

УДК 577.114

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА БИОСИНТЕЗА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ НА ФЕРМЕНТАТИВНОМ ГИДРОЛИЗАТЕ ВОЛОКНИСТОГО ПРОДУКТА ПЛОДОВЫХ ОБОЛОЧЕК ОВСА

Гладышева Е.К.

ФГБУН «Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения»
Российской академии наук, Бийск, e-mail: evg-gladysheva@yandex.ru

Изучен процесс биосинтеза бактериальной целлюлозы (БЦ) на ферментативном гидролизате волокнистого продукта плодовых оболочек овса. Волокнистый продукт плодовых оболочек овса получен обработкой разбавленным раствором гидроксида натрия на опытном производстве. Ферментативный гидролиз осуществлён в ферментёре объёмом 11 л. Синтез БЦ проведён с помощью симбиотической культуры *Medusomyces gisevii*. Установлено, что численность уксуснокислых бактерий в процессе культивирования на порядок меньше, чем дрожжей. Основная утилизация субстрата происходит за 6 суток культивирования, константа утилизации субстрата составляет $0,205 \text{ сут}^{-1}$. Показано, что ферментативный гидролизат волокнистого продукта плодовых оболочек овса не является доброкачественной питательной средой для биосинтеза БЦ, выход БЦ составил 5,0%, что в 1,7 раз меньше, чем выход на синтетической питательной среде. Установлено, что структура бактериальной целлюлозы соответствует структуре растительной целлюлозы.

Ключевые слова: бактериальная целлюлоза, *Medusomyces gisevii*, инфракрасная спектроскопия, ферментативный гидролизат, плодовые оболочки овса

STUDY INTO BIOSYNTHESIS PROCESS OF BACTERIAL CELLULOSE ON ENZYMATIC HYDROLYZATE OF OAT HULL PULP

Gladysheva E.K.

*Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences (IPCET SB RAS), Biysk, e-mail: evg-gladysheva@yandex.ru*

The biosynthesis process of bacterial cellulose on an enzymatic hydrolyzate of oat hull pulp was studied. The oat hull pulp was obtained by dilute sodium hydroxide treatment in pilot production. Enzymatic hydrolysis was run in an 11-L fermentor. Microbial cellulose was synthesized using the symbiotic *Medusomyces gisevii* culture. The cell count of acetobacteria during the cultivation was found to be an order of magnitude less than that of the yeast. The substrate utilization basically takes 6 days of cultivation, the substrate utilization constant being 0.205 day^{-1} . The oat-hull pulp enzymatic hydrolyzate was shown to be not a good quality nutrient broth for the biosynthesis of biocellulose: the BC yield was 5.0%, which is 1.7 times lower than the yield obtained on a synthetic nutrient medium. The structure of BC was found to conform to that of plant cellulose.

Keywords: bacterial cellulose, *Medusomyces gisevii*, IR spectroscopy, enzymatic hydrolyzate, oat hulls

Стандартная питательная среда, используемая для синтеза бактериальной целлюлозы (БЦ), имеет высокую стоимость и содержит в своем составе компоненты такие, как глюкоза, дрожжевой экстракт, пептон и др. [12]. Масштабирование процесса и реализация на практике биотехнологического производства зависит от таких факторов, как наличие воспроизводимого массового дешевого сырья; простота трансформации сырья в питательную среду; возможность аппаратного оформления производства стандартным либо новым эффективным оборудованием; высокий выход целевого продукта и обеспечение стандартности его качества. Ввиду перспективности использования БЦ в различных отраслях промышленности [6, 7, 15], для создания крупномасштабного промышленного производства важной задачей является поиск подходящих источников углерода, имеющих низкую стоимость и не конкурирующих с пищевой

продукцией. По этой причине в последние годы многие исследования сосредоточены на попытках удешевить себестоимость БЦ, за счет использования эффективных штаммов целлюлозосинтезирующих бактерий, дешевых источников углерода, альтернативных добавок [13]. В работе [8] исследован биосинтез БЦ новым штаммом *Gluconacetobacter sucrofermentans* B-11267 на отходах пищевой промышленности: мелассе и послеспиртовой барде в статических и динамических условиях и исследованы ее физико-химические и механические свойства. Установлено, что максимальное количество полисахарида образуется на фильтрате нативной барды – 7 г/л, что почти в 3 раза выше, чем на стандартной среде.

Широко обсуждается концепция биосинтеза БЦ на средах кислотных или ферментативных гидролизатов целлюлозосодержащего сельскохозяйственного сырья с нулевой пищевой ценностью [13]. В такой

концепции решается не только проблема снижения себестоимости БЦ, но и проблема утилизации отходов сельского хозяйства: из сырья с нулевой себестоимостью синтезируется нанопродукт с высокой добавленной стоимостью.

В ИПХЭТ СО РАН разработана технология получения ферментативных гидролизатов из недревесного целлюлозосодержащего сырья – плодовых оболочек овса (ПОО). ПОО – массовый отход зернопереработки, составляют до 28 % от массы зерна, содержат 35–40 % целлюлозы и размещаются непосредственно в промышленных районах на элеваторах. ПОО представляют собой калиброванное природой сырье (размеры частиц в диапазоне 0,007–0,012 м), готовое к технологической переработке. ПОО подвергают предварительной химической либо физико-химической обработке, а затем ферментативному гидролизу. Обработка проводится с помощью разбавленных растворов кислоты или щелочи, либо гидротропным, либо термобарическим способом. Фундаментальные исследования ферментативного гидролиза различных субстратов показали, что его эффективность, определяется способом предварительной химической обработки [3]. Кроме того, для успешного микробиологического синтеза ферментативный гидролизат должен обладать биологической доброкачественностью [4].

В данной работе в качестве субстрата для ферментативного гидролиза выбран волокнистый продукт (ВП) ПОО. ВП ПОО получают обработкой сырья в одну стадию разбавленным раствором гидроксида натрия при атмосферном давлении в стандартном оборудовании, то есть экономически обоснован не только выбор сырья, но и способ предварительной обработки; кроме того, данный субстрат обладает высокой реакционной способностью к ферментативному гидролизу [4]. Показано, что ферментативный гидролизат, полученный из ВП ПОО, является биологически доброкачественным и для биосинтеза этанола не нуждается в дополнительной технологической обработке для освобождения его от вредных примесей [1].

Целью данной работы являлось изучение процесса биосинтеза БЦ на ферментативном гидролизате ВП ПОО и исследование структуры полученных образцов методом инфракрасной спектроскопии.

Материалы и методы исследования

ВП ПОО был получен обработкой разбавленным раствором гидроксида натрия на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН и имел следующий состав (% в пересчете на а.с.в.): массовая доля кислотонераство-

римого лигнина – 5,4, массовая доля золы – 1,1, массовая доля альфа-целлюлозы – 86,7, массовая доля пентозанов – 7,0.

Ферментативный гидролиз ВП ПОО проводился в ферментере объемом 11 м³ в водной среде при 50 °С в течение 72 ч с помощью ферментных препаратов Целлюлюкс-А и Брюзайм ВГХ, активная кислотность поддерживалась на уровне 4,7 с помощью гидроксида аммония, более подробно методика описана в работе [4].

Полученный ферментативный гидролизат отфильтровывался от остатков субстрата под вакуумом. Гидролизат представлял собой прозрачную жидкость соломенно-желтого цвета с кислым запахом с оттенком горелого овса, активная кислотность 4,7 ед. рН. Общее количество редуцирующих веществ (РВ) составило 44,9 г/л, из них ксилозы – 6,4 г/л. Для получения концентрации сахаров, обеспечивающей максимальный выход БЦ [2], ферментативный гидролизат ВП ПОО разбавлялся водой до концентрации РВ 22 г/л. В ферментативный гидролизат вносился сухой черный байховый чай (5 г/л), после кипячения раствор отфильтровывался и использовался как питательная среда для получения инокулята продуцента и биосинтеза БЦ.

В качестве продуцента для синтеза БЦ использовалась симбиотическая культура *Medusomyces gisevii*. Предварительно проводилась адаптация культуры на исследуемой питательной среде. Инокулят вносился в питательные среды в количестве 10 % от объема питательной среды, культивирование проводилось в статических условиях при 27 °С в течение 24 суток. Условия культивирования выбраны на основании проведенных работ [2].

Микробиологические показатели (количество дрожжей и уксуснокислых бактерий) контролировались с использованием микроскопа В – 150 ОРТИКА. Прирост пленки БЦ оценивался гравиметрически (весы лабораторные аналитические Explorer EX-224), уровень активной кислотности контролировался с помощью иономера (иономер И-160 МИ). Концентрация редуцирующих веществ (РВ) контролировалась спектрофотометрически (спектрофотометр «UNICO-2804», США) с использованием динитросалицилового реактива, концентрация ксилозы определялась по стандартной методике, которая основана на образовании фурфурола из пентозанов.

Структура бактериальной целлюлозы была исследована на инфракрасном спектрофотометре «Инфрарлюм ФТ-801» в таблетках КВг.

Результаты исследования и их обсуждение

Концентрация РВ через 72 ч ферментативного гидролиза в ферментере объемом 11 л составила $44,9 \pm 0,1$ г/л, что соответствует выходу РВ $68,0 \pm 0,2$ %.

Сравнение выхода РВ с результатами ферментативного гидролиза в колбе Эрленмейера (при аналогичной концентрации субстрата 60 г/л) [4] показывает снижение выхода на 10 %, что для данной стадии весьма существенно. Таким образом, переход от объема 150 мл к объему 9 л при реакции ферментативного гидролиза (коэффициент масштабирования 1:60) играет решающую

роль в снижении эффективности ферментативного гидролиза. Это может быть связано с колебаниями активной кислотности в процессе ферментативного гидролиза (в процессе ферментативного гидролиза всегда наблюдается подкисление, а поскольку pH поддерживался на заданном уровне вручную, то периодически pH отклонялся) или с наличием в среде ингибиторов (продуктов взаимодействия лигнина с щелочью), которые могут оставаться в реакционной массе даже после промывки ВП от щелочи.

Изменение количества дрожжей и уксуснокислых клеток в процессе культивирования *Medusomyces gisevii* на ферментативном гидролизате ВП ПОО представлено на рис. 1. На рис. 2 представлено изменение уровня активной кислотности в процессе культивирования *Medusomyces gisevii*.

Концентрация клеток дрожжей в питательной среде в процессе культивирования оказалась на порядок выше, чем уксуснокислых бактерий. Для дрожжей лаг-фаза не наблюдалась, увеличение концентрации клеток происходило с 0 по 9 сутки, с 9 по 13 сутки их количество оставалось постоянным, после 13 суток происходила фаза отмирания. Для уксуснокислых бактерий лаг-фаза также не наблюдалась, далее до 7 суток их количество увеличивалось экспоненциально, с 7 по 13 сутки количество клеток оставалось постоянным, с 13 суток происходила фаза отмирания. Полученные результаты подтверждают высказанное в литературе предположение, что у симбиотического организма сформировался особый вариант обмена веществ, элементы которого локализованы у разных партнеров [9].

В процессе культивирования симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* в питательной среде накапливаются промежуточные продукты гликолиза: уксусная, глюконовая кислоты, этанол и глицерин [9], косвенно об их накоплении можно судить по изменениям pH. Начальная активная кислотность питательной среды составляла 4,0, до шестых суток культивирования значение pH понизилось до 3,15, что свидетельствует о накоплении кислот и всегда фиксируется для данного продуцента [11]. Далее в процессе культивирования значение активной кислотности среды медленно повышалось от 3,15 до 3,3.

На рис. 3 представлена зависимость концентрации РВ и выхода БЦ от продолжительности культивирования.

Константа скорости утилизации субстрата рассчитана по формуле [10]:

$$K_{y.c.} = \frac{\ln\left(\frac{S_1}{S_2}\right)}{\tau_2 - \tau_1}, \quad (1)$$

где $K_{y.c.}$ – константа утилизации субстрата, сут⁻¹; S_1, S_2 – концентрация РВ в начальный и конечный моменты времени; t_1, t_2 – начальный и конечный моменты времени, сутки.

Утилизация субстрата происходила в два периода: с 0 по 6 сутки культивирования константа скорости утилизации субстрата составила 0,250 сут⁻¹, со 6 по 24 значение снизилось в 12 раз и составило 0,020 сут⁻¹. Быстрая утилизация РВ с 0 по 6 сутки связана с потреблением субстрата микроорганизмами и их активным размножением. Со 6 по 24 сутки РВ медленно расходуются на поддержание жизнедеятельности микроорганизмов.

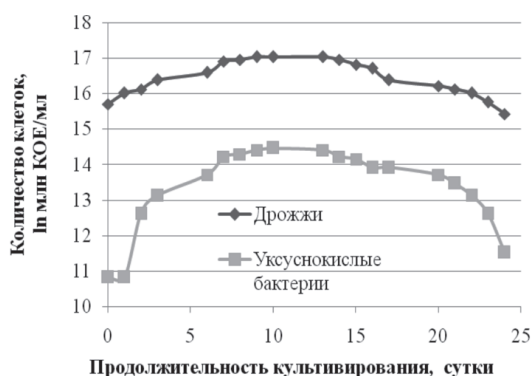


Рис. 1. Изменение количества дрожжей и уксуснокислых клеток в процессе культивирования *Medusomyces gisevii*

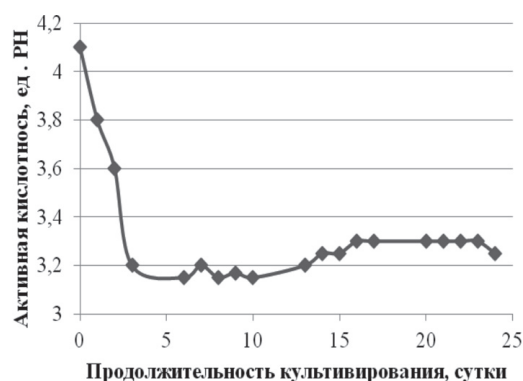


Рис. 2. Изменение уровня активной кислотности в процессе культивирования *Medusomyces gisevii*

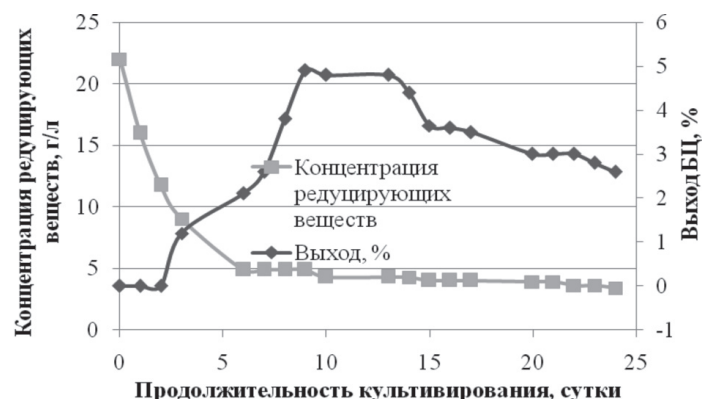


Рис. 3. Зависимость концентрации РВ и выхода БЦ от продолжительности культивирования

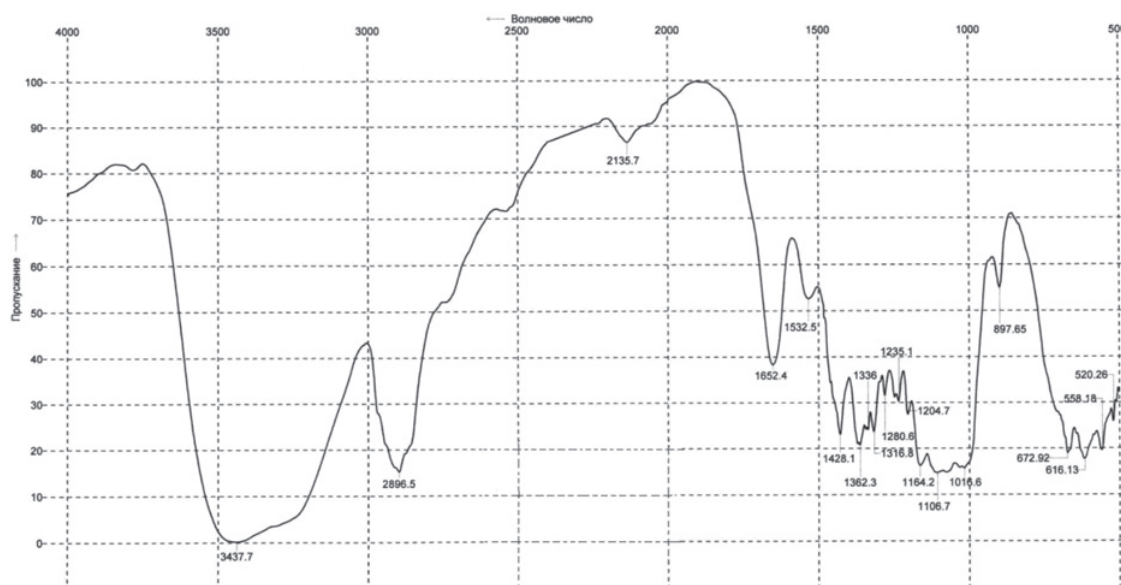


Рис. 4. ИК-спектр образца БЦ

Гидролизат ВП ПОО преимущественно состоит из глюкозы, концентрация ксилозы в нулевой момент времени составила 2,7 г/л. На 7 сутки культивирования общая концентрация РВ составила 4,9 г/л, при этом количество ксилозы в гидролизате практически не изменилось и составило 2,4 г/л. Через 24 суток культивирования концентрация РВ в питательной среде составила 3,4 г/л, из них концентрация ксилозы составила 1,7 г/л. Из этого можно сделать вывод, что микроорганизмы, входящие в симбиоз, предпочтительнее потребляют глюкозу.

Скорость синтеза продукта (бактериальной целлюлозы) рассчитана по формуле:

$$K_{\text{с.п.}} = \frac{\ln\left(\frac{c_2}{c_1}\right)}{\tau_2 - \tau_1}, \quad (2)$$

где $K_{\text{с.п.}}$ — константа синтеза продукта, сут⁻¹; C_1 , C_2 — масса продукта в начальный и конечный момент времени; t_1 , t_2 — начальный и конечный моменты времени, сутки.

В первые сутки культивирования на поверхности питательной среды не наблюдалось четко выраженной гель-пленки БЦ. На вторые сутки культивирования в объеме питательной среды появились нити БЦ, тонкая гель-пленка БЦ образовалась на 3 сутки культивирования. Основным при-

рост биомассы происходил с 3 по 9 сутки культивирования – выход БЦ увеличился с 1,0 % до 5,0 %; константа скорости синтеза продукта с 6 по 9 сутки культивирования составила 0,536 сут⁻¹.

Далее скорость синтеза БЦ резко падает: с 9 по 13 сутки константа скорости синтеза продукта снижается до нуля. С 13 по 24 сутки масса БЦ снижалась на 45 %, что указывает на идущие процессы деструкции, этот период совпадает с фазой отмирания дрожжей и уксуснокислых бактерий. Таким образом, на практике начало фазы отмирания симбиотических микроорганизмов может служить критерием окончания процесса биосинтеза БЦ.

Ферментативный гидролизат ВП ПОО не является благоприятной питательной средой для биосинтеза БЦ, наибольший выход БЦ составил 5,0 %, что в 1,7 раз меньше, чем выход БЦ на синтетической питательной среде при культивировании *Medusomyces gisevii* в аналогичных условиях – 8,4 % [2]. Предположительно это можно объяснить способом предобработки исходного сырья и присутствием примесей в ферментативном гидролизате волокнистого продукта ПОО, которые могут ингибировать биосинтез БЦ. Таким образом, использование субстрата с высокой реакционной способностью к ферментативному гидролизу не является гарантией высокого выхода БЦ. Более того доброкачественность ферментативного гидролизата ВП ПОО для биосинтеза этанола [1] не является гарантией доброкачественности для биосинтеза БЦ, что обусловлено большой требовательностью к качеству питательных сред симбиотических продуцентов *Medusomyces gisevii* по сравнению с *Saccharomyces cerevisiae*. Можно предположить, что для успешного биосинтеза БЦ следует использовать более чистые субстраты, например техническую целлюлозу ПОО.

На рис. 4 представлен ИК-спектр образца БЦ на 7 сутки культивирования.

В инфракрасном спектре образца БЦ присутствует интенсивная полоса при 3438 см⁻¹, которая указывает на валентные колебания ОН-групп. Менее интенсивная полоса при 2897 см⁻¹ обусловлена валентными колебаниями групп СН₂, СН. В спектре бактериальной целлюлозы слабая полоса при 1652 см⁻¹ принадлежит деформационным колебаниям ОН-групп прочно связанной воды. Слабые полосы поглощения в диапазоне: 1370–1430 см⁻¹ обусловлены деформационным колебанием групп СН₂; 1360–1320 см⁻¹ – деформационные колебания групп ОН в СН₂ОН. Полосы при 1281 и 1235 см⁻¹ указывают на деформационные колебания ОН-групп в спиртах. Полоса при

1205 см⁻¹ указывает на деформационные колебания ОН-групп. Полосы поглощения в области 1000–1200 см⁻¹ обусловлены в основном валентными колебаниями С-О-С и С-О в спиртах [5]. Таким образом, структура БЦ полностью соответствует структуре растительной целлюлозы и представляет собой полимер β-1,4-глюкан.

Выводы

Исследован процесс биосинтеза БЦ симбиотической культурой *Medusomyces gisevii* на ферментативном гидролизате ВП ПОО. Основная утилизация субстрата происходит за 6 суток культивирования, константа утилизации субстрата составляет 0,205 сут⁻¹. Установлено, что численность уксуснокислых бактерий в процессе культивирования на порядок меньше, чем дрожжей, и через 9 суток составляет 1,9 КОЕ/мл. Показано, что на практике начало фазы отмирания симбиотических микроорганизмов может служить критерием окончания процесса биосинтеза, так как эта фаза совпадает с процессом деструкции БЦ. Показано, что ферментативный гидролизат ВП ПОО не является доброкачественной питательной средой для биосинтеза БЦ: выход БЦ на 10 сутки культивирования составляет 5,0 %, что в 1,7 раз меньше, чем выход БЦ на синтетической питательной среде, а на 24 сутки выход падает до 2,5 %, то есть 45 % БЦ подвергается деструкции. Структура БЦ исследована методом инфракрасной спектроскопии, установлено ее соответствие структуре растительной целлюлозы.

Список литературы

1. Байбакова О.В. Химическая обработка плодовых оболочек овса для синтеза биоэтанола // Ползуновский вестник. – 2015. – № 4–2. – С. 71–74.
2. Гладышева Е.К. Изучение биосинтеза бактериальной целлюлозы культурой *Medusomyces gisevii* J. Lindau на средах с различной начальной концентрацией глюкозы // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2–1. – С. 13–17.
3. Макарова Е.И. Биоконверсия непищевого целлюлозосодержащего сырья: энергетических растений и отходов АПК: дис. ... канд. техн. наук: 03.01.06. – Щелково, 2015. – 161 с.
4. Макарова Е.И., Будаева В.В. Исследование ферментативного гидролиза волокнистого продукта плодовых оболочек овса при различных концентрациях субстрата // Ползуновский вестник. – 2015. – № 3. – С. 113–116.
5. Новый справочник химика и технолога. Сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ. Ч. II. – СПб.: НПО «Профессионал», 2006. – 1142 с.
6. Пат. 2437681 C1 RU, МПК А61L 15/18, А61L 15/44, А61L 15/28. Раневое покрытие с лечебным действием / В.А. Попов, Н.Г. Венгерович, А.К. Хрипунов, Т.В. Ткаченко, Е.Р. Гасилова, Г.П. Александрова, К.Н. Касанов, Е.В. Антоненкова; заявлено 09.08.2010; опубл. 27.12.2011, Бюл. № 36. – 1 с.
7. Пат. 2472891 RU, МПК D 21 H 17/25, D 21 H 25/18. Способ восстановления недостающих частей бумаги / Е.Г. Смирнова, Е.М. Лоцманова, А.К. Хрипунов, Т.В. Ткаченко. – заявлено 15.06.2011; опубл. 20.01.2013, Бюл. № 2. – 5 с.

8. Ревин В.В., Лияскаина Е.В., Назаркина М.И., Богатырева А.О., Щанкин М.В. Получение бактериальной целлюлозы на отходах пищевой промышленности // Актуальная биотехнология. – 2014. – № 3. – С. 112.

9. Юркевич Д.И., Кутышенко В.П. Медузомицет (Чайный гриб): научная история, состав, особенности физиологии и метаболизма // Биофизика. – 2002. – № 6. – С. 1116–1129.

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

11. 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. – № 19 (1). – P. 109–117.

12. 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. – № 58. – P. 345–352.

13. Kiziltas E.E., Kiziltas A., Gardner D.J. Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars // Carbohydrate Polymers. – 2015. – № 124. – P. 131–138.

14. Tang X., Kumar P., Alavi, S., Sandeep K. Recent advances in biopolymers and biopolymer-based nanocomposites for food packaging materials // Critical reviews in food science and nutrition. – 2012. – № 52. P. 426–442.

References

1. Bajbakova O.V. Himicheskaja obrabotka plodovyh obolochek ovsa dlja sinteza biojetanola // Polzunovskij vestnik. 2015. no. 4–2. pp. 71–74.

2. Gladysheva E.K. Izuchenie biosinteza bakterialnoj celljulozy kulturoj Medusomyces gisevii J. Lindau na sredah s razlichnoj nachalnoj koncentraciej gljukozy // Fundamentalnye issledovanija. 2015. no. 2–1. pp. 13–17.

3. Makarova E.I. Biokonversija nepishhevo celljulozos-oderzhashhego syrja: jenergeticheskikh rastenij i othodov APK: dis. ... kand. tehnik. nauk: 03.01.06. Shhelkovo, 2015. 161 p.

4. Makarova E.I., Budaeva V.V. Issledovanie fermentativnogo gidroliza voloknistogo produkta plodovyh obolochek

ovsa pri razlichnyh koncentracijah substrata // Polzunovskij vestnik. 2015. no. 3. pp. 113–116.

5. Novyj spravocnik himika i tehnologa. Syre i produkty promyshlennosti organicheskikh i neorganicheskikh veshhestv. Ch.II. Spb.: NPO «Professional», 2006. 1142 p.

6. Pat. 2437681 S1 RU, MPK A61L 15/18, A61L 15/44, A61L 15/28. Ranevoe pokrytie s lechebnym dejstviem / V.A. Popov, N.G. Vengerovich, A.K. Hripunov, T. V. Tkachenko, E.R. Gasilova, G.P. Aleksandrova, K.N. Kasanov, E.V. Antonenkova; zajavleno 09.08.2010; opubl. 27.12.2011, Bjul. no. 36. 1 p.

7. Pat. 2472891 RU, MPK D 21 H 17/25, D 21 H 25/18. Sposob vosstanovlenija nedostajushhih chastej bumagi / E.G. Smirnova, E.M. Locmanova, A.K. Hripunov, T.V. Tkachenko; zajavleno 15.06.2011; opubl. 20.01.2013, Bjul. no. 2. 5 p.

8. Revn V.V., Lijaskina E.V., Nazarkina M.I., Bogatyreva A.O., Shhankin M.V. Poluchenie bakterialnoj celljulozy na othodah pishhevoj promyshlennosti // Aktualnaja biotehnologija. 2014. no. 3. pp. 112.

9. Jurkevich D.I., Kutyschenko V.P. Meduzomicet (Chajnyj grib): nauchnaja istorija, sostav, osobennosti fiziologii i metabolizma // Biofizika. 2002. no. 6. pp. 1116–1129.

10. Jarovenko V.L., Marinchenko V.A., Smirnov V.A. Tehnologija spirita. M.: Kolos, 1999. 464 p.

11. 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. no. 19 (1). pp. 109–117.

12. 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. no. 58. pp. 345–352.

13. Kiziltas E.E., Kiziltas A., Gardner D.J. Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars // Carbohydrate Polymers. 2015. no. 124. pp. 131–138.

14. Tang X., Kumar P., Alavi, S., Sandeep K. Recent advances in biopolymers and biopolymer-based nanocomposites for food packaging materials // Critical reviews in food science and nutrition. 2012. no. 52. pp. 426–442.