

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ И ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ / PHYSICAL-CHEMICAL AND GENERAL BIOLOGY**

Обзорная статья / Review

УДК 663.534

DOI: <http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-3-33-40>**ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА БИОСИНТЕЗ  
БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ**© **Е.К. Гладышева**Институт проблем химико-энергетических технологий СО РАН,  
659322, Российская Федерация, г. Бийск, ул. Социалистическая, 1

*Представлены основные условия культивирования, оказывающие влияние на выход бактериальной наноцеллюлозы при использовании разных продуцентов. В связи с высокой востребованностью в бактериальной наноцеллюлозе в различных отраслях промышленности исследования параметров, обеспечивающих высокий выход, являются актуальными. К основным параметрам, влияющим на рост целлюлозосинтезирующих бактерий и биосинтез бактериальной наноцеллюлозы, можно отнести: концентрацию источника углерода в питательной среде; аэрацию; температуру культивирования; уровень активной кислотности. Концентрация редуцирующих веществ в питательной среде может находиться в диапазоне от 6 до 100 г/л. Концентрацию растворенного кислорода в питательной среде можно считать лимитирующим фактором для всех целлюлозосинтезирующих микроорганизмов. Температурный диапазон для биосинтеза бактериальной наноцеллюлозы у разных продуцентов может варьировать от 25 до 33 °С. Диапазон pH, обеспечивающий наибольший выход бактериальной наноцеллюлозы, для разных продуцентов изменяется от 4 до 6,5. Обзор литературы показал необходимость подбора условий культивирования, обеспечивающих максимальный выход бактериальной наноцеллюлозы для каждого продуцента отдельно.*

**Ключевые слова:** бактериальная наноцеллюлоза, продуцент, выход продукта, аэрация, температура, уровень активной кислотности.

**Формат цитирования:** Гладышева Е.К. Влияние условий культивирования на биосинтез бактериальной наноцеллюлозы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8, N 3. С. 33–40. DOI: 10.21285/2227-2925-2018-8-3-33-40

**EFFECTS OF CULTIVATION CONDITIONS ON THE BIOSYNTHESIS OF  
BACTERIAL NANOCELLULOSE**© **E.K. Gladysheva**Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies,  
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (IPCET SB RAS),  
1, Sotsialisticheskaya St., Biysk, 659322, Russian Federation

*This paper describes conditions for the cultivation of bacterial nanocellulose using various primary producers. Research into parameters determining a high yield in the production of bacterial nanocellulose is highly relevant due to an increased demand in this product in various industries. Key parameters that affect the growth of cellulose-synthesizing bacteria and the biosynthesis of bacterial nanocellulose include the following: the concentration of the carbon source in the nutrient solution; aeration; cultivation temperature; active acidity level. The concentration of reducing substances in the nutrient solution can range from 6 to 100 g/l. The concentration of dissolved oxygen in the nutrient solution can be considered as a limiting factor for all cellulose-synthesizing microorganisms. It is shown that the temperature range for the bacterial nanocellulose biosynthesis can vary from 25 to 33°C for various primary producers. PH values that provide a maximal yield of bacterial nanocellulose are determined to range from 4 to 6.5 for various primary producers. The literature review has proven the importance of a case-by-case approach when selecting cultivation conditions for every primary producer so as to maximize the bacterial nanocellulose yield.*

**Keywords:** bacterial nanocellulose, cellulose-producing bacterium, product yield, aeration, temperature, pH level

**For citation:** Gladysheva E.K. Effects of cultivation conditions on the biosynthesis of bacterial nanocellulose. *Izvestia Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya*. [Proceedings of Universitets. Applied Chemistry and Biotechnology]. 2018, vol. 8, no. 3, pp. 33–40. (in Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2018-8-3-33-40

## ВВЕДЕНИЕ

Бактериальная наноцеллюлоза (БНЦ) является универсальным соединением для разработки широкого круга высокотехнологичных импортозамещающих продуктов с высокой добавленной стоимостью в различных отраслях промышленности [1]. Биосинтез БНЦ – это сложный процесс, что обусловлено несколькими причинами: ограниченным выходом БНЦ (в связи с тем, что БНЦ не является целевым метаболитом для уксуснокислых бактерий [2]), использованием дорогостоящих питательных сред [3], чувствительностью уксуснокислых бактерий к изменению внешних факторов окружающей среды, и, следовательно, снижением выхода БНЦ [1, 2]. Первую проблему решают методами генетической инженерии, создавая высокоэффективные продуценты БНЦ [2]. Вторую проблему – путем замены дорогостоящих синтетических питательных сред на питательные среды из отходов пищевых производств и использованием питательных сред из целлюлозосодержащего сырья [3]. Третья проблема решается с использованием математического моделирования, в результате устанавливают условия, обеспечивающие максимальный выход БНЦ. В настоящее время на данную тему опубликовано большое количество работ, т.к. для разных продуцентов условия, обеспечивающие максимальный выход БНЦ, отличаются [1, 2]. Таким образом, данные, полученные для одного продуцента, нельзя переносить на другой продуцент.

Основными параметрами, влияющими на рост целлюлозосинтезирующих бактерий и биосинтез БНЦ, являются:

- 1) концентрация источника углерода в питательной среде;
- 2) аэрация;
- 3) температура культивирования;
- 4) уровень активной кислотности [2].

*Концентрация источника углерода в питательной среде*

Несмотря на то, что глюкоза служит мономером в образовании БНЦ и наиболее широко применяется в качестве источника углерода для культивирования целлюлозосинтезирующих штаммов, её использование достаточно проблематично, так как параллельно с БНЦ может накапливаться побочный продукт – глюконовая кислота. Глюконовая кислота снижает уровень рН питательной среды, вследствие чего уменьшается выход целевого продукта. Из этого следует, что концентрация глюкозы – очень важный параметр.

Изучена зависимость выхода БНЦ при различных концентрациях глюкозы в питательной среде: 6, 12, 24 и 48 г/л. Выход БНЦ уменьшался с увеличением начальной концентрации глюкозы в питательной среде, что объяснялось увеличением концентрации глюконовой кислоты в процессе культивирования. Таким образом, при по-

вышении концентрации, глюкоза не использовалась для синтеза целлюлозы, а метаболизировалась в глюконовую кислоту. Авторы пришли к выводу, что высокая концентрация глюкозы в среде снижала выход БНЦ, а низкая концентрация глюкозы предпочтительнее для культивирования [4]. В работе [5] в результате исследований зависимости выхода БНЦ от концентрации глюкозы установлено, что максимальный выход БНЦ получен при концентрации глюкозы 1%, минимальный – при концентрации 2 и 3%.

При исследовании процесса биосинтеза БНЦ продуцентом *Acetobacter* sp. V6 на синтетических питательных средах с разной концентрацией глюкозы в динамических условиях, выход БНЦ повышался с увеличением концентрации глюкозы до 1,5%, а при концентрации 2% и более – снижался [6].

Для продуцента *Medusomyces gisevii* исследовали влияние концентрации сахарозы на выход БНЦ. В опытах использовали питательные среды с концентрациями сахарозы от 50 г/л до 250 г/л с шагом 20 г/л. Наибольший выход БЦ получен при концентрации сахарозы в питательной среде 90 г/л [7]. В работе [8] проведено культивирование *Medusomyces gisevii* на питательных средах с разной концентрацией глюкозы, показано, что наибольший выход БНЦ получен при концентрациях от 50 до 100 г/л. Однако при этом в питательной среде наблюдался большой процент остаточного сахара, что экономически нецелесообразно.

*Аэродинамические условия*

Растворенный кислород в питательной среде – это важный фактор, влияющий на биосинтез БНЦ. При культивировании в статических условиях, кислород является лимитирующим фактором для метаболизма клетки и биосинтеза БНЦ, кроме того определяет качество БНЦ [9, 10], поскольку продуценты БНЦ являются облигатными аэробами. Это микроорганизмы, для жизнедеятельности которых требуется свободный кислород. Облигатные, или строгие, аэробы прекращают свой рост и развитие при отсутствии свободного кислорода<sup>1</sup>.

В работе [11] исследовалось влияние кислорода и давления углекислого газа на биосинтез БНЦ, синтезируемой продуцентом *Acetobacter* в аэрируемой и перемешиваемой питательной среде. Биосинтез БНЦ зависел от переноса кислорода в объем питательной среды из воздуха. Из-за повышения вязкости питательной среды в процессе культивирования снижалось поступление кислорода. Повышение давления кислорода не оказывало положительного влияния на биосинтез БНЦ. Избыточное содержа-

<sup>1</sup> Нетрусов А.И., Котова И.Б. Микробиология: учебник. М.: Академия, 2006. 353 с.  
Netrusov A.I., Kotova I.B. Mikrobiologiya [Mikrobiologiya]. Moscow: Akademiya Publ., 2006, 353 p.

ние углекислого газа также снижало скорость биосинтеза БНЦ.

Концентрацию в питательной среде растворенного кислорода можно опосредованно изменять с помощью скорости перемешивания. В работе [12] определена оптимальная скорость аэрации для 50 л барбатажного реактора, составившая 30 л/мин. Авторы [13] исследовали скорость поглощения кислорода продуцентом *Gluconacetobacter xylinus* KJ1 во время биосинтеза БНЦ, в барбатажном реакторе объемом 50 л, где в качестве питательной среды использовались осахаренные пищевые отходы. Скорость поглощения кислорода за 12 ч культивирования составила 0,21 мг/л·мин. Эти исследования показали, что чистый кислород должен подаваться во время экспоненциальной фазы, когда наблюдается критическая концентрация растворенного кислорода. При этом условия, выход БНЦ в барбатажном реакторе объемом 50 л составил 7,37 г/л. В работе [14] исследовано влияние водорастворимых полимеров (агара) и нерастворимой БНЦ на вязкость и коэффициент объемного переноса воздуха в циркуляционном ферментере объемом 50 л. Резкое сокращение коэффициента объемного переноса воздуха вызвано растворимыми и нерастворимыми вязкими материалами.

Авторы [15] определили, что высокое содержание растворенного кислорода в питательной среде увеличивало содержание глюконовой кислоты, если в качестве источника углерода использовалась глюкоза, тем самым снижая биосинтез БНЦ. Однако, пониженное содержание растворенного кислорода в питательной среде не обеспечивало достаточное количество кислорода для роста целлюлозосинтезирующих микроорганизмов и биосинтез БНЦ также снижался. В работе [16] наибольший выход БНЦ получен при концентрации растворенного кислорода 10%.

Авторы [17] исследовали производство БНЦ, подавая обогащенный кислородом воздух в аэрлифтный реактор объемом 50 л. Начальная концентрация фруктозы изменялась от 30 до 70 г/л. Наибольшая масса БНЦ получена при концентрации фруктозы в питательной среде от 60 до 70 г/л. При этом увеличение концентрации БНЦ сопровождалось снижением выделения CO<sub>2</sub> и других веществ, т.е. наблюдалась эффективная утилизация субстрата для биосинтеза БНЦ.

В работе [8] подача избыточного кислорода при культивировании продуцента *Medusomyces gisevii* негативно влияла на биосинтез БНЦ.

#### Температура

Авторами [18] исследовано влияние температуры (от 20 до 40 °С) на выход БНЦ, синтезируемой продуцентом *Acetobacter sp.* A9 на стандартной питательной среде [19]. Оптималь-

ная температура для биосинтеза БНЦ – 30 °С. Снижение температуры до 25 °С незначительно снижало выход БНЦ по сравнению с 30 °С, однако увеличение температуры до 35 °С значительно снижало выход БНЦ [20]. Для продуцента *Gluconacetobacter sp.* RV28 оптимальная температура для биосинтеза БНЦ также составляла 30 °С [4]. В работе [8] оптимальный диапазон температур для биосинтеза БНЦ продуцентом *Medusomyces gisevii* составил от 25 до 30 °С. Кристаллическая структура образцов БНЦ также зависит от температуры культивирования. БНЦ, синтезированная штаммом *Acetobacter xylinum* ATCC 23769, на стандартной питательной среде при температуре 4 °С имела структуру целлюлозы II, в то время как БНЦ синтезированная при 28 °С – структуру целлюлозы I [21]. Аналогичные исследования [22] показали, что БНЦ, синтезированная штаммом *Acetobacter xylinum* BPR2001 при температуре от 25 до 30 °С, имела структуру целлюлозы I.

В работе [23] исследовано влияние температуры на выход БЦ, полученной с использованием продуцента *Komagataebacter xylinum* ATCC 53524, и степень полимеризации полученных образцов БНЦ. Структура полученных образцов БНЦ исследована методом инфракрасной спектроскопии. Установлено, что для данного штамма оптимальной температурой для биосинтеза БНЦ являлась 33 °С. Установлено, что температура культивирования не влияла на степень полимеризации полученных образцов БНЦ.

#### Уровень активной кислотности

Оптимальный диапазон pH для роста бактерий и биосинтеза БНЦ различен для различных штаммов. Обычно pH находится в диапазоне от 4 до 7. БНЦ синтезировалась в широком диапазоне pH от 4,5 до 7,5 с повышением выхода при pH 6,5 [18]. В работе [24] штаммы *Acetobacter pasteurianus* HVB6 и *Acetobacter lovaniensis* HVB5 культивировали при pH 2,5; 3,5; 4,5; 6,5; 7,5 и 8,5. Наибольший выход БНЦ составлял от 0,035 г/л до 0,040 г/л (на стандартной питательной среде) и от 0,021 г/л до 0,029 г/л (на мелассе) и получен при pH 6,5. Для продуцента *Gluconacetobacter sp.* RV28 оптимальное значение pH, обеспечивающее максимальный выход БНЦ – 6,0 [2]. Однако, биосинтез БНЦ в промышленном масштабе для медицинского применения проводится при пониженном pH между 4-4,5, так как это позволяет избежать загрязнения питательной среды посторонней микрофлорой в ходе культивирования [25]. В работе [26] наибольший выход БНЦ достигался при pH 5,5. Для штамма *Acetobacter xylinum* 0416 оптимальное значение активной кислотности, обеспечивающего максимальный выход БНЦ, составляло 5,0 [27].

Для продуцента *Acetobacter xylinum* NCIM 2526 оптимальным значением являлось pH 4,0. Данное значение активной кислотности обеспечи-

вало наибольший выход БНЦ [28]. В работе [16] для продуцента *Acetobacter xylinum* BRC5 установлено, что значение pH, равное 4, способствовало образованию глюконовой кислоты, а значение pH равное 5,5 – биосинтезу БНЦ. Степень кристалличности БНЦ также зависела от значения pH питательной среды [29]. Экспериментально было установлено, что pH может снижаться как функция от времени из-за накопления вторичных метаболитов, таких как глюконовая, уксусная или молочная кислоты, которые накапливались в ходе потребления сахаров и источников азота. Следовательно, для максимального выхода БНЦ важно поддержание pH питательной среды на постоянном уровне. Поэтому жидкий кукурузный экстракт добавляли в питательную среду в качестве буфера, для поддержания постоянного уровня активной кислотности. Однако, кукурузный экстракт повышал вязкость среды, что могло привести к неоднородному смешиванию компонентов внутри среды [30]. При культивировании продуцента *Acetobacter* sp. 4В-2 наибольший выход БНЦ получен при pH в диапазоне 6–7 и составил 12 г/л [31].

В работе [32] проведено культивирование штамма *Acetobacter xylinum* 0416 в роторном дисковом реакторе объемом 10 л. Исследовано влияние различных значений pH в диапазоне 3,5–7,5 на выход БНЦ. Наибольшая масса сухой БНЦ получена при pH 5,0 и составила 28,3 г, а наименьшая масса сухой БНЦ получена при pH 3,5 и составила 4,7 г. Исследования также показали, что масса сухой БНЦ, полученная при контроле pH питательной среды в ходе эксперимента, выше на 60% по сравнению с неконтролируемой pH. Кроме того, масса сухой БНЦ снизилась до 30 %, когда значение pH снизилось с 5,05 до 3,56. Образование побочного продукта (уксусной кислоты) в ходе процесса

культивирования снижало значение pH.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обзор зарубежной и отечественной литературы показал, что для каждого выбранного продуцента, синтезирующего БНЦ, необходимо подбирать условия культивирования обеспечивающие его максимальный выход.

Оптимальная концентрация редуцирующих веществ в питательной среде может находиться в диапазоне от 6 до 100 г/л. Присутствие большого количества редуцирующих веществ в питательной среде, может оказывать негативное влияние на биосинтез БНЦ. Лишние питательные вещества не могут быть полностью утилизированы микроорганизмами, поэтому возможно их нецелевое использование, что приводит к синтезу побочных продуктов, ингибирующих биосинтез БНЦ.

Концентрацию растворенного кислорода в питательной среде можно считать лимитирующим фактором для всех целлюлозосинтезирующих микроорганизмов. При этом избыточное содержание кислорода в питательной среде негативно влияет на биосинтез БНЦ, способствуя синтезу побочных продуктов. Поэтому выбор оптимальной скорости аэрации играет важную роль при биосинтезе БНЦ.

Температурный диапазон для биосинтеза БНЦ у разных продуцентов может варьировать от 25 до 33 °С. Более того, температура культивирования оказывает влияние на надмолекулярную структуру БНЦ и, следовательно, на свойства готового продукта.

Диапазон pH, обеспечивающий наибольший выход БНЦ, для разных продуцентов изменяется от 4 до 6,5. Кроме того, что значение pH влияет на выход БНЦ, оно также влияет на способность продуцента сопротивляться посторонней микрофлоре.

*This work was supported by Russian Scientific Foundation (Project no. 17-19-01054)*

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Lin S.-P., Calvar I.L., Catchmark J.M., Liu J.-R., Demirci A., Cheng K.-C. Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose // *Cellulose*. 2013. V. 20, N 5. P. 2191–2219. DOI 10.1007/s10570-013-9994-3.
2. Lee K.-Y., Buldum G., Mantalaris A., Bismarck. More than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites // *Macromolecular Bioscience*. 2014. V. 14, N 1. P. 10–32. DOI: 10.1002/mabi.201300298
3. Lestari P., Elfrida N., Suryani A., Suryadi Y. Study on the Production of Bacterial Cellulose from *Acetobacter xylinum* using Agro-Waste // *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2014, V. 7, N 1. P. 75–80. DOI: 10.12816/0008218
4. Masaoka, S., Ohe T., Sakota N. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum* // *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1993. V. 7, N 1. P. 18–22. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(93\)90171-4](https://doi.org/10.1016/0922-338X(93)90171-4)
5. Keshk, S., Sameshima K. Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production // *African Journal of Biotechnology*. 2005. V. 4, N 6. P. 478–482.
6. Son H.J., Kim H.G., Kim K.K., Kim H.S., Kim Y.G., Lee S.J. Increased production of bacterial cellulose by *Acetobacter* sp. V6 in synthetic media under shaking culture conditions // *Biorenewable technology*. 2003. V. 86, N 3. P. 215–219.

[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00176-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00176-1)

7. Goh W.N., Rosma A., Kaur B., Fazilah A., Karim A.A., Rajeev B. Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose // *International Food Research Journal*. 2012. V. 19, N 1. P. 109–117.

8. Юркевич Д.И., Кутышенко В.П. Медузомицет (Чайный гриб): научная история, состав, особенности физиологии и метаболизма // *Биофизика*. 2002. N 6. С. 1116–1129.

9. Shirai A., Takahashi M., Kaneko H., Nishimura S., Ogawa M., Nishi N., Tokura S. Biosynthesis of a novel polysaccharide by *Acetobacter xylinum* // *International Journal of Biological Macromolecules*. 1994. N 16. P. 297–300.

10. Aloni Y., Delmer D.P., Benziman M. Achievement of high rates of in vitro synthesis of 1, 4-beta-D-glucan: activation by cooperative interaction of the *Acetobacter xylinum* enzyme system with GTP, polyethylene glycol, and a protein factor // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1982. V. 79, N 21. P. 6448–6452.

11. Kouda T., Naritomi T., Yano H., Yoshinaga F. Effects of oxygen and carbon dioxide pressures on bacterial cellulose production by *Acetobacter* in aerated and agitated culture // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 1997. V. 84, N 2. P. 124–137. [https://doi.org/10.1016/S0922-338X\(97\)82540-8](https://doi.org/10.1016/S0922-338X(97)82540-8)

12. Song H.-J., Li H., Seo J.-H., Kim M.-J., Kim S.-J. Pilot-scale production of bacterial cellulose by a spherical type bubble column bioreactor using saccharified food wastes // *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2009. V. 26, N 1. P. 141–146. doi: 10.1007/s11814-009-0022-0

13. Li H., Kim S.J., Lee Y.W., Kee C., Oh I. Determination of the stoichiometry and critical oxygen tension in the production culture of bacterial cellulose using saccharified food wastes // *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2011. V. 28, N 11. P. 2306–2311. <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0111-8>

14. Kim S., Li H., Oh I., Kee C., Kim M. Effect of viscosity inducing factors on oxygen transfer in production culture of bacterial cellulose // *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2012. V. 29, N 6. P. 792–797. DOI <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0245-8>

15. Tantratian S., Tammarate P., Krusong W., Bhattarakosol P., Phunsri A. Effect of dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter* sp. // *Journal Sciences Research Chula University*. 2005. V. 30, N 2. P. 179–186.

16. Hwang J.W., Yang Y.K., Hwang J.K., Pyun Y.R., Kim Y.S. Effects of pH and dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 in agitated culture // *Journal Of Bioscience And Bioengineering*. 1999. V. 88, N 2. P. 183-188. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(99\)80199-6](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(99)80199-6)

17. Chao Y., Sugano Y., Shoda M. Bacterial cellulose production under oxygen-enriched air at

different fructose concentrations in a 50-liter, internal-loop airlift reactor // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2001. V. 55, N 6. P. 673–679. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0290(20000505)68:3<345::AID-BIT13>3.0.CO;2-M

18. Son H.J., Heo M.S., Kim Y.G., Lee S.J. Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter* // *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2001. V. 33, N 1. P. 1–5. DOI: 10.1042/BA20000065

19. Hestrin S., Schramm M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*: II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose // *Journal of Biochemistry*. 1954. V. 58, N 2. P. 345–352.

20. Wong H.C., Fear A.L., Calhoon R.D., Eichinger G.H., Mayer R., Amikam D., Benziman M., Gelfand D.H., Meade J.H., Emerick A.W., Bruner R., Ben-Bassat A., Tal R. Genetic organization of the cellulose synthase operon in *Acetobacter xylinum* // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990. V. 87, N 2. P. 8130–8134.

21. Hirai A., Tsuji M., Horii F. Culture conditions producing structure entities composed of cellulose I and II in bacterial cellulose // *Cellulose*. 1997. V. 4, N 3. P. 239–245. <https://doi.org/10.1023/A:1018439907396>

22. Zeng, X., Liu J., Chen J., Wang Q., Li Z., Wang H. Screening of the common culture conditions affecting crystallinity of bacterial cellulose // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2011. V. 38, N 12. P. 1993–1999.

23. Penttila P.A., Sugiyama J., Imai T. Effects of reaction conditions on cellulose structures synthesized in vitro by bacterial cellulose synthases // *Carbohydrate Polymers*. 2016. V. 136. P. 656–666. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.082>

24. Coban E.P., Biyik H. Evaluation of different pH and temperatures for bacterial cellulose production in HS (Hestrin-Scharmm) medium and beet molasses medium // *African Journal of Microbiology Research*. 2011. V. 5, N 9. P. 1037–1045. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.008>

25. Jonas R., Farah L.F. Production and application of microbial cellulose // *Polymer Degradation and Stability*. 1998. V. 59, N 1-3. P. 101-106. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00197-3)

26. Bacterial nanocellulose: a sophisticated multifunctional material / ed. by M. Gama, P. Gatenholm, D. Klemm. 2013. 306 p.

27. Klemm D., Schumann D., Udhart U., Marsch S. Bacterial synthesis cellulose—artificial blood vessels for microsurgery // *Progress in Polymer Science*. 2001. V. 26, N 9. P. 1561–1603. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00021-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00021-1)

28. Jagannath A., Kalaiselvan A., Manjunatha S.S., Raju P.S., Bawa A.S. The effect of pH, sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (Nata-de-coco) by *Acetobacter xylinum* // *World Journal of Microbiology*

and Biotechnology. 2008. V. 24, N 11. P. 2593–2599. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9781-8>

29. Zeng, X., Liu J., Chen J., Wang Q., Li Z., Wang H. Screening of the common culture conditions affecting crystallinity of bacterial cellulose // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2011. V. 38, N 12. P. 1993–1999. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-0989-5>

30. Noro N., Sugano Y., Shoda M. Utilization of the buffering capacity of corn steep liquor in bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004. V. 64, N 2.

P. 199–205. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1457-6>

31. Pourramezan G.Z., Roayaei A.M., Qezelbash Q.R. Optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. 4B-2 // *Biotechnology*. 2009. V. 8, N 1. P. 150–154. DOI: 10.3923/biotech.2009.150.154

32. Khairul A.Z., Norhayati P., Ida I.M. Monitoring the Effect of pH on Bacterial Cellulose Production and *Acetobacter xylinum* 0416 Growth in a Rotary Discs Reactor // *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2015. V. 40, N 7. P. 1881–1885. DOI 10.1007/s13369-015-1712-z

## REFERENCES

1. Lin S.-P., Calvar I.L., Catchmark J.M., Liu J.-R., Demirci A., Cheng K.-C. Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose*. 2013, vol. 20, no. 5, pp. 2191–2219. DOI 10.1007/s10570-013-9994-3.

2. Lee K.-Y., Buldum G., Mantalaris A., Bismarck. More than Meets the Eye in Bacterial Cellulose: Biosynthesis, Bioprocessing, and Applications in Advanced Fiber Composites. *Macromolecular Bioscience*. 2014, vol. 14, no. 1, pp. 10–32. DOI: 10.1002/mabi.201300298

3. Lestari P., Elfrida N., Suryani A., Suryadi Y. Study on the Production of Bacterial Cellulose from *Acetobacter xylinum* using Agro-Waste. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2014, vol. 7, no. 1, pp. 75–80. DOI: 10.12816/0008218

4. Masaoka S., Ohe T., Sakota N. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1993, vol. 7, no. 1, pp. 18–22. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(93\)90171-4](https://doi.org/10.1016/0922-338X(93)90171-4)

5. Keshk S., Sameshima K. Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production. *African Journal of Biotechnology*. 2005, vol. 4, no. 6, pp. 478–482.

6. Son H.J., Kim H.G., Kim K.K., Kim H.S., Kim Y.G., Lee S.J. Increased production of bacterial cellulose by *Acetobacter* sp. V6 in synthetic media under shaking culture conditions. *Bioresource technology*. 2003, vol. 86, no. 3, pp. 215–219. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00176-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00176-1)

7. Goh W.N., Rosma A., Kaur B., Fazilah A., Karim A.A., Rajeev B. Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal*. 2012, vol. 19, no. 1, pp. 109–117.

8. Yurkevich D.I., Kutysenko V.P. Medusomitset (Kombucha): scientific history, composition, features of physiology and metabolism. *Biofizika [Biophysics]*. 2002, no. 6, pp. 1116–1129. (in Russian).

9. Shirai A., Takahashi M., Kaneko H., Nishimura S., Ogawa M., Nishi N., Tokura S. Biosynthesis of a novel polysaccharide by *Acetobacter xylinum*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1994, no. 16, pp. 297–300.

10. Aloni Y., Delmer D.P., Benziman M. Achieve-

ment of high rates of in vitro synthesis of 1, 4-beta-D-glucan: activation by cooperative interaction of the *Acetobacter xylinum* enzyme system with GTP, polyethylene glycol, and a protein factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1982, vol. 79, no. 21, pp. 6448–6452.

11. Kouda T., Naritomi T., Yano H., Yoshinaga F. Effects of oxygen and carbon dioxide pressures on bacterial cellulose production by *Acetobacter* in aerated and agitated culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 1997, vol. 84, no. 2, pp. 124–137. [https://doi.org/10.1016/S0922-338X\(97\)82540-8](https://doi.org/10.1016/S0922-338X(97)82540-8)

12. Song H.-J., Li H., Seo J.-H., Kim M.-J., Kim S.-J. Pilot-scale production of bacterial cellulose by a spherical type bubble column bioreactor using saccharified food wastes. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2009, vol. 26, no. 1, pp. 141–146. doi: 10.1007/s11814-009-0022-0

13. Li H., Kim S.-J., Lee Y.-W., Kee C., Oh I. Determination of the stoichiometry and critical oxygen tension in the production culture of bacterial cellulose using saccharified food wastes. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2011, vol. 28, no. 11, pp. 2306–2311. <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0111-8>

14. Kim S., Li H., Oh I., Kee C., Kim M. Effect of viscosity inducing factors on oxygen transfer in production culture of bacterial cellulose. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2012, vol. 29, no. 6, pp. 792–797. DOI <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0245-8>

15. Tantratian S., Tammarate P., Krusong W., Bhattarakosol P., Phunsri A. Effect of dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter* sp. *Journal Sciences Research Chula University*. 2005, vol. 30, no. 2, pp. 179–186.

16. Hwang J.W., Yang Y.K., Hwang J.K., Pyun Y.R., Kim Y.S. Effects of pH and dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 in agitated culture. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 1999, vol. 88, no. 2, pp. 183–188. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(99\)80199-6](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(99)80199-6)

17. Chao Y., Sugano Y., Shoda M. Bacterial cellulose production under oxygen-enriched air at different fructose concentrations in a 50-liter, inter-

nal-loop airlift reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2001, vol. 55, no. 6, pp. 673–679. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0290(20000505)68:3<345::AID-BIT13>3.0.CO;2-M

18. Son H.J., Heo M.S., Kim Y.G., Lee S.J. Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2001, vol. 33, no. 1, pp. 1–5. DOI: 10.1042/BA20000065

19. Hestrin S., Schramm M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*: II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Journal of Biochemistry*. 1954, vol. 58, no. 2, pp. 345–352.

20. Wong H.C., Fear A.L., Calhoon R.D., Eichinger G.H., Mayer R., Amikam D., Benziman M., Gelfand D.H., Meade J.H., Emerick A.W., Bruner R., Ben-Bassat A., Tal R. Genetic organization of the cellulose synthase operon in *Acetobacter xylinum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990, vol. 87, no. 2, pp. 8130–8134.

21. Hirai A., Tsuji M., Horii F. Culture conditions producing structure entities composed of cellulose I and II in bacterial cellulose. *Cellulose*. 1997, vol. 4, no. 3, pp. 239–245. <https://doi.org/10.1023/A:1018439907396>

22. Zeng X., Liu J., Chen J., Wang Q., Li Z., Wang H. Screening of the common culture conditions affecting crystallinity of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2011, vol. 38, no. 12, pp. 1993–1999.

23. Penttila P.A., Sugiyma J., Imai T. Effects of reaction conditions on cellulose structures synthesized in vitro by bacterial cellulose synthases. *Carbohydrate Polymers*. 2016, vol. 136, pp. 656–666. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.082>

24. Coban E.P., Biyik H. Evaluation of different pH and temperatures for bacterial cellulose production in HS (Hestrin-Schramm) medium and beet molasses medium. *African Journal of Microbiology Research*. 2011, vol. 5, no. 9, pp. 1037–1045. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.008>

25. Jonas R., Farah L.F. Production and application of microbial cellulose. *Polymer Degradation and Stability*. 1998, vol. 59, no. 1–3, pp. 101–106. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00197-3)

26. Bacterial nanocellulose: a sophisticated multifunctional material. Under the editorship of M. Gama, P. Gatenholm, D. Klemm. CRC Press Publ., 2013, 306 p.

27. Klemm D., Schumann D., Udhart U., Marsch S. Bacterial synthesis cellulose – artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in Polymer Science*. 2001, vol. 26, no. 9, pp. 1561–1603. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00021-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00021-1)

28. Jagannath A., Kalaiselvan A., Manjunatha S.S., Raju P.S., Bawa A.S. The effect of pH, sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (*Nata-decoco*) by *Acetobacter xylinum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2008, vol. 24, no. 11, pp. 2593–2599. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9781-8>

29. Zeng X., Liu J., Chen J., Wang Q., Li Z., Wang H. Screening of the common culture conditions affecting crystallinity of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2011, vol. 38, no. 12, pp. 1993–1999. <https://doi.org/10.1007/s10295-011-0989-5>

30. Noro N., Sugano Y., Shoda M. Utilization of the buffering capacity of corn steep liquor in bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004, vol. 64, no. 2, pp. 199–205. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1457-6>

31. Pourramezan G.Z., Roayaei A.M., Qezelbash Q.R. Optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. 4B-2. *Biotechnology*. 2009, vol. 8, no. 1, pp. 150–154. DOI: 10.3923/biotech.2009.150.154

32. Khairul A.Z., Norhayati P., Ida I.M. Monitoring the Effect of pH on Bacterial Cellulose Production and *Acetobacter xylinum* 0416 Growth in a Rotary Discs Reactor. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2015, vol. 40, no. 7, pp. 1881–1885. DOI 10.1007/s13369-015-1712-z

#### **Критерии авторства**

Гладышева Е.К. провела обобщение и написала рукопись. Гладышева Е.К. имеет на статью эксклюзивные авторские права и несёт ответственность за плагиат.

#### **Конфликт интересов**

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

#### **Contribution**

Gladysheva E.K. summarized the material and wrote the manuscript. Gladysheva E.K. has exclusive author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

#### **Conflict of interests**

The author declares no conflict of interests regarding the publication of this article.

**СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ**  
*Принадлежность к организации*

**Евгения К. Гладышева**  
Институт проблем химико-энергетических  
технологий СО РАН,  
м.н.с. лаборатории биоконверсии  
evg-gladysheva@yandex.ru

*Поступила 20.02.2018*

**AUTHORS' INDEX**  
*Affiliations*

**Evgeniya K. Gladysheva**  
Institute for Problems of Chemical and Energetic  
Technologies,  
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences  
(IPCET SB RAS),  
Junior Researcher, Bioconversion Laboratory  
evg-gladysheva@yandex.ru

*Received 20.02.2018*