



## Celuloza bakteryjna - czynniki warunkujące wydajność syntezy

## Bacterial cellulose - factors determining the efficiency of synthesis

Dominika Bednarczyk<sup>a</sup>, *ORCID: 0000-0003-0533-8118*  
Izabela Betlej<sup>b</sup>, *ORCID: 0000-0001-6867-0383*  
Piotr Boruszewski<sup>b,\*</sup>, *ORCID: 0000-0002-6500-0680*

<sup>a</sup>*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Technologii Drewna, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, Polska*

<sup>b</sup>*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Instytut Nauk Drzewnych i Meblarstwa, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, Polska*

\**Osoba do korespondencji: piotr\_boruszewski@sggw.edu.pl*

---

### Streszczenie

Wydajność syntezy celulozy bakteryjnej, poza rodzajem wytwarzających ją bakterii, determinowana jest przez wiele innych czynników, takich jak rodzaj pożywki hodowlanej, zawartość źródeł węgla i azotu w podłożu, temperatura i ilość tlenu, pH medium, wielkość powierzchni, na której może tworzyć się błona celulozy, czy obecność innych mikroorganizmów. Optymalnie dobrany skład pożywki oraz warunki hodowli są ważne dla prawidłowego wzrostu bakterii, który stymuluje powstawanie celulozy mikrobiologicznej. W niniejszej pracy, na podstawie przeglądu literatury przedstawiono informacje dotyczące wpływu wybranych czynników warunkujących przebieg i wydajność syntezy celulozy bakteryjnej.

### Abstract

The efficiency of bacterial cellulose synthesis, with the exception of the type of bacteria that produce it, is determined by many other factors, such as the type of culture medium, sugar content and nitrogen source in the medium, temperature and amount of oxygen, pH of the medium, surface area on which it can form a membrane made of synthesized cellulose, or the presence of other microorganisms. Optimally selected medium composition and cultivation conditions are important for the proper growth of bacteria, which stimulates the formation of microbial cellulose. In this paper, on the basis of a literature review, information

on the influence of selected factors influencing the course and efficiency of bacterial cellulose synthesis is presented.

**Słowa kluczowe:** celuloza bakteryjna, wydajność syntezy, pożywka hodowlana, parametry hodowli

**Keywords:** bacterial cellulose, synthesis efficiency, culture medium, culture parameters

## **Wprowadzenie**

Intensywność syntezy celulozy bakteryjnej jest nie tylko cechą gatunkową, zależy również od wielu innych czynników, jak dostępność składników pożywki, sposób hodowli, pH podłoża, czy współistnienia innych mikroorganizmów. Vigentini et al. (2019) wskazali, że przede wszystkim źródło azotu i rodzaj mikroorganizmów, a w mniejszym stopniu źródło węgla ma wpływ na jakość syntetyzowanej celulozy. W swoich badaniach autorzy wskazali również na różnice w produktywności pomiędzy dwoma szczepami *K. rhaeticus* LMG 22126T i *K. swingsii* LMG 22125T. Różnice w syntezie celulozy bakteryjnej pomiędzy szczepami wynikają z liczby operonów syntazy celulozy, jednak wpływ i funkcja kopi operonów w produkcji polimeru nie jest do końca wyjaśniona (Lu et al. 2020). Niemniej zaburzenia w poszczególnych operonach mogą wpływać na zmniejszenie syntezy celulozy lub nieregularne upakowanie włókien (Nakai et al. 2013). Modyfikacje genetyczne dotyczące intensyfikacji syntezy celulozy przez mikroorganizmy nie są tematem częstych analiz, niemniej genomy kilku gatunków, jak *K. xylinus* E25 (Kubiak et al. 2014) i *K. xylinus* CGMCC 2955 (Liu et al. 2018) zostały całkowicie zsekwencjonowane. Bardzo istotnym czynnikiem wpływającym na właściwości polimeru ma sposób hodowli mikroorganizmów. Niewątpliwie sposób hodowli mikroorganizmów syntetyzujących celulozę wpływa na jej potencjalne zastosowanie aplikacyjne (Wang et al. 2019).

## **Cel i zakres pracy**

Celem pracy było określenie poszczególnych aspektów wpływających na wydajność procesu biosyntezy celulozy bakteryjnej, uwzględniając przy tym wpływ warunków fermentacji, przedstawienie metod hodowli mikroorganizmów syntetyzujących polimer tego typu wraz z oceną możliwości wykorzystania pozostałości rolno-przemysłowych stanowiących alternatywne pożywki hodowlane.

Zakres pracy obejmuje analizę literaturową dotyczącą:

- wpływu składników podłoża na wydajność syntezy celulozy bakteryjnej,
- wpływu warunków hodowli na wydajność syntezy celulozy bakteryjnej,
- charakterystyki metod hodowli bakterii syntetyzujących celulozę,

- możliwości zagospodarowania odpadów rolno-przemysłowych jako alternatywnych składników pożywek hodowlanych wykorzystywanych w procesie syntezy celulozy bakteryjnej.

### Wpływ składników podłoża na wydajność syntezy celulozy bakteryjnej

Teoretycznie, każdy substrat zawierający węgiel, który bakterie mogą metabolizować, może zostać użyty do produkcji celulozy bakteryjnej (Gorgieva i Trček 2019). Testując wiele rodzajów cukrów dowiedziono, że stosowane sacharydy mają kluczowe znaczenie przy efektywności syntezy celulozy bakteryjnej. W wysoko wydajnych procesach fermentacyjnych osiąga się 60÷80% konwersji wykorzystywanego źródła węgla w czysty polimer (Chawla i in. 2009). Typowym medium odżywczym używanym do hodowli, zarówno w metodzie statycznej, jak i wytrząsanej jest płynne podłoże opracowane przez Hestrina i Schramma (1954), które składa się z 2% glukozy, 0,5% peptonu, 0,5% ekstraktu drożdżowego, 0,27% bezwodnego wodorofosforanu sodu oraz 0,15% kwasu cytrynowego. Ze względu na wysoki koszt przygotowania takiego podłoża uznają się je jednak za nieopłacalne do przemysłowego pozyskiwania celulozy bakteryjnej (Jozala i in. 2016). W tabeli 1. przedstawiono wybrane szczepy bakterii oraz wydajność prowadzonej przez nie biosyntezy na różnych podłożach odżywczych.

Glukoza, jako idealny ingredient do produkcji celulozy, a jednocześnie źródło energii dla wzrastających komórek bakterii jest jednym z najczęściej stosowanych substratów do produkcji celulozy bakteryjnej (Jozala i in. 2016). Problemem związanym ze stosowaniem glukozy jako źródła węgla jest przekształcanie monosacharydu w procesie fermentacji w kwas glukonowy, który obniża pH kultury, hamując jednocześnie syntezę celulozy (Tantratian i in. 2005).

Masaoka i in. (1993) zbadali wydajność syntezy celulozy przez bakterie *A. xylinum* IFO 13693 w pożywkach o różnych stężeniach glukozy wynoszących 6, 12, 24 i 48 g/L. Stwierdzono, że efektywność syntezy maleje wraz ze wzrostem początkowego stężenia glukozy w medium; przy zawartości cukru 24 i 48 g/L zwiększa się zawartość kwasu glukonowego w pożywce w okresie hodowli, zmniejszając wydajność produkcji celulozy przez bakterie. Podobne wyniki uzyskali Rani i Appaiah (2011), badając efektywność syntezy celulozy przez *G. hansenii* UAC09. Stwierdzono, że produkcja celulozy rośnie wraz ze wzrostem stężenia glukozy do 4%. Dalszy wzrost zawartości cukru obniżał efektywność syntezy i jednocześnie powodował spadek pH medium poniżej 2,5. Keshk i Sameshima (2005) uzyskali największą wydajność syntezy celulozy przez *A. xylinum* przy 1% stężeniu glukozy, a podniesienie zawartości sacharydu do 2 i 3% powodowało obniżenie efektywności procesu.

**Tabela 1.** Wydajność syntezy celulozy bakteryjnej przez wybrane szczepy bakterii (Chawla i in. 2009)**Table 1.** Efficiency of bacterial cellulose synthesis by selected bacterial strains (Chawla et al. 2009)

Rodzaj bakterii	Źródło węgla	Dodatki w pożywce	Czas hodowli	Wydajność (g/L)	Źródło
<i>A.xylinum</i> BRC 5	glukoza	etanol, tlen	50 h	15,30	Hwang i in. (1999)
<i>G.hansenii</i> PJK (KCTC 10505 BP)	glukoza	tlen	48 h	1,72	Jung i in. (2005)
<i>G.hansenii</i> PJK (KCTC 10505 BP)	glukoza	etanol	72 h	2,50	Park i in. (2003)
<i>Acetobacter</i> sp. V6	glukoza	etanol	8 dni	4,16	Son i in. (2003)
<i>Acetobacter</i> sp. A9	glukoza	etanol	8 dni	15,20	Son i in. (2001)
<i>A. xylinum</i> BPR2001	melasa	-	72 h	7,82	Bae i Shoda (2004)
<i>A. xylinum</i> BPR2001	fruktoza	agar, tlen	72 h	14,10	Bae i in. (2004)
<i>A. xylinum</i> BPR2001	fruktoza	agar	56 h	12,00	Bae i in. (2004)
<i>Acetobacter xylinum</i> ssp. <i>sucrofermentans</i> BPR2001	fruktoza	tlen	52 h	10,40	Chao i in. (2000)
<i>Acetobacter xylinum</i> ssp. <i>sucrofermentans</i> BPR2001	fruktoza	agar, tlen	44 h	8,70	Chao i in. (2000)
<i>Acetobacter xylinum</i> E25	glukoza	-	7 dni	3,50	Krystynowicz i in. (2002)
<i>G.hylinus</i> (K3)	mannitol	zielona herbata	7 dni	3,34	Nguyen i in. (2008)
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> IFO 13773	glukoza	lignosulfonian	7 dni	10,10	Keshk i Sameshima (2006b)
<i>Acetobacter xylinum</i> NUST4.1	glukoza	alginian sodu	5 dni	6,00	Zhou i in. (2007)
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> IFO 13773	melasa z trzciny cukrowej	-	7 dni	5,76	Keshk i Sameshima (2006a)
<i>Gluconacetobacter</i> sp. RKY5	glicerol	-	144 h	5,63	Kim i in. (2006)

Ramana i in. (2000) wykazali, że obok glukozy, sacharoza i mannitol są optymalnymi substratami do produkcji celulozy bakteryjnej, a obecność źródła azotu przyczynia się do wzmocnienia biosyntezy. Korzystając ze szczepu *A. xylinum*, autorzy uzyskali maksymalną wydajność syntezy 5 g/L (5g biofilmu celulozowego z 1l pożywki hodowlanej) przy medium zawierającym sacharozę. Substraty takie jak galaktoza, maltoza, skrobia, sorbitol i kwas octowy, wpływały na zdecydowanie niższą wydajność (poniżej 2 g/L). Mikkelsen i in. (2009) porównali wydajność syntezy na podłożu Hestrina i Schramma modyfikując je poprzez zastąpienie glukozy innymi sacharydami. Najwyższą wydajność, wynoszącą 3,83 g/L, uzyskano na pożywce zawierającej sacharozę, po niej kolejno glicerol, mannitol, glukozę, fruktozę i galaktozę, przy czym właściwości błony produkowanej na wszystkich podłożach były bardzo podobne i wykazywały zbliżony stopień krystaliczności 80÷90%. Ishihara i in.

(2002) zastosowali ksylozę jako substrat do produkcji celulozy przez *A. xylinum* IFO 15606 i uzyskali wydajność 3,0 g/L. Zwiększenie w pożywce zarówno zawartości sacharydu, jak i substancji bogatych w azot, wpływa na efektywność syntezy celulozy i masę uzyskiwanego biofilmu. Betlej i Krajewski (2019) porównali wpływ zawartości sacharozy oraz rodzaju źródła azotu w podłożu hodowlanym na efektywność procesu fermentacji przez mikroorganizmy Kombucha. Największą wydajność syntezy celulozy (2,81 g/L) uzyskano przy maksymalnej 10% zawartości sacharydu, a obecność w medium źródła związków azotu niemal ośmiokrotnie zwiększyła efektywność produkcji polimeru. Azot stanowi bowiem główny składnik białek niezbędnych w procesach metabolicznych komórek i stanowi 8÷14% suchej masy komórkowej bakterii (Chawla i in. 2009). W celu zoptymalizowania warunków fermentacji do efektywnej produkcji celulozy przez *Acetobacter* sp. A9, Son i in. (2001) przetestowali różne źródła azotu w stężeniu 0,5%, jako uzupełnienie pożywki hodowlanej. Najefektywniejszy okazał się dodatek ekstraktu drożdżowego, uzyskując wydajność syntezy 2,87 g/L, następnie polipepton 2,65 g/L i CSL (z jęz. ang. *corn steep liquor*), czyli ekstrakt z fermentowanej skrobi kukurydzianej, tzw. namok, z wydajnością 2,59 g/L. Pomimo wysokiej efektywności, dodatek peptonu lub ekstraktu drożdżowego uznaje się za ekonomicznie nieopłacalny. CSL może być z powodzeniem stosowany do poprawy efektywności procesu fermentacji, jako tańszy substytut. Innym składnikiem znacząco podnoszącym wydajność syntezy celulozy jest etanol.

We wstrząsanej metodzie produkcji celulozy bakteryjnej zaobserwowano spontaniczną mutację niektórych bakterii w komórki (Cel-) nieprodukujące celulozy (Valla i Kjosbakken 1982). Etanol nie tylko hamuje mutację mikroorganizmów, ale także stanowi dla nich dodatkowe źródło węgla (Lee i in. 2014). Po dodaniu do pożywki 1% obj. etanolu uzyskano zwiększenie wydajności z 0,52 g/L do 3,31 g/L korzystając z medium Hestrina i Schramma (Krystynowicz i in. 2002). Son i in. (2001) badali wpływ dodatku 1,4% obj. etanolu do pożywki, który pozwolił uzyskać wydajność celulozy 15,2 g/L. Wynik ten czterokrotnie przewyższał efektywność podłoża pozbawionego etanolu. Rani i Appaiah (2011) również stwierdzili stymulujący efekt dodatku 1,5% etanolu i 1,0% kwasu octowego na syntezę celulozy bakteryjnej przez szczep *G. hansenii* UAC09.

### Wpływ warunków hodowli

Obok zapewnienia odpowiedniego źródła węgla i azotu, podczas całego procesu fermentacji istotne jest utrzymywanie optymalnej temperatury, która stymuluje wzrost drobnoustrojów i aktywność enzymów, poprawiając wydajność syntezy celulozy (Villarreal-Soto i in. 2018). Temperatura fermentacji wynosi zazwyczaj 22÷30°C (May i in. 2019), przy czym wysoką wydajność uzyskuje się również w temperaturze 28÷30°C (Chawla i in. 2009). Największą wydajność syntezy dla *G. hansenii* UAC09 zaobserwowano w temperaturze 27°C; przy 40°C wzrost bakterii został zahamowany (Rani i Appaiah 2011).

Kolejnym kluczowym parametrem w produkcji celulozy bakteryjnej jest odczyn pożywki. Optymalne pH medium do syntezy biopolimeru mieści się w zakresie 4,0÷6,0 (Masaoka i in. 1993). Badania wykazały, że wytrzymałość mechaniczna celulozy bakteryjnej wzrasta wraz z obniżeniem odczynu. Błona wytworzona przy odczynie roztworu pH=4 odznacza się istotnie wyższą wytrzymałością mechaniczną od polimeru wyprodukowanego w środowisku o pH=5 (Tahara i in. 1997). Związane jest to z obniżeniem aktywności enzymów hydrolitycznych m.in. celulazy, która rozkłada celulozę na celobiozę (dimer glukozy), co zmniejsza jej stopień polimeryzacji, a tym samym wytrzymałość polimeru (Olędzki i Walaszczyk 2020). W środowisku o pH=4 bakterie produkują celulozę o stopniu polimeryzacji w zakresie 14 000÷16 000, natomiast wzrost pH do 5 może obniżyć stopień polimeryzacji do 11 000 (Ross i in. 1991). Wraz z postępowaniem fermentacji, odczyn medium obniża się, ze względu na nagromadzenie się powstających w procesie kwasów, m.in. glukonowego, mlekowego i octowego. Ważne jest, aby kontrolować jego poziom i nie dopuścić do spadku pH poniżej 3, gdyż już przy odczynie poniżej 4 obserwuje się spadek wydajności syntezy (Villarreal-Soto i in. 2018).

Zawartość rozpuszczonego w pożywce tlenu jest istotna zarówno dla metabolizmu komórek, wydajności tworzenia celulozy bakteryjnej, jak i jakości otrzymywanej błony. Stwierdzono także, że wysokie stężenie tlenu w medium wpływa na produkcję kwasu glukonowego z glukozy. Aby zmaksymalizować wydajność produkcji celulozy, stężenie tlenu powinno wynosić 10%. Niższa wartość prowadzi do zahamowania wzrostu komórek i zatrzymania procesu syntezy celulozy (Lee i in. 2014).

#### Metody hodowli bakterii syntetyzujących celulozę

Istnieją dwie główne metody produkcji celulozy bakteryjnej wykorzystujące mikroorganizmy: statyczna oraz dynamiczna. Dobór systemu hodowli determinowany jest ostatecznym zastosowaniem błony celulozowej, gdyż jej właściwości morfologiczne, mechaniczne i fizykochemiczne uzależnione są od zastosowanych rozwiązań produkcyjnych (Jozala i in. 2016).

Hodowla statyczna jest stosunkowo prostą techniką, wykorzystywaną najczęściej w warunkach laboratoryjnych. Jest to metoda powierzchniowa, w której formowanie polimeru zachodzi w płynnym podłożu na granicy faz gaz-ciecz. Z tego względu wydajność produkcji jest ściśle związana z powierzchnią stosowanej pożywki (Wang i in. 2019), a intensywność syntezy jest znacząco ograniczona przez ilość tlenu docierającą do podłoża (Borzani i de Souza 1995). W wyniku hodowli stacjonarnej uzyskuje się skóropodobną, silnie uwodnioną, elastyczną, białawą błonę o jednolitej strukturze, która syntetyzowana jest na powierzchni ciekłego medium, gdzie bakterie mają swobodny dostęp do niezbędnego w procesach metabolicznych tlenu (Kuo i in. 2016). Początkowo w pożywce pojawia się cienka błonka zbudowana z pojedynczych fibryli, która wraz z postępowaniem hodowli znacząco zyskuje na grubości. W porównaniu z metodą wstrząsaną, błona pozyskiwana w warunkach

statycznych charakteryzuje się większą wytrzymałością mechaniczną (Jozala i in. 2016), znaczną powierzchnią właściwą i dużą zdolnością do zatrzymywania wody (Huang i in. 2013). Wiąże się to jednak z wydłużonym czasem hodowli, trwającym w zależności od szczepu bakterii od 5 do 20 dni i wymaga znacznych powierzchni hodowlanych, co skutkuje niewystarczającą produktywnością do zastosowania jej na skalę masową (Chao i in. 2000; Song i in. 2009; Lee i in. 2014).

Metoda dynamiczna polega na rozproszonej syntezie biopolimeru, poprzez napowietrzanie podłoża (Olędzki i Walaszczyk 2020). Dodatkowa ilość tlenu ma zwiększyć wydajność produkcji celulozy bakteryjnej, która przyjmuje wówczas postać nieregularnych owalono-kulistych kłębków i zawieszonych włókien (Krystynowicz i in. 2002; Czaja i in. 2004). Rozwiązanie to jest jednak problematyczne, ze względu na trudność utrzymania optymalnego stężenia rozpuszczonego w medium tlenu. Zbyt intensywne napowietrzanie i mieszanie medium prowadzi do mutacji bakterii w komórki nieprodukujące celulozy (Cel-), przez co wydajność syntezy spada (Valla i Kjosbakken 1982; Czaja i in. 2004). Metoda wstrząsana umożliwia jednak wytworzenie celulozy bakteryjnej o różnorodnym kształcie i rozmiarze, od kulistych cząsteczek o średnicy od 10  $\mu\text{m}$  do 10 mm, po elipsoidalne, gwiaździste i nieregularne formacje (Gu i Catchmark 2012). Postać otrzymywanej celulozy i jej właściwości uzależnione są od prędkości obrotów, czasu i temperatury hodowli, a także substancji dodatkowych uzupełniających pożywkę (Wang i in. 2019). Hodowle wstrząsane prowadzi się w warunkach laboratoryjnych w kolbach stożkowych wypełnionych w ok. 1/3 medium odżywczym, które umieszczane są w wytrząsarkach inkubatorowych. Hu i Catchmark (2010) badali wpływ dynamicznych warunków hodowli na tworzenie się kulistych form celulozy bakteryjnej. Stwierdzono, że przy prędkości obrotowej poniżej 100 obr./min oraz powyżej 200 obr./min praktycznie nie obserwuje się kulistych form celulozy, a raczej drobne, nieregularne kłębki włókien. Optymalna prędkość do wytworzenia sferycznej celulozy o średnicy ok. 8 mm wyniosła 125 obr./min. Przy wzroście prędkości obrotów do 150 obr./min następowało wydłużenie kształtu i zmniejszenie średnicy celulozy do ok. 2,5 mm.

Aby móc produkować celulozę bakteryjną o pożądanych właściwościach w ekonomiczny i efektywny sposób na skalę przemysłową, a tym samym zwiększyć zakres jej zastosowań, niezbędne stało się opracowywanie nowych systemów hodowli przy użyciu różnego typu bioreaktorów.

Do produkcji masowej celulozy bakteryjnej badano wykorzystanie reaktorów typu HoLiR (Horizontal Lift Reactor). Komora takiego bioreaktora, w postaci poziomego podłużnego zbiornika, wypełniona jest pożywką hodowlaną, na powierzchni której zachodzi synteza celulozy w formie prostokątnego arkusza. Proces produkcji polimeru może wówczas zachodzić w sposób ciągły, poprzez podnoszenie polimeru na jednym końcu zbiornika i powolne wyjmowanie arkuszy z nad powierzchni podłoża na drugim końcu reaktora (Kralisch i in. 2009; Olędzki i Walaszczyk 2020).

Inne rozwiązanie zastosowano w reaktorach aerozolowych, w których medium ze składnikami odżywczymi jest natryskiwane na całą powierzchnię kultury mikroorganizmów, na której zachodzi proces biosyntezy. W ten sposób uzyskuje się błonę celulozową o grubości nawet kilku centymetrów, która znajduje zastosowanie w materiałach o wysokich wymaganiach technicznych (Hornung i in. 2007). Większość bakterii obecnych w pożywce znajduje się w wierzchniej warstwie błony (do 1 mm), w której stężenie tlenu jest największe, dlatego równomierne rozprowadzenie pożywki na całej powierzchni powstającej celulozy zapewnia mikroorganizmom dostęp do substancji odżywczych, niezbędnych w procesie biosyntezy (Lee i in. 2014).

W reaktorach wyposażonych w obrotowe dyski, powierzchnię hodowlaną stanowią okrągłe tarcze do połowy zanurzone w płynnej pożywce, które osadzone są na obracającym się wale. Ciągły ruch obrotowy wału powoduje naprzemienne zanurzanie dysków w medium i wystawianie ich na działanie tlenu z powietrza ponad powierzchnią roztworu. Podczas zanurzania w pożywce, mikroorganizmy zaszczerpione na powierzchni okrągłych tarcz pobierają substancje odżywcze, natomiast zwiększona ilość docierającego do bakterii tlenu, stymuluje ich wzrost i proces syntezy celulozy. Rozwiązanie to umożliwia również wprowadzanie do medium różnych substancji wzbogacających, które są włączane do struktury celulozy bakteryjnej, w celu poprawy jej właściwości lub stworzenia odpowiedniego materiału kompozytowego (Serafica i in. 2002). W badaniach prowadzonych przez Krystynowicz i in. (2002) stwierdzono, że największą wydajność syntezy w tego typu reaktorach osiąga się przy prędkości obrotów dysków 4 obr./min. i stosunkowi pola powierzchni dysków do objętości medium (S/V)  $0,71 \text{ cm}^{-1}$ .

Aby wykorzystać zalety statycznej metody hodowli bakterii syntetyzujących celulozę, bez konieczności stosowania znacznych powierzchni produkcyjnych, podjęto próby utworzenia reaktorów membranowych. Yoshino i in. (1996) opracowali system z wykorzystaniem membrany z tworzywa sztucznego do zwiększenia efektywności procesu wytwarzania celulozy bakteryjnej. Spód naczynia hodowlanego wykonano z przepuszczalnej dla tlenu membrany silikonowej, przez którą gaz ten dyfundował do pożywki hodowlanej. System ten pozwolił zwiększyć wydajność syntezy, w porównaniu do produkcji polimeru na powierzchni ciekłego medium. Hofinger i in. (2011) zastosowali porowatą membranę z polieterosulfonu (PES) do hodowli szczepu *G. xylinus*. Umieszczona w reaktorze membrana stykała się dolną powierzchnią z mieszanym poniżej medium. Na górnej, „powietrznej” stronie membrany, zaszczerpiona została kultura bakterii produkujących celulozę. Substancje odżywcze dyfundując przez hydrofilową membranę przedostawały się z pożywki na drugą powierzchnię błony, gdzie zachodziła synteza celulozy. Takie rozwiązanie zapewnia mikroorganizmom dostęp do większej ilości tlenu, niż ma to miejsce w tradycyjnej metodzie statycznej.



## Odpady rolno-przemysłowe jako alternatywne pożywki hodowlane

Nieustannie największą przeszkodą hamującą wykorzystanie celulozy bakteryjnej na skalę przemysłową jest wysoki koszt produkcji biopolimeru. Od wielu lat prowadzi się badania, w celu zminimalizowania kosztów związanych z wytwarzaniem celulozy bakteryjnej, poszukując alternatywnych źródeł węgla i modyfikując parametry procesu fermentacji. Coraz więcej badań skupia się obecnie na wykorzystaniu różnego rodzaju odpadów rolno-przemysłowych, które umożliwiłyby prowadzenie wydajnej biosyntezy celulozy bakteryjnej, przyczyniając się jednocześnie do promowania gospodarki obiegu zamkniętego i wykorzystywania odpadów z jednego sektora, jako wartościowego surowca w innej dziedzinie.

Dzięki zdolności bakterii do syntetyzowania celulozy z wielu rodzajów cukrów, różne alternatywne źródła sacharydów mogą być wykorzystywane do produkcji biopolimeru. Aby dany surowiec został uznany za potencjalnie wydajny substrat hodowlany, powinien zawierać znaczne ilości cukrów, prostych lub złożonych. Pożądana jest także obecność aminokwasów, białek i związków mineralnych, które stymulują wzrost bakterii i proces biosyntezy. Szczególna uwaga skupia się wobec tego na pozostałościach z przemysłu rolnego, cukierniczego, browarniczego, włókienniczego oraz na odpadach z biorafinerii i celulozowni (Hussain i in. 2019). W tabeli 2. przedstawiono wybrane odpady organiczne, które wykorzystywano do produkcji celulozy wraz wydajnością przeprowadzonego procesu.

Ze względu na niskie koszty pozyskania, do hodowli bakterii syntetyzujących celulozę wykorzystuje się melasę otrzymywaną w procesie rafinacji sacharozy z buraków, trzciny cukrowej lub karobu. Badania potwierdziły, że celuloza bakteryjna syntetyzowana przez szczep *G. xylinus* ATCC 10245 z melasy buraczanej charakteryzuje się wyższym stopniem polimeryzacji, niż celuloza wyprodukowana na podłożu zawierającym wyłącznie czystą glukozę, jako jedyne źródło węgla (Keshk i in. 2006). Premjet i in. (2007) przebadali wpływ dodatku melasy z trzciny cukrowej na wydajność syntezy celulozy bakteryjnej. Stwierdzono, że składniki melasy takie jak sacharoza, fruktoza, glukoza, aminokwasy, związki azotu i substancje mineralne, dodawane do pożywki H-S, stymulują biosyntezę celulozy przez *G. xylinus* ATCC 10245, kilkukrotnie zwiększając wydajność procesu. Salari i in. (2019) badali efektywność biosyntezy celulozy przez szczep *G. xylinus* PTCC 1734 na tradycyjnym medium Hestrina i Schramma oraz na pożywce z produktów ubocznych przemysłu spożywczego. Wydajność produkcji celulozy na medium zawierającym melasę buraczaną przewyższała efektywność syntezy ze standardowego podłoża i wyniosła 4,56 g/L dla początkowej zawartości cukru 20 g/L. Czyni to podłoże melasowe potencjalnym substratem do produkcji celulozy na skalę przemysłową.

Kurosumi i in. (2009) badali pożywki hodowlane zawierające sok owocowy i stwierdzili wyższą wydajność syntezy celulozy bakteryjnej (6 mg/mL) po 96h hodowli z pożywki zawierającej sok pomarańczowy. Jozala i in. (2015) osiągnęli w tym samym czasie hodowli dziesięciokrotnie większą wydajność (60 mg/mL), stosując jako pożywkę przegnite owoce.

Autorzy badań wykorzystali już rozkładające się jabłka, śliwki, winogrona i ananasy do stworzenia podłoża dla bakterii *G. xylinus* ATCC 53582, które swoją efektywnością znacznie przewyższało standardowe medium H-S.

**Tabela 2.** Wybrane odpady rolno-przemysłowe wykorzystywane jako surowiec do produkcji celulozy bakteryjnej (Hussain i in. 2019)

**Table 2.** Selected agro-industrial waste used as a raw material for the production of bacterial cellulose (Hussain et al. 2019)

Rodzaj odpadów rolno-przemysłowych	Dodatki w pożywce	Rodzaj bakterii	Wydajność (g/L)	Źródło
Skórki cytrusów	-	<i>Komagataeibacter hansenii</i> GA 2016	3,92 BC/100g odpadów	Güzel i Akpınar (2018)
Łuski ziaren kawy	mocznik i CSL	<i>Gluconacetobacter hansenii</i> UAC09	8,20	Rani i Appaiah (2013)
Sok z trzciny cukrowej i pozostałości ananasa	-	<i>Gluconacetobacter medellinensis</i>	3,24	Algar i in. (2015)
Syrop daktylowy	jak w medium HS	<i>Acetobacter xylinum</i> 0416 MARDI	5,80	Lotfiman i in. (2016)
Ścieki gorzelniane	-	<i>Gluconacetobacter oboediens</i>	8,50	Jahan i in. (2018)
Wywar gorzelniany po produkcji piwa	-	<i>Gluconacetobacter hansenii</i> PJK KCTC 10505BP	8,46	Ha i in. (2008)
Wytłoki winogronowe/CSL	-	<i>Acetobacter xylinum</i> NRRL B-42	6,70	Cerrutti i in. (2016)
Melasa trzcinowa i browarniana	-	<i>Gluconoacetobacter xylinum</i> ATCC 23768	3,05	Khattak i in. (2015)
Miazga ze słodkich limonek	-	<i>Komagataeibacter europaeus</i> SGP3	6,30	Dubey i in. (2018)
Włókniste masy odpadowe z celulozowni i biorafinerii	ekstrakt drożdżowy i trypton	<i>Gluconacetobacter xylinus</i> ATCC 23770	11,00	Cavka i in. (2013)
Surowy glicerol i hydrolizat mączki słonecznikowej	-	<i>Komagataeibacter sucrofermentans</i> DSM 15973	13,30	Tsouko i in. (2015)
Hydrolizat biomasy drożdży	-	<i>Gluconacetobacter xylinus</i> CH001	2,90	Luo i in. (2017a,b)

Światowe, roczne pozyskanie cytrusów w 2015 r. wyniosło 27,1 mln ton, z czego na odpady w postaci wytlóków i skórek przypadało 40÷60% całkowitej masy owoców. Tego typu surowiec odpadowy zawiera wiele składników odżywczych, cukrów, pektyn i wody, łatwo ulega rozkładowi przez mikroorganizmy, przez co może wywierać niekorzystny wpływ na środowisko naturalne. Fan i in. (2016) wykorzystali ten fakt do utworzenia medium pod hodowlę szczepu bakterii *K. xylinus* CICC 10529, stosując produkt enzymatycznej hydrolizy

wytłoków cytrusowych. Pozyskanie suchej błony celulozowej z tak przygotowanego roztworu wyniosło 5,7 g/L, w porównaniu do standardowego podłoża, którego efektywność kształtowała się na poziomie 3,9 g/L. Próbkę pozyskaną z obu wariantów pożywek wykazywały zbliżone właściwości. Wysoką wydajność medium z odpadów owocowych tłumaczy się obecnością znacznej ilości glukozy i ksylozy, które są łatwo metabolizowane przez bakterie. Kompleks enzymów obecny w roztworze rozkłada błonnik i pektyny wchodzące w skład owoców, ułatwiając bakteriom dostęp do cukrów prostych i zwiększając wydajność biosyntezy celulozy.

Coraz więcej uwagi kierowane jest na odpady pochodzące z przetwórstwa mleka, jako trudne w utylizacji i niebezpieczne dla środowiska wodnego ścieki przemysłowe, groźniejsze nawet od ścieków sanitarnych z gospodarstw domowych. Serwatka, która jest płynną pozostałością po produkcji sera, charakteryzuje się wysokim wskaźnikiem biochemicznego zapotrzebowania na tlen (BZT<sub>n</sub>). Drobnoustroje występujące w środowisku zużywają znaczne ilości tlenu do rozłożenia pozostałości z przemysłu mleczarskiego, doprowadzając do jego deficytu w naturalnych ciekach wodnych i stwarzając zagrożenie dla życia ryb i innych stworzeń (Jozala i in. 2015). Z drugiej strony, płynna serwatka zawiera wiele rozpuszczalnych białek, laktozę, minerały i witaminy, które mogą posłużyć do hodowli bakterii syntetyzujących celulozę. Dotychczasowe wyniki badań pokazują, że rozcieńczony roztwór serwatki umożliwia produkcję celulozy bakteryjnej przez szczep *G. xylinus* PTCC 1734 w warunkach statycznych w ilości 3,55 g/L, podczas gdy wydajność próbki kontrolnej na medium H-S wyniosła 3,26 g/L (Salari i in. 2019). Dodatek do medium enzymu laktazy umożliwia hydrolizę laktozy obecnej w serwatce do glukozy i galaktozy, które są szybciej metabolizowane przez bakterie, niż cukry złożone. Podobne wyniki zaobserwowano przy wstrząsanych warunkach produkcji celulozy przez bakterie *K. sucrofermentans* B-11267, osiągając wydajność 5,45 g/L po 3 dniach hodowli (Revin i in. 2018). Wysoka wartość pozostałości z przemysłu mleczarskiego, jako potencjalnego substratu do produkcji celulozy, spowodowana jest dodatkowo zawartością białek, aminokwasów, witamin oraz kwasów organicznych mlekowego i cytrynowego, które stymulują wzrost bakterii i poprawiają efektywność biosyntezy celulozy.

Kolejną grupą odpadów stanowiącą potencjalne źródło węgla dla produkcji celulozy bakteryjnej są wywary gorzelnicze i ścieki powstające podczas produkcji alkoholu, które można wykorzystać jako samodzielne medium lub jako część standardowej pożywki H-S. Jednym z rozwiązań jest wykorzystanie tzw. cienkiego wywaru gorzelnianego (z jęz. ang. *distillery thin stillage*), który jest pozostałością po produkcji wina ryżowego. Badania wykazały, że dodatek wywaru ryżowego do tradycyjnego podłoża pozwala uzyskać polimer celulozowy w ilości 6,26 g/L, w związku z tym wydajność procesu jest o 50% wyższa niż efektywność samego medium H-S (Wu i Liu 2013). Dodatkowo, błona pozyskana ze wzbogaconego medium charakteryzowała się wyższym stopniem krystaliczności i gęstszą strukturą włóknistą, ale mniejszą zdolnością do zatrzymywania wody. Zwiększona produkcja

celulozy bakteryjnej spowodowana jest bogatą zawartością kwasów organicznych oraz aminokwasów w wywarze gorzelnianym. Jednocześnie zastosowanie destylatu ryżowego pozwoliło obniżyć koszty produkcji celulozy bakteryjnej o 67%. Wyłoki winogronowe również zostały przebadane jako niekonwencjonalne podłoże do produkcji celulozy bakteryjnej, wykazując wysoką wydajność 8,0 g/L po uzupełnieniu namokiem kukurydzianym (CSL) dla zapewnienia optymalnego poziomu azotu (Vazquez i in. 2012). Analiza morfologiczna wykazała, że mikrofibryle celulozowe uzyskane z alternatywnego podłoża charakteryzowały się stopniem krystaliczności w granicach 74÷79% oraz szerokością i grubością z zakresu odpowiednio 35÷70 nm i 13÷24 nm. Wartości te były zbliżone do wymiarów fibryli wyhodowanych na standardowym medium.

Nie tylko odpady poprodukcyjne z przemysłu spożywczego stanowią potencjalny substrat do hodowli bakterii syntetyzujących celulozę. W celulozowniach i biorafineriach, podczas procesu rozwiókniania materiału drzewnego i lignocelulozowego gorącą parą lub wodą powstaje wodny ekstrakt, zawierający cukry proste (glukozę, arabinozę, ksylozę), sacharozę, kwasy organiczne (mlekowy, mrówkowy, octowy) i inne związki organiczne (furfural, hydroksymetylofurfural). Skład takiego roztworu umożliwia hodowlę bakterii bez konieczności wzbogacania go o substancje dodatkowe, które podnoszą koszty pożywki. Pomimo dość niskiego stężenia cukrów w wodnym ekstrakcie, badaczom udało się opracować podłoże do produkcji celulozy przez szczep *K. xylinus* 23769, z którego uzyskano błonę o zbliżonym stopniu krystaliczności, a o mniejszej średnicy włókien, co biofilm z pożywki H-S (Kiziltas i in. 2015). Odpady tekstylne bogate w celulozę, po oczyszczeniu i poddaniu ich hydrolizie, również stanowią potencjalne źródło węgla dla wzrostu bakterii. Hong i in (2012) otrzymali w ten sposób hydrolizat z materiału bawełnianego, który umożliwił pozyskanie błony celulozowej z wydajnością o 83% większą (10,8 g/L), niż prezentowaną przez medium zawierającą glukozę. Celuloza bakteryjna wyhodowana na alternatywnym podłożu odznaczała się również o 79% wyższą wytrzymałością na rozciąganie.

Woda kokosowa, syropy owocowe, hydrolizat drożdży piwnych, glicerol będący pozostałością po produkcji biodiesla, hydrolizaty biomasy roślinnej, to tylko niektóre z substratów, które są również wykorzystywane do badania potencjału odpadów przemysłowych, jako wydajnych podłoży do produkcji błony celulozowej. Zaletą wykorzystania pozostałości rolno-przemysłowych do hodowli bakterii syntetyzujących celulozę, jest stworzenie ekonomicznie opłacalnej metody wytwarzania biopolimeru i wywieranie pozytywnego wpływu na środowisko, poprzez zagospodarowanie i utylizowanie w ten sposób odpadów organicznych.

## Podsumowanie

Efektywność biosyntezy celulozy bakteryjnej uzależniona jest od wielu czynników: warunków hodowli, rodzaju i zawartości sacharydów, azotu oraz innych substancji

wzbogacających, które stymulują wzrost i metabolizm bakterii. Pomimo stosunkowo prostego procesu fermentacji, koszty sporządzenia pożywki hodowlanej, która dostarczy mikroorganizmom wytwarzającym celulozę niezbędnych składników do optymalnej syntezy, stanowią główną przeszkodę uniemożliwiającą wykorzystanie celulozy bakteryjnej na skalę przemysłową. Coraz więcej uwagi skupia się wobec tego na odpadach rolno-przemysłowych, jako potencjalnych podłożach hodowlanych, mogących zwiększyć opłacalność produkcji celulozy bakteryjnej. Zagospodarowanie pozostałości poprodukcyjnych nie tylko pozwala zmniejszyć koszty wytwarzania polimeru tego typu, ale także sprzyja ochronie środowiska naturalnego, poprzez przekształcanie odpadów organicznych w wartościowe surowce.

## Literatura

Algar I., Fernandes S., Mondragon G., Castro C., Garcia-Astrain C., Gabilondo N., Retegi A., Eceiza A., 2014: Pineapple agroindustrial residues for the production of high value bacterial cellulose with different morphologies. *Journal of Applied Polymer Science* 132, 41237. DOI: 10.1002/app.412377

Antolak H., Kręgiel D., 2015: Bakterie kwasu octowego - taksonomia, ekologia oraz wykorzystanie przemysłowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 4, 21-35. DOI: 10.15193/ZNTJ/2015/101/053

Bäckdahl H., Esguerra M., Delbro D., Risberg B., Gatenholm P., 2008: Engineering microporosity in bacterial cellulose scaffolds. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 2, 320-330. DOI: 10.1002/term.97

Bäckdahl H., Helenius G., Bodin A., Nannmark U., Johansson B.R., Risberg B., Gatenholm P., 2006: Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials* 27, 2141-2149. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.10.026

Bae S., Shoda M., 2004: Bacterial Cellulose Production by Fed-Batch Fermentation in Molasses Medium. *Biotechnology Progress* 20, 1366-1371. DOI: 10.1021/bp0498490

Bae S., Sugano Y., Shoda M., 2004: Improvement of bacterial cellulose production by addition of agar in a jar fermentor. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 97, 33-38. DOI: 10.1016/S1389-1723(04)70162-0

Bandyopadhyay S., Saha N., Brodnjak U.V., Saha P., 2019: Bacterial cellulose and guar gum based modified PVP-CMC hydrogel films: Characterized for packaging fresh berries. *Food Packaging and Shelf Life* 22, 100402. DOI:10.1016/j.fpsl.2019.100402

Basta A.H., El-Saied H., 2009: Performance of improved bacterial cellulose application in the production of functional paper. *Journal of Applied Microbiology* 107, 2098-2107. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04467.x

Betlej I., Krajewski K., 2019: Bacterial cellulose synthesis by Kombucha microorganisms on a medium with a variable composition of nutrients. *Annals of WULS, Forestry and Wood Technology* 108, 53-57. DOI: 10.5604/01.3001.0013.7681en

Bodin A., Ahrenstedt L., Fink H., Brumer H., Risberg B., Gatenholm P., 2007a: Modification of Nanocellulose with a Xyloglucan-RGD Conjugate Enhances Adhesion and Proliferation of Endothelial Cells: Implications for Tissue Engineering. *Biomacromolecules* 8, 3697-3704. DOI: 10.1002/term.334

Bodin A., Bäckdahl H., Fink H., Gustafsson L., Risberg B., Gatenholm P., 2007b: Influence of cultivation conditions on mechanical and morphological properties of bacterial cellulose tubes. *Biotechnology and Bioengineering* 97, 425-434. DOI: 10.1002/bit.21314

Bodin A., Concaro S., Britberg M., Gatenholm P., 2007c: Bacterial cellulose as a potential meniscus implant. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 1, 406-408. DOI: 10.1002/term.51

Borzani W., de Souza S.J., 1995: Mechanism of the film thickness increasing during the bacterial production of cellulose on non-agitated liquid media. *Biotechnology Letters* 17, 1271-1272. DOI:10.1007/BF00128400

Cacicedo M., Castro M., Servetas I., Bosnea L., Boura K., Tsafrakidou P., Dima A., Terpou A., Koutinas A., Castro G., 2016: Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological applications. *Bioresource Technology* 213, 172-180. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.02.071

Campano C., Merayo N., Balea A., Tarrés Q., Delgado-Aguilar M., Mutjé P., Negro C., Blanco A., 2018: Mechanical and chemical dispersion of nanocelluloses to improve their reinforcing effect on recycled paper. *Cellulose* 25, 269-280. DOI: 10.1007/s10570-017-1552-y

Čavka A., Guo X., Tang S., Winstrand S., Jönsson L., Hong F., 2013: Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber sludge. *Biotechnology for Biofuels*, 6, 25. DOI: 10.1186/1754-6834-6-25

Cerrutti P., Roldán P., García R.M., Galvagno M.A., Vázquez A., Foresti M.L., 2016: Production of bacterial nanocellulose from wine industry residues: Importance of fermentation time on pellicle characteristics. *Journal of Applied Polymer Science* 133, DOI: 10.1002/app.43109

Chang S.T., Chen L.C., Lin S.B., Chen H.H., 2012: Nano-biomaterials application: Morphology and physical properties of bacterial cellulose/gelatin composites via crosslinking. *Food Hydrocolloids* 27, 137-144. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.08.004

Chao Y., Ishida T., Sugano Y., Shoda M., 2000: Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* in a 50-L internal-loop airlift reactor. *Biotechnology and bioengineering* 68, 345-352. DOI: 10.1002/(sici)1097-0290(20000505)68:3<345::aid-bit13>3.0.co;2-m

Chawla P., Bajaj I., Survase S., Singhal R., 2009: Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications. *Food Technology and Biotechnology* 47, 107-124.

Chen S., Shen W., Yu F., Hu W., Wang H., 2010: Preparation of amidoximated bacterial cellulose and its adsorption mechanism for Cu<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>. *Journal of Applied Polymer Science* 117, 8-15. DOI: 10.1002/app.31477

Chen S., Zou Y., Yan Z., Shen W., Shi S., Zhang X., Wang H., 2009: Carboxymethylated-bacterial cellulose for copper and lead ion removal. *Journal of Hazardous Materials* 161, 1355-1359. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.04.098

Ciechańska D., 2004: Multifunctional bacterial cellulose/chitosan composite materials for medical applications. *Fibres & Textiles in Eastern Europe* 12, 69-72.

Czaja W., Romanovicz D., Brown R.M., 2004: Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture. *Cellulose* 11, 403-411. DOI: 10.1023/B:CELL.0000046412.11983.61

Dai L., Nan J., Tu X., He L., Wei B., Xu Ch., Xu Y., Li S., Wang H., Zhang J., 2019: Improved thermostability and cytocompatibility of bacterial cellulose/collagen composite by collagen fibrillogenesis. *Cellulose* 26, 6713-6724. DOI: 10.1007/s10570-019-02530-w

Donini Í.A.N., De Salvi D.T.B., Fukumoto F.K., Lustrì W.R., Barud H.D.S., Marchetto R., Messaddeq Y., Ribeiro S.J.L., 2018: Biosynthesis and recent advances in production of bacterial cellulose. *Eclética Química Journal* 35, 165-178. DOI: 10.26850/1678-4618eqj.v35.4.2010.p165-178

Dubey S., Singh J., Singh R.P., 2018: Biotransformation of sweet lime pulp waste into high-quality nanocellulose with an excellent productivity using *Komagataeibacter europaeus* SGP37 under static intermittent fed-batch cultivation. *Bioresource Technology* 247, 73-80. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.09.089

Fan X., Gao Y., He W., Hu H., Tian M., Wang K., Pan S., 2016: Production of nano bacterial cellulose from beverage industrial waste of citrus peel and pomace using *Komagataeibacter xylinus*. *Carbohydrate Polymers* 151, 1068-1072. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.06.062

Fernandes M., Gama M., Dourado F., Souto A.P., 2019a: Development of novel bacterial cellulose composites for the textile and shoe industry. *Microbial Biotechnology* 12, 650-661. DOI: 10.1111/1751-7915.13387

Fernandes M., Souto A.P., Gama M., Dourado F., 2019b: Bacterial Cellulose and Emulsified AESO Biocomposites as an Ecological Alternative to Leather. *Nanomaterials* 9, 1710. DOI: 10.3390/nano9121710

Fink H., Faxälv L., Molnár G.F., Drotz K., Risberg B., Lindahl T.L., Sellborn A., 2010: Real-time measurements of coagulation on bacterial cellulose and conventional vascular graft materials. *Acta Biomaterialia* 6, 1125-1130. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.09.019

Galdino C.J.S., Maia A.D., Meira H.M., Souza T.C., Amorim J.D.P., Almeida F.C.G., Costa A.F.S., Sarubbo L.A., 2020: Use of a bacterial cellulose filter for the removal of oil from wastewater. *Process Biochemistry* 91, 288-296. DOI: 10.1016/j.procbio.2019.12.020

Gallegos A.M.A., Herrera Carrera S., Parra R., Keshavarz T., Iqbal H.M.N., 2016: Bacterial Cellulose: A Sustainable Source to Develop Value-Added Products - A Review. *BioResources* 11, 5641-5655. DOI: 10.15376/biores.11.2.Gallegos

Gao W., Chen K., Yang R., Yang F., Han W., 2010: Properties of bacterial cellulose and its influence on the physical properties of paper. *BioResources* 6, 144-153. DOI: 10.15376/biores.6.1.144-153

García C., Prieto M.A., 2019: Bacterial cellulose as a potential bioleather substitute for the footwear industry. *Microbial Biotechnology* 12, 582-585. DOI: 10.1111/1751-7915.13306

Gorgieva S., Trček J., 2019: Bacterial cellulose: Production, modification and perspectives in biomedical applications, *Nanomaterials* 9. DOI: 10.3390/nano9101352

Gu J., Catchmark J.M., 2012: Impact of hemicelluloses and pectin on sphere-like bacterial cellulose assembly. *Carbohydrate Polymers* 88, 547-557. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.12.040

Guan F., Chen S., Yao J., Zheng W., Wang H. 2017: ZnS/Bacterial Cellulose/Epoxy Resin (ZnS/BC/E56) Nanocomposites with Good Transparency and Flexibility. *Journal of Materials Science & Technology* 32, 153-157. DOI: 10.1016/j.jmst.2015.08.014

Güzel M., Akpınar Ö., 2018: Production and Characterization of Bacterial Cellulose from Citrus Peels. *Waste and Biomass Valorization* 10, 2165-2175. DOI : 10.1007/s12649-018-0241-x

Ha J.H., Shah N., Ul-Islam M., Park J.K., 2011: Potential of the waste from beer fermentation broth for bio-ethanol production without any additional enzyme, microbial cells and carbohydrates. *Enzyme and Microbial Technology* 49, 298-304. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2011.04.016

Hestrin S., Schramm M., 1954: Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal* 58,: 345-352. DOI: 10.1042/bj0580345

Hofinger M., Bertholdt G., Weuster-Botz D., 2011: Microbial production of homogeneously layered cellulose pellicles in a membrane bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 108, 2237-2240. DOI: 10.1002/bit.23162

Hong F., Guo X., Zhang S., Han S., Yang G., Jönsson L., 2012: Bacterial cellulose production from cotton-based waste textiles: Enzymatic saccharification enhanced by ionic liquid pretreatment. *Bioresource Technology* 104, 503-508. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.11.028

Hornung M., Ludwig M., Schmauder H.P., 2007: Optimizing the production of bacterial cellulose in surface culture: A novel aerosol bioreactor working on a fed batch principle (Part 3). *Engineering in Life Sciences* 7, 35-41. DOI: 10.1002/elsc.200620164

Hu Y., Catchmark J.M., 2010: Formation and characterization of spherelike bacterial cellulose particles produced by *Acetobacter xylinum* JCM 9730 Strain. *Biomacromolecules* 11, 1727-1734. DOI: 10.1021/bm100060v

Huang Y., Zhu C., Yang J., Nie Y., Chen C., Sun D., 2013: Recent advances in bacterial cellulose. *Cellulose* 21(1): 1-30. DOI: 10.1007/s10570-013-0088-z



Hussain Z., Sajjad W., Khan T., Wahid F., 2019: Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review. *Cellulose* 26, 2895-2911. DOI: 10.1007/s10570-019-02307-1

Hwang J.W., Yang Y.K., Hwang J.K., Pyun Y.R., Kim Y.S., 1999: Effects of pH and dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 in agitated culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 88, 183-188. DOI: 10.1016/s1389-1723(99)80199-6

Ishihara M., Matsunaga M., Hayashi N., Tišler V., 2002: Utilization of d-xylose as carbon source for production of bacterial cellulose. *Enzyme and Microbial Technology* 31, 986-991. DOI: 10.1016/S0141-0229(02)00215-6

Jahan F., Kumar V., Saxena R.K., 2018: Distillery effluent as a potential medium for bacterial cellulose production: A biopolymer of great commercial importance. *Bioresource Technology* 250, 922-926. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.09.094

Jozala A., de Lencastre-Novaes L., Lopes A., de Carvalho Santos-Ebinuma V., Mazzola P., Pessoa-Jr A., Grotto D., Gerenutti M., Chaud M., 2016: Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100, 2063-2072. DOI: 10.1007/s00253-015-7243-4

Jozala A., Pértile R., dos Santos C., de Carvalho Santos-Ebinuma V., Seckler M., Gama F., Pessoa A., 2015: Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* by employing alternative culture media. *Applied Microbiology and Biotechnology* 99, 1181-1190. DOI: 10.1007/s00253-014-6232-3

Jung J.Y., Park J.K., Chang H.N., 2005: Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in an agitated culture without living non-cellulose producing cells. *Enzyme and Microbial Technology* 37, 347-354. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2005.02.019

Karimian A., Parsian H., Majidina M., Rahimi M., Mir S.M., Kafil H.S., Shafiei-Irannejad V., Kheyrollah M., Ostadi H., Yousefi B., 2019: Nanocrystalline cellulose: Preparation, physicochemical properties, and applications in drug delivery systems. *International Journal of Biological Macromolecules* 133, 850-859. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.04.117

Keshk S., 2014: Bacterial cellulose production and its industrial applications, *Journal of bioprocessing & biotechniques* 4, DOI: 10.4172/2155-9821.1000150

Keshk S., Razek T.M., Sameshima K., 2006: Bacterial cellulose production from beet molasses. *African Journal of Biotechnology* 5, 1519-1523. DOI:10.4314/AJB.V5I17.43149

Keshk S., Sameshima K., 2005: Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production. *African Journal of Biotechnology* 4, 478-482. DOI: 10.5897/AJB2005.000-3087

Keshk S., Sameshima K., 2006a: The utilization of sugar cane molasses with/without the presence of lignosulfonate for the production of bacterial cellulose. *Applied Microbiology and Biotechnology* 72, 291-296. DOI: 10.1007/s00253-005-0265-6

Keshk S., Sameshima K., 2006b: Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture. *Enzyme and Microbial Technology* 40, 4-8. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2006.07.037

Khattak W.A., Khan T., Ul-Islam M., Wahid F., Park J.K., 2015: Production, Characterization and Physico-mechanical Properties of Bacterial Cellulose from Industrial Wastes. *Journal of Polymers and the Environment* 23, 45-53. DOI: 10.1007/s10924-014-0663-x

Kim S., Kim J., Wee Y., Park D., Ryu H., 2006: Production of Bacterial Cellulose by *Gluconacetobacter* sp. RKY5 Isolated From Persimmon Vinegar. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 129-132, 705-715. DOI: 10.1385/abab:131:1:705

Kiziltas E. E., Kiziltas A., Gardner D.J., 2015: Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars. *Carbohydrate Polymers* 124, 131-138. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.01.036

Kołaczkowska M., Siondalski P., Kowalik M.M., Pęksa R., Długa A., Zając W., Dederko P., Kołodziejska I., Malinowska-Pańczyk E., Sinkiewicz I., Staroszczyk H., Śliwińska A., Stanisławska A., Szkodo M., Pałczyńska P., Jabłoński G., Borman A., Wilczek P., 2019: Assessment of the usefulness of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* E25 as a new biological implant. *Materials Science and Engineering: C* 97, 302-312. DOI: 10.1016/j.msec.2018.12.016

Kralisch D., Hessler N., Klemm D., Erdmann R., Schmidt W., 2009: White biotechnology for cellulose manufacturing - The HoLiR concept. *Biotechnology and Bioengineering* 105, 740-747. DOI: 10.1002/bit.22579

Krystynowicz A., Czaja W., Wiktorowska-Jeziarska A., Goncalves - Miśkiewicz M., Turkiewicz M., Bielecki S., 2002: Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 29, 189-195. DOI: 10.1038/sj.jim.7000303

Kubiak K., Kurzawa M., Jedrzejczak-Krzepkowska M., Ludwicka K., Krawczyk M., Migdalski A., Kacprzak M.M., Loska D., Krystynowicz A., Bielecki S. 2014: Complete genome sequence of *Gluconacetobacter xylinus* E25 strain-valuable and effective producer of bacterial nanocellulose. *Journal of Biotechnology* 176, 18-19. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2014.02.006

Kuo C., Chen J., Liou B., Lee C., 2016: Utilization of acetate buffer to improve bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Food Hydrocolloids* 53, 98-103. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.12.034

Kurosumi A., Sasaki C., Yamashita Y., Nakamura Y., 2009: Utilization of various fruit juices as carbon source for production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* NBRC 13693. *Carbohydrate Polymers* 76, 333-335. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.11.009

Lee K., Buldum G., Mantalaris A., Bismarck A., 2014: More Than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites. *Macromolecular Bioscience* 14, 10-32. DOI: 10.1002/mabi.201300298

Liu M., Liu L., Jia S., Li S., Zou Y., Zhong, C. 2018: Complete genome analysis of *Gluconacetobacter xylinus* CGMCC 2955 for elucidating bacterial cellulose biosynthesis and metabolic regulation. *Scientific Reports* 8, 6266. DOI:10.1038/s41598-018-24559-w

Liu X., Souzandeh H., Zheng Y., Xie Y., Zhong W., Wang C., 2017: Soy protein isolate/bacterial cellulose composite membranes for high efficiency particulate air filtration. *Composites Science and Technology* 138, 124-133. DOI: 10.1016/j.compscitech.2016.11.022

Lotfiman S., Awang Biak D.R., Ti T.B., Kamarudin S., Nikbin S., 2018: Influence of Date Syrup as a Carbon Source on Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* 0416. *Advances in Polymer Technology* 37, 1085-1091. DOI: 10.1002/adv.21759

Lu T., Gao H., Liao B., Wu J., Zhang W., Huang J., Liu M., Huang J., Chang Z., Jin M., Yi Z., Jiang D. 2020: Characterization and optimization of production of bacterial cellulose from strain CGMCC 17276 based on whole-genome analysis. *Carbohydrate Polymers* 232, 115788. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115788

Luo M., Huang C., Chen X., Huang Q., Qi G., Tian L., Xiong L., Li H., Chen X.-D., 2017a: Efficient bioconversion from acid hydrolysate of waste oleaginous yeast biomass after microbial oil extraction to bacterial cellulose by *Komagataeibacter xylinus*. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 47, 1025-1031. DOI: 10.1080/10826068.2017.1373290

Luo M., Zhao C., Huang C., Chen X., Huang Q.-L., Qi G.-X., Tian L.-L., Xiong L., Li H.-L., Chen X.-D., 2017b: Efficient using durian shell hydrolysate as low-cost substrate for bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Indian Journal of Microbiology* 57: 393-399. DOI: 10.1007/s12088-017-0681-1

Ma L., Liu R., Niu H., Zhao M., Huang Y., 2016: Flexible and freestanding electrode based on polypyrrole/graphene/bacterial cellulose paper for supercapacitor. *Composites Science and Technology* 137, 87-93. DOI: 10.1016/j.compscitech.2016.10.027

Masaoka S., Ohe T., Sakota N., 1993: Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 75, 18-22. DOI: 10.1016/0922-338X(93)90171-4

Mathew A. P., Oksman K., Pierron D., Harmand M., 2013: Biocompatible fibrous networks of cellulose nanofibres and collagen crosslinked using genipin: Potential as artificial ligament/tendons. *Macromolecular Bioscience* 13, 289-298. DOI: 10.1002/mabi.201200317

May A., Narayanan S., Alcock J., Varsani A., Maley C., Aktipis, A., 2019: Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem, *PeerJ* 7:e7565. DOI: 10.7717/peerj.7565

Menchaca-Nal S., Londoño-Calderón C.L., Cerrutti P., Foresti M.L., Pampillo L., Bilovol V., Candal R., Martínez-García R., 2016: Facile synthesis of cobalt ferrite nanotubes using bacterial nanocellulose as template. *Carbohydrate Polymers* 137, 726-731. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.10.068

Mikkelsen D., Flanagan B.M., Dykes G.A., Gidley M.J., 2009: Influence of different carbon sources on bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC 53524. *Journal of Applied Microbiology* 107, 576-583. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04226.x

Mladenova E.K., Dakova I.G., Karadjova I.B., 2011: Chitosan membranes as sorbents for trace elements determination in surface waters. *Environmental Science and Pollution Research* 18, 1633-1643. DOI: 10.1007/s11356-011-0529-x

Mohammadi H., 2011: Nanocomposite biomaterial mimicking aortic heart valve leaflet mechanical behaviour. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* 225, 718-722. DOI: 10.1177/09544119111399826

Nakai T., Sugano Y., Shoda M., Sakakibara H., Oiwa K., Tuzi S., Imai T., Suqiyama J., Takeuchi M., Yamauchi D., Mineyuki Y. 2013: Formation of highly twisted ribbons in a carboxymethylcellulase gene-disrupted strain of a cellulose-producing bacterium. *Journal of Bacteriology* 195, 958-964. DOI: 10.1128/JB.01473-12

Nguyen V.T., Flanagan B., Gidley M.J., Dykes G.A., 2008: Characterization of cellulose production by a *Gluconacetobacter xylinus* strain from Kombucha. *Current Microbiology* 57, 449-453. DOI: 10.1007/s00284-008-9228-3

Nie X., Lv P., Stanley S.L., Wang D., Wu S., Wei Q., 2019: Ultralight nanocomposite aerogels with interpenetrating network structure of bacterial cellulose for oil absorption. *Journal of Applied Polymers Science* 136, 1-8. DOI: 10.1002/app.48000

Olędzki R., Walaszczyk E., 2020: Bionanocellulose - properties, acquisition and perspectives of application in the food industry. *Postępy Mikrobiologii - Advancements of Microbiology* 59, 87-102. DOI: 10.21307/PM-2020.59.1.008

Orelma H., Morales L.O., Johansson L., Hoeger I.C., Filpponen I., Castro C., Rojas O.J., Laine J., 2014: Affibody conjugation onto bacterial cellulose tubes and bioseparation of human serum albumin. *RSC Advances* 4, 51440-51450. DOI: 10.1039/C4RA08882D

Oshima T., Kondo K., Ohto K., Inoue K., Baba Y., 2008: Preparation of phosphorylated bacterial cellulose as an adsorbent for metal ions. *Reactive and Functional Polymers* 68, 376-383. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2007.07.046

Osong S.H., Norgren S., Engstrand P., 2015: Processing of wood-based microfibrillated cellulose and nanofibrillated cellulose, and applications relating to papermaking: a review. *Cellulose* 23, 93-123. DOI:10.1007/s10570-015-0798-5

Park J.K., Jung J.Y., Park Y.H., 2003: Cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in a medium containing ethanol. *Biotechnology Letters* 25, 2055-2059. DOI: 10.1023/B:BILE.0000007065.63682.18

Park M., Lee D., Shin S., Kim H.J., Hyun J., 2016: Flexible conductive nanocellulose combined with silicon nanoparticles and polyaniline. *Carbohydrate Polymers* 140, 43-50. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.12.046

Parveen S., Krishnakumar K., Sahoo S., 2006: New era in health care: Tissue engineering. *Journal of Stem Cells & Regenerative Medicine* 1, 8-24. DOI: 10.46582/jsrm.0101003

Pértile R., Moreira S., Andrade F., Domingues L., Gama M., 2012: Bacterial cellulose modified using recombinant proteins to improve neuronal and mesenchymal cell adhesion. *Biotechnology Progress* 28, 526-532. DOI: 10.1002/btpr.1501

Premjet S., Premjet D., Ohtani Y., 2007: The Effect of Ingredients of Sugar Cane Molasses on Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* ATCC 10245. *FIBER* 63, 193-199. DOI: 10.2115/fiber.63.193

Ramana K., Tomar A., Singh L., 2000: Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter xylinum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16, 245-248. DOI: 10.1023/A:1008958014270

Rani M.U., Appaiah A., 2013: Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* UAC09 using coffee cherry husk. *Journal of Food Science and Technology* 50, 755-762. DOI: 10.1007/s13197-011-0401-5

Rani M.U., Appaiah, A. 2011: Optimization of culture conditions for bacterial cellulose production from *Gluconacetobacter hansenii* UAC09. *Annals of Microbiology* 61, 781-787. DOI: 10.1007/s13213-011-0196-7

Rebelo A., Archer A.J., Chen X., Liu C., Yang G., Liu Y., 2018: Dehydration of bacterial cellulose and the water content effects on its viscoelastic and electrochemical properties. *Science and Technology of Advanced Materials* 19, 203-211. DOI: 10.1080/14686996.2018.1430981

Revin V., Liyaskina E., Nazarkina M., Bogatyreva A., Shchankin M., 2018: Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products. *Brazilian Journal of Microbiology* 49, 151-159. DOI: 10.1016/j.bjm.2017.12.012

Ross P., Mayer R., Benziman M., 1991: Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiological Reviews* 55, 35-58. DOI: 10.1128/mr.55.1.35-58.1991

Rzeszutek J., Matysiak - Kucharek M., Czajka M., Sawicki K., Rachubik P., Kruszewski M., Kapka L., 2014: Zastosowanie nanocząstek i nanomateriałów w medycynie. *Hygeia Public Health* 49, 449-457.

Salari M., Sowti Khiabani M., Rezaei Mokarram R., Ghanbarzadeh B., Samadi Kafil H., 2019: Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from bacterial cellulose produced in sugar beet molasses and cheese whey media. *International Journal of Biological Macromolecules* 122, 280-288. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.136

Serafica G., Mormino R., Bungay H., 2002: Inclusion of solid particles in bacterial cellulose. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58, 756-760. DOI: 10.1007/s00253-002-0978-8

Skočaj M., 2019: Bacterial nanocellulose in papermaking. *Cellulose* 26, 6477-6488. DOI: 10.1007/s10570-019-02566-y

Son H., Heo M., Kim Y., Lee S., 2001: Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter sp.* A9 in shaking cultures. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 33, 1-5. DOI: 10.1042/ba20000065

Son H., Kim H., Kim K., Kim H., Kim Y., Lee S., 2003: Increased production of bacterial cellulose by *Acetobacter sp.* V6 in synthetic media under shaking culture conditions. *Bioresource Technology* 86, 215-219. DOI: 10.1016/s0960-8524(02)00176-1

Song H., Li H., Seo J., Kim M., Kim S., 2009: Pilot-scale production of bacterial cellulose by a spherical type bubble column bioreactor using saccharified food wastes. *Korean Journal of Chemical Engineering* 26, 141-146. DOI: 10.1007/s11814-009-0022-0

Stumpf T.R., Pértile R.A.N., Rambo C.R., Porto L.M., 2013: Enriched glucose and dextrin mannitol-based media modulates fibroblast behavior on bacterial cellulose membranes. *Materials Science and Engineering: C* 33, 4739-4745. DOI: 10.1016/j.msec.2013.07.035

Sunasee R., Hemraz U.D., Ckless K., 2016: Cellulose nanocrystals: a versatile nanoplatform for emerging biomedical applications. *Expert Opinion on Drug Delivery* 13, 1243-1256. DOI: 10.1080/17425247.2016.1182491

Surma-Ślusarska B., Danielewicz D., Presler S., 2008a: Properties of Composites of Unbeaten Birch and Pine Sulphate Pulps with Bacterial Cellulose. *Fibres & Textiles in Eastern Europe* 16, 127-129.

Surma-Ślusarska B., Presler S., Danielewicz D., 2008b: Characteristics of bacterial cellulose obtained from *Acetobacter Xylinum* culture for application in papermaking. *Fibres & Textiles in Eastern Europe* 16, 108-111.

Tahara N., Tabuchi M., Watanabe K., Yano H., Morinaga Y., Yoshinaga F., 1997: Degree of polymerization of cellulose from *Acetobacter xylinum* BPR2001 decreased by cellulase produced by the strain. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 61, 1862-1865. DOI: 10.1271/bbb.61.1862

Tantratian S., Tammarate P. Krusong W., Bhattarakosol P., Phunsri A., 2005: Effect of dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter sp.*, *Journal of Scientific Research Chulalongkorn University* 30, 179-186.

Torgbo S., Sukyai P., 2018: Bacterial cellulose-based scaffold materials for bone tissue engineering. *Applied Materials Today* 11, 34-49. DOI: 10.1016/j.apmt.2018.01.004

Tsouko E., Kourmentza C., Ladakis D., Kopsahelis N., Mandala I., Papanikolaou S., Paloukis F., Alves V., Koutinas A., 2015: Bacterial cellulose production from industrial waste

and by-product streams. International Journal of Molecular Sciences 16, 14832-14849. DOI: 10.3390/ijms160714832

Ullah H., Wahid F., Santos H.A., Khan T., 2016: Advances in biomedical and pharmaceutical applications of functional bacterial cellulose-based nanocomposites. Carbohydrate Polymers 150, 330-352. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.05.029

Valla S., Kjosbakken H., 1982: Cellulose-negative mutants of *Acetobacter xylinum*. Journal of General Microbiology 128, 1401-1408. DOI: 10.1099/00221287-128-7-1401

Vazquez A., Foresti M., Cerrutti P., Galvagno M., 2012: Bacterial Cellulose from Simple and Low Cost Production Media by *Gluconacetobacter xylinus*. Journal of Polymers and the Environment 21, 545-554. DOI 10.1007/s10924-012-0541-3

Vigentini I., Fabrizio V., Dellacà F., Rossi S., Azario I., Mondì C., Benaglia M., Foschino R. 2019: Set-up of bacterial cellulose production from the genus *Komagataeibacter* and its use in a gluten-free bakery product as a case study. Frontiers in Microbiology 10, 1953. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01953

Villarreal-Soto S., Beaufort S., Bouajila J., Souchard J., Taillandier P., 2018: Understanding Kombucha tea fermentation. A review. Journal of Food Science 83, 580-588. DOI: 10.1111/1750-3841.14068

Wan Y., Gao C., Han M., Liang H., Ren K., Wang Y., Luo H., 2010: Preparation and characterization of bacterial cellulose/heparin hybrid nanofiber for potential vascular tissue engineering scaffolds. Polymers for Advanced Technologies 22, 2643-2648. DOI: 10.1002/pat.1692

Wang H.Y., Wei R.H., Zhao S.Z., 2013: Evaluation of corneal cell growth on tissue engineering materials as artificial cornea scaffolds. International Journal of Ophthalmology 6, 873-878. DOI: 10.3980/j.issn.2222-3959.2013.06.23

Wang J., Tavakoli J., Tang Y., 2019: Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods - A review. Carbohydrate Polymers 219, 63-76. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.05.008

Wu J., Liu R., 2013: Cost-effective production of bacterial cellulose in static cultures using distillery wastewater. Journal of Bioscience and Bioengineering 115, 284-290. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2012.09.014

Xiang Z., Jin X., Liu Q., Chen Y., Li J., Lu F., 2017: The reinforcement mechanism of bacterial cellulose on paper made from woody and non-woody fiber sources. Cellulose: 24, 5147-5156. DOI: 10.1007/s10570-017-1468-6

Yoshino T., Asakura T., Toda K., 1996: Cellulose production by *Acetobacter pasteurianus* on silicone membrane. Journal of Fermentation and Bioengineering 81, 32-36. DOI: 10.1016/0922-338X(96)83116-3

Yousefi H., Faezipour M., Hedjazi S., Mousavi M.M., Azusa Y., Heidari A.H., 2013: Comparative study of paper and nanopaper properties prepared from bacterial cellulose

nanofibers and fibers/ground cellulose nanofibers of canola straw. *Industrial Crops and Products* 43, 732-737. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.08.030

Zhang H., Chen C., Zhu C., Sun D., 2016: Production of bacterial cellulose by *Acetobacter Xylinum*: Effects of carbon/nitrogen-ratio on cell growth and metabolite production. *Cellulose Chemistry and Technology* 50, 997-1003.

Zhou L.L., Sun D.P., Hu L.Y., Li Y.W., Yang J.Z., 2007: Effect of addition of sodium alginate on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 34, 483-489.

Zhu W., Li W., He Y., Duan T., 2015: In-situ biopreparation of biocompatible bacterial cellulose/graphene oxide composites pellets. *Applied Surface Science* 338, 22-26. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.02.030

---

*Artykuł recenzowany / Reviewed paper*

*Zgłoszony / Submitted: 11.03.2022*

*Opublikowany online / Published online: 08.04.2022*