Оригинальная статья / Original article
УДК 577.114
DOI: http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-260-269

Исследование биосинтеза бактериальной наноцеллюлозы продуцентом *Medusomyces gisevii* Sa-12 на ферментативном гидролизате продукта щелочной делигнификации мискантуса

© Е.К. Гладышева*, Д.С. Голубев*,, Е.А. Скиба***

* Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН, г. Бийск, Российская федерация
** Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова, г. Бийск, Российская федерация

Резюме: *Исследования, направленные на поиск способов, удешевляющих получение бактериальной наноцеллюлозы (БНЦ), связаны с большим спросом на нее во многих отраслях народного хозяйства. Для получения БНЦ в промышленных масштабах используют синтетические питательные среды, стоимость которых может составлять от 30 до 60% от общей стоимости процесса. Поэтому изучение биосинтеза БНЦ на питательных средах с низкой стоимостью (среды из пищевых, целлюлозосодержащих отходов и других альтернативных источников сырья) является актуальным. В качестве альтернативного источника сырья может выступать биомасса такого растения, как мискантус, которое характеризуется доступностью, низкой стоимостью и ежегодной возобновляемостью в промышленных масштабах. Целью настоящего исследования являлось изучение процесса биосинтеза БНЦ на ферментативном гидролизате продукта щелочной делигнификации мискантуса, полученного путем обработки растения разоьбавленным раствором гидроксида натрия при атмосферном давлении. Ферментативный гидролиз полученного субстрата проводился в ферментере объемом 11 л. Авторами настоящей статьи впервые БНЦ получена на питательной среде из ферментативного гидролизата продукта щелочной делигнификации мискантуса. В качестве продуцента использовалась симбиотическая культура Medusomyces gisevii Sa-12, характеризующаяся высоким адаптивным потенциалом. Максимальная удельная скорость роста микроорганизмов составила: для дрожжей – 0,360 сут.$^{-1}$, для уксуснокислых бактерий – 0,384 сут.$^{-1}$. Потребление редуцирующих веществ протекало в два этапа: константа скорости утилизации субстрата на первом этапе составила 0,464 сут.$^{-1}$, на втором – 0,034 сут.$^{-1}$. Наибольший выход БНЦ составил 5,14% на 14 сутки культивирования, что в 1,8 раза меньше, чем выход на синтетической питательной среде. Питательная среда ферментативного гидролизата продукта щелочной делигнификации мискантуса не является биологически доброкачественной, однако, даже в неблагоприятных условиях Medusomyces gisevii Sa-12 демонстрирует высокий технологический потенциал и синтезирует химически чистую БНЦ.*

Ключевые слова: *бактериальная наноцеллюлоза, мискантус, продукт щелочной делигнификации, ферментативный гидролизат, питательная среда, Medusomyces gisevii Sa-12, доброкачественность*

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-19-01054).

Информация о статье: Дата поступления 24 сентября 2018 г.; дата принятия к печати 7 июня 2019 г.; дата онлайн-размещения 28 июня 2019 г.

Для цитирования: Гладышева Е.К., Голубев Д.С., Скиба Е.А. Исследование биосинтеза бактериальной наноцеллюлозы продуцентом *Medusomyces gisevii* Sa-12 на ферментативном гидролизате продукта щелочной делигнификации мискантуса // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология.* 2019. Т. 9, N 2. С. 260–269. DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-2-260-269

Investigation of bacterial nanocellulose biosynthesis by *Medusomyces gisevii Sa-12* from enzymatic hydrolyzate obtained by alkaline delignification of miscanthus

© Evgenija K. Gladysheva*, Dmitrij S. Golubev*,, Ekaterina A. Skiba***

* Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (IPCET SB RAS), Biysk, Russian Federation
** Biysk Technological Institute, Polzunov Altai State Technical University, Biysk, Russian Federation

Abstract: *A high demand for bacterial nanocellulose (BNC) in various economic sectors has resulted in intensification of studies aimed at searching for ways of reducing the cost of its production. BNC on an industrial scale is obtained using synthetic nutrient media, the cost of which may amount to 30–60% of the total cost of the process. Therefore, the study of BNC biosynthesis using low-cost nutrient media, such as food and cellulosic waste and other alternative sources of raw materials, seems to be highly relevant. The biomass of miscanthus currently used as a raw material for biofuels may become such an alternative source. Miscanthus is characterised by availability, low cost and annual renewability on an industrial scale. This study was aimed at investigating the BNC biosynthesis process from the enzymatic hydrolyzate obtained by alkaline delignification of miscanthus. The delignification process involved treatment of the plant with a dilute sodium hydroxide solution at ambient pressures. Enzymatic hydrolysis of the obtained substrate was carried out in a 11L-fermenter. For the first time, BNC was successfully obtained in a nutrient medium from an enzymatic hydrolyzate produced by alkaline delignification of miscanthus. The symbiotic culture of Medusomyces gisevii Sa-12 characterised by a high adaptive potential was used as a producer. The maximum specific growth rates were 0.360 and 0.384 day^{-1}for yeast and acetic acid bacteria, respectively. Consumption of reducing substances was observed to proceed in two stages: the rate constant of substrate utilisation at the first and the second stages were equal to 0.464 day^{-1} and 0.034 day^{-1}, respectively. The highest yield of BNC was 5.14% on the 14th day of cultivation, which is 1.8 times lower than that on a synthetic nutrient medium. Although the nutrient medium of the enzymatic hydrolyzate obtained by alkaline delignification of miscanthus is not biologically pure, Medusomyces gisevii Sa-12 shows a high technological potential and ability to synthesize a chemically pure BNC even under adverse conditions.*

Keywords: *bacterial nanocellulose, miscanthus, alkaline delignification product, enzymatic hydrolyzate, nutrient medium, Medusomyces gisevii Sa-12, purity*

Acknowledgements: The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project no. 17-19-01054).

Information about the article: Received September 24, 2018; accepted for publication June 7, 2019; available online June 28, 2019.

For citation: Gladysheva E.K., Golubev D.S., Skiba E.A. Investigation of bacterial nanocellulose biosynthesis by *Medusomyces gisevii Sa-12* from enzymatic hydrolyzate obtained by alkaline delignification of miscanthus. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology]. 2019, vol. 9, no. 2, pp. 260–269. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-2-260-269

ВВЕДЕНИЕ

Бактериальная наноцеллюлоза (БНЦ) представляет собой линейный полисахарид, состоящий из глюкозных единиц, связанный *β*-1,4-гликозидными связями. БНЦ не содержит в своем составе примесей лигнина и гемицеллюлоз, содержащихся в растительной целлюлозе, и является экзополисахаридом, вырабатываемом в ходе метаболизма некоторых видов уксуснокислых бактерий [1]. Уникальные свойства, отличающие БНЦ от растительной целлюлозы и других известных полимеров, делают ее применимой в различных областях, таких как пищевая промышленность [2], целлюлозо-бумажная промышленность [3], медицина [4] и др. большой спрос на БНЦ во многих отраслях народного хозяйства вызывает необходимость поиска новых подходов и методов, удешевляющих процесс ее получения.

В настоящее время для получения БНЦ в промышленных масштабах используют синтетические питательные среды. При этом стоимость используемой питательной среды в такого рода производствах может составлять от 30 до 60% от общей стоимости процесса, поэтому исследования биосинтеза БНЦ на питательных средах с низкой стоимостью (из пищевых и целлюлозосодержащих отходов, других альтернативных источников сырья) являются актуальными [5].

В качестве альтернативного источника сырья может выступать недревесное целлюлозосодержащее сырье. Целлюлоза является одним из наиболее распространенных полисахаридов и рассматривается как неисчерпаемый и универсальный источник для получения питательных сред с достаточным содержанием редуцирующих веществ. Эффективным источником целлюлозы является биомасса энергетических (быстрорастущих) растений [6]. В Институте проблем химико-энергетических технологий (ИПХЭТ) СО РАН довольно полно изучены процессы химической и биотехнологической конверсии такого энергетического растения, как мискантус. Мискантус характеризуется доступностью, низкой стоимостью, ежегодной возобновляемостью в промышленных масштабах. Мискантус сорта Сорановский способен дать урожай сухой биомассы в объеме 10–15 т/га в год [7].

Ранее проведенные исследования показали, что ферментативные гидролизаты, полученные из продукта щелочной делигнификации (ПЩД) мискантуса, являются биологически доброкачественными для биосинтеза этанола и не нуждаются в дополнительной технологической обработке и освобождении от вредных примесей [8, 9]. Однако процесс биосинтеза БНЦ значительно сложнее, и успех при использовании в качестве питательной среды ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса не очевиден. Известно, что продуценты БНЦ крайне требовательны к составу питательных сред, и при переходе от синтетических питательных сред к реальным продуктивность продуцентов может резко падать, а среди индивидуальных штаммов могут наблюдаться стихийные мутации с потерей способности к биосинтезу БНЦ [10, 11]. Поэтому некоторые исследователи придерживаются концепции использования консорциумов микроорганизмов для биосинтеза БНЦ в промышленных условиях [12–14]. Например, автором работы [12] в качестве продуцента выбрана симбиотическая культура Medusomyces gisevii Sa-12 (ВКПМ), состоящая из 8–10 родов уксуснокислых бактерий и 15–30 родов дрожжей Данный продуцент характеризуется высоким адаптивным потенциалом, неприхотливостью, способностью утилизировать различные сахара, устойчивостью к фаговым инфекциям [13]. Такие особенности продуцента создают предпосылки для его успешного применения в промышленных условиях при использовании технических питательных сред с низкой себестоимостью.

Целью данной работы являлось изучение процесса биосинтеза БНЦ с помощью продуцента *Medusomyces gisevii* Sa-12 на питательной среде на основе ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использованы две питательные среды:

1) синтетическая глюкозная среда (контроль): для приготовления синтетической глюкозной среды 1 л дистиллированной воды доводили до кипения, добавляли сухой черный байховый чай (10 г/л), настаивали в течении 15 мин, отфильтровывали, затем добавляли глюкозу;

2) питательная среда на основе ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса: мискантус подвергали предварительной химической обработке разбавленным раствором гидроксида натрия на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН при атмосферном давлении и температуре 90–96 °С с целью получения продукта щелочной делигнификации [15]. ПЩД мискантуса имел следующий химический состав (%, в пересчете на а.с.в.): массовая доля кислотонерастворимого лигнина – 3,8; массовая доля золы – 0,3; массовая доля альфа-целлюлозы – 86,5; массовая доля пентозанов – 9,4; общая сумма гидролизуемых компонентов – 95,9. Ферментативный гидролиз ПЩД мискантуса проводили в ферментере объемом 11 $м^3$ в водной среде при 45±2 °С в течение 72 ч. Начальная концентрация субстрата составляла 35 г/л. Для ферментативного гидролиза использовали высокоэффективные мультиэнзимные композиции из промышленных ферментных препаратов «Целлолюкс-А» (ПО «Сиббиофарм», Россия) и BrewZyme BGX («Polfa Tarchomin Pharmaceutical Works S.A.», Польша). Дозировка ФП: 0,04 кг ФП/кг субстрата ФП «Целлолюкс-А» и 0,1 л ФП/кг субстрата ФП «Брюзайм BGX» [16]. Полученный ферментативный гидролизат отфильтровывали от остатков субстрата под вакуумом. Общее количество редуцирующих веществ (РВ) в пересчете на глюкозу составило 31,4 г/л, из них ксилозы – 4,6 г/л. Ферментативный гидролизат ПЩД мискантуса разбавляли до концентрации РВ 25 г/л с целью получения концентрации, обеспечивающей максимальный выход БНЦ [17]. После этого в жидкость вносили навеску сухого черного байхового чая (10 г/л), проводили экстракцию при 100 °С в течение 1 мин, охлаждали естественным путем и фильтровали.

На полученных питательных средах проводили биосинтез БНЦ. В качестве продуцента использовали 14-дневную симбиотическую культуру *Medusomyces gisevii* Sa-12 [13]. В питательные среды продуцент вносили в виде жидкости в количестве 10% от объема питательной среды. Биосинтез БНЦ проводили в выявленных ранее оптимальных условиях, полученных в результате проведенных экспериментов и отвечающих максимальному выходу БНЦ в питательной среде [17]: культура – стационарная; температура – 27 °С; начальная концентрация РВ – 25 г/л; содержание экстрактивных веществ черного чая – 3,2 г/л; pH регулируется симбиотической культурой. Культивирование проводили в суховоздушном термостате, продолжительность культивирования – 24 сут.

После завершения культивирования гель-пленки БНЦ отделяли от культуральной среды, поэтапно промывали разбавленными растворами гидроксида натрия и соляной кислоты с последующей нейтрализацией дистиллированной водой до полного удаления клеток микроорганизмов и красящих веществ питательной среды.

Количество дрожжей и уксуснокислых бактерий исследовали с помощью микроскопа B-150 Optika. Для определения уровня активной кислотности использовали иономер И-160 МИ. Концентрацию РВ в пересчете на глюкозу контролировали с помощью динитросалицилового реактива спектрофотометрическим методом (спектрофотометр «UNICOUV-2804», США). Выход БНЦ определяли как отношение сухой массы БНЦ к концентрации редуцирующих веществ в питательной среде, умноженное на 100%.

Константа скорости утилизации субстрата или синтеза продукта (бактериальной наноцеллюлозы) рассчитана по формуле [18]:

$$K_{у.с.(с.п.)} = \frac{lnS_1/S_2 \text{ или } lnC_1/C_2}{t_2 - t_1} \quad (1),$$

где $K_{у.с.}$ – константа утилизации субстрата, сут.$^{-1}$; $K_{с.п.}$ – константа синтеза продукта, сут.$^{-1}$; S_1, S_2 – концентрация РВ в начальный и конечный момент соответственно; C_1, C_2 – масса продукта в начальный и конечный момент времени соответственно; t_1, t_2 – начальный и конечный момент времени соответственно.

Химическое строение полученного образца БНЦ исследовали на инфракрасном спектрофотометре (ИК) Инфралюм ФТ-801 в диапазоне частот 4000–500 см$^{-1}$. Для съемки спектров использовали приставку НПВО.

Каждая экспериментальная точка соответствует среднему значению результатов трех параллельных опытов. Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Шапиро – Уилка, для доказательства наличия значимых различий между средними применяли однофакторный дисперсионный анализ по методу Фишера. Различия между экспериментальными данными считали статистически значимыми при $p \leq 0{,}05$. Статистические расчеты осуществляли с помощью программного пакета Microsoft Excel 2010 и Microsoft Word 2010.

Работа выполнена при использовании оборудования Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На рис. 1 показано изменение количества микроорганизмов в процессе культивирования *Medusomyces gisevii* Sa-12 на синтетической глюкозной среде (контроль) и на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса.

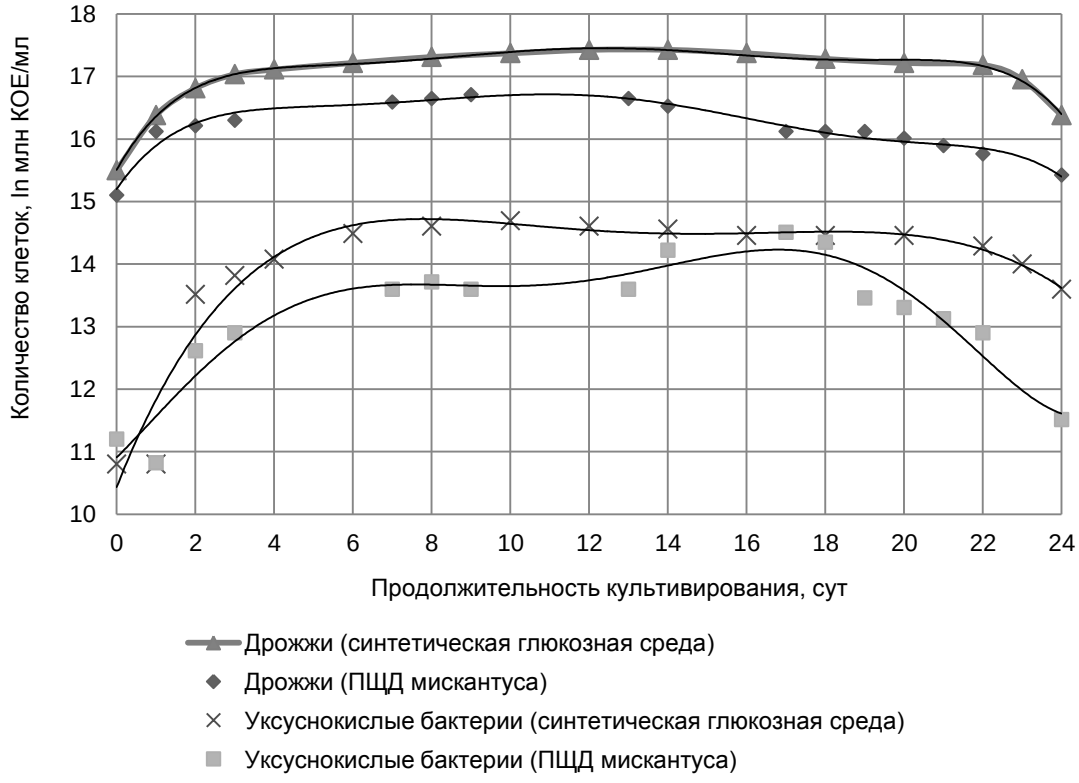

Рис. 1. Изменение количества дрожжей и уксуснокислых бактерий

Fig. 1. Change in the number of yeast and acetic acid bacteria

Из графиков, представленных на рис. 1, видно, что в процессе культивирования *Medusomyces gisevii* Sa-12 на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса характер изменения количества дрожжей и уксуснокислых бактерий отличается. Количество дрожжей увеличивается в течение первых 8 суток культивирования, с 9 по 13 сутки наблюдается стационарная фаза, далее следует фаза отмирания. Увеличение количества уксуснокислых бактерий наблюдается до 17 суток культивирования, затем – фаза отмирания. Графический расчет [19] максимальных удельных скоростей роста дрожжей и уксуснокислых бактерий на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса показал, что они практически одинаковы и составляют: для дрожжей – 0,360 сут.$^{-1}$, для уксуснокислых бактерий – 0,384 сут.$^{-1}$. На синтетической глюкозной среде количество дрожжей и уксуснокислых бактерий выше, чем на среде ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса. Это косвенно свидетельствует о биологической недоброкачественности гидролизной среды.

Большее количество клеток дрожжей по сравнению с уксуснокислыми бактериями в питательной среде, согласуется с литературными данными [13]. Благодаря особому варианту обмена веществ дрожжи перерабатывают РВ в этанол, потребляемый уксуснокислыми бактериями, а те в свою очередь синтезируют гельпленку БНЦ для защиты дрожжей от окружающей среды [13, 14].

Изменение уровня активной кислотности представлено на рис. 2.

Измерение активной кислотности в процессе культивирования *Medusomyces gisevii* Sa-12 на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса показывает снижение pH на протяжении всего эксперимента: от 4,1 в начале исследования до 3,06 в завершении. Сравнение кривых изменения pH на синтетической глюкозной среде и на среде ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса указывает на более низкое снижение pH на синтетической глюкозной среде. Это связано с большим количеством уксуснокислых бактерий (см. рис. 1). Снижение активной кислотности свидетельствует о накоплении органических кислот (уксусная, глюконовая и др.) и других продуктов жизнедеятельности симбиотической культуры в процессе культивирования [13].

Изменение концентрации РВ в процессе культивирования *Medusomyces gisevii* Sa-12 на синтетической глюкозной среде (контроль) и на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса представлена на рис. 3, изменение выхода БНЦ – на рис. 4.

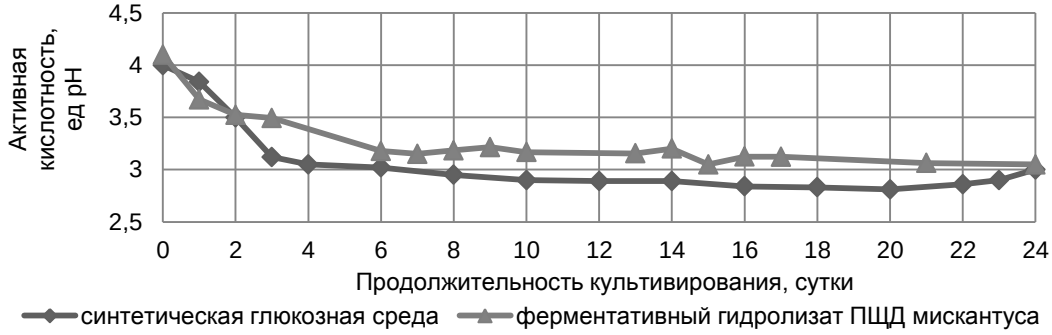

Рис. 2. Изменение уровня активной кислотности (величина стандартного отклонения – ±0,1 ед. pH)

Fig. 2. Change in the level of active acidity (standard deviation value – ±0.1 pH units)

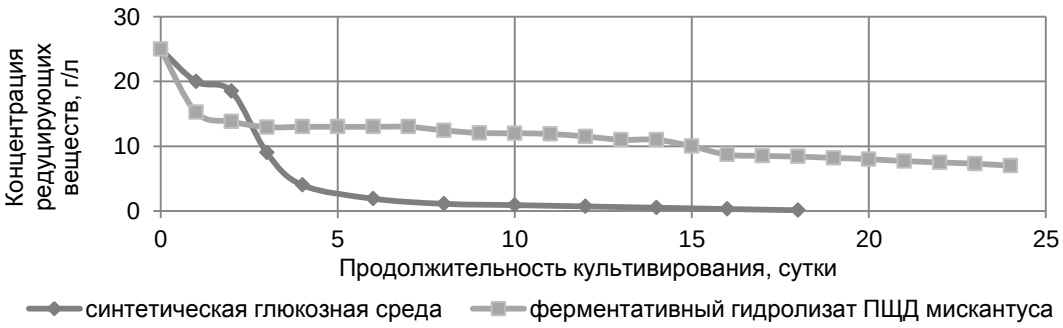

Рис. 3. Зависимость концентрации РВ от продолжительности культивирования (величина стандартного отклонения – ±2,0 г/л)

Fig. 3. Relationship between duration of cultivation and concentration of reducing substances (standard deviation – ±2.0 g/l)

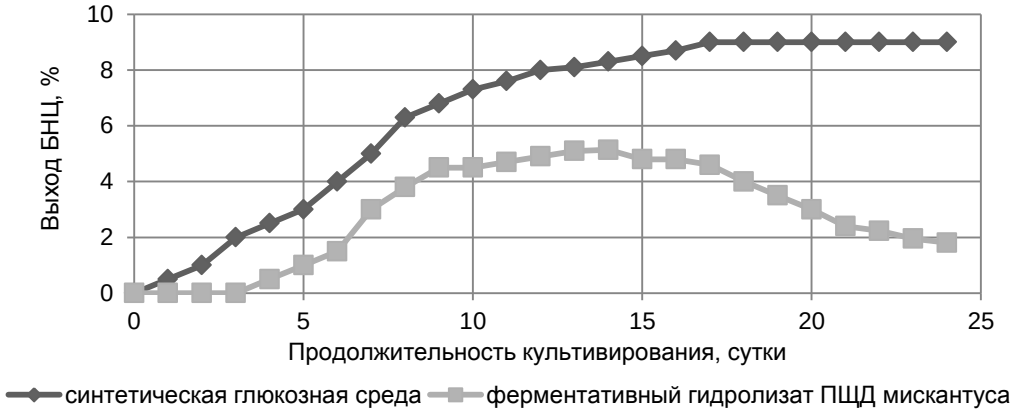

Рис. 4. Зависимость выхода БНЦ от продолжительности культивирования (величина стандартного отклонения – ±0,5%)

Fig. 4. Relationship between duration of cultivation and bacterial nanocellulose yield (standard deviation is ±0.5%)

Потребление субстрата микроорганизмами на питательной среде ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса происходило в два этапа: в первые сутки культивирования константа скорости утилизации РВ составила 0,464 сут.$^{-1}$, с 2 по 24 – 0,034 сут.$^{-1}$. Различия в скорости утилизации РВ на разных этапах процесса потребления РВ *Medusomyces gisevii* Sa-12 можно объяснить тем, что в первые сутки культивирования РВ активно потребляются дрожжами (при этом дрожжи выделяют этанол, который стимулирует биосинтез БНЦ уксуснокислыми бактериями [13], а в последующие сутки РВ медленно расходуются на поддержание жизнедеятельности образовавшихся микроорганизмов. Потребление РВ в два этапа характерно для продуцента *Medusomyces gisevii* Sa-12 и наблюдалось на ферментативном гидролизате ПЩД плодовых оболочек овса [20].

Ферментативный гидролизат ПЩД мискантуса является преимущественно глюкозным, концентрация ксилозы до внесения инокулята составила 3,5 г/л. На 7-е сут. культивирования концентрация РВ в гидролизате в пересчете на глюкозу снизилась до 12,5 г/л, при этом количество ксилозы практически не изменилось и составило 3,03 г/л. Концентрация РВ через 24 сут. культивирования в питательной среде составила 7 г/л, из них концентрация ксилозы составила 1,17 г/л. Высокое остаточное содержание РВ в питательной среде ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса по сравнению с синтетической глюкозной средой предположительно связано с низкой активностью процессов жизнедеятельности микроорганизмов, входящих в симбиоз.

В первые трое суток культивирования *Medusomyces gisevii* Sa-12 на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса не наблюдалось четко выраженной гель-пленки БНЦ на поверхности питательной среды, тонкая гель-пленка БНЦ образовалась на 6 сутки культивирования. С 6 по 9 сутки культивирования константа скорости синтеза продукта составила 0,366 сут.$^{-1}$, с 9 по 14 – 0,027 сут.$^{-1}$. Из этого можно сделать вывод, что основной прирост БНЦ происходил с 6 по 9 сутки культивирования (при этом выход БНЦ увеличился с 1,5 до 4,5%). С 6 по 14 сутки выход БНЦ увеличился до 5,14%. После 14 суток и до конца культивирования выход БНЦ снижался, что указывает на происходившие процессы деструкции. Деструкция БНЦ на среде ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса предположительно связана с присутствием в питательной среде ингибирующих веществ, которые также негативно влияют на микроорганизмы, водящие в симбиоз, о чем свидетельствует высокое остаточное содержание РВ. Деструкция БНЦ после 14 суток культивирования наблюдалась на среде ферментативного гидролизата ПЩД плодовых оболочек овса и описана в работе [20]. Выход БНЦ на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса в 1,8 раз ниже, чем на синтетической среде. Снижение выхода также указывает на наличие в гидролизате ингибирующих веществ. Присутствие ингибирующих веществ в ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса предположительно связано с неполным удалением ионов натрия и продуктов делигнификации, образующихся на стадии одностадийной обработки мискантуса гидроксидом натрия. Таким образом, питательная среда ферментативного гидролизата ПЩД мискантуса не является доброкачественной для биосинтеза БНЦ: субстрат расходуется нецелевым образом, скорость биосинтеза БНЦ и ее выход низкие.

На рис. 5 представлен ИК-спектр образца БНЦ, полученного на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса.

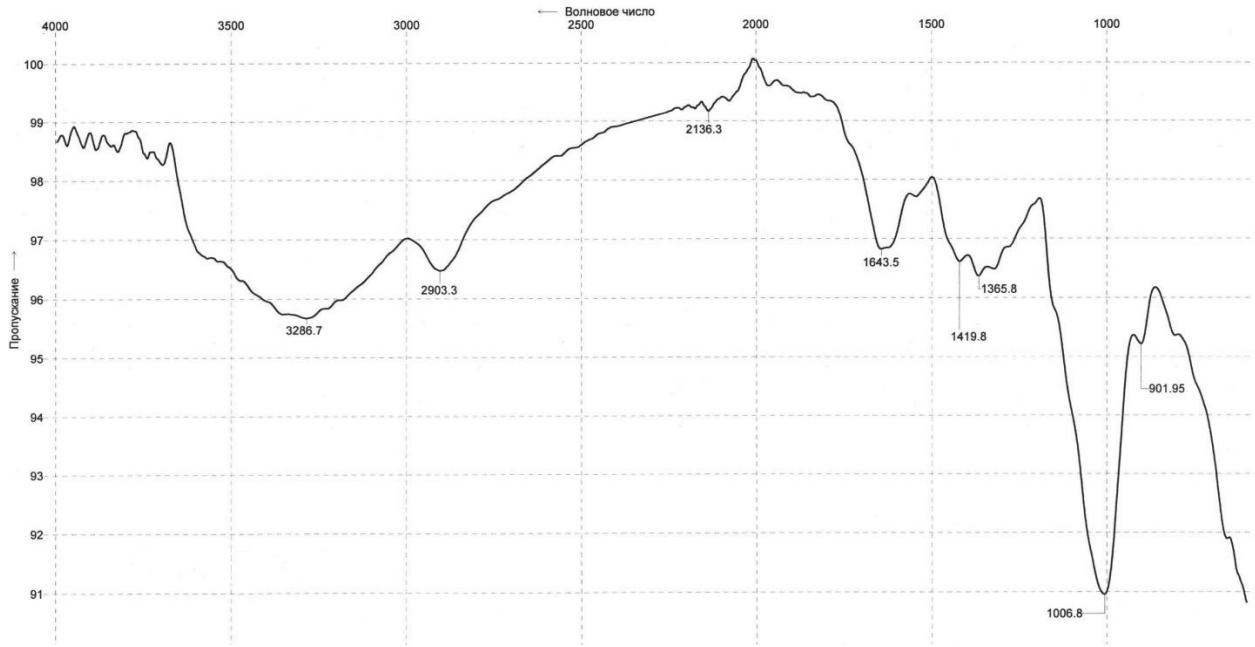

Рис. 5. ИК-спектр БНЦ

Fig. 5. IR spectrum of bacterial nanocellulose

Интенсивная полоса при 3287 $см^{-1}$ указывает на валентные колебания ОН-групп. Менее интенсивная полоса при 2903 $см^{-1}$ характеризует валентные колебания групп CH_2, СН. Полоса при 1644 $см^{-1}$ принадлежит деформационным колебаниям ОН-групп прочно связанной воды. Слабая полоса поглощения при 1420 $см^{-1}$ обусловлена деформационным колебанием групп CH_2, при 1366 $см^{-1}$ – деформационным колебаниям групп ОН в CH_2OH. Полоса поглощения при 1007 $см^{-1}$ обусловлена валентными колебаниями С-О-С и С-О в спиртах[1].

Таким образом, методом ИК-спектроскопии исследовано химическое строение образца БНЦ и подтверждено, что БНЦ, полученная на ферментативном гидролизате ПЩД мискантуса, является чистым соединением, содержащим только целлюлозу. Это интересный результат, свидетельствующий не только о высокой адаптивной способности *Medusomyces gisevii* Sa-12, позволившей культуре приспособиться к неблагоприятным условиям биологически недоброкачественной среды, но также показывающий высокий технологический потенциал симбиотической культуры: даже в неблагоприятных условиях продуцент синтезирует химически чистую БНЦ, хотя и со снижением ее выхода.

ВЫВОДЫ

Впервые исследован процесс биосинтеза БНЦ симбиотической культурой *Medusomyces gisevii* Sa-12 на питательной среде на основе ферментативного гидролизата продукта щелочной делигнификации мискантуса.

Выявлено, что выход БНЦ составляет 5,14% на 14 сутки культивирования, что 1,8 раз меньше, чем выход на синтетической питательной среде.

Установлено, что питательная среда на основе ферментативного гидролизата продукта щелочной делигнификации мискантуса не является биологически доброкачественной для биосинтеза БНЦ.

Методом инфракрасной спектроскопии установлено, что БНЦ, синтезированная на питательной среде на основе ферментативного гидролизата продукта щелочной делигнификации мискантуса, является химически чистым соединением, содержащим только целлюлозу, что свидетельствует о высоком адаптивном потенциале симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* Sa-12. Высокий технологический потенциал данного симбиотического сообщества указывает на перспективность его инженерного применения.

[1] Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. В 2 ч. Ч. II. СПб.: Профессионал, 2007. 1144 с. / *Novyi spravochnik khimika i tekhnologa. Syr'e i produkty promyshlennosti organicheskikh i neorganicheskikh veshchestv* [A New Handbook of Chemist and Engineer. Raw Materials and Organic and Inorganic Industry Products]. St. Petersburg: Professional Publ., 2006, 1142 p.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Lee K.-Y., Buldum G., Mantalaris A., Bismarck A. More than meets the eye in bacterial cellulose: boisynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites // Macromolecular Bioscience. 2014. Vol. 14. N 1. P. 10–32. DOI: 10.1002/mabi.201300298

2. Shi Z., Zhang Y., Phillips G.O., Yang G. Utilization of bacterial cellulose in food // Food Hydrocolloids. 2014. Vol. 35. P. 539–545. DOI: org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.012

3. Santos S.M., Carbajo J.M., Gómez N., Ladero, M., Villar J.C. Paper reinforcing by in situ growth of bacterial cellulose // Journal of Materials Science. 2017. Vol. 52. Issue 10. P. 5882–5893. DOI: 10.1007/s10853-017-0824-0

4. Rajwade J.M., Paknikar K.M., Kumbhar J.V. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine // Applied Microbiology and Biotechnology. 2015. Vol. 99. Issue 6. P. 2491–2511. DOI: 10.1007/s00253-015-6426-3

5. Molina-Ramírez C., Castro C., Zuluaga R., Gañán P. Physical characterization of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter medellinensis* using food supply chain waste and agricultural by products as alternative low-cost feedstocks // Journal of Polymers and the Environment. 2018. Vol. 26. Issue 2. P. 830–837. DOI: 10.1007/s10924-017-0993-6

6. Octave S., Thomas D. Biorefinery: toward an industrial metabolism // Biochimie. 2009. Vol. 91. No. 6. P. 659–664. DOI: 10.1016/j.biochi.2009.03.015

7. Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V., Veprev S.G., Sakovich G.V., Shumny V.K. Cellulose from various parts of Soranovskii Miscanthus // Russian Journal of Genetics: Applied Research. 2015. Vol. 5. Issue 1. P. 60–68. DOI: 10.1134/S2079059715010049

8. Скиба Е.А., Байбакова О.В. О влиянии условий сбраживания на выход биоэтанола из мискантуса через химическую стадию щелочной делигнификации // Ползуновский вестник. 2015. Т. 2. N 4. С. 112–116.

9. Байбакова О.В., Скиба Е.А., Будаева В.В., Золотухин В.Н. Щелочная делигнификация недревесного целлюлозосодержащего сырья в условиях опытного производства // Ползуновский вестник. 2016. Т. 1. N 4. С. 147–151.

10. Ross P., Mayer R., Benziman M. Cellulose Biosynthesis and Function in Bacteria // Microbiological Reviews. 1991. Vol. 55. No. 1. P. 35–58.

11. Krystynowicz A., Czaja W., Wiktorowska-Jezierska A., Gonçalves-Miśkiewicz M., Turkiewicz M., Bielecki S. Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2002. Vol. 29. Issue 4. P. 189–195. https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000303

12. Gama M., Dourado F., Bielecki S. Bacterial nanocellulose. From Biotechnology to Bio-Economy. Amsterdam: Elsevier, 2016. 240 p.

13. Yurkevich D.I., Kutyshenko V.P. *Medusomyces* (Tea fungus): A scientific history, composition, features of physiology and metabolism // Biophysics. 2002. Vol. 47. No. 6. P. 1035–1048.

14. Chakravorty S., Bhattacharya S., Chatzinotas A., Chakraborty W., Bhattacharya D., Gachhui R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics // International Journal of Food Microbiology. 2016. Vol. 220. P. 63–72. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015

15. Skiba E.A., Baibakova O.V., Budaeva V.V., Pavlov I.N., Vasilishin M.S., Makarova E.I., Sakovich G.V., Ovchinnikova E.V., Banzaraktsaeva S.P., Vernikovskaya N.V., Chumachenko V.A. Pilot technology of ethanol production from oat hulls for subsequent con-version to ethylene // Chemical Engineering Journal. 2017. Vol. 329. P. 178–186. DOI: 10.1016/j.cej.2017.05.182

16. Makarova E.I., Budaeva V.V., Kukhlenko A.A., Orlov S.E. Enzyme kinetics of cellulose hydrolysis of Miscanthus and oat hulls // 3 Biotech. 2017. Vol. 7. No. 5. P. 317. DOI: 10.1007/s13205-017-0964-6

17. Gladysheva E.K., Skiba E.A., Zolotukhin V.N., Sakovich G.V. Study of the conditions for the biosynthesis of bacterial cellulose by the producer *Medusomyces gisevii* Sa-12 // Applied Biochemistry and Microbiology. 2018. Vol. 54. No. 2. P. 179–187. DOI: 10.1134/S0003683818020035

18. Яровенко В.Л., Маринченко В.А., Смирнов В.А. Технология спирта. М.: Колос, 1999. 464 с.

19. Варфоломеев С.Д, Гуревич К.Г. Биокинетика: практический курс. М.: ФАИР-Пресс, 1999. 720 с.

20. Гладышева Е.К. Исследование процесса биосинтеза бактериальной целлюлозы на ферментативном гидролизате волокнистого продукта плодовых оболочек овса // Фундаментальные исследования. 2016. N 11-2. С. 260–265.

REFERENCES

1. Lee K.-Y., Buldum G., Mantalaris A., Bismarck A. More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. *Macromolecular Bioscience*. 2014, vol. 14, no. 1, pp. 10–32. DOI: 10.1002/mabi.201300298

2. Shi Z., Zhang Y., Phillips G.O., Yang G. Utilization of bacterial cellulose in food. *Food Hydrocolloids*. 2014, vol. 35, pp. 539–545. DOI: org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.012

3. Santos S.M., Carbajo J.M., Gómez N., Ladero, M., Villar J.C. Paper reinforcing by in situ growth of bacterial cellulose. *Journal of Materials Science.* 2017, vol. 52, issue 10, pp. 5882–5893. DOI: 10.1007/s10853-017-0824-0

4. Rajwade J.M., Paknikar K.M., Kumbhar J.V. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2015, vol. 99, issue 6, pp. 2491–2511. DOI: 10.1007/s00253-015-6426-3

5. Molina-Ramírez C., Castro C., Zuluaga R., Gañán P. Physical characterization of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter medellinensis* using food supply chain waste and agricultural by-products as alternative low-cost feedstocks. *Journal of Polymers and the Environment*. 2018, vol. 26, issue 2, pp. 830–837. DOI: 10.1007/s10924-017-0993-6

6. Octave S., Thomas D. Biorefinery: toward an industrial metabolism. *Biochimie.* 2009, vol. 91, no. 6, pp. 659–664. DOI: 10.1016/j.biochi.2009.03.015

7. Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V., Veprev S.G., Sakovich G.V., Shumny V.K. Cellulose from various parts of Soranovskii Miscanthus. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2015, vol. 5, issue 1, pp. 60–68. DOI: 10.1134/S2079059715010049

8. Skiba E.A., Baibakova O.V. On the effect of fermentation conditions on Miscanthus bioethanol yield through chemical stage of alkaline delignification. *Polzunovskii vestnik.* 2015, vol. 2, no. 4, pp. 112–116. (In Russian)

9. Baibakova O.V., Skiba E.A., Budaeva V.V., Zolotukhin V.N. Alkaline delignification of non-woody cellulosic feedstocks under pilot production conditions. *Polzunovskii vestnik.* 2016, vol. 1, no. 4, pp. 147–151. (In Russian)

10. Ross P., Mayer R., Benziman M. Cellulose Biosynthesis and Function in Bacteria. *Microbiological Reviews*. 1991, vol. 55, no. 1, pp. 35–58.

11. Krystynowicz A., Czaja W., Wiktorowska-Jezierska A., Gonçalves-Miśkiewicz M., Turkiewicz M., Bielecki S. Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.* 2002, vol. 29, issue 4, pp. 189–195. https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000303

12. Gama M., Dourado F., Bielecki S. *Bacterial nanocellulose. From Biotechnology to Bio-Economy*. Amsterdam: Elsevier, 2016, 240 p.

13. Yurkevich D.I., Kutyshenko V.P. *Medusomyces* (Tea fungus): A scientific history, composition, features of physiology and metabolism. *Biophysics.* 2002, vol. 47, no. 6, pp. 1035–1048.

14. Chakravorty S., Bhattacharya S., Chatzinotas A., Chakraborty W., Bhattacharya D., Gachhui R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*. 2016, vol. 220, pp. 63–72. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015

15. Skiba E.A., Baibakova O.V., Budaeva V.V., Pavlov I.N., Vasilishin M.S., Makarova E.I., Sakovich G.V., Ovchinnikova E.V., Banzaraktsaeva S.P., Vernikovskaya N.V., Chumachenko V.A. Pilot technology of ethanol production from oat hulls for subsequent conversion to ethylene. *Chemical Engineering Journal*. 2017, vol. 329, pp. 178–186. DOI: 10.1016/j.cej.2017.05.182

16. Makarova E.I., Budaeva V.V., Kukhlenko A.A., Orlov S.E. Enzyme kinetics of cellulose hydrolysis of Miscanthus and oat hulls. *3 Biotech.* 2017, vol. 7, no. 5, pp. 317. DOI: 10.1007/s13205-017-0964-6

17. Gladysheva E.K., Skiba E.A., Zolotukhin V.N., Sakovich G.V. Study of the conditions for the biosynthesis of bacterial cellulose by the producer *Medusomyces gisevii* Sa-12. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2018, vol. 54, no. 2, pp. 179–187. DOI: 10.1134/S0003683818020035

18. Yarovenko V.L., Marinchenko V.A., Smirnov V.A. *Tekhnologiya spirta* [Technology of alcohol]. Moscow: Kolos Publ., 1999, 464 p.

19. Varfolomeev S.D, Gurevich K.G. *Biokinetika: prakticheskii kurs* [Biokinetics: practical course]. Moscow: FAIR-Press Publ., 1999, 720 p.

20. Gladysheva E.K. Study into biosynthesis process of bacterial cellulose on enzymatic hydrolyzate of oat hull pulp. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2016, no. 11–2, pp. 260–265. (In Russian)

Критерии авторства

Гладышева Е.К., Голубев Д.С., Скиба Е.А. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Гладышева Е.К., Голубев Д.С., Скиба Е.А. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Contribution

Evgenija K. Gladysheva, Dmitrij S. Golubev, Ekaterina A. Skiba carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Evgenija K. Gladysheva, Dmitrij S. Golubev, Ekaterina A. Skiba have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гладышева Евгения Константиновна, ✉
к.т.н., младший научный сотрудник
лаборатории биоконверсии,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
e-mail: evg-gladysheva@yandex.ru

AUTHORS' INDEX

Evgenija K. Gladysheva, ✉
Ph.D. (Engineering), Junior Researcher
of Bioconversion Laboratory,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies SB RAS,
e-mail: evg-gladysheva@yandex.ru

Голубев Дмитрий Сергеевич,
студент,
Бийский технологический институт (филиал)
«Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова»,
инженер лаборатории биоконверсии,
Институт проблем химико-энергетических тех-
нологий СО РАН,
e-mail: reklatekoy@gmail.com

Скиба Екатерина Анатольевна,
к.т.н., доцент, старший научный сотрудник
лаборатории биоконверсии,
Институт проблем химико-энергетических
технологий СО РАН,
e-mail: eas08988@mail.ru

Dmitrij S. Golubev,
Student,
Biysk Technological Institute Polzunov Altai
State Technical University,
Engineer of Bioconversion Laboratory,
Institute for Problems of Chemical and Energetic
Technologies SB RAS,
e-mail: reklatekoy@gmail.com

Ekaterina A. Skiba,
Ph.D. (Engineering), Associate Professor,
Senior Researcher of Bioconversion Laboratory,
Institute for Problems of Chemical
and Energetic Technologies SB RAS,
e-mail: eas08988@mail.ru