14. Zhang, J. Present status and applications of bacterial cellulose – based materials for skin tissue repair / J. Zhang [et al.] // Carbohydrate Polymers. – 2013. – V. 92, №2. – P. 1432-1442.
15. Sulaeva, I. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications / I. Sulaeva [et al.] // Biotechnology Advances. – 2015. - № 33. - P. 1547-1571.
16. Dourado, F. Bacterial nanocellulose: what future / F. Dourado [et al.] // Bioimpacts. – 2018. - № 8. – P. 1–3.
17. Митрофанов, Р.Ю. Получение и свойства гель-пленки бактериальной целлюлозы / Р.Ю, Митрофанов [и др.] // Химия в интересах устойчивого развития. - 2010. - №18. - С.587-592.
18. Баклагина, Ю. Г. Взаимодействие между наноразмерными кристаллическими компонентами композита на основе целлюлозы *Acetobacter xylinum* и фосфатов кальция / Ю. Г. Баклагина [и др.] // Высокомолекулярные соединения. – 2010. – Т. 52, № 4. - С. 615–627.

19. Zhijiang, C. Bacterial cellulose collagen composite: characterization and first evaluation of cytocompatibility / C. Zhijiang, Y. Guang // Journal of Applied Polymer Science. – 2011. - № 6. - 2938–2944.
20. Nainggolan, H. Mechanical and thermal properties of bacterial-cellulose fibre-reinforced Mater-Bi bionanocomposite / H. Nainggolan [et al.] // Nanotechnol. – 2013. - № 4. - 325–329.
21. Хайруллин, А. Р, Влияние воды на релаксационные характеристики первичного гидроксила в целлюлозе *Glucoacetobacter xylinus* / А. Р. Хайруллин [и др.] // Химические науки. – 2013. - № 6. – С. 891-91.
22. Taokaew, S. Biosynthesis and Characterization of Nanocellulose-Gelatin Films / S. Taokaew [et al.] // Materials. – 2013. - № 6.- 782-794.
23. Hu, Y. Influence of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the production of bacterial cellulose biosynthesized by *Acetobacter xylinum* under the agitated culture / Y. Hu, J.M. Catchmark // The Society for Applied Microbiology. – 2010. - № 51. – Р. 109–113.
24. Пиневич, А.В. Чудо-пленки, или Слово о бактериальной целлюлозе / А.В. Пиневич // Вестник Санкт-Петербургского университета. - 2007. - №3. – С. 25-29.
25. Hwan, J. Improvement of bacterial cellulose production in *Acetobacter xylinum* using byproduct produced by *Gluconacetobacter hansenii* / J. Hwan, M. Kon Park // Korean J. Chem. Eng. – 2012. – V. 29, № 5. - P. 563-566.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

Т. Г. Волова
« 30 » июня 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 - Биология

Влияние состава сред и условий глубинного культивирования на рост культуры
уксусно-кислых бактерий *Komagataeibacter xylinus* B-12068 и синтез
бактериальной целлюлозы

Руководитель



30 июн. 20 г.

подпись, дата

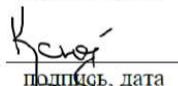
К.т.н.

Е. Г. Киселев

должность, учёная
степень

инициалы, фамилия

Выпускник



подпись, дата

К. А. Гармашова

инициалы, фамилия

Красноярск 2020