

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

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
\_\_\_\_\_ Т. Г. Волова

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2024 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 - Биология

Биосинтез бактериальной целлюлозы бактериями *Komagataeibacter xylinus* В-12068 при культивировании на среде с мелассой

Руководитель

\_\_\_\_\_

подпись, дата

доцент, к.т.н.

\_\_\_\_\_

должность, учёная степень

Е. Г. Киселев

\_\_\_\_\_

инициалы, фамилия

Выпускник

\_\_\_\_\_

подпись, дата

Д. С. Минеева

\_\_\_\_\_

инициалы, фамилия

Красноярск 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>1. Обзор литературы .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1. Характеристика и свойства бактериальной целлюлозы .....</b>	<b>5</b>
<b>1.2. Синтез бактериальной целлюлозы .....</b>	<b>7</b>
<b>1.2.1. Штаммы бактерий .....</b>	<b>7</b>
<b>1.2.2. Методы культивирования .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2.3. Среды для синтеза .....</b>	<b>10</b>
<b>1.3. Применение бактериальной целлюлозы .....</b>	<b>12</b>
<b>1.4. Свойства мелассы .....</b>	<b>13</b>
<b>1.4.1. Методы очистки и осаждения мелассы.....</b>	<b>13</b>
<b>2. Материалы и методы.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. Объект исследования .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2. Оборудование .....</b>	<b>16</b>
<b>2.3. Осаждение мелассы.....</b>	<b>18</b>
<b>2.4. Процесс культивирования.....</b>	<b>18</b>
<b>2.5. Определение веса бактериальной целлюлозы .....</b>	<b>19</b>
<b>3. Результаты .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1. Химический состав мелассы.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Биосинтез БЦ на разных концентрациях мелассы .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.1 Синтез БЦ на разбавленной мелассе .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.2 Синтез БЦ на разбавленной осажденной мелассе .....</b>	<b>23</b>
<b>3.2.3 Синтез БЦ на разбавленной осажденной мелассе с использованием инокулята на основе мелассы .....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 Свойства синтезированной БЦ .....</b>	<b>26</b>
<b>4. Экономическая оценка сред и ее доля в затратах на синтез БЦ .....</b>	<b>31</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>33</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ.....</b>	<b>34</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Бактериальная целлюлоза (БЦ) – биополимер глюкозы, синтезируемый уксуснокислыми бактериями.

БЦ активно изучается и имеет большой потенциал применения. Благодаря своему особому строению и свойствам, она может использоваться в медицине, различных научных исследованиях, а также текстильных, гастрономических, фармацевтических и косметических промышленности. Из-за высокого показателя экологичности и возможности использования в различных передовых отраслях считается материалом будущего и способна заменить многие полимеры, при производстве которых происходит загрязнение окружающей среды.

Для активного распространения бактериальной целлюлозы необходимо производство в промышленных масштабах, что проблематично для данного материала. БЦ намного дороже пластмассы за счет высокой стоимости компонентов субстрата и сравнительно небольшого выхода продукта, а необходимость культивирования бактерий и их медленный синтез сильно замедляют синтез целлюлозы. Высокая стоимость и протяжность производства мешает внедрению БЦ в обиход промышленности и медицины, не позволяя конкурировать с другими полимерами, которые намного дешевле, но менее экологичны.

Меласса, как источник питательных веществ, способна значительно снизить стоимость производства бактериальной целлюлозы. Она содержит высокие концентрации углеводов, которые могут служить источником энергии для роста и метаболизма микроорганизмов. В составе мелассы присутствуют аминокислоты и азотсодержащие соединения, что обеспечивает баланс азота для роста микроорганизмов, и она также является

хорошим источником необходимых микроэлементов, необходимых для жизнедеятельности микроорганизмов.

Цель данного исследования - оценить влияние субстратов с разным содержанием мелассы на синтез бактериальной целлюлозы штаммом *Komagataeibacter xylinus*.

Исходя из поставленной цели, были поставлены задачи:

- Исследовать методы очистки и приготовления мелассы
- Исследовать рост бактерий и синтез бактериальной целлюлозы частично и полностью на разбавленной мелассе и изучить полученную целлюлозу
- Оценить продуктивность и экономическую выгоду полученной целлюлозы по сравнению со средой Hestrin–Schramm.

## 1. Обзор литературы

### 1.1. Характеристика и свойства бактериальной целлюлозы

Бактериальная целлюлоза (БЦ) – линейный неразветвленный гомополимер, состоящий из мономеров глюкозы, соединенных 1,4-β-гликозидными связями, с общей формулой  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Впервые упомянута в 1886 году в научной публикации А. Брауна, который обнаружил студенистую, гелеподобную пленку, покрывающую всю поверхность питательной среды, содержащей глюкозу. Впоследствии Дж. Барша и Х. Хибберт установили, что по химическому строению эта пленка соответствует растительной целлюлозе. [1,2].

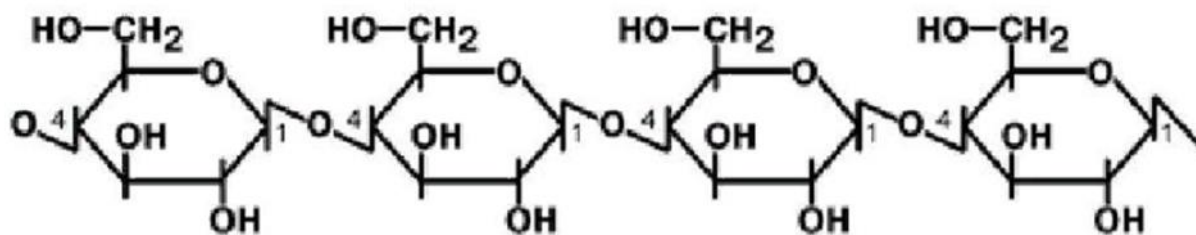


Рисунок 1 Химическая структура бактериальной целлюлозы

Молекула целлюлозы формируется из остатков глюкозы, объединенных в спиральные цепи, которые, в свою очередь, группируются в кристаллические пучки, называемые микрофибриллами. Обычно количество таких цепей в пучке составляет от 20 до 200. Микрофибриллы объединяются в волокна, окруженные слоем связующих полимеров, включающих лигнин, ксиланы, арабиногалактаны, пектины и белки. Структура волокнистой сети БЦ состоит из трехмерных нановолокон, организованных так, что они формируют лист гидрогеля с высокой площадью поверхности и

пористостью.

В результате получается прочный композитный материал, который может удерживать значительное количество воды. [3].

Бактериальная целлюлоза не растворяется в воде, но может быть распределена таким образом, что образуется сетка, обладающая полезными функциональными свойствами. При взаимодействии с водой происходит формирование непрерывной трехмерной структуры, в которой волокна целлюлозы частично соединяются друг с другом. Эта трехмерная сетка обладает хорошей способностью удерживать влагу и загущать среду.

Бактериальная целлюлоза при диспергировании в воде после образования трехмерной сетки проявляет псевдопластичные свойства. Из-за нерастворимости в воде она почти не вступает в реакцию с различными добавками. На трехмерную сетку, сформированную плотно связанными частями волокон целлюлозы, почти не оказывают воздействие кислоты, соли и нагревание. Кроме того, благодаря этой структуре бактериальная целлюлоза обладает удивительным свойством придания стабильности дисперсиям и эмульсиям нерастворимых веществ, масел и прочих соединений, даже в системах с низкой вязкостью. Жидкости, содержащие набухшую бактериальную целлюлозу, имеют очень высокие пределы текучести и обладают хорошей стабильностью суспензии и дисперсии. Это может быть объяснено тем фактом, что бактериальная целлюлоза, состоящая из очень мелких целлюлозных волокон, в жидкости образует непрерывную и очень прочную трехмерную сетку посредством целлюлозы, соединенной между собой.

Структурная сетка, образованная таким образом, является очень прочной и в воде не растворяется, поэтому структура не изменяется под воздействием нагревания и стабильность дисперсии и суспензии сохраняется даже при высоких температурах.[4]

Изменение уровня кислотности или введение соли в раствор, содержащий БЦ, не оказывает влияния на характеристики жидкости после

набухания бактериальной целлюлозы в воде и формирования структурной сетки. В случае предварительного растворения соли в растворе, бактериальная целлюлоза не так хорошо набухает, что порой приводит к нежелательным функциональным свойствам. Поэтому, для полноценного функционирования бактериальной целлюлозы, добавление солей и коррекцию уровня pH рекомендуется проводить после формирования структурной сетки. [7].

В сравнении с растительной целлюлозой БЦ химически чище, т. е. не содержит лигнина и гемицеллюлоз, имеет более высокую степень кристалличности и полимеризации, большая прочность на разрыв, высокая водопоглощающая способность, а именно 309 грамм воды на 1 грамм сухого вещества. Бактериальная целлюлоза нерастворима в большинстве растворителей, может выдерживать сравнительно высокие температуры (до 275° при химической обработке), хорошо поддается формировке и склонна к изменению во время синтеза. Фибриллы БЦ в 100 раз тоньше, чем у растительной целлюлозы, что делает ее более пористой. Данные характеристики делают БЦ очень удобным соединением для применения в различных областях науки, особенно медицины. [5].

## **1.2. Синтез бактериальной целлюлозы**

### **1.2.1. Штаммы бактерий**

Огромное влияние на выход продукта будет иметь выбор продуцента. БЦ может быть получена многими бактериями, включая таких представителей, как:

- *Achromobacter*
- *Alcaligenes*
- *Aerobacter*
- *Agrobacterium*
- *Azotobacter*

- *Gluconacetobacter*
- *Pseudomonas*
- *Rhizobium*
- *Sarcina*
- *Dickeya*
- *Rhodobacte*
- *Komagataeibacter xylinus*

*Komagataeibacter xylinus* - наиболее широко изучаемый вид бактерий, продуцирующих целлюлозу. В особых условиях культивирования бактерии выделяют микрофибриллы целлюлозы, образуя на поверхности жидкой среды густой гель, называемый пленкой, состоящий из микрофибрилл целлюлозы и 97% воды. Причина, по которой бактерии производят целлюлозу, неясна, но предполагалось, что она необходима для их выживания, например, для защиты от ультрафиолета или для защиты от грибков, дрожжей и других организмов. Преимущество бактериальных микрофибрилл целлюлозы заключается в возможности регулирования условий культивирования для изменения образования и кристаллизации микрофибрилл [9-15].

Генетические и молекулярные исследования показали, что синтез целлюлозы находится под контролем оперона, и что этот процесс регулируется циклическим дигуанильным активатором синтазы целлюлозы, который функционирует на плазматической мембране бактериальной клетки, позволяя правильно полимеризовать молекулы глюкозы в растущие и экструдированные микрофибриллы целлюлозы [16].

### **1.2.2. Методы культивирования**

Количество производимой целлюлозы зависит также от выбранного метода культивирования. Существуют два основных метода: стационарный и



глубинный. Стационарный метод, хотя и более эффективен из-за обширной площади контакта с воздухом, где бактерии вырабатывают целлюлозу, ограничен в промышленном использовании из-за сложностей с контролем процесса и значительной доли ручного труда.

Процесс формирования целлюлозы в статических условиях контролируется воздухом, поступающим с поверхности среды, а выход бактериальной целлюлозы умеренно зависит от концентрации источника углерода. При глубинном культивировании микроорганизмов контроль происходит с помощью регулируемых настроек ферментера, таких как аэрация стерильным воздухом, подача питательных компонентов и изменение температуры и вращения ротора, который задает скорость перемешивания среды. Биосинтез БЦ сопряжён с ростом уксуснокислых бактерий в питательной среде, таким образом, численность уксуснокислых бактерий может служить маркером эффективности биосинтеза БЦ и может быть отслеживаема. [29]

В процессе глубинного культивирования бактериальная целлюлоза может принимать форму сфер с различными диаметрами, или же находиться в виде волокон. Этот метод культивирования является наиболее оптимальным для промышленного производства, поскольку позволяет проводить процесс в ферментерах, что способствует максимальной автоматизации, проведению синтеза в больших количествах и исключению ручного труда.

Синтез в стационарном состоянии повышает производительность бактериальной целлюлозы по сравнению с глубинным процессом. Однако бактериальная целлюлоза, полученная в перемешиваемой культуре, имеет микроструктурные изменения, проявляющиеся в низкой степени полимеризации и низкой кристалличности. [6].

### 1.2.3. Среды для синтеза

Для синтеза БЦ используют различные среды, например, для культивирования бактерий штамма *Glucanacetobacter hansenii* GH-1/2008 используют следующий состав питательной среды (в процентном соотношении) [26]:

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

Для самого продуктивного штамма *Komagataeibacter xylinus* лучше всего подходит среда Hestrin-Schramm:

- 0,5% пептона
- 0,5% дрожжевого экстракта
- 0,27%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$
- 0,115% лимонной кислоты
- 2% глюкозы

Hestrin-Schramm содержит легкоусвояемый источник белка в качестве пептона и, в качестве источника витаминов и микроэлементов, дрожжевой экстракт [25].

Для синтеза бактериальной целлюлозы исследованы питательные среды, содержащие отходы какого-либо производства, в основном пищевого. Подобное решение позволяет, как вторично использовать материалы, отработанные в производстве, так и значительно снизить стоимость синтеза БЦ. Примеры сред представлены в таблице 1. [29]

Таблица 1 Сравнение выхода БЦ с использованием гидролизата различных отходов

Тип отходов	Штамм	Выход БЦ ( г/л)
Кожура дыни	<i>L. plantarum</i> AS.6	3.49
Кожура апельсина	<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	6.1
Солома сахарного тростника	<i>Komagataeibacter xylinus</i> ATCC 11,142	4.51
Сахарный сорго	<i>Acetobacter xylinum</i> ATCC 23,767	2.54
Карагана	<i>Gluconacetobacter xylinus</i> CGMCC 2955	4.6
Цитрусовая пульпа	<i>Gluconacetobacter xylinum</i>	8.77
Сыворотка молочная	<i>Gluconacetobacter xylinus</i> PTCC 1734	3.55
Зерна и желтая вода из производства байцзю	<i>Gluconacetobacter xylinus</i> G29	7.42

Среды с использованием мелассы различаются методом обработки мелассы, концентрацией мелассы и добавлением в среду вспомогательных веществ, влияющих на продукцию целлюлозы.

Разбавленная меласса, используемая как среда для синтеза, не сильно эффективна, содержание в ней сухих веществ слишком велико, чтобы клетки бактерии могли полноценно функционировать и производить полимер. Разбавленная, осажденная меласса больше подходит в качестве среды, но выход бактериальной целлюлозы все еще слишком низок по сравнению с другими средами (1.637 г/л)[27].

Использован в качестве среды может быть и супернатант мелассы. Супернатант подвергается двум обработкам для удаления ингибиторов роста и метаболизма: при термообработке надосадочную жидкость нагревают при 120°C в течение 20 мин, оставляют на ночь при комнатной температуре, а затем центрифугируют. Разбавленный в 5 раз, он

выступает в качестве полноценной среды, так как содержит необходимые азотсодержащие вещества, микроэлементы и сахара.[28]

### **1.3. Применение бактериальной целлюлозы**

Бактериальная целлюлоза стала очень актуальной в медицинской сфере за последние 10 лет. Одно из применений БЦ в медицине – изготовление специальных раневых повязок. Это изготовленные на основе целлюлозы композитные раневые покрытия, включающие наночастицы серебра или селена, обладающие антимикробными, противовоспалительными и заживляющими свойствами.[17]

BioFill (Апирогенная бактериальная биомасса, второстепенный компонент высушенной биопленки) широко используется для лечения нескольких кожных повреждений, таких как базально-клеточная карцинома / кожный трансплантат, тяжелые ожоги тела, лицевой пилинг, наложение швов, дермабразии, кожные поражения и удары второй степени, хронические язвы, инфекционный эпидермолиз, донорные и рецепторные участки кожных трансплантатов [18-19]. Эти авторы документально подтверждают следующие преимущества BioFill как временный кожный заменитель.[20]

Доказана также и эффективность биомембраны целлюлозы для лечения хронических венозных язв. [21]

Применяется БЦ и в восстановительной хирургии. Показано, что БЦ можно сшивать с различными пептидами или другими высокомолекулярными молекулами для создания определенного терапевтического эффекта. Например, связанную с остеогенным пептидом роста БЦ вживляли мышам, что вызывало у них увеличение экспрессии некоторых костных биомаркеров, таких как Alpl, Sppl, Tnfrsf11b. Также они стимулировали образование кости в месте дефекта свода черепа у мышей.[22]

## 1.4. Свойства мелассы

Меласса представляет собой побочный продукт сахарного производства. Основным сахаром в составе мелассы является дисахарид сахароза, его содержание в мелассе достигает 45%. Меласса содержит все необходимые питательные вещества для использования ее в качестве питательного субстрата для бактерий.[23]

Таблица 2. - Физико-химические показатели мелассы свекловичной

Наименование показателя	Значение показателя
Массовая доля сухих веществ, %, не менее	75,0
Массовая доля сахара по прямой поляризации, %, не менее	44,0
Массовая доля редуцирующих веществ, %, не более	1,0
Массовая доля суммы сбраживаемых (ферментируемых) сахаров, %, не менее	46,0
Массовая доля солей кальция в пересчете на СаО, %, не более	1,5
рН	От 6,5 до 8,0

### 1.4.1. Методы очистки и осаждения мелассы.

Существует множество методов очистки и осаждения мелассы. Среди подходящих для роста культур бактерии фигурирует очистка мелассы обработкой  $H_2SO_4$ .

Сырая патока разбавляется в 2 раза дистиллированной водой, доводится рН до 3,0 с помощью 6 М раствора  $H_2SO_4$ . Затем патока нагревается при 60 °С в течение 1 часа, в ходе которого рН корректируется до

значения единицы. Полученный раствор патоки центрифугируется при  $6000 \times g$  в течение 20 мин для отделения твердых веществ, затем добавляется 10 М NaOH для возвращения стабильного уровня pH равному 7,0. Готовый раствор проходит стерилизацию и используется в средах[27].

Производственная очистка мелассы перекисью водорода также подходит для осаждения мелассы. В ходе очистки мелассу разбавляют водой до достижения концентрации между 40-45% сухих веществ, затем подвергают нагреванию до температуры в диапазоне от 55 до 65 градусов Цельсия. При увеличении содержания сухих компонентов и увеличении температуры происходит частичное разложение сахарозы в мелассе. После этого в разведенную и прогретую мелассу вводят активное вещество - перекись водорода - в объеме от 1,0 до 1,5% от общей массы мелассы, которое производят в промышленных масштабах в форме либо таблеток, либо раствора с концентрацией 30%. Полученный раствор выдерживают в течение 30 минут до полного растворения перекиси водорода. В результате взаимодействия перекиси с присутствующими в мелассе несхарными компонентами образуется осадок в виде мелких частиц, который затем проходит процедуру фильтрации[24].

## 2. Материалы и методы

### 2.1. Объект исследования

Для процесса культивирования использовался штамм уксуснокислых бактерий *Komagataebacter xylinus B-12068*.

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

Использовались различные субстраты с вариативными составами, а также стандартная среда Hestrin-Schramm для сравнения выхода продукта.

Среда Hestrin-Schramm(HS):

- Дрожжевой экстракт - 5г/л
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  - 2,7г/л
- Глюкоза - 20,0 г/л
- Лимонная кислота - 1,15 г/л
- Пептон - 5г/л

Среда Hestrin-Schramm с использованием мелассы как источник сахаров(HS-M):

- Дрожжевой экстракт - 5г/л
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  - 2,7г/л
- Меласса разбавленная - 22г/л (10г/л сахаров)
- Лимонная кислота - 1,15 г/л
- Пептон - 5г/л

Среда Hestrin-Schramm с использованием осажденной мелассы как источник сахаров(HS-M):

- Дрожжевой экстракт - 5г/л
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  - 2,7г/л
- Осажденная меласса разбавленная - 22 г/л (10г/л сахаров)

- Лимонная кислота - 1,15 г/л
- Пептон - 5г/л

Также используются среды, приготовленные полностью на мелассе(М) в концентрациях от 10 до 50 г/л (от 5 до 25 г/л содержания сахаров)

## 2.2. Оборудование

Оборудование, на котором проводилась работа (рис. 2.):

1. Шейкер инкубатор Incubator Shaker Innova® серии «New Brunswick Scientific»;
2. Сушильный шкаф Memmert UF260, с принудительной конвекцией и регулировкой температуры;
3. Весы аналитические Госметр ВЛ-324В;
4. Ламинарный бокс;
5. Термогравиметрический анализатор TGA 2



1



2





3



4



5

Рисунок 2 Оборудование: 1 - шейкер инкубатор; 2 – сушильный шкаф; 3 – весы аналитические; 4 – ламинарный бокс; 5 - термогравиметрический анализатор TGA 2

### 2.3. Осаждение мелассы

Для использования мелассы в качестве среды проводили ее очистку для удаления ингибиторов роста и метаболизма. В нейтрализованный, заранее нагретый до температуры 55°C, разбавленный раствор мелассы добавляли H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> концентрацией 40% в соотношении 7% к весу мелассы. Полученный раствор ставили в Шейкер инкубатор Incubator Shaker Innova на сутки для полного осаждения несахаров. В дальнейшем проводили стерилизацию.

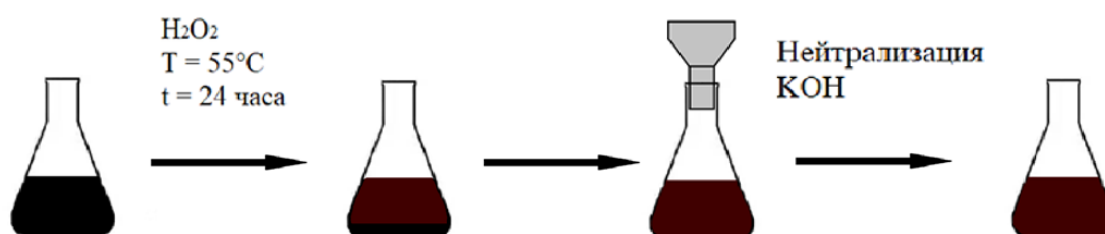


Рисунок 3 Схема очистки мелассы

### 2.4. Процесс культивирования

Получение посевного материала происходило в строго стерильных условиях путем ресуспендирования музейной культуры, хранящейся на скошенной агарной среде. В дальнейшем культивировали культуру в жидкой среде Nestrin-Schramm с содержанием глюкозы 20 граммов на литр.

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 1,0 л с коэффициентом заполнения 1/4 при 30 °C и 200 об/мин.

В дальнейшем производился посев на экспериментальную и контрольную среды и культивирование при аналогичных, одинаковых для всех повторений условиях.



Рисунок 4 Инокулят на среде Hestrin-Schramm

## **2.5. Определение веса бактериальной целлюлозы**

По окончании культивирования биомассу извлекали из колбы, промывали дистиллированной водой и помещали в раствор гидроксида натрия (0.5н) на сутки, с целью очистки от побочных элементов целлюлозы, таких как остатки клеток, среды. Далее извлекали и перемещали в дистиллированную воду на 48 часов, меняя воду каждые 24 часа, для вымывания щелочи и прочих остатков.



Рисунок 5 Очистка пленок в щелочи

После очистки, бактериальную целлюлозу высушивали с помощью сушильного шкафа до полного испарения влаги и проводили взвешивание на весах, сравнивали результаты.



Рисунок 6 Обезвоженная целлюлоза

### **3. Результаты**

Страницы 21-32 изъяты в связи с авторским правом

## ВЫВОДЫ

Исследован химический способ очистки мелассы с добавлением перекиси водорода. Изменение элементов после обработки мелассы практически незаметно, можно выделить значительное понижение содержания калия на 15,27 г/л, серы на 2 г/л и цинка на 3,42 мг/л. При исследовании состава осажденной мелассы установлено, что в мелассе содержатся практически все макро- и микроэлементы необходимые для полноценного протекания процесса культивирования.

При исследовании биосинтеза целлюлозы с использованием сред на мелассе было установлено, что при использовании обработанной мелассы выход бактериальной целлюлозы приближен к выходу продукта с Hestrin-Schramm. Масса бактериальной целлюлозы, полученной со среды с использованием мелассы как единственного источника питания, составила 2,66 г/л, что является близким значением по сравнению с выходом БЦ со среды Hestrin-Schramm, который составил 3,11 г/л. Установлено, что меласса может служить единственным составляющим среды для синтеза БЦ.

Экономическая оценка процесса культивирования на исследуемых средах показала, что стоимость производства целлюлозы, полученной со сред на мелассе, составляет 2255 руб/кг, при сравнении с целлюлозой, полученной на среде Hestrin-Schramm, стоимость производства которой равна 139851 руб/кг. Бактериальная целлюлоза, синтезированная на среде с использованием мелассы как единственного компонента, является дешевле полученной на среде Hestrin-Schramm в 62 раза.

## 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. Санкт-Петербургский государственный университет, Чудо пленки, или Слово о бактериальной целлюлозе, 2007г.
4. E. Dickinson. Hydrocolloids and emulsion stability / G.O. Phillips, P.A. Williams // 2009, 23-49.
5. Fontana JD, de Sousa AM, Fontana CK, Torriani IL, Moreschi JC, Gallotti BJ. *Acetobacter cellulose pellicle as a temporary skin substitute. Applied Biochemistry and Biotechnology.* 1990;4: 253–264.
6. Faedah Esa Siti, Masrinda Tasirin Norliza, Abd Rahman. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application// Agriculture and Agricultural Science Procedia- 2014, № 2, Pages 113-119.
7. Давид Матуа, Бактериальная целлюлоза - The Chemical Journal, 2018.
8. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review Jing Wang, Javad Tavakoli, Youhong Tang
9. Barud H.G.D., R.R. da Silva, Barud H.D., Tercjak A., J. Gutierrez, W.R.Lustri, O.B. de Oliveira, S.J.L. Ribeiro, A multipurpose natural polymer in medical applications: bacterial cellulose, Carbohydr. Polym. 153 (2016)406–420.
10. Barnhart D.M., Su S., Vaccaro B.E., Banta L.M., Farrand S.K., CelR, an ortholog of the diguanylate cyclase PleD of *caulobacter*, regulates cellulose synthesis in *Agrobacterium tumefaciens*, Appl. Environ. Microbiol. 79 (2013) 7188–7202.
11. Matthyse A.G., Marry M., Krall L., Kaye M., Ramey B.E., Fuqua C., A.R. White, The effect of cellulose overproduction on binding and biofilm formation on roots by *Agrobacterium tumefaciens*, Mol. Plant-Microbe Interact. 18 (2005) 1002–1010.
12. Ude S., Arnold D.L., Moon C.D., Timms-Wilson T., Spiers A.J., Biofilm formation and cellulose expression among diverse environmental *Pseudomonas* isolates, Environ. Microbiol. 8 (2006) 1997–2011.

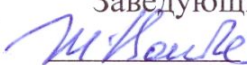
13. Robledo M., Rivera L., Jimenez-Zurdo J.I., Rivas R., Dazzo F., Role of Rhizobium endoglucanase CelC2 in cellulose biosynthesis and biofilm formation on plant roots and abiotic surfaces, *Microb. Cell Fact.* 11 (2012) 125.
14. Volova, T. G., Prudnikova, S. V., Sukovatyi, A. G., & Shishatskaya, E. I. (2018). Production and properties of bacterial cellulose by the strain *Komagataeibacter xylinus* B-12068. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(17), 7417–7428.
15. Т. Хашимото , С. Коидзуми , Наука о полимерах: всеобъемлющий справочник , 2012 г.
16. Cannon, R. E. (2000). *Acetobacter xylinum* — Biotechnology and Food Technology. *Electrotransformation of Bacteria*, 104–107.
17. Юркевич Д.И., Кутышенко В.П. Медузомицет (Чайный гриб): научная история, состав, особенности физиологии и метаболизма // *Биофизика*. 2002. N 6. С. 1116-1129.
16. J. D. Fontana; A. M. De Souza; C. K. Fontana; I. L. Torriani; J. C. Moreschi; B. J. Gallotti; S. J. De Souza; G. P. Narcisco; J. A. Bichara; L. F. X. Farah (1990). Acetobactercellulose pellicle as a temporary skin substitute. , 24-25(1), 253–264.
17. de Paola, D. Q. and Souza, M. G. P. P. (1987), *Rev. Bras. Cirurg.* 77(3), 135-138.
18. Cabral, L. M., Gattaz, M. D., Factore, L. A. P., Mattar, J. A., Diament, D. and Oliveira, A. M. (1987), *ibid* 77(6), 1-7.
19. Rebello, C., Almeida, D. A., Lima, E. M., Jr., and Dornelas, M. P. (1987), *ibid* 77(6), 404-414.
20. Colenci, Raquel; Miot, Hélio A.; Marques, Mariângela E.A.; Schmitt, Juliano V.; Basmaji, Pierre; Jacinto, Jéssica dos Santos; Abbade, Luciana P.F. (2019). Cellulose biomembrane versus collagenase dressing for the treatment of chronic venous ulcers: a randomized, controlled clinical trial. *European Journal of Dermatology*, 29(4), 387–395
21. Jay Shah; R. Malcolm Brown (2005). Towards electronic paper displays made from microbial cellulose. , 66(4), 352–355.
22. de Paola, D. Q. and Souza, M. G. P. P. (1987), *Rev. Bras. Cirurg.* 77(3), 135-138.
23. А.Д. Шердани. "Инновационная пищевая свекловичная меласса. Новый горизонт рентабельности и экологичности сахарного производства" *Сахар*, no. 2, 2021, pp. 20-2.



24. СИДОРЕНКО Ю.И., СЛАВЯНСКИЙ А.А., ВОВК Г.А. Технология сорбционной очистки соков и сиропов сахарного производства, М., Изд. комп. МГУ ПИ, 2003, с.235
25. 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.
26. 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
27. Çakar, Fatih; Özer, Işıl; Aytekin, A.Özhan; Şahin, Fikrettin (2014). Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. *Carbohydrate Polymers*, 106(), 7–13.
28. Tyagi, Neha; Suresh, Sumathi (2015). Production of cellulose from sugarcane molasses using *Gluconacetobacter intermedius* SNT-1: optimization & characterization. *Journal of Cleaner Production*, (), S0959652615009828–.
29. Saleh AK, El-Gendi H, El-Fakharany EM, Owda ME, Awad MA, Kamoun EA. Exploitation of cantaloupe peels for bacterial cellulose production and functionalization with green synthesized Copper oxide nanoparticles for diverse biological applications. *Sci Rep*. 2022

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

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
 Т. Г. Волова

« 21 » 06 2024 г.

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 - Биология

Биосинтез бактериальной целлюлозы бактериями *Komagataeibacter xylinus* В-12068 при культивировании на среде с мелассой

Руководитель

  
подпись, дата


доцент, к.т.н.

должность, учёная степень

Е. Г. Киселев

инициалы, фамилия

Выпускник

 13.06.24  
подпись, дата

Д. С. Минеева

инициалы, фамилия

Красноярск 2024