

А. Н. Шакиров (асп.)¹, К. Р. Кудашева (магистрант)¹,
Н. И. Петухова (к.б.н., доц.)¹, В. В. Зорин (чл. корр. АН РБ, д.х.н., проф., зав. каф.)^{1, 2}

БИОКАТАЛИЗАТОР НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ *RHODOCOCCLUS RUBER* VKM AC-1167 И БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ ДЛЯ ТРАНСФОРМАЦИИ АКРИЛАМИДА В АКРИЛГИДРОКСАМОВУЮ КИСЛОТУ

¹ Уфимский государственный нефтяной технический университет,
кафедра биохимии и технологии микробиологических производств
450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: orionii@mail.ru

² Академия наук Республики Башкортостан, Отделение химических технологий и новых материалов
450008, г. Уфа, ул. Кирова, 15; e-mail: zorinbiochemtech@mail.ru

A. N. Shakirov, K. R. Kudasheva, N. I. Petukhova, V. V. Zorin

BIOCATALYST BASED ON *RHODOCOCCLUS RUBER* VKM AC-1167 BACTERIA AND BACTERIAL CELLULOSE FOR THE TRANSFORMATION OF ACRYLAMIDE INTO ACRYLHYDROXAMIC ACID

¹ Ufa State Petroleum Technological University
1, Kosmonavtov Str., 450064, Ufa, Russia; e-mail: orionii@mail.ru

² Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan
15, Kirova Str., 450008, Ufa, Russia; e-mail: zorinbiochemtech@mail.ru

Изучен процесс биотрансформации акриламида в акрилгидроксамовую кислоту с помощью биомассы бактерий *Rhodococcus ruber* VKM Ac-1167, обладающих амидазной активностью. На основе гелевой пленки бактериальной целлюлозы, синтезированной с помощью бактерий *Komagataeibacter sucrofermentans* VKPM B-13858, создан биокатализатор с иммобилизованными клетками бактерий *Rhodococcus ruber* VKM Ac-1167. Показано, что биокатализатор стабильно конвертирует акриламид в акрилгидроксамовую кислоту с выходом около 60% в течение 7 циклов трансформации.

Ключевые слова: амидаза; бактериальная целлюлоза; биокатализ; гидроксамовая кислота; *Rhodococcus ruber*; иммобилизация

Амидазы (или амидогидролазы), благодаря своей гидролитической и ацилтрансферазной активности по отношению к C–N связям, являются универсальными биокатализаторами, способными гидролизовать широкий спектр амидов (алифатические амиды, ариламины, α -аминоамиды и α -гидроксиамиды), проявляя высокую устойчивость при экстремальных значениях pH и температуры¹.

Дата поступления 22.01.26

The biotransformation of acrylamide into acrylohydroxamic acid using the biomass of *Rhodococcus ruber* VKM Ac-1167 bacteria, which exhibit amidase activity, was studied. A biocatalyst with immobilized *Rhodococcus ruber* VKM Ac-1167 cells was created using a bacterial cellulose gel film synthesized using *Komagataeibacter sucrofermentans* VKPM B-13858 bacteria. The biocatalyst was shown to stably convert acrylamide into acrylohydroxamic acid with a yield of approximately 60% over seven transformation cycles.

Key words: amidase; bacterial cellulose; biocatalysis; hydroxamic acid; *Rhodococcus ruber*; immobilization

В промышленности амидазы в сочетании с нитрилгидратазами используются для производства коммерчески важных органических кислот (акриловой кислоты, *n*-аминобензойной кислоты, пиразиновой кислоты, никотиновой кислоты и т. д.) в процессе биотрансформации нитрилов².

Перспективным направлением в применении амидаз микроорганизмов является биотрансформация амидов в присутствии гидроксилamina

с образованием гидроксамовых кислот, которые представляют собой важный класс соединений, имеющих большое практическое значение. Благодаря своей способности хелатировать ионы переходных металлов, гидроксамовые кислоты и полимеры с гидроксамовыми группами широко используются в качестве агентов при извлечении тяжелых и редкоземельных металлов. Кроме того, в последнее время эти соединения находят все большее применение в качестве биологически активных веществ (инсектицидов, противогрибковых и противомикробных средств, а также противовирусных и противораковых соединений, препаратов против болезни Альцгеймера и др.)³⁻⁷.

Известно, что гидроксамовые кислоты синтезируют путем N-ацилирования гидроксилamina и его O- или N-замещенных производных различными ацилирующими агентами. Однако при необходимости проведения моноацилирования гидроксилamina, легко осуществляемого с помощью большинства ацилирующих агентов, могут также образовываться ди- и триацильные производные в процессе замещения оставшихся протонов при атомах азота и кислорода в остатке гидроксилamina, что приводит к снижению выхода и чистоты получаемого продукта. Кроме того, при использовании оптически активных ацилирующих агентов энантиомерная чистота продукта зачастую снижается.

Биокаталитический синтез гидроксамовых кислот с помощью амидаз микроорганизмов может протекать энантиоселективно, позволяя в процессе кинетического разделения рацемических амидов карбоновых кислот получать в мягких условиях высоко энантиомерно чистые продукты¹.

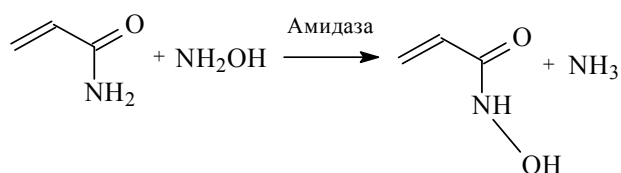
Синтезировать амидазы могут бактерии, дрожжи, грибы, растения и животные^{8,9}. Перспективными для использования в промышленности продуцентами амидаз являются бактерии рода *Rhodococcus*^{10,11}, клетки которых могут работать даже в экстремальных условиях¹².

Использование в качестве биокатализатора иммобилизованных клеток бактерий повышает их стабильность при хранении, облегчает отделение продуктов при повторном использовании в случае проведения биотрансформации в периодических условиях, а в случае непрерывного процесса - избежать вымывания энзиматически активной биомассы из биореактора¹¹.

В последние годы в качестве перспективного носителя для иммобилизации микроорганизмов рассматривается бактериальная целлюлоза, обладающая уникальной трехмерной структурой, высокой прочностью, влагоудерживающей способностью, а также совместимостью с живыми организмами¹³⁻¹⁵. На основе гелевых пленок бактериальной целлюлозы и

клеток различных микроорганизмов созданы биокатализаторы для трансформации органических соединений¹⁶⁻¹⁹, системы доставки пробиотиков²⁰, компоненты биоэлектрокаталитических устройств (биосенсоров, микробных топливных ячеек)^{21,22}, сорбенты для адсорбции тяжелых металлов²³, повязки с антимикробными свойствами для лечения ран²⁴, упаковки для пищевых продуктов²⁵ и т.д.

Целью настоящей работы являлось исследование возможности применения бактериальной целлюлозы в качестве носителя для разработки биокатализатора, пригодного для трансформации амидов в гидроксамовые кислоты. В качестве субстрата использовали акриламид:



На первом этапе исследования осуществляли поиск перспективных штаммов бактерий, обладающих амидазной активностью. Для этого проводили экспресс-тестирование бактерий видов *R. erythropolis* (штаммы A25, A4-72, A18-19 и VKM Ac-1161) и *R. ruber* (штамм VKM Ac-1167), направленное на выявление способности клеток катализировать реакцию переноса ацильного остатка амида на молекулу гидроксилamina с образованием гидроксамовых кислот, которые в присутствии ионов Fe^{3+} дают окрашенные комплексы. Биомассу микроорганизмов для трансформации акриламида получали на питательной среде (рыбном агаре), содержащей 1% глюкозы в качестве основного источника углерода.

В результате исследования амидазная (ацилтрансферазная) активность в отношении акриламида была обнаружена у всех исследованных штаммов родококков (рис. 1).

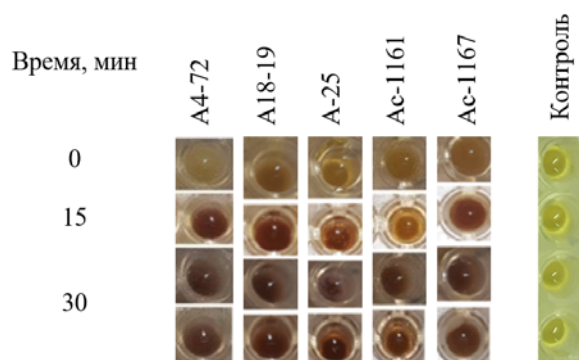


Рис. 1. Результаты тестирования амидазной активности родококков

На втором этапе для наиболее активного штамма *R. ruber* VKM Ac-1167 была подобрана

питательная среда, обеспечивающая получение высокоактивной биомассы бактерий.

В ходе разработки питательной среды было обнаружено, что для получения энзиматически активной биомассы *R. ruber* VKM Ac-1167 более эффективным источником углерода является глицерин. В присутствии биомассы, полученной на среде с глицерином, начальная скорость реакции в 2.5 раза больше, чем у клеток, выращенных на среде с глюкозой (рис. 2).

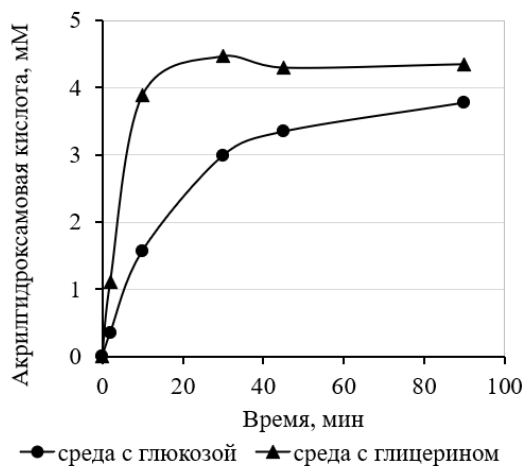


Рис. 2. Кинетика накопления акрилгидроксамовой кислоты в присутствии биомассы *R. ruber* VKM Ac-1167, выращенной на средах с глюкозой и глицерином

Установлено, что добавление в содержащую глицерин питательную среду акриламида в концентрации 1 г/л с целью индукции синтеза амидазы приводит к увеличению в 2.3 раза амидазной активности клеток *R. ruber* VKM Ac-1167 по сравнению с контролем (рис. 3). Однако, в более высокой концентрации (5 г/л) акриламид оказывает негативное действие, почти полностью подавляя активность биомассы.

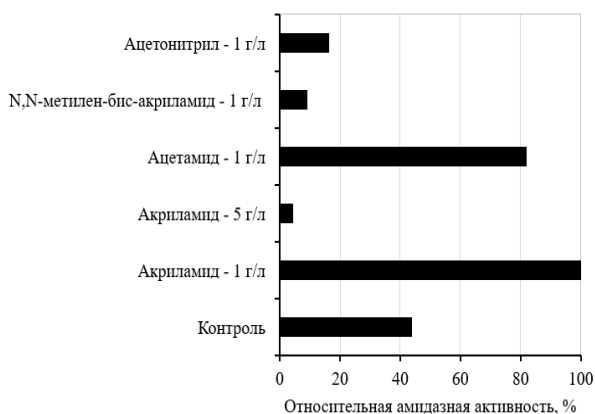


Рис. 3. Амидазная активность биомассы, полученной культивированием бактерий *R. ruber* VKM Ac-1167 на средах с различными индукторами

Исследование возможности использования вместо акриламида других потенциальных индукторов амидаз, представленных на рис. 3, показало,

что ацетамид в концентрации 1 г/л также вызывает увеличение амидазной активности в 1.9 раз по сравнению с контролем. Однако, он уступает по эффективности акриламиду, используемому в той же концентрации. Другие соединения, такие как N,N-метилден-бис-акриламид и ацетонитрил, напротив, уже в концентрации 1 г/л существенно снижают амидазную активность биомассы *R. ruber* VKM Ac-1167.

Стимулирующий эффект в отношении амидазной активности биомассы *R. ruber* VKM Ac-1167 был получен также при добавлении в питательную среду карбамида (рис. 4). При этом наибольшая амидазная активность была достигнута при концентрации карбамида 10 г/л.

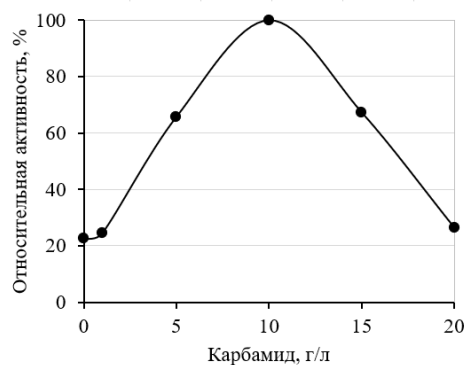


Рис. 4. Влияние концентрации карбамида на амидазную активность биомассы двухсуточной культуры *R. ruber* VKM Ac-1167

Сравнение выхода биомассы, полученной с одной чашки Петри при культивировании бактерий в присутствии акриламида (1 г/л) и карбамида (10 г/л), а также ее амидазной активности показало, что более эффективной является карбамидсодержащая среда (рис. 5). В случае применения карбамида высокоактивная биомасса образуется в течение 2 сут культивирования. При этом ее выход и амидазная активность на 37 и 38 %, соответственно, больше, чем у биомассы, полученной на среде с акриламидом.

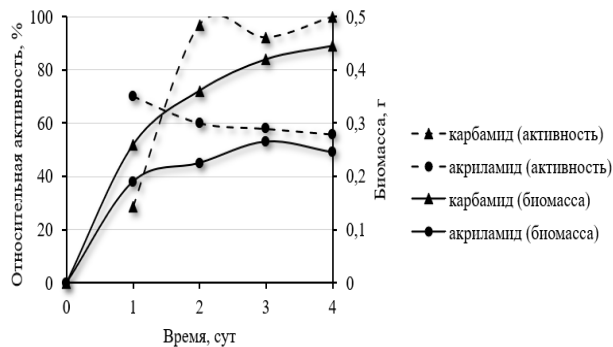


Рис. 5. Динамика роста микроорганизмов и изменения амидазной активности клеток при культивировании *R. ruber* VKM Ac-1167 в присутствии акриламида (1 г/л) и карбамида (10 г/л)

На основании полученных результатов карбамидсодержащая среда с глицерином в качестве основного источника углерода была выбрана для получения иммобилизованного биокатализатора.

Для иммобилизации бактерий измельченную гель-пленку бактериальной целлюлозы, предварительно пропитанную жидкой питательной средой, инокулировали культурой бактерий *R. ruber* VKM Ac-1167 и культивировали при 30 °C в течение 2 сут для обрастания носителя микроорганизмами.

Для трансформации акриламида использовали 2.5 г биокатализатора, который помещали в 30 мл 0.1 М Na-фосфатного буфера с pH 7.0, содержащего 20 мМ акриламида и 250 мМ гидроксилamina. Реакцию осуществляли при 30 °C и перемешивании при 180 об/мин.

В результате исследования кинетики синтеза акрилгидроксамовой кислоты в этих условиях было обнаружено, что с помощью иммобилизованного биокатализатора удается достичь концентрации целевого продукта около 12.8 мМ в течение 3 ч (рис. 6), что соответствует выходу 64% от теоретически возможного.

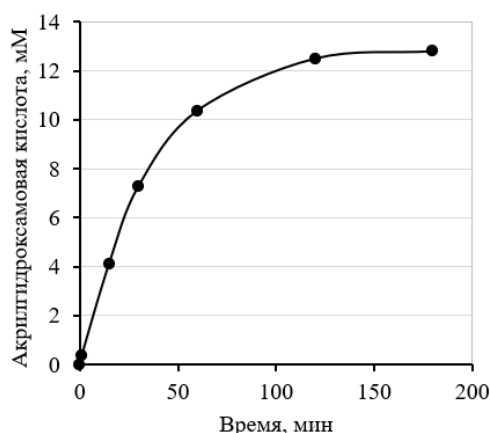


Рис. 6. Кинетика образования акрилгидроксамовой кислоты в процессе трансформации акриламида в присутствии гидроксилamina с помощью иммобилизованного биокатализатора

Установлено, что биокатализатор может быть использован многократно. Как видно из рис. 7, биокатализатор, по крайней мере, в течение 7 циклов позволяет стабильно получать акрилгидроксамовую кислоту с выходом около 60%.

Таким образом, бактериальная целлюлоза может быть функционализирована с помощью клеток микроорганизмов, обладающих амидазной активностью, а полученные результаты могут представлять интерес для разработки эффективных биокаталитических методов получения практически важных гидроксамовых кислот.

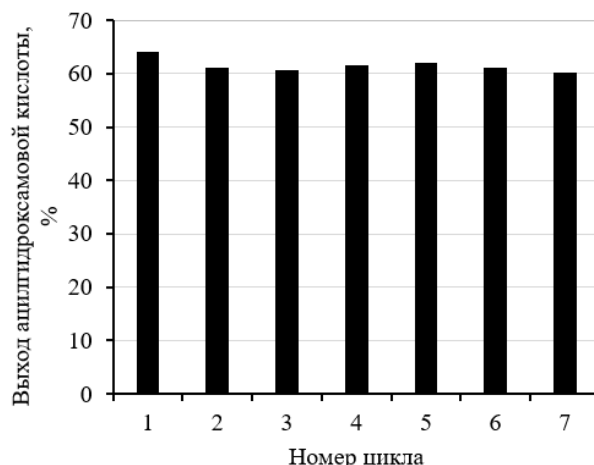


Рис. 7. Выход продукта при многократном использовании иммобилизованного биокатализатора трансформации акриламида в присутствии гидроксилamina

Экспериментальная часть

Для поиска бактерий с амидазной активностью использовали культуры *R. erythropolis* VKM Ac-1161 и *R. ruber* VKM Ac-1167, полученные из Всероссийской коллекции микроорганизмов, а также три штамма *R. erythropolis* A4-72, A18-19 и A25, выделенные из почвы и сточных вод нефтехимических предприятий²⁶.

Для получения энзиматически активной биомассы бактерии выращивали в чашках Петри на агаризованном гидролизате рыбной муки, содержащем 1% глюкозы или глицерина в качестве основного источника углерода. Культивирование микроорганизмов осуществляли при температуре 30±2 °C в течение 3 сут. По окончании культивирования биомассу собирали с поверхности среды, отмывали 0.05 М натрий фосфатным буфером с pH 7.0 и использовали для трансформации акриламида.

Для экспресс-тестирования на амидазную (ацилтрансферазную) активность биомассу в количестве 100 мг по сырому весу суспендировали в 0.5 мл 0.1 М фосфатного буфера и добавляли 0.25 мл 1 М свежеприготовленного раствора солянокислого гидроксилamina в дистиллированной воде, доведенного 10 Н NaOH до pH 7.0. Реакцию запускали добавлением 0.25 мл 20 мМ раствора акриламида в дистиллированной воде. Для контроля реакции периодически отбирали пробы по 50 мкл. Пробы сразу же переносили в ячейки на имуноферментном плато, в которые заранее было налито по 100 мкл раствора хлорида железа III (0.355 М FeCl₃ в 0.665 М HCl). При наличии в пробе гидроксамовой кислоты наблюдался переход окраски из светло-желтого к темно-коричне-

вому, по интенсивности которой можно судить о количестве образовавшейся гидроксамовой кислоты.

Количественное определение концентрации акрилгидроксамовой кислоты осуществлялось спектрофотометрически на спектрофотометре (СФ - 2000, Россия). Из отобранных проб центрифугированием удалялась биомасса при 8000 об/мин в течение 2 мин. Затем один объем (0.4–0.5 мл) пробы смешивался с двумя объемами (0.8–1.0 мл) раствора хлорида железа (III), смесь переносилась в кювету (длина оптического пути 1 см) и сразу же снимался спектр в видимом диапазоне (400–800 нм) относительно раствора сравнения (одна часть дистиллированной воды и две части раствора хлорида железа).

Концентрацию акрилгидроксамовой кислоты рассчитывали согласно работе²⁷. В качестве контроля использовали реакционную смесь без акриламида.

Гель-пленки бактериальной целлюлозы для иммобилизации бактерий *R. ruber* VKM Ас-1167 получали в процессе культивирования уксуснокислых бактерий *K. sucrofermentans* ВКПМ В-13858 в статических условиях при 30 °С в колбах на 250 мл, содержащих 50 мл среды Хестрина - Шрамма с этанолом (1%) в течение 12 сут²⁸. По окончании культивирования гель-пленки поли-

мера промывали дистиллированной водой, обрабатывали 0.5 М раствором NaOH при 80 °С в течение 30 мин и снова промывали дистиллированной водой до достижения нейтрального pH.

Иммобилизацию бактерий *R. ruber* VKM Ас-1167 на гель-пленках целлюлозы осуществляли адсорбционно-инкубационным методом. Образцы пленок массой 8 г помещали в колбы объемом 250 мл, содержащие 20 мл суспензии бактерий в жидкой питательной среде, содержащей 1% глицерина и 10 г/л карбамида, и перемешивали при 180 об./мин в течение 3 ч. Затем избыток среды декантировали и инкубировали пленки при 30 °С в статических условиях в течение 2 сут.

Для исследования трансформации акриламида с помощью иммобилизованной культуры *R. ruber* VKM Ас-1167 полученные биокатализаторы массой 2.5 г помещали в колбы объемом 250 мл, добавляли 30 мл 0.1 М Na-фосфатного буфера с pH 7.0, содержащего 20 мМ акриламида и 250 мМ гидроксиламина и перемешивали при 30 °С и 180 об./мин на шейкер-инкубаторе Biosan ES-20/60.

Все эксперименты проводили в трех повторностях. Полученные данные обрабатывали с использованием компьютерной программы Microsoft Excel. Стандартное отклонение не превышало 5% от средних значений.

Литература

1. Wu Z., Liu C., Zheng Z., Zhang R., Zheng Y. Amidase as a versatile tool in amide-bond cleavage: From molecular features to biotechnological applications // *Biotechnology Advances*. – 2020. – V.43. – P.107574.
2. Sharma M., Sharma N.N., Bhalla T.C. Amidases: versatile enzymes in nature // *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. – 2009. – V.8. – Pp.343-366.
3. Li Y., Chen X., Guo B., Dai Z., Kong Z., Li F., Ou J. Synthesis of polyacrylate-divinylbenzene hydroxamic resins and its gallium adsorption performance in sulfuric acid solution // *J. Water Process Engineering*. – 2024. – V.60. – Pp.105191.
4. Muri E. M., Nieto M. J., Sindelar R. D., Williamson J. S. Hydroxamic acids as pharmacological agents // *Current Medicinal Chemistry*. – 2002. – V.9, №17. – Pp.1631-1653.
5. Bauer L., Exner O. The chemistry of hydroxamic acids and N-hydroxyimides // *Angewandte Chemie International Edition in English*. – 1974. – V.13, №6. – Pp.376-384.
6. Pan Y., Hou H., Zhou B., Gao J., Gao F. Hydroxamic acid hybrids: Histone deacetylase inhibitors with anticancer therapeutic potency // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2023. – V.262. – P.115879.
7. Nampoothiri K. M., Roopesh K., Chacko S., Pandey A. Comparative study of amidase production by free and immobilized *Escherichia coli* cells // *Applied biochemistry and biotechnology*. – 2005. – V.120. – Pp.97-108.

References

1. Wu Z., Liu C., Zheng Z., Zhang R., Zheng Y. [Amidase as a versatile tool in amide-bond cleavage: From molecular features to biotechnological applications]. *Biotechnology Advances*, 2020, vol.43, p.107574.
2. Sharma M., Sharma N.N., Bhalla T.C. [Amidases: versatile enzymes in nature]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2009, vol.8, pp.343-366.
3. Li Y., Chen X., Guo B., Dai Z., Kong Z., Li F., Ou J. [Synthesis of polyacrylate-divinylbenzene hydroxamic resins and its gallium adsorption performance in sulfuric acid solution]. *J. Water Process Engineering*, 2024, vol.60, pp.105191.
4. Muri E. M., Nieto M. J., Sindelar R. D., Williamson J. S. [Hydroxamic acids as pharmacological agents]. *Current Medicinal Chemistry*, 2002, vol.9, no.17, pp.1631-1653.
5. Bauer L., Exner O. [The chemistry of hydroxamic acids and N-hydroxyimides]. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 1974, vol.13, no.6, pp.376-384.
6. Pan Y., Hou H., Zhou B., Gao J., Gao F. [Hydroxamic acid hybrids: Histone deacetylase inhibitors with anticancer therapeutic potency]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, vol.262, p.115879.
7. Nampoothiri K. M., Roopesh K., Chacko S., Pandey A. [Comparative study of amidase production by free and immobilized *Escherichia coli* cells]. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2005, vol.120, pp.97-108.

8. Kang X.M., Cai X., Liu Z.Q., Zheng Y.G. Identification and characterization of an amidase from *Leclercia adecarboxylata* for efficient biosynthesis of L-phosphinothricin // *Bioresource technology*.– 2019.– V.289.– P.121658.
9. Pace H.C., Brenner C. The nitrilase superfamily: Classification, structure and function // *Genome biology*.– 2001.– V.2, №1.– Pp.1-9.
10. Busch H., Hagedoorn P. L., Hanefeld U. *Rhodococcus* as a versatile biocatalyst in organic synthesis // *International journal of molecular sciences*.– 2019.– V.20.– №19.– Pp.4787.
11. Мочалова Е. М., Максимова Ю. Г. Имобилизация клеток нитрилгидролизующих бактерий *Rhodococcus erythropolis* 4-1 и *Alcaligenes faecalis* 2 с использованием термотропных и ионотропных гелей // *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. – 2020. – №1. – С.26-32.
12. Ившина И. Б., Каменских Т. Н., Анохин Б. А. Адаптационные механизмы выживания алканотрофных родококков, реализованные в неблагоприятных условиях среды // *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*.– 2007.– №5.– С.107-112.
13. Zywicka A., Banach A., Junka A.F., Drozd R., Fijalkowski K. Bacterial cellulose as a support for yeast immobilization – correlation between carrier properties and process efficiency // *Journal of Biotechnology*.– 2019.– V.291.– Pp.1-6.
14. Gilbert C., Tang T.-C., Ott W., Dorr B.A., Shaw W.M., Sun G.L., Lu T.K., Ellis T. Living materials with programmable functionalities grown from engineered microbial co-cultures // *Nature Materials*.– 2021.– V.20.– Pp.691-700.
15. Петухова Н.И., Колобова С.А., Зорин В.В. Использование бактериальной целлюлозы в процессе получения энзиматически активной биомассы дрожжей *Debaryomyces hansenii* – биокатализатора энантиоселективного восстановления ацетофенона в S-1-фенилэтанол // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*.– 2025.– Т.15, №4. – С.515-527.
16. Колобова С.А., Скорняков А.Н., Петухова Н.И., Алексеева В.Э., Халимова Л.Х., Зорин В.В. Окисление пирокатехина с помощью биоконпозита на основе спорообразующих бактерий и бактериальной целлюлозы // *Баш. хим. ж.*– 2023.– Т.30, №4.– С.48-55.
17. Lee S.H., Ahn G., Shin W.-R., Choi J.-W., Kim Y.-H., Ahn J.-Y. Synergistic outcomes of Chlorella-bacterial cellulose based hydrogel as an ethylene scavenger // *Carbohydrate Polymers*.– 2023.– V.321.– P.121256.
18. Колобова С.А., Назмутдинов Д.З., Петухова Н.И. Бактериальная целлюлоза - перспективный материал для иммобилизации микроорганизмов - деструкторов фенола // *Баш. хим. ж.*– 2019.– Т.26, №1.– С.105-111.
19. Kolobova, S.A., Petukhova, N.I., Zorin, V.V. Intensification of Phenol Biodegradation Using a Biocomposite Based on a Bacterial Cellulose Gel Film and Yeast *Debaryomyces hansenii* // *Russian Journal of General Chemistry*.– 2025.– V.95, №13.– Pp.4184-4189.
20. Fijalkowski K., Peitler D., Rakoczy R., Zywicka A. Survival of probiotic lactic acid bacteria immobilized in different forms of bacterial cellulose in simulated gastric juices and bile salt solution // *LWT-Food Science and Technology*.– 2016.– V.68.– P.322-328.
8. Kang X.M., Cai X., Liu Z.Q., Zheng Y.G. [Identification and characterization of an amidase from *Leclercia adecarboxylata* for efficient biosynthesis of L-phosphinothricin]. *Bioresource technology*, 2019, vol.289, pp.121658.
9. Pace H.C., Brenner C. [The nitrilase superfamily: Classification, structure and function]. *Genome biology*, 2001, vol.2, no.1, pp.1-9.
10. Busch H., Hagedoorn P. L., Hanefeld U. [*Rhodococcus* as a versatile biocatalyst in organic synthesis]. *International journal of molecular sciences*, 2019, vol.20, no.19, pp.4787.
11. Mochalova E. M., Maksimova Yu. G. *Immobilizatsiya kletok nitrilgidrolizuyushchikh bakteriy Rhodococcus erythropolis 4-1 i Alcaligenes faecalis 2 s ispol'zovaniem termotropnykh i ionotropnykh geley* [Immobilization of cells of nitrile-hydrolyzing bacteria *Rhodococcus erythropolis* 4-1 and *Alcaligenes faecalis* 2 using thermotropic and ionotropic gels]. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya* [Perm University Bulletin. Series: Biology], 2020, no.1, pp.26-32.
12. Ivshina I. B., Kamenskih T. N., Anohin B. A. *Adaptatsionnye mekhanizmy vyzhivaniya alkanotrofnnykh rodokokkov, realizovannye v neblagopriyatnykh usloviyakh sredy* [Adaptive survival mechanisms of alkanotrophic rhodococci realized in unfavorable environmental conditions]. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya* [Perm University Bulletin. Series: Biology], 2007, no.5, pp.107-112.
13. Zywicka A., Banach A., Junka A.F., Drozd R., Fijalkowski K. [Bacterial cellulose as a support for yeast immobilization – correlation between carrier properties and process efficiency]. *Journal of Biotechnology*, 2019, vol.291, pp.1-6.
14. Gilbert C., Tang T.-C., Ott W., Dorr B.A., Shaw W.M., Sun G.L., Lu T.K., Ellis T. [Living materials with programmable functionalities grown from engineered microbial co-cultures]. *Nature Materials*, 2021, vol.20, pp.691-700.
15. Petuhova N.I., Kolobova S.A., Zorin V.V. *Ispol'zovanie bakterial'noy tsellyulozy v protsesse polucheniya ehzymaticheskoi aktivnoy biomassy drozhzey Debaryomyces hansenii – biokatalizatora ehntioselektivnogo vosstanovleniya atsetofenona v S-1-fenilehtanol* [The use of bacterial cellulose in the process of obtaining enzymatically active biomass of the yeast *Debaryomyces hansenii* – a biocatalyst for the enantioselective reduction of acetophenone to S-1-phenylethanol]. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya* [Universities News. Applied Chemistry and Biotechnology], 2025, vol.15, no.4, pp.515-527
16. Kolobova S.A., Skornyakov A.N., Petuhova N.I., Alekseeva V.Eh., Halimova L.H., Zorin V.V. *Okislenie pirokatekhina s pomoshch'yu biokompozita na osnove spoorobrazuyushchikh bakteriy i bakterial'noy tsellyulozy* [Oxidation of pyrocatechol using a biocomposite based on spore-forming bacteria and bacterial cellulose]. *Bashkirkii khimicheskii zhurnal* [Bashkir Chemical Journal], 2023, vol.30, no.4, pp.48-55.
17. Lee S.H., Ahn G., Shin W.-R., Choi J.-W., Kim Y.-H., Ahn J.-Y. [Synergistic outcomes of Chlorella-bacterial cellulose based hydrogel as an ethylene scavenger]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, vol.321, pp.121256.
18. Kolobova S.A., Nazmutdinov D.Z., Petuhova N.I. *Bakterial'naya tsellyuloza – perspektivnyi material dlya immobilizatsii mikroorganizmov-destruktorov fenola* [Bacterial cellulose is a promising material for the

21. Zhao C., Wang G., Sun M., Cai Z., Yin Z., Cai Y. Bacterial Cellulose Immobilized *S. cerevisiae* as Microbial Sensor for Rapid BOD Detection // *Fibers and Polymers*.– 2021.– V.22, №5.– Pp.1208-1217.
22. Тарасов С.Е., Плеханова Ю.В., Китова А.Е., Быков А.Г., Мачулин А.В., Колесов В.В., Кленова Н. А., Ревин В. В., Понаморева О. Н., Решетилов А. Н. Бактериальная целлюлоза как матрица для микроорганизмов в биоэлектрокаталитических системах // *Прикладная биохимия и микробиология*.– 2022.– Т.58, №4.– С.388-399.
23. Xiao J., Chen Y., Xue M., Ding R., Kang Y., Tremblay P.L., Zhang, T. Fast-growing cyanobacteria bio-embedded into bacterial cellulose for toxic metal bioremediation // *Carbohydrate Polymers*.– 2022.– V.295.– P.119881.
24. Savitskaya I.S., Shokatayeva D.H., Kistaubayeva A.S., Ignatova L.V., Digel I.E. Antimicrobial and wound healing properties of a bacterial cellulose based material containing *B. subtilis* cells // *Heliyon*.– 2019.– V.5, №10.– P.e02592.
25. Atta O.M., Manan S., Ahmed A.A.Q., Awa M.F., Ul-Islam M., Subhan F., Ullah M.V., Yang G. Development and Characterization of Yeast-Incorporated Antimicrobial Cellulose Biofilms for Edible Food Packaging Application // *Polymers*.– 2021.– V.13, №14.– P. 2310.
26. Petukhova N.I., Mityagina A.V., Zorin V.V. *Rhodococcus erythropolis* A-27 as a Biocatalyst for Enantioselective Reduction of Ketones in the Presence of High Concentrations of Isopropanol // *Applied Biochemistry and Microbiology*.– 2025.– V.61, №1.– Pp.27-35.
27. Fournand D., Pirat J. L., Bigey F., Arnaud A., Galzy P. Spectrophotometric assay of aliphatic monohydroxamic acids and α -, β -, and γ -aminohydroxamic acids in aqueous medium // *Analytica chimica acta*.– 1997.– V.353, №2-3.– Pp. 359-366.
28. Hestrin S., Schramm M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose // *Biochemical Journal*.– 1954.– V.58, №2.– P.345.
19. Kolobova, S.A., Petukhova, N.I., Zorin, V.V. [Intensification of Phenol Biodegradation Using a Biocomposite Based on a Bacterial Cellulose Gel Film and Yeast *Debaryomyces hansenii*]. *Russian Journal of General Chemistry*, 2025, vol.95, no.13, pp.4184-4189.
20. Fijalkowski K., Peitler D., Rakoczy R., Zywicka A. [Survival of probiotic lactic acid bacteria immobilized in different forms of bacterial cellulose in simulated gastric juices and bile salt solution]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, vol.68, pp.322-328.
21. Zhao C., Wang G., Sun M., Cai Z., Yin Z., Cai Y. [Bacterial Cellulose Immobilized *S. cerevisiae* as Microbial Sensor for Rapid BOD Detection]. *Fibers and Polymers*, 2021, vol.22, no.5, pp.1208-1217.
22. Tarasov S.E., Plehanova Yu.V., Kitova A.E., Bykov A.G., Machulin A.V., Kolesov V.V., Klenova N.A., Revina V. V., Ponomareva O. N., Reshetilov A. N. *Bakterial'naya tsellyuloza kak matritsa dlya mikroorganizmov v bioelektrokataliticheskikh sistemakh* [Bacterial cellulose as a matrix for microorganisms in bioelectrocatalytic systems]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied biochemistry and microbiology], 2022, vol.58, no.4, pp.388-399.
23. Xiao J., Chen Y., Xue M., Ding R., Kang Y., Tremblay P.L., Zhang, T. [Fast-growing cyanobacteria bio-embedded into bacterial cellulose for toxic metal bioremediation]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, vol.295, pp.119881.
24. Savitskaya I.S., Shokatayeva D.H., Kistaubayeva A.S., Ignatova L.V., Digel I.E. [Antimicrobial and wound healing properties of a bacterial cellulose based material containing *B. subtilis* cells]. *Heliyon*, 2019, vol.5, no.10, p. e02592.
25. Atta O.M., Manan S., Ahmed A.A.Q., Awa M.F., Ul-Islam M., Subhan F., Ullah M.V., Yang G. [Development and Characterization of Yeast-Incorporated Antimicrobial Cellulose Biofilms for Edible Food Packaging Application]. *Polymers*, 2021, vol.13, no.14, pp.2310.
26. Petukhova N.I., Mityagina A.V., Zorin V.V. [*Rhodococcus erythropolis* A-27 as a Biocatalyst for Enantioselective Reduction of Ketones in the Presence of High Concentrations of Isopropanol]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2025, vol.61, no.1, pp.27-35.
27. Fournand D., Pirat J. L., Bigey F., Arnaud A., Galzy P. [Spectrophotometric assay of aliphatic monohydroxamic acids and α -, β -, and γ -aminohydroxamic acids in aqueous medium]. *Analytica chimica acta*, 1997, vol.353, no.2-3, pp.359-366.
28. Hestrin S., Schramm M. [Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose]. *Biochemical Journal*, 1954, vol.58, no.2, pp.345.