



BIONANOCELULOZA – WŁAŚCIWOŚCI, POZYSKIWANIE I PERSPEKTYWY ZASTOSOWANIA W PRZEMYSŁE SPOŻYWCZYM

Remigiusz Olędzki*, Ewa Walaszczyk

Katedra Biotechnologii i Analizy Żywności, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

Wpłynęło w lipcu, zaakceptowano w grudniu 2019 r.

Streszczenie: Branża spożywcza jest jednym z obszarów działalności przemysłowej, która wymaga częstego wdrażania technologicznych i produktowych innowacji. Wyroby spożywcze powstające zarówno w zaawansowanych technologicznie fabrykach, jak i w małych przedsiębiorstwach produkcyjnych, są coraz częściej wytwarzane z wykorzystaniem innowacyjnych dodatków do żywności, do których należą m.in. naturalne składniki polisacharydowe. Jednym z takich składników jest produkowana przez bakterie (najczęściej z rodzaju *Komagataeibacter xylinus*, znanego wcześniej jako *Gluconacetobacter xylinus*) celuloza, nazywana bionanocelulozą. Bionanoceluloza to polimer o wyjątkowo cennych własnościach użytkowych, wynikających z jego unikalnej molekularnej budowy, którą stanowi chemicznie ultra czysty β -1,4-glukan. Główne cechy tego bionanopolimeru to m.in. wysoka higroskopijność, elastyczność i wytrzymałość mechaniczna. Różne postacie fizyczne i chemiczne bionanocelulozy (wytworzonej zarówno w wyniku hodowli powierzchniowej, jak i wgłębnej) coraz częściej znajdują zastosowanie w wytwórstwie produktów spożywczych. Potrzeba wytwarzania silnie zróżnicowanych (np. użytkowo lub sensorycznie) wyrobów żywnościowych, a także coraz większe trudności związane z dostępem do konwencjonalnych źródeł węgla zewnętrznego, stwarzają konieczność poszukiwania alternatywnych podłoży hodowlanych do wytwarzania bionanocelulozy. Celem pracy jest przybliżenie problematyki wykorzystania alternatywnych źródeł węgla do mikrobiologicznej syntezy bionanocelulozy oraz jej zastosowania w przemyśle spożywczym.

1. Wprowadzenie. 2. Budowa i charakterystyka fizyko-mechaniczna bionanocelulozy. 3. Proces syntezy bionanocelulozy i jej znaczenie dla drobnoustrojów. 4. Drobnoustroje wykorzystywane do produkcji bionanocelulozy. 5. Surowce wykorzystywane w procesie syntezy bionanocelulozy. 6. Techniki hodowli drobnoustrojów produkujących bionanocelulozę. 7. Możliwości zastosowania bionanocelulozy w przemyśle spożywczym. 8. Podsumowanie

BIONANOCELLULOSE – PROPERTIES, ACQUISITION AND PERSPECTIVES OF APPLICATION IN THE FOOD INDUSTRY

Abstract: The food industry is one area of industrial activities that requires the frequent implementation of technological and product innovations. Foodstuffs obtained both in technologically advanced factories, as well as in small manufacturing enterprises, are increasingly produced using innovative food additives, which include natural polysaccharide ingredients. One of these substances is bionanocellulose – microbially produced cellulose (most commonly by the genus *Komagataeibacter xylinus*, formerly known as *Gluconacetobacter xylinus*). Bionanocellulose is a polymer with exceptionally valuable functional properties resulting from its unique molecular structure (formed by the chemically ultra-pure β -1,4-glucan). The main features of bionanocellulose are high hygroscopicity, flexibility and mechanical strength. Various physical and chemical forms of bionanocellulose (produced both during surface and submerged cultivation) are increasingly used in the production of food products. The need to produce highly diversified (e.g., usable or sensory) food products as well as the increasing difficulties associated with access to conventional sources of external coal, necessitate the search of alternative culture media for the production of bionanocellulose. The aim of the work is to describe the use of alternative carbon sources for the microbiological synthesis of bionanocellulose and its application in the food industry.

Introduction. 2. Structure and physico-mechanical characteristics of bionanocellulose. 3. The process of synthesis of bionanocellulose and its importance for microorganisms. 4. Microorganisms used for the production of bionanocellulose. 5. Raw materials used in the synthesis of bionanocellulose. 6. Techniques of culturing microorganisms that produce bionanocellulose. 7. Possible applications of bionanocellulose in the food industry. 8. Conclusions

Słowa kluczowe: celuloza bakteryjna, *Komagataeibacter xylinus*, nanomateriały, surowce odpadowe

Key words: bacterial cellulose, *Komagataeibacter xylinus*, nanomaterials, waste raw materials

1. Wprowadzenie

Celuloza bakteryjna (BC), zwana również bionanocelulozą, to naturalny polimer, który ze względu na swoje wyjątkowe właściwości skupia w ostatnich latach szczególną uwagę naukowców z różnych obszarów wie-

dzy i techniki, a także coraz częściej zwykłych konsumentów. Szczególne właściwości tego naturalnego nanomateriału wynikają z unikalnej molekularnej budowy, którą stanowi chemicznie ultra czysty β -1,4-glukan. Struktura chemiczna jest czynnikiem determinującym główne cechy bionanopolimeru, takie jak wysoka

* Autor korespondencyjny: Remigiusz Olędzki, Katedra Biotechnologii i Analizy Żywności, Wydział Inżynierii Produkcji, Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu, Komandorska 118/120, 53-345 Wrocław, e-mail: remigiusz.oledzki@ue.wroc.pl

higroskopijność, elastyczność oraz wytrzymałość mechaniczna, które decydują jednocześnie o szerokim komercyjnym zastosowaniu BC [43].

Celuloza bakteryjna jest produkowana przez wiele różnych drobnoustrojów, wśród których dominują bakterie z rodzaju *Komagataeibacter* (dawniej: *Gluconacetobacter*), *Rhizobium*, *Agrobacterium* oraz *Sarcina*. BC jest dla wytwarzających ją drobnoustrojów substancją ochronną, stanowiącą jednocześnie element tzw. biofilmu, który tworzy osłonę przed oddziaływaniem niekorzystnych czynników zewnętrznych. BC chroni komórki bakteryjne m.in. przed działaniem antybiotyków oraz przed kontaktem z komórkowymi składnikami systemu odporności przeciwbakteryjnej organizmu, takimi jak fagocyty (neutrofile, monocyty i makrofagi) [3, 66]. Z tego powodu niektóre drobnoustroje wykształciły skomplikowany mechanizm służący produkcji nanobiomateriału celulozowego. Produkcja BC jest realizowana przez kompleks enzymatyczny – syntazę celulozową, która, zależnie od gatunku i warunków hodowli, wytwarza celulozę o odmiennych właściwościach fizykochemicznych [58].

Różne postacie fizyczne BC (wytworzone zarówno w wyniku hodowli powierzchniowej, jak i wgłębnej) ze względu na swoje cenne właściwości znajdują zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Opracowano również metody syntezy modyfikowanej BC (np. solami chitozanu), która poprzez nadane cechy bakteriostatyczności ma zdolność hamowania wzrostu niektórych gatunków bakterii. Zrealizowane dotychczas badania nad BC dotyczą zarówno poznania molekularnych mechanizmów jej biosyntezy, jak również optymalizacji tego procesu w skali laboratoryjnej i przemysłowej. Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem do masowej produkcji nowych, niestosowanych dotychczas gatunków drobnoustrojów oraz nad opracowaniem najbardziej efektywnych i opłacalnych ekonomicznie technologii produkcji BC. Podejmuje się również intensywne wysiłki nad poszukiwaniem nowych podłoży do produkcji BC, m.in. poprzez wykorzystanie surowców odpadowych.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie aktualnych doniesień na temat właściwości, metod produkcji oraz praktycznego zastosowania BC w różnych gałęziach przemysłu spożywczego.

2. Budowa i fizyko-mechaniczna charakterystyka bionanocelulozy

Pod względem struktury chemicznej BC jest liniowym polimerem glukawanowym, w którym poszczególne cząsteczki (opisane wzorem $(C_6H_{10}O_5)_n$) połączone są wiązaniem β -1,4 (β -1 \rightarrow 4) [77]. Tworzenie BC rozpoczyna się wewnątrz komórki bakteryjnej, gdzie ma

miejsce proces łączenia wielu cząsteczek glukozy w łańcuchy zawierające od 1 500 do ponad 20 000 reszt połączonych wiązaniem β -1,4 (β -1 \rightarrow 4). Powstałe pojedyncze łańcuchy glukozowe są następnie usuwane na zewnątrz komórki poprzez pory obecne w otocze i ścianie komórkowej. Na zewnątrz komórki, łańcuchy glukozy formowane są w mikrofibryle, czyli zespoły łańcuchów celulozowych, które następnie agregują w większe struktury tworząc tzw. wstążki celulozowe [24]. Z kolei „wstążki” BC budują uporządkowaną strukturę sieciową z pustymi przestrzeniami pomiędzy poszczególnymi wstążkami. Prawdopodobnie uformowane „wstążki” BC tworzą strukturę w postaci rozległej i wysoce porowatej matrycy [22]. Matryca ta jest dodatkowo stabilizowana poprzez wiązania wodorowe formujące się pomiędzy pojedynczymi łańcuchami glukozowymi [35]. Powstała w ten sposób włóknista sieć BC przyjmuje w końcowym efekcie postać wielowarstwowej cienkiej hydrożelowej powłoki o znacznej powierzchni właściwej i dużej porowatości [22].

Wykazano, że poszczególne włókienka budujące BC są około 100 razy cieńsze niż włókienka celulozy roślinnej, produkowanej przez rośliny wyższe [24]. Ponadto, w przeciwieństwie do nieprzetworzonej celulozy roślinnej, BC pod względem chemicznym jest ultraczystym materiałem, który nie posiada powiązań z ligniną czy hemicelulozami [98]. Kolejną cechą BC jest jej wysoki stopień krystaliczności (wynoszący ponad 60%) oraz odmienny, zawierający się w szerszym zakresie, stopień polimeryzacji łańcuchowej. Dla BC wynosi on od 16 000 do 20 000 cząsteczek, podczas gdy przeciętny stopień polimeryzacji celulozy roślinnej waha się od 13 000 do 14 000 cząsteczek glukozy w jednostce polimeru [7].

Potwierdzono również, że stopień polimeryzacji BC jest w dużym stopniu zależny od odczynu środowiska hodowlanego, w jakim następuje namnażanie drobnoustrojów i jej synteza. Wykazano, że bakterie podczas hodowli przy pH 4 produkują BC o stopniu polimeryzacji w zakresie od 14 000 do 16 000, natomiast przy pH 5 następuje produkcja BC zawierającej od 11 000 do 16 800 jednostek glukozy na cząsteczkę polimeru [77, 80]. Powyższa obserwacja ma istotne znaczenie dla procesu wytwarzania BC o określonych właściwościach wytrzymałościowych. Potwierdzono, że wytrzymałość mechaniczna powłoki BC wzrasta wraz z obniżeniem odczynu (wytworzona w środowisku o pH 4 jest istotnie wyższa aniżeli BC wytworzona w środowisku o pH 5) [91]. Większa wytrzymałość mechaniczna wytworzonej przez bakterie BC związana jest z obniżoną aktywnością w zakresie pH 4–4,5 bakteryjnych enzymów hydrolitycznych (takich jak celulazy), które zmniejszają stopień polimeryzacji BC poprzez jej rozkład na celobiozę (dimer glukozy) i celotriozę (3-glukozową celulozodekstrynę), a następnie na pojedyncze cząsteczki glukozy [91].

3. Proces syntezy bionanocelulozy i jej znaczenie dla drobnoustrojów

Do syntezy celulozy przez drobnoustroje dochodzi przy udziale złożonego kompleksu enzymatycznego w postaci syntazy celulozy i polega na łączeniu ze sobą cząsteczek glukozy w jeden długi łańcuch [59, 77]. Zintegrowana z błoną komórek bakteryjnych syntaza celulozy to kompleks enzymatyczny dwóch wewnątrzkomórkowych białek – BcsA i BcsB, oraz białka BcsC, które stanowi zewnętrzny składnik błonowy. Białko BcsA wraz z peryplazmatyczną, zakotwiczoną w błonie podjednostką BcsB tworzą kompleks, który jest odpowiedzialny za bezpośredni proces syntezy BC. Natomiast BcsC, jako białko błony zewnętrznej, odpowiada bezpośrednio za proces translokacji nowo wytworzonej cząsteczki BC. Dowiedziono, że białko BcsA wytwarza w pobliżu miejsca syntezy aktywny kanał transportu w błonie komórkowej, umożliwiając w ten sposób translokację nowopowstałej BC przez białko BcsC na zewnątrz komórki [65, 67, 79].

Sugeruje się, że C-końcowa część BcsC tworzy kanał, przez który następuje translokacja BC przez błonę zewnętrzną. Natomiast pozostała pozostała część kompleksu enzymatycznego oddziałuje prawdopodobnie z cytoplazmatycznymi czynnikami aktywującymi syntezę celulozy, takimi jak cykliczny diguanozyno-5'-monofosforan (c-di-GMP) czy jony Mg^{2+} [21, 59, 65]. Powstała BC jest transportowana na zewnątrz komórki bakteryjnej poprzez pory powstające w zewnętrznej otoczce i ścianie komórkowej [66, 80].

Unikalny wśród bakterii proces syntezy i formowania BC spełnia u tych drobnoustrojów dwie zasadnicze funkcje – chroni przed wpływem niektórych czynników środowiskowych, takich jak oddziaływanie niekorzystnych temperatur czy promieniowania UV, a także chroni komórki bakteryjne przed nadmierną utratą wody. Ponadto BC spełnia rolę swoistego pływaka (maty), który utrzymuje wytwarzającą ją drobnoustroje na granicy faz powietrze-woda i tym samym ułatwia komórkom drobnoustrojów pobieranie tlenu z powietrza atmosferycznego [13]

4. Drobnoustroje wykorzystywane do produkcji bionanocelulozy

Najdokładniej opisanymi drobnoustrojami wytwarzającymi celulozę to szeroko rozpowszechnione w przyrodzie bakterie z rodzaju *Komagataeibacter* (określanym dawniej terminem *Gluconacetobacter* lub *Acetobacter*). Bakterie z rodzaju *Komagataeibacter* są powszechnie izolowane z kwiatów, owoców oraz liści licznych gatunków uprawnych i dziko rosnących roślin. Z tego powodu, że do swojego rozwoju preferują podłoża zawierające określone stężenia alkoholu etylowego,

bakterie *Komagataeibacter* naturalnie występują w alkoholowych napojach fermentowanych, takich jak piwo, wino czy też cydr [61].

Do syntezy BC zdolne są również bakterie z rodzaju *Agrobacterium* (np. *Agrobacterium tumefaciens*), czyli wolno żyjące, fitopatogeniczne bakterie glebowe, które są przyczyną powszechnych zakażeń roślin (m.in. powstawania tzw. tumorowatych narośli na szyjce korzeniowej) [57]. Wytwarzane przez *A. tumefaciens* fibryle BC ułatwiają zasiedlanie powierzchni roślin poprzez bezpośredni kontakt bakterii z komórkami epidermy gospodarza. Wykazano, że włókienka bionanocelulozy biorą udział w formowaniu skupisk bakterii *A. tumefaciens*, umożliwiając w ten sposób znacznej liczbie komórek bakteryjnych na bezpośrednie oddziaływanie z tkankami organizmu gospodarza [26]. Z tego względu BC przypisuje się istotną rolę w formowaniu interakcji pomiędzy bakteriami patogennymi a komórkami gospodarza.

Przykładem podobnej interakcji z udziałem BC jest symbiotyczne oddziaływanie niepatogenicznych gatunków bakterii brodawkowych z rodzaju *Agrobacterium* (np. *Rhizobium rhizogenes* zaliczany do rodziny *Rhizobiaceae*) z roślinami motylkowatymi [88, 96]. Potwierdzono, że zdolność bakterii z rodzaju *Rhizobium* do biosyntezy BC odgrywa kluczową rolę w tworzeniu matrycy polisacharydowej biofilmu, która umożliwia trwałą adhezję bakterii do ścian komórek epidermy korzeni roślin motylkowatych [75]. Zdolność do syntezy BC przez bakterie z rodzaju *Rhizobium*, umożliwia wytworzenie odpowiednich warunków do przebiegu takich procesów, jak wiązanie azotu cząsteczkowego z powietrza, nitryfikacja i denitryfikacja [74]. W oparciu o opisany model oddziaływania, BC można uznać zatem za element pośredniczący w obiegu pierwiastków w przyrodzie [1, 26, 75].

Kolejną grupą drobnoustrojów produkujących BC są bakterie z rodzaju *Enterobacter* (zwanymi również *Aerobacter*). Większość z tych drobnoustrojów to wszechobecne w przyrodzie (np. w naturalnych zbiornikach wodnych), Gram-ujemne niechorobotwórcze bakterie, które występują w dużych ilościach m.in. w jelicie grubym oraz rzadziej na skórze i w ustnej części gardła człowieka. Wiele szczepów *Enterobacter* to bakterie oportunistyczne, zakażające organizmy z obniżonym funkcjonowaniem układu immunologicznego [33, 38, 40]. Wykazano, że bakterie z rodzaju *Enterobacter* (np. *Enterobacter* sp. FY-07), w przeciwieństwie do bakterii z rodzaju *Komagataeibacter*, są zdolne do syntezy BC zarówno w warunkach tlenowych i beztlenowych. Jednakże do syntezy BC w warunkach beztlenowych wykorzystywana jest tylko niewielka ilość glukozy obecnej w podłożu, natomiast jej znaczna część jest metabolizowana poprzez szlak glikolityczny i metabolizm pirogronianu. Prowadzi to w konsekwencji do

wytwarzania kwasu mrówkowego, octowego oraz acetoiny i tym samym niekorzystnego zakwaszenia środowiska hodowlanego [38, 56].

Do drobnoustrojów, u których również potwierdzono zdolność produkcji BC, należą niektóre szczepy bakterii z rodzaju *Achromobacter* (np. *Achromobacter xylosoxidans*, inaczej określane jako *Alcaligenes xylosoxidans*). *Achromobacter* to tlenowe, Gram-ujemne, oksydazo- i katalazo-dodatnie pałeczki, które zwykle zasiedlają wilgotne miejsca na ciele człowieka, takie jak fałdy pachowe, pachwiny, jama nosowa, przewody nosowe oraz zatoki przynosowe. Bakterie te mogą powodować u człowieka miejscowe i ogólnoustrojowe infekcje, szczególnie u osób z niedoborem odporności. Ponieważ bakterie *Achromobacter* opatrzone są pertrykularną wicią, wykazują zdolność do aktywnego poruszania się w płynnym lub półpłynnym środowisku hodowlanym [68]. Występowanie bakterii *Achromobacter* potwierdzono w zbiornikach wód śródlądowych i morskich oraz w glebie. Liczne gatunki z rodzaju *Achromobacter* powszechnie izoluje się z powierzchni owoców i warzyw, jak również od zwierząt (np. owadów, gryzoni i ptaków) [23]. Określone gatunki bakterii należące do rodzaju *Achromobacter* (np. *Achromobacter* sp. M15) są również izolowane z gleby, gdzie wraz z innymi drobnoustrojami stanowią ważny element edafonu [23].

Cechą charakterystyczną bakterii z rodzaju *Achromobacter* jest zdolność do produkcji BC w szerokim spektrum temperaturowym hodowli, wynoszącym od 25 do 45°C. Zaobserwowano, że BC wytworzona przez szczep bakterii *Achromobacter* sp. M15 na melasowym podłożu hodowanym charakteryzuje się wysokim stopniem krystaliczności polimeru (>70%) oraz dużą wytrzymałością mechaniczną. Cechy te są efektem silnej adhezji pomiędzy poszczególnymi włóknami BC, co przyczynia się do powstawania struktury nanokrystalicznych agregatów celulozy. Ponadto, dokonano obserwacji, że BC wytwarzana przez szczep *Achromobacter* sp. M15 charakteryzuje się dużą jednorodnością i wysoką czystością, podobną do tej uzyskiwanej z hodowli *K. xylinus* [23].

Wśród drobnoustrojów mających zdolność syntezy BC są również bakterie z rodzaju *Sarcina*. Te, należące do rodziny *Clostridiaceae*, Gram-dodatnie bakterie występują naturalnie na powierzchni ziaren zbóż, w glebie, a także w żołądku niektórych ssaków, jak królik, kawia domowa oraz człowiek [17, 72]. Zaobserwowano, że BC wytwarzana przez bakterie z rodzaju *Sarcina* (np. *Sarcina ventriculi*) jest gromadzona na zewnątrz komórki i jednocześnie pozostaje ściśle związana z jej ścianą komórkową. Tym samym BC spełnia u bakterii z tego rodzaju szczególną rolę związaną z tworzeniem ścisłych i trwałych egzopolisacharydowych powiązań pomiędzy komórkami formującymi pakiety. Formowanie pakietów przez *Sarcina* z wykorzystaniem BC

jest prawdopodobnie związane z ochroną tych bakterii przed takimi substancjami, jak antybiotyki czy dezynfektanty [63].

Spośród bakterii mogących syntetyzować BC wskazuje się również rodzaj *Salmonella* (np. *Salmonella enterica*). *Salmonella* to bakterie pochodzące z rodziny *Enterobacteriaceae*, obejmujące Gram-ujemne, względnie beztlenowe pałeczki. Bakterie z gatunku *S. enterica* mają zdolność do wnikania i namnażania się we wnętrzu ludzkich komórek, co stanowi główny powód trudności w leczeniu schorzeń wywołanych tymi drobnoustrojami (np. bakteriemia, dur brzuszny i zapalenie jelit) [103].

Inwazja bakterii *Salmonella* (np. serotyp Typhimurium) do komórek nabłonka jelitowego jest możliwa dzięki syntezie przez te bakterie czynnika wirulencji – specyficznego białka TTSS-1. Wykazano, że główną funkcją TTSS-1 jest translokacja białek efektorowych z komórek bakterii *Salmonella* do cytozolu komórki gospodarza [46]. Badania również sugerują, że produkcja BC oraz innych egzopolisacharydów, jak kwas kolonowy (czyli polianionowy heteropolisacharyd, zawierający powtarzające się jednostki cukrowe: D-glukozy, kwasu D-glukuronowego, D-galaktozy oraz L-fukozy) przez *S. typhimurium* może być istotnym elementem wspomagającym mechanizm inwazji przez te bakterie. Prawdopodobnie oba te zjawiska są kluczowym elementem niezbędnym do wytworzenia relacji symbiotycznych *S. enterica* z roślinami wyższymi [16]. W przypadku *S. typhimurium* produkcja BC może stanowić dla tych bakterii istotny czynnik biotyczny, które warunkuje odpowiednie współdziałanie pomiędzy organizmami tworzącymi układy symbiotyczne i zapewnia przeżycie lub większą ekspansję w środowisku. W przypadku bakterii z rodzaju *Salmonella*, istnieją przesłanki sugerujące, że BC determinuje bezpośrednią fizyczną interakcję z niektórymi pleśniami (np. *Aspergillus niger*), będącymi powszechnym kolonizatorem gleby i znajdujących się w niej roślin. Dzięki egzopolisacharydom, bakterie z rodzaju *Salmonella* tworzą wielogatunkowe konsorcja z innymi drobnoustrojami, w których każdy gatunek pełni odrębną, ale jednocześnie istotną rolę w funkcjonowaniu ekosystemów mikrobiologicznych [9, 69].

Innym gatunkiem bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* zdolnym do wytwarzania BC jest *Escherichia coli*, dla której czynnik ten stanowi istotny składnik macierzy powierzchniowej (pozakomórkowej). Dla tego gatunku bakterii synteza BC jest elementem, który umożliwia skuteczną kolonizację zasiedlanego środowiska (np. ustroju) [64]. Wykazano, że dla probiotycznego szczepu *E. coli* o nazwie Nissle 1917 wytwarzanie BC jest niezbędne do adhezji do komórek nabłonka żołądkowo-jelitowego, czego efektem jest zmniejszona produkcja cytokin odpowiadających za rozwój stanów zapalnych [64].

Przytoczone przykłady wskazują, że biosynteza BC jest procesem umożliwiającym bakteriom zarówno

zasiedlanie konkretnego środowiska, jak i efektywną adaptację podczas oddziaływań symbiotycznych lub pasożytniczych. Dlatego proces biosyntezy BC odgrywa istotną rolę zarówno w przypadku symbiontów wiążących azot (np. *Rhizobium leguminosarum*), bakterii glebowych (np. *Burkholderia* spp. i *Pseudomonas putida*), jak również bakteryjnych patogenów roślin (np. *Dickeya dadantii*, *Erwinia chrysanthemi* i *Agrobacterium tumefaciens*) [36, 78].

Proces syntezy BC wydaje się również kluczowy w rozwoju zjadliwości (wirulencji) ważnych patogenów ludzkich, jak niektóre szczepy *E. coli* i *S. enterica*, dla których celuloza i jej pochodne stanowią istotny składnik macierzy zewnątrzkomórkowej oraz tzw. biofilmu [32, 87, 97].

5. Surowce wykorzystywane w procesie syntezy bionanocelulozy

Początkowo do uzyskania BC jako produktu biosyntezy przeprowadzanej przez *K. xylinus* wykorzystywano specjalnie opracowane dla tego typu drobnoustrojów płynne podłoże Hestrin-Schramm'a (podłoże H-S), zawierające takie składniki, jak glukoza, pepton, ekstrakt drożdżowy, di-sodu wodorofosforan oraz kwas cytrynowy. Obecne w podłożu H-S glukoza i kwas cytrynowy stanowią główne źródła węgla zarówno do wzrostu komórek *Komagataeibacter*, jak i tworzenia BC [62]. W celu ograniczenia wykorzystania kosztownego w przygotowaniu podłoża H-S, od wielu lat poszukuje się rozwiązań mających na celu obniżenie kosztów związanych z produkcją BC.

Melasa (melas)

Powszechnie stosowanymi alternatywnymi surowcami do produkcji BC są głównie surowce zawierające cukry proste (np. glukozę, fruktozę, ksylozę) lub dwucukry (np. sacharozę, trehalozę, laktozę) [62]. Ze względu na dużą podaż i niskie koszty pozyskania, często do produkcji BC stosuje się produkty uboczne z przemysłu cukrowniczego, takie jak melasa (melas). Melasa charakteryzuje się dużą zawartością cukrów i dla drobnoustrojów wytwarzających BC jest również źródłem składników mineralnych, głównie potasu, wapnia, magnezu, fosforu, żelaza oraz selenu [6]. W zależności od surowca, z którego melasa jest wytwarzana, do hodowli szczepów bakterii produkujących BC wykorzystuje się melasę buraczaną, trzcinową oraz karobową, pozyskiwaną z mączki chleba świętojańskiego [5, 70].

Potwierdzono, że BC wytwarzana przez szczep *K. xylinus* ATCC 10245 z melasy buraczanej, charakteryzuje się wyższym stopniem polimeryzacji niż BC pozyskana z wykorzystaniem podłoża, którego jedynym

źródłem węgla była czysta glukoza [44, 82]. Podobne rezultaty uzyskano, gdy biosynteza BC była przeprowadzana z użyciem melasy z trzciny cukrowej [70]. Składniki melasy z trzciny cukrowej, takie jak sacharoza, fruktoza, glukoza, związki azotowe (np. białka i zasady azotowe nukleotydów) oraz minerały (jak potas, żelazo czy magnez) stymulują produkcję BC przez *K. xylinus* ATCC 10245 [70]. Wyniki obecnie prowadzonych badań wskazują, że BC może być wytwarzana na skalę przemysłową przez *K. xylinus* w oparciu o podłoże melasowe szczególnie, gdy jest ono stosowane w statycznych półciągłych procesach hodowlanych [11, 15].

Ścieki gorzelnicze

Istnieją liczne doniesienia na temat prób zastąpienia kosztownej tradycyjnej pożywki H-S innymi podłożami, będącymi produktami ubocznymi z przemysłu fermentacyjnego. Skutecznym w tym zakresie rozwiązaniem może być wykorzystanie wywaru gorzelnianego i ścieków po produkcji alkoholi [99].

Jednym z rozwiązań obniżających koszty produkcji względem podłoża H-S jest wykorzystanie do wytwarzania BC odpadów powstających z procesu produkcji wina ryżowego, jakim jest m.in. tzw. cienki wywar gorzelniany (distillery thin stillage). Wykazano, że osad będący pozostałością po procesie fermentacji ziarna ryżowego i dojrzewania wina ryżowego, może być dla drobnoustrojów produkujących BC, jak *K. xylinus*, zasobnym źródłem węgla i składników mineralnych. Dzięki temu cienki wywar z produkcji wina ryżowego może być substratem zwiększającym wydajność i szybkość produkcji BC z wykorzystaniem konwencjonalnych podłoży mikrobiologicznych [93]. Wykazano, że uzupełnienie tradycyjnej pożywki H-S cienkim wywarem z produkcji wina ryżowego powoduje zwiększenie wydajności i szybkości produkcji BC przez *K. xylinus* w trakcie hodowli statycznej. Zastąpienie wody destylowanej podestylacyjnym wywarem ryżowym w procesie przygotowania pożywki H-S, spowodowało 2,5-krotne zwiększenie wydajności produkcji BC [93]. Wskazuje się, że przyczyną wzrostu produkcji BC jest odpowiedni skład chemiczny podestylacyjnego wywaru ryżowego, który charakteryzuje się wysoką zawartością aminokwasów i kwasów organicznych. Zaobserwowano, że BC wytworzona na podłożu hodowlanym zawierającym odpad z produkcji wina ryżowego, charakteryzuje się gęstszą strukturą siatkową i wyższą wartością wskaźnika krystaliczności, niż ta uzyskana z tradycyjnego podłoża H-S. Jednocześnie BC cechowała się mniejszą zdolnością do zatrzymywania wody. Wspomniane rozwiązanie posiada również istotny walor ekonomiczny, ponieważ umożliwia obniżyć koszty produkcji BC (o 67%) w porównaniu do produkcji na tradycyjnej pożywce H-S [99, 100].

Do produkcji BC, jako zamiennik standardowej pożywki H-S, wykorzystuje się również pszeniczny cienki wywar gorzelniany (thin wheat distillery), będący pozostałością procesu produkcyjnego alkoholu etylowego. Powstająca na bazie tego płynu pożywka umożliwia bakteriom *K. sucrofermentans* B-11267 w warunkach hodowli dynamicznej produkcję BC w ilościach prawie trzykrotnie większych (6,19 g/L), aniżeli w trakcie hodowli z wykorzystaniem standardowego podłoża H-S (2,14 g/L) [73].

Odpad po produkcji wina ryżowego Makgeolli

Innym naturalnym surowcem wykorzystywanym do produkcji BC jest filtrat z odpadów powstających przy produkcji koreańskiego wina ryżowego Makgeolli (Makgeolli sludge filtrate) [34]. Wykazano, że filtrat ten może być przydatną pożywką dla bakterii produkujących BC ze względu na wysoką zawartość węglowodanów i kwasów organicznych (np. kwas jabłkowy, mlekowy, bursztynowy oraz octowy). Stosując wspomniany filtrat jako podstawowe podłoże hodowlane lub też jako dodatkowe źródło węgla do zmodyfikowanego (niezawierającego glukozy) podłoża H-S można uzyskać 4–5-krotnie wydajniejszą produkcję BC przez *K. xylinus* aniżeli na samym podłożu H-S [34].

Namok kukurydziany

Jednym z rozwiązań w produkcji BC mających na celu zastąpienie podłoża H-S, które stanowi jednocześnie element służący zagospodarowaniu uciążliwych odpadów, jest wykorzystanie namoka kukurydzianego (corn steep liquor), czyli produktu ubocznego z procesu mielenia kukurydzy na mokro. Namok kukurydziany powstaje w procesie produkcji skrobi z ziaren kukurydzy i zawiera wiele cennych składników, jak kwasy organiczne (głównie kwas mlekowy), cukry redukujące, aminokwasy (głównie siarkowe, jak cysteina, homocysteina i metionina) oraz składniki mineralne (głównie fosfor i potas), które są wykorzystywane przez drobnoustroje zarówno do wzrostu, jak i produkcji metabolitów wtórnych [76].

Wykazano, że namok kukurydziany stosowany w procesie syntezy BC jako źródło azotu dostarczanego do standardowej pożywki, przyczynia się jednocześnie do zmniejszenia (średnio o 25%) zużycia glukozy z podłoża hodowlanego. Zaobserwowano, że BC wytworzona w oparciu o podłoże zawierające namok kukurydziany charakteryzuje się ulepszonymi cechami fizykochemicznymi (np. grubość polimeru oraz tekstura powierzchni) niż BC wytworzona w oparciu o podłoże tradycyjne. Potwierdzono również, że BC powstała z zastosowaniem alternatywnej pożywki (w skład której wchodziła glukoza (1,5% v/v), wodo-

rofosforan sodu (0,27% v/v), kwas cytrynowy (1,5% v/v) oraz namok kukurydziany (2,5% v/v)) wykazuje większą odporność na działanie podwyższonej temperatury aniżeli BC wytworzona w oparciu o pożywkę H-S. Potwierdzono, że BC powstała na podłożu alternatywnym nie ulegała termicznemu rozkładowi nawet w temperaturze 250°C, podczas gdy BC wytworzona na bazie tradycyjnego podłoża H-S zachowywała stabilność strukturalną tylko w temperaturze poniżej 195°C. BC produkowana w oparciu o podłoże zawierające namok kukurydziany wykazuje wyższe zagęszczenie nanowłókien celulozowych w porównaniu do polimeru wytworzonego w oparciu o podłoże H-S [15].

Opisane właściwości BC uzyskanej na podłożu wzbogaconym o dodatek namoka kukurydzianego tłumaczy się korzystnym oddziaływaniem składników chemicznych podłoża na wzrost *K. xylinus*. Potwierdzono, że w skład namoka kukurydzianego wchodzi między innymi białko (21–45%), kwas mlekowy (20–26%), węglowodany (około 3%), jony Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ (około 8%) oraz niewielka ilość tłuszczów (0,9–1,2%). Z tego powodu uważa się, że produkt procesu mielenia kukurydzy na mokro, jakim jest namok, może stanowić niski kosztowy substrat do produkcji BC [15, 83].

Wywar z łuski ziaren kawy

Naturalnym surowcem, który może stanowić alternatywne źródło węgla dla produkcji BC mogą być również niedogotowane łuski ziaren kawy (coffee cherry husk) [71]. Potwierdzono, że wywar z oczyszczonych i zmieszanych łuski ziaren (owoców) kawy odmiany robusta może stanowić wartościowe podłoże dla szczepu bakterii *K. hansenii* UAC09 do produkcji BC. Potwierdzono, że dla tego szczepu ekstrakt wodny z łuski ziaren kawy jest zasobnym źródłem węgla ze względu na stosunkowo wysoką (7%) zawartość cukru w postaci pektyn. Zaobserwowano jednocześnie, że *K. hansenii* UAC09 wykorzystuje wspomniane wyżej podłoże do produkcji BC, lecz sam jednocześnie nie podlega plazmolizie. Opisane zjawisko ma szczególne znaczenie praktyczne, gdyż wcześniejsze badania wskazywały, że całkowita zawartość cukru w podłożu powyżej 4% powoduje zahamowanie produkcji BC. Dzieje się to ze względu na bakteriostatyczne oddziaływanie ciśnienia osmotycznego oraz nagromadzenie kwasu glukonowego, który powoduje obniżenie pH pożywki i tym samym zahamowanie rozwoju drobnoustrojów [71].

Wykazano, że BC wytwarzana w oparciu o podłoże stanowiące wywar ze zmieszanych łuski ziaren kawy charakteryzuje się korzystnymi właściwościami mechanicznymi, jak wytrzymałość na rozciąganie (wynosząca 28,5 MPa w porównaniu do 16,5 MPa dla podłoża H-S) oraz zwiększone wydłużenie nominalne (wynoszące 0,22 mm/s w porównaniu do 0,16 mm/s

dla podłoża H-S). Znacznie wyższy zakres opisanych powyżej cech odnotowywano, gdy wystandaryzowane podłoże hodowlane (zawierające podłoże tradycyjne H-S i wywar z łusek ziaren kawy w proporcji 1:1) było wzbogacone ekstraktem z namoka kukurydzianego w ilości 8% (V/V). Wytworzona BC z zastosowaniem opisanego podłoża kombinowanego charakteryzowała się zwiększoną wytrzymałością mechaniczną na rozciąganie (37,8 MPa) oraz wydłużeniem nominalnym (0,45 mm/s). Natomiast najkorzystniejsze właściwości mechaniczne pod względem wytrzymałości na rozciąganie (42,4 MPa) i wydłużenia nominalnego (0,58 mm/s) wykazuje BC, która powstała przy zastosowaniu podłoża zawierającego wywar ze zmielonych łusek ziaren kawy, ekstrakt z namoka kukurydzianego oraz, dodatkowo, niewielką ilość etanolu (1,5%) i kwasu octowego (1,0%). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że BC otrzymana z użyciem pożywki kombinowanej o powyższym składzie charakteryzuje się zwiększonym przekrojem poprzecznym włókien celulozowych, jak również zwiększoną liczbą wiązań wodorowych pomiędzy poszczególnymi łańcuchami [71].

Odpady z procesu fermentacji acetonowo-butanolowo-etanolowej

Wysokiej jakości BC może być wytwarzana również z wykorzystaniem ścieków pofermentacyjnych z syntezy biorozpuszczalników, które otrzymywane są w procesie określanym jako fermentacja ABE (acetonowo-butanolowo-etanolowa). Wykazano, że bakterie *K. xylinus* są zdolne do produkcji BC z wykorzystaniem pofermentacyjnego płynu z procesu fermentacji ABE, gdzie wartość chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT) wynosiła nawet powyżej 18 000 O₂ mg/L (czyli poziomu charakterystycznego dla odcieków z wysypisk śmieci). Ponadto zaobserwowano, że medium hodowlane utworzone na bazie ścieków z fermentacji ABE nie wpłynęło istotnie na strukturę powstającej BC, której budowa była zbliżona do BC uzyskiwanej z wykorzystaniem tradycyjnej pożywki H-S. Sugeruje się, że za powyższy efekt oraz za wysoką wydajność produkcji uzyskiwaną w tym procesie (wynoszącą 1,34 g/L) odpowiada specyficzny skład zastosowanego podłoża. Potwierdzono, że pofermentacyjny płyn z procesu ABE jest zasobnym źródłem węgla ze względu na obecność cukrów (głównie glukozy i ksylozy), kwasów organicznych (głównie kwasu octowego i masłowego) oraz alkoholi monohydroksylowych (głównie etanolu i butanolu) [31].

Odpady z procesu degradacji olejów

Rozwiązaniem mającym wysoki potencjał praktyczny w zakresie opracowywania podłoża do produkcji BC, jest wykorzystanie pochodzących z pofermen-

tacyjnego wywaru będącego pozostałością po procesie utylizacji substancji ropopochodnych przez drożdże. Zaobserwowano, że odpad powstały po hodowli drożdży *Trichosporon cutaneum*, przeprowadzających mikrobiologiczną degradację olejów, może stanowić dla *K. xylinus* substrat do produkcji BC. Wysoką (wynoszącą 0,659 g/L) wydajność syntezy BC tłumaczy się zdolnością wykorzystania przez *K. xylinus* obecnych w odpadzie krótkołańcuchowych węglowodorów, jako preferowanego źródła węgla [30].

Hydrolizaty biomasy drożdży

Innym rozwiązaniem jest wykorzystanie do mikrobiologicznej syntezy BC hydrolizatu uzyskanego na drodze kwaśnej hydrolizy biomasy drożdży oleistych z rodzaju *T. cutaneum*. Okazuje się, że biomasa drożdży z rodzaju *T. cutaneum* po ich odseparowaniu ze środowiska hodowlanego, może stanowić alternatywę dla kosztownych tradycyjnych podłoży stosowanych do produkcji BC. Wykazano, że kwaśny hydrolizat biomasy drożdży *T. cutaneum*, które są zdolne do akumulacji dużej ilości lipidów, może być pożądanym substratem do produkcji BC przez szczep *K. xylinus*. Wskazuje się, że hydrolizat biomasy drożdży *T. cutaneum* jako odpad może stanowić cenne źródło węgla do produkcji BC, głównie ze względu na obecność takich związków jak glukoza, mannoza, kwas mrówkowy oraz octowy. Wykorzystanie do produkcji BC płynów pochodzących z pofermentacyjnych oraz hydrolizatów biomasy drożdżowej może stanowić jednocześnie skuteczny sposób zagospodarowania olejowych odpadów przemysłowych charakteryzujących się wysokim poziomem ChZT [54]. Istotnym uzupełnieniem przytoczonych rezultatów badań jest obserwacja, że wzbogacenie podłoża hodowlanego olejem roślinnym może zwiększyć wydajność produkcji BC. Wykazano, że zastąpienie 1% objętości tradycyjnej pożywki hodowlanej olejem rzepakowym pozwala aż 6-krotnie zwiększyć wydajność produkcji BC w porównaniu do wydajności uzyskanej z wykorzystaniem niezmodyfikowanej pożywki H-S. Zaobserwowano, że błony BC uformowane z wykorzystaniem pożywki wzbogaconej olejem roślinnym wykazują 3-krotnie wyższą wytrzymałość na rozciąganie (3,2 MPa) w porównaniu do BC pozyskanej z hodowli na tradycyjnym podłożu, której wytrzymałość na rozciąganie nie przekraczała 1 MPa [108].

Podejmowane są również próby wykorzystania do produkcji BC odpadowych drożdży piwarskich. Wykazano, że alkaliczne hydrolizaty odpadowych drożdży piwarskich mogą stanowić źródło cennych składników odżywczych dla *K. hansenii* CGMCC 3917. Właściwości fizykochemiczne uzyskanej w ten sposób BC były porównywalne z właściwościami tego polimeru wytworzonego z wykorzystaniem podłoża H-S [50].

Hydrolizaty biomasy roślinnej

Kolejnym przykładem zastosowania odpadów organicznych jako źródła węgla oraz energii do produkcji BC jest wykorzystanie hydrolizatów biomasy roślinnej (*plant biomass hydrolysates*). Wyniki badań wskazują, że kwaśna hydroliza biomasy niektórych gatunków traw pozwala uzyskać cenny surowiec dla podłoża do mikrobiologicznej syntezy BC. Potwierdzono, że prowadzona z wykorzystaniem 2,5% kwasu siarkowego w wysokiej temperaturze (135°C) hydroliza liści rozplenicy słoniowej (*Pennisetum purpureum*) pozwala uzyskać pożywkę umożliwiającą hodowlę *K. xylinus* (szczep CH001) w warunkach statycznych. Z tego powodu, że jednym z produktów procesu hydrolizy obecnej w liściach traw lignocelulozy jest ksyloza, sugeruje się, że monosacharyd ten może stanowić zasobne źródło węgla dla szczepu *K. xylinus* CH001 wykorzystywanego do produkcji wysokowartościowej BC [102]. Trudnością w opisaną wyżej technologię może stanowić wyeliminowanie oddziaływania obecnych w liściach rozplenicy słoniowej związków fenolowych, jak aldehyd koniferylowy, kwas ferulowy, kwas 4-hydroksybenzoesowy oraz wanilina (4-hydroksy-3-metoksybenzaldehyd), które hamują wzrost *K. xylinus* [102, 104].

Interesujące rezultaty uzyskano w badaniach nad wykorzystaniem do hodowli *K. xylinus* podłoża, którego podstawowym surowcem były łupiny nasienne niektórych gatunków owoców poddane kwaśnej hydrolizie. Wykazano, że łupiny nasienne (pochodzącego z Azji Południowo-Wschodniej) tropikalnego owocu Durian w efekcie trawienia kwasem siarkowym dostarczają hydrolizat mogący być cennym składnikiem dla podłoża do produkcji BC. Analiza chemiczna wykazała, że źródłem węgla w tym podłożu dla *K. xylinus*, są przede wszystkim glukoza, ksyloza, kwas mrówkowy oraz kwas octowy. Stwierdzono, że BC wytworzona w oparciu o powyższe podłoże w wyniku 10-dniowej hodowli statycznej, charakteryzuje się strukturą porównywalną z budową BC wytworzonej na bazie tradycyjnej pożywki H-S [53]. Opisana technologia biosyntezy BC (której produktywność określono na poziomie 2,67 g/L) może stanowić ekologiczne rozwiązanie problemu zagospodarowania odpadów i niewykorzystanych materiałów roślinnych pochodzących z upraw rolniczych i ogrodniczych (np. liście, trawa, kiszonka z roślin zbożowych i kukurydzy) [53, 93, 102, 104].

Alkohole odpadowe z produkcji biodiesla

Badania wskazują, że wartościowymi substratami wykorzystywanymi w procesie mikrobiologicznej syntezy BC są również niektóre alkohole powstające jako odpad przy produkcji biodiesla (waste spirits from biodiesel production), jak glicerol, diacyloglicerol oraz

metanol. Wykazano, że glicerol umożliwia *K. xylinus* (szczep PTCC 1734) wysoce wydajną syntezę BC, przewyższającą tę, która odbywa się na podłożu bogatym w glukozę (np. podłożu H-S). Najpewniej wynika to z faktu, że glicerol i metanol, stosowane jako źródło węgla podczas biosyntezy BC, mają mniejszy niż glukoza udział w powstawaniu kwasu glukonowego, który hamuje proces powstawania BC. Podobne zjawisko, jak w przypadku glicerolu, zaobserwowano, gdy jako źródło węgla dla biosyntezy BC zastosowano mannitol [90].

Wodne ekstrakty z drzewnych materiałów odpadowych

Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem do produkcji BC podłoża stanowiącego ekstrakt wodny powstały po procesie rozwłóknienia surowca drzewnego, przeprowadzanego metodą ekstrakcji gorącą wodą lub parą wodną. Wykazano, że ekstrakty wodne takich surowców, jak osika, eukaliptus, brzoza, sosna czy świerk (będące jednocześnie materiałem odpadowym z przemysłu celulozowo-papierniczego) charakteryzują się wysoką zawartością monosacharydów i disacharydów, głównie fruktozy, glukozy, ksylozy oraz sacharozy. Dzięki temu wspomniane wodne ekstrakty z drzewnych (lignocelulozowych) materiałów odpadowych mogą stanowić pożywkę do produkcji BC przez *K. xylinus* (szczep 23769) [47].

Odpady poprodukcyjne z przemysłu mleczarskiego

Podobne wyniki zaobserwowano w przypadku innego surowca poprodukcyjnego z przemysłu spożywczego, jakim jest płynna serwatka. Serwatka zawiera 6–7% stałych składników odżywczych mleka, co powoduje, że surowiec ten umożliwia szybki wzrost większości drobnoustrojów. Wyniki badań wskazują, że zastosowanie serwatki jako pożywki umożliwia produkcję BC przez *K. sucrofermentans* B-11267 w warunkach hodowli dynamicznej (wstrząsanej i bioreaktorowej) w ilości 5,45 g/L. Wskazuje się, że serwatka może stanowić uzupełnienie w substancje odżywcze tradycyjnie stosowanych pożywek mikrobiologicznych oraz może poprawiać stabilność podłoża pod względem właściwości fizykochemicznych (np. pH) [73] (Tab. I).

6. Techniki hodowli drobnoustrojów produkujących bionocelulozę

Wydajność i opłacalność produkcji oraz właściwości BC uzależnione są nie tylko od rodzaju bakterii i typu zastosowanego podłoża, ale również od metody hodowli drobnoustrojów. Warunki hodowli

Tabela I
Przykładowe surowce i drobnoustroje wykorzystywane do syntezy bionanocelulozy

Surowiec (źródło węgla)	Rodzaj bakterii	Piśmiennictwo
Melasa (melas): melasa buraczana, melasa trzcinowa, melasa karobowa	<i>Komagataeibacter xylinus</i>	[70]
Cienki wywar gorzelniany	<i>Komagataeibacter xylinus</i>	[99]
Namok kukurydziany	<i>Komagataeibacter xylinus</i> <i>Komagataeibacter hansenii</i>	[76]
Wywar z łusek ziaren kawy	<i>Komagataeibacter hansenii</i>	[71]
Odpad po produkcji wina ryżowego	<i>Komagataeibacter xylinus</i>	[34]
Pszeniczny cienki wywar gorzelniany	<i>Komagataeibacter sucrofermentans</i> B-11267	[73]
Odpady z procesu fermentacji ABE	<i>Komagataeibacter xylinus</i>	[31]
Pofermentacyjny wywar z hodowli drożdży	<i>Komagataeibacter xylinus</i>	[30]
Hydrolizaty biomasy roślinnej: – hydrolizaty liści rozplenicy słoniowej – łupiny nasienne owocu Durian	<i>Komagataeibacter xylinus</i> CH001	[102]
Alkohole odpadowe z produkcji biodiesla: – glicerol – diacyloglicerol – metanol	<i>Komagataeibacter xylinus</i>	[54]
Wodne ekstrakty drzewne	<i>Komagataeibacter xylinus</i>	[47]
Serwatka	<i>Komagataeibacter sucrofermentans</i> B-11267	[73]

drobnoustrojów mają również wpływ na postać morfologiczną oraz właściwości fizyczne powstającej BC, jak np. wytrzymałość na rozciąganie czy zdolność do absorpcji wody.

Hodowle statyczne

Jedną z powszechnie stosowanych metod hodowli przy produkcji BC są hodowle powierzchniowe, w trakcie których wytwarzanie polimeru odbywa się na dużych powierzchniach podłoży stałych bądź płynnych. Ten rodzaj hodowli drobnoustrojów, stosowany jest przede wszystkim w celu uzyskania BC w formie płaskiej membrany o jednorodnej strukturze i zdefiniowanej grubości. W skali laboratoryjnej ten rodzaj produkcji przeprowadzany jest w naczyniach zapewniających dużą powierzchnię swobodną płynu hodowlanego. Powszechnie stosowanymi naczyniami zapewniającymi powyższe warunki są płytki Petriego, kolby typu Roux oraz kolby Fernbacha o dużej średnicy podstawy. W tego typu hodowlach drobnoustroje wykorzystują całą powierzchnię podłoża, na której formowany jest finalny produkt w postaci błony nanocelulozowej. W hodowli powierzchniowej ułatwione jest pozyskiwanie substancji wzrostowych, które pobierane są przez drobnoustroje z całej powierzchni ciekłego lub stałego podłoża. Prowadzenie hodowli na podłożach stałych pozwala również na szybkie i dokładne usuwanie z jego powierzchni wytworzonej BC [27].

Na skalę przemysłową produkcję metodami statycznymi przeprowadza się w wielolitrowych tacach, kuwetach i wannach ociekowych wypełnionych pod-

łożem, na powierzchni którego formuje się BC [35]. Innym wariantem hodowli na podłożu w warunkach statycznych są hodowle okresowe z wykorzystaniem wielolitrowych fermentorów (bez wirnika). W tego typu hodowli, określanej terminem hodowli wsadowej, następuje okresowe uzupełnianie świeżej pożywki oraz okresowe pobieranie wytworzonej BC z powierzchni podłoża hodowlanego [29, 84].

W przypadku produkcji BC na skalę przemysłową coraz częściej wykorzystuje się bioreaktory typu HoLiR (Horizontal Lift Reactor). Poziome bioreaktory typu HoLiR stanowią ułożone poziomo prostopadłościennie podłużne zbiorniki wypełnione pożywką hodowlaną, na powierzchni której odbywa się synteza BC w postaci błony powierzchniowej o kształcie prostokątnego arkusza. W tego typu bioreaktorach formowanie tworzącej się BC odbywa się w sposób ciągły poprzez podnoszenie (na jednym z końców zbiornika) i bardzo powolne wyciąganie kilkumilimetrowych arkuszy (błon) BC z dna powierzchni podłoża [28].

Innym przykładem hodowli statycznej są hodowle kultur bakteryjnych prowadzone w tzw. reaktorach aerozolowych. W tego typu reaktorach składniki odżywcze dla drobnoustrojów są natryskiwane w kierunku prostopadłym do płaskiej powierzchni przesuwającej się taśmy, na której następuje formowanie się błony nanocelulozowej. Formujące się błony nanocelulozowe w reaktorach aerozolowych osiągają grubość kilku centymetrów i z tego powodu polimer w ten sposób otrzymany znajduje zastosowanie w tworzeniu materiałów konstrukcyjnych (np. biomedycznych), wymagających wysokich parametrów technicznych [11, 12, 101].

Zaobserwowano, że gdy proces hodowli drobnoustrojów (np. *G. xylinus*) przebiega w warunkach statycznych metodą powierzchniową, to formowanie BC odbywa się na powierzchni pożywki hodowlanej w postaci biało-żółtej silnie uwodnionej elastycznej błony (kożucha) [42]. W przypadku produkcji BC statycznymi metodami powierzchniowymi intensywność syntezy tego polimeru jest istotnie ograniczona ilością tlenu docierającego do powierzchni podłoża [8]. BC po wytworzeniu poddaje się procesowi oczyszczania z wytwarzających ją komórek drobnoustrojów. Najczęściej w tym celu wytworzona błonę BC poddaje się przemywaniu wodą demineralizowaną oraz namaczaniu 0,1 M NaOH w temperaturze 80°C przez 2 godziny. Po usunięciu komórek bakteryjnych uformowane folie BC ponownie kilkakrotnie przemywa się dejonizowaną wodą, aby całkowicie usunąć pozostałości ługu sodowego i tym samym nadać błonie nanocelulozowej odczyn obojętny. Etapem końcowym pozyskiwania materiału nanocelulozowego, cechującego się odpowiednimi właściwościami fizykochemicznymi, jest proces suszenia wytworzonej BC. Najczęściej przeprowadza się go w suszarkach z naturalnym obiegiem powietrza o temperaturze około 60°C przez okres 12 godzin. Zaletą tego rodzaju suszenia jest równomierne nagrzewanie i całkowite usunięcie wody z surowca przy zachowaniu wszystkich pożądaných właściwości BC [15].

Hodowle wstrząsane

Odmiernym sposobem produkcji jest wytwarzanie BC w warunkach hodowli wstrząsanych. Prowadzenie hodowli metodą wstrząsaną ma na celu wprowadzenie do podłoża dodatkowych ilości powietrza. Napowietrzenie jest jednym z głównych zabiegów technologicznych mających na celu poprawę wydajności produkcji BC. Dodatkowe zwiększenie efektu napowietrzenia osiąga się poprzez umieszczenie w podłożu hodowlanym szklanych kuleczek. W warunkach hodowli wstrząsanych, w których wykorzystywane są pożywki ciekłe, drobnoustroje wytwarzają BC w postaci owalno-kulistych kłębków nanocelulozowych o włóknistych nieregularnych brzegach [41, 92]. Produkcję BC metodą wstrząsaną prowadzi się zazwyczaj w szklanych kolbach stożkowych (np. Erlenmeyera), które umieszczone są w inkubatorach wstrząsarkowych. Tego typu hodowlę prowadzi się zazwyczaj przy 10–30% wypełnieniu kolb pożywką hodowlaną, najczęściej przy szybkości obrotowej od 150–250 obrotów/min. oraz w zakresie temperatur 28–32°C w czasie 72–150 godzin. Poprzez zmianę każdego z tych parametrów można wpływać na przebieg produkcji BC, jak również dostosowywać warunki biosyntezy do konkretnego rodzaju drobnoustroju, jak również do właściwości i planowanych do uzyskania cech fizykochemicznych wytwarzanego materiału [45, 80, 106].

Hodowle w bioreaktorze

Kolejnym powszechnie stosowanym rodzajem hodowli drobnoustrojów produkujących BC są hodowle wgłębne prowadzone w bioreaktorach mikrobiologicznych z wykorzystaniem płynnych podłoży hodowlanych. Hodowle w bioreaktorach przeprowadzane są w celu osiągnięcia większej wydajności procesu biosyntezy. Z tego względu, że ilość tlenu w pożywkach płynnych jest stosunkowo niewielka (co jest szczególnie niekorzystne dla bezwzględnych tlenowców, do których należy np. *K. xylinus*), tego typu podłoża muszą być poddawane dodatkowemu napowietrzaniu (aeracji). Zwiększenie ilości tlenu w pożywce jest szczególnie istotne w przypadku podłoży mikrobiologicznych intensywnie i długotrwale eksploatowanych. Proces napowietrzania pożywki w hodowlach bioreaktorowych najczęściej odbywa się poprzez montaż we wnętrzu bioreaktora mieszadła mechanicznego, które poprzez intensywne mieszanie medium zapewnia zwiększenie kontaktu podłoża z powietrzem i w konsekwencji odpowiednio wysoką prężność tlenu w podłożu hodowlanym. W efekcie działania takiego mieszadła podłoże hodowlane w bioreaktorze staje się maksymalnie równomiernie natlenione [106].

Innym sposobem napowietrzania hodowli płynnych jest wtłaczanie powietrza pod ciśnieniem z użyciem kompresora podłączonego do bioreaktora, który wypełniony jest podłożem hodowlanym. Ten rodzaj napowietrzania stosuje się w hodowlach prowadzonych na skalę wielkolaboratoryjną, półprzemysłową oraz przemysłową. Zaobserwowano, że podczas hodowli drobnoustrojów z wykorzystaniem reaktora z uruchomionym mieszadłem, następuje formowanie BC w nieregularne grudki lub pasma włóknistej masy celulozowej. Otrzymaną w efekcie hodowli bioreaktorowej BC oddziela się od cieczy pohodowlanej i wytwarzających ją drobnoustrojów przez dekantację lub sączenie (filtrację), które zazwyczaj przeprowadza się poprzez przelewanie podłoża hodowlanego z wykształconą BC przez odpowiednie sączki lub bibuły filtracyjne [106]. W procesie oczyszczania wytworzonej BC wykorzystuje się wiele chemicznych i fizycznych właściwości, którymi uzyskany materiał różni się od znajdujących się zanieczyszczeń w podłożu hodowlanym. Jedną z tych cech jest odporność BC na działanie alkaliów. Dlatego jedną z najczęściej spotykanych metod oczyszczania wytworzonej BC jest działanie rozcieńczonymi roztworami alkalicznymi (np. 1% roztworem wodorotlenku sodu) w podwyższonej temperaturze (80–85°C). W powyższych warunkach następuje hydroliza zanieczyszczeń organicznych (np. komórek drobnoustrojów) [25, 71]. Innym sposobem oczyszczania BC, który bardzo często stanowi uzupełnianie hydrolizy alkalicznej w podwyższonej temperaturze, jest usuwanie osadów

i zanieczyszczeń roztworami kwasowymi (np. z wykorzystaniem 6% kwasu octowego). W końcowym etapie procesu oczyszczania uzyskaną BC intensywnie przepłukuje się wodą destylowaną, aby nadać jej odczyn obojętny [95].

7. Możliwości zastosowania bionanocelulozy w przemyśle spożywczym

Celuloza bakteryjna jest naturalnym materiałem, który ze względu na unikatowe właściwości oraz możliwość otrzymywania przy wykorzystaniu nieskomplikowanych technik syntezy mikrobiologicznej, znajduje coraz szersze zastosowanie w wielu sektorach przemysłu spożywczego. Początek zastosowania BC w przemyśle spożywczym jest związany z pojawieniem się na początku lat 90. (początkowo na rynku japońskim i filipińskim) produktów żywnościowych z dodatkiem nata de coco, czyli tzw. „galaretki kokosowej” lub „żelu kokosowego”. W pierwszym okresie istnienia na rynku, żywność z dodatkiem nata de coco była oferowana konsumentom w postaci napojów i deserów, które pełniły rolę produktów dietetycznych, stanowiących źródło błonnika pokarmowego. Dodatkowym elementem żywności z rodzaju nata de coco, który zadecydował o jej atrakcyjności wizualnej, jest charakterystyczna dla produktów wysokobłonnikowych żelowa konsystencja tworząca się po kontakcie błonnika nierozpuszczalnego z wodą [19].

Najczęstszym substratem hodowlanym do mikrobiologicznej produkcji BC, wykorzystywanej w produktach nata de coco, jest woda kokosowa pozyskiwana z niedojrzałych orzechów kokosowych [2]. Woda kokosowa to mało stężony płyn, który pozyskuje się z młodych, jeszcze zielonych, nie w pełni dojrzałych owoców palmy kokosowej (*Cocos nucifera* L.) [2]. Istotną cechą wody kokosowej jest duża zmienność jej składu chemicznego i wartości odżywczych, które uzależnione są od stopnia dojrzałości owocu kokosa. Dlatego, aby zoptymalizować efekty produkcji BC z wykorzystaniem wody kokosowej, bierze się pod uwagę jej potencjalne różnice w zawartości składników mineralnych oraz substancji organicznych będących źródłem węgla. Obecność w wodzie kokosowej glukozy, która stanowi źródło węgla dla bakterii (np. *K. xylinus*) oraz sodu, wpływa na właściwą osmolarność podłoża wykorzystywanego do produkcji BC [37]. Szczególnie istotną ze względów technologicznych właściwością wody kokosowej jest jej naturalna czystość mikrobiologiczna. Wysoka sterylność wody kokosowej jest efektem jej przepływu przez system długich i rozbudowanych kapilar przewodzących wodę, który w pniu palmy kokosowej w komórkach ksylemu osiąga od 30 do 40 m długości [49]. Potwierdzono, że podczas przemieszczania wody

od korzeni po koronę palmy kokosowej, podlega ona wielokrotnej filtracji i oczyszczaniu, dzięki czemu staje się sterylnie czysta, co ma szczególne znaczenie ze względu na konieczność zapewnienia bezpieczeństwa produkowanej na bazie wody kokosowej żywności. Tym samym przezroczysty płyn wypełniający wnętrza niedojrzałych owoców kokosa (woda kokosowa) może być wykorzystany jako pożywka hodowlana niewymagająca stosowania wysokotemperaturowej sterylizacji. Natomiast obecna w wodzie kokosowej glukoza w ilości nie przekraczającej 1–2% powoduje, że stanowi ona pożywkę mikrobiologiczną o optymalnych właściwościach biochemicznych dla rozwoju drobnoustrojów produkujących BC [20].

Proces syntezy BC z wykorzystaniem wody kokosowej (nazywany również systemem hodowli nata de coco) ma charakter tlenowy i przejawia się w formowaniu na powierzchni podłoża w trakcie 3-dniowej hodowli białawego, galaretowatego kożucha. Po oddzieleniu od płynu hodowlanego, uzyskaną błonę nanocelulozową poddaje się dokładnemu płukaniu przy użyciu wody destylowanej lub 0,9% roztworu NaCl [85]. Następnie wypłukana z resztek składników płynu hodowlanego BC poddawana jest (w celu unieszkodliwieniu drobnoustrojów) krótkotrwałej obróbce cieplnej, najczęściej wysokotemperaturowej pasteryzacji. W celu nadania odpowiedniej postaci konsumpcyjnej, skład produktów nata de coco jest uzupełniany odpowiednim rodzajem cukru, najczęściej sacharozą lub fruktozą. Przygotowane w powyższy sposób deserowe produkty spożywcze, jak np. puddingi, są dodatkowo wzbogacane kawałkami owoców (np. mango, liczi, pomarańczy, truskawki, melona i in.) lub ekstraktami owocowymi [10, 39].

Celulozę bakteryjną w postaci dodatku do żywności (kostek nata de coco) coraz częściej wykorzystuje się jako czynnik stabilizujący i poprawiający właściwości półpłynnych produktów żywnościowych. Wykazano, że BC wiąże we wnętrzu swojej struktury wodę i tym samym tworzy galaretowaty, lepki i żelowy materiał, który jest łatwy do dzielenia, np. w trakcie formowania kęsów. Dlatego BC o odpowiednio przygotowanej galaretowato włóknistej konsystencji może być surowcem wykorzystywanym do przygotowywania niskokalorycznych, atrakcyjnych sensorycznie produktów spożywczych, jak sałatki oraz desery [22].

Jednym z wielu zastosowań BC w tym obszarze jest stabilizacja układów heterogenicznych żywności, jakimi są emulsje typu olej w wodzie. Wykazano, że BC może być wykorzystywana jako stabilizator wytwarzając tzw. emulsję Pickeringa. Udowodniono, że BC dodana do żywności, obniża napięcie międzyfazowe między niemieszącymi się fazami układu dwufazowego (ciecz niepolarna – ciecz polarna). Jest to możliwe dzięki tzw. oleożelom (organożelom), czyli strukturom powstałym

w wyniku ustabilizowania oleju w sieci wytworzonej przez medium żelujące, które charakteryzuje się lepka i sprężystą konsystencją [107]. Wykazano, że do powstania emulsji olejowo-wodnych w środowisku hydrofilowym konieczna jest obecność substancji żelujących, jak np. etyloceluloza czy też hydroksypropylometyloceluloza [18]. Najprawdopodobniej podobną funkcję spełnia również BC, która poprzez proces włączania cząsteczek oleju do wodnej zawiesiny celulozowego polisacharydu prowadzi do powstania emulsji typu olej w wodzie. Na tej podstawie istnieją możliwości wykorzystania BC jako preparatu stabilizującego emulsje wodno-olejowe w strukturze żywności [56]. Dzięki tej właściwości BC dodawana do produktów może pełnić rolę naturalnych i bezpiecznych dla konsumentów emulgatorów. W przypadku takich produktów jak surimi (czyli żywności powstałej na bazie rozdrobnionego i zmielonego mięsa ryb), obecność BC staje się elementem stabilizującym mieszaninę oleju, octu i nawodnionego proszku jajecznego [52].

Ciekawym rozwiązaniem, wykorzystywanym przez producentów wyrobów spożywczych, jest stosowanie w produkcji żywności deserowej i dietetycznej preparatów zawierających sproszkowaną BC. Tego rodzaju preparaty wykorzystywane są jako środek wypełniający, zagęszczający, teksturujący oraz redukujący ilość kalorii w żywności [60].

Celuloza bakteryjna może być również wykorzystywana w przemyśle spożywczym w charakterze substancji przedłużającej trwałość żywności. Substancją wykorzystywaną w tym celu jest pochodna celulozy w postaci karboksymetylocelulozy lub soli sodowej karboksymetylocelulozy. Karboksymetyloceluloza otrzymywana z *nata de coco*, określana jako karboksymetylo-nata, najczęściej jest przygotowywana w procesie eteryfikacji kwasem monochlorooctowym oraz późniejszej merceryzacji ługiem sodowym. Jedną z praktyk mającą na celu przedłużenie trwałości owoców po ich zbiorze jest pokrywanie ich powierzchni warstwą karboksymetylocelulozy. Badania wykazały, że powlekanie owoców papryki warstwą karboksymetylocelulozy, pozwala skutecznie ograniczyć utratę jędrności oraz wody z wnętrza tych owoców, nawet w sytuacji, gdy są one przechowywane w temperaturze 25°C przez 30 dni. Wyniki badań wskazują również, że powłoki z karboksymetylocelulozy pomagają zmniejszać szybkość dojrzewania owoców, np. papryki. Tym samym stosowanie tego polimeru może być skuteczną metodą opóźnienia dojrzewania owoców. To działanie ma szczególne znaczenie w zachowaniu jakości surowców roślinnych podczas działań transportowych [81]. Podobny eksperyment z wykorzystaniem metylocelulozy potwierdził, że niejonowe etery BC zwiększają trwałość i świeżość kurzych jaj. Wykazano, że kurze jaja tuż po zbiorze, które były pokryte warstwą metylocelulozy i przecho-

wywane w temperaturze poniżej 18°C, dłużej zachowywały świeżość aniżeli jaja kontrolne (niepokryte warstwą metylocelulozy). Zastosowana warstwa metylocelulozy pozwoliła zachować kurzym jajom świeżość powyżej 28 dni po zniesieniu [89].

Pochodne chemiczne BC mogą poprawiać właściwości reologiczne produktów żywnościowych. Pozytskana z BC hydroksypropylometyloceluloza (zwana również hypromelozą) może być stosowana do sporządzania mieszanek piekarniczych. Dzięki tej substancji (oznaczanej symbolem E 464), wypiekane pieczywo nie kruszy się i zachowuje wymaganą wilgotność. Dodatek hydroksypropylometylocelulozy do mąki bezglutenowej pozwala uzyskać w procesie wypieku pieczywo, które charakteryzuje się odpowiednią spistością i elastycznością, których to brak jest dużą uciążliwością w procesie produkcji wypieków pozbawionych glutenu. Ze względu na opisane właściwości hydroksypropylometyloceluloza jest często stosowana również przy produkcji sosów, zup instant, deserów mlecznych oraz jogurtów. Wykorzystuje się ją również przy produkcji suplementów diety jako zamiennik żelatyny podczas wytwarzania zarówno twardych jak i miękkich kapsulek dla takich substancji, jak witaminy czy sole mineralne [105].

Ponadto zaobserwowano, że produkty spożywcze wzbogacone o inną pochodną BC – karboksymetylocelulozę, charakteryzują się korzystniejszymi właściwościami reologicznymi i teksturalnymi względem tradycyjnych produktów spożywczych. Karboksymetyloceluloza otrzymywana jest w wyniku katalizowanej alkalicznie reakcji oczyszczonej BC z kwasem monochlorooctowym. Obecnie w przemyśle spożywczym najpowszechniej stosowana jest sól sodowa karboksymetylocelulozy, którą otrzymuje się poprzez działanie chlorooctanu sodu na BC. Dzięki dodatkowi karboksymetylocelulozy niektóre produkty, jak np. wyroby cukiernicze i ciastkarskie, charakteryzują się sprężystą teksturą przypominającą teksturę niektórych owoców, jak np. winogron [14].

Obecnie podejmowane są również próby wytwarzania z BC opakowań dla produktów żywnościowych. Opakowania powstałe na bazie surowców biologicznych, jakim jest BC, stają się ogromną nadzieją dla przemysłu opakowaniowego ze względu na niskie koszty wytworzenia oraz ich niewielkie oddziaływanie na środowisko przyrodnicze. Z tego względu, że opakowania z BC są w pełni biodegradowalne, rozwiązania te stwarzają szansę na ich upowszechnienie i masowe wykorzystanie w przemyśle i gospodarstwie domowym [3, 85, 86]. Wykazano, że z kolei proces oksydacji (w którym następuje utlenienie grup hydroksylowych celulozy do grup aldehydowych, ketonowych lub karboksylowych) powoduje, że BC uzyskuje właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Z tego powodu

Tabela II
Zastosowanie bionanocelulozy i jej pochodnych w przemyśle spożywczym

Lp.	Bionanoceluloza i jej pochodne	Zastosowanie w przemyśle spożywczym	Piśmiennictwo
1	nata de coco	<ul style="list-style-type: none"> ◆ dietetyczny dodatek do deserów (jako źródło błonnika pokarmowego) ◆ stabilizator półpłynnych produktów żywnościowych 	[2, 22]
2	etyloceluloza hydroksypropylometyloceluloza (hypromeloza)	<ul style="list-style-type: none"> ◆ stabilizacja emulsji typu olej w wodzie 	[18]
3	hydroksypropylometyloceluloza (hypromeloza)	<ul style="list-style-type: none"> ◆ stabilizacja emulsji Pickeringa ◆ nadawanie spistości i elastyczności cukierniczym produktom bezglutenowym ◆ składnik otoczki kapsulek dla suplementów diety ◆ substancja nadająca sprężystą teksturę produktom żywnościowym 	[56, 105]
4	karboksymetyloceluloza	<ul style="list-style-type: none"> ◆ substancja przedłużająca jędrność owoców 	[81]
5	metyloceluloza	<ul style="list-style-type: none"> ◆ substancja przedłużająca świeżość kurzych jaj 	[89]
6	oksydowana celuloza	<ul style="list-style-type: none"> ◆ biodegradowalny materiał opakowaniowy o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych 	[86]

oksydowana BC może być potencjalnym składnikiem opakowań, które mają na celu przedłużenie trwałości mikrobiologicznej opakowywanego produktu spożywczego [90] (Tab. II).

Możliwości zastosowania na szeroką skalę BC w przemyśle spożywczym są silnie uzależnione od skuteczności metod wytwarzania czystego i sterylnego materiału o odpowiednich właściwościach reologicznych. Właściwości te są z kolei silnie uzależnione od metody zastosowanej do produkcji BC. Hodowle wstrząsane prowadzone w inkubatorach wytrząsarkowych umożliwiają syntezę silnie rozgałęzionej, trójwymiarowej BC, o siatkowej strukturze, podczas gdy hodowle statyczne umożliwiają wytwarzanie płaskiej błony celulozowej o znacząco mniejszej ilości wewnętrznych rozgałęzień [48, 51]. Z kolei zastosowanie do produkcji BC bioreaktora (fermentora) i tym samym odpowiednich warunków tlenowych umożliwia osiągnięcie dużej szybkości i wydajności produkcji. Zastosowanie do produkcji bioreaktora umożliwia ponadto wytworzenie przez *K. xylinus* polimeru celulozowego, który zbudowany jest z komponentów włóknistych o różnorodnej średnicy i strukturze przestrzennej [48]. Pożądane właściwości fizykochemiczne BC można uzyskać poprzez zmianę cech zastosowanych bioreaktorów, takich jak kształt naczynia bioreaktorowego (naczynia hodowlanego) i mieszadła wirnikowego. Zaletą bioreaktorów zbiornikowych wyposażonych w system mieszadeł mechanicznych jest możliwość uzyskania podłoża hodowlanego o wysokim stopniu jednorodności. Jednym z głównych ograniczeń w przemysłowym zastosowaniu bioreaktorów do produkcji BC jest wysoki koszt instalacji oraz trudności w usuwaniu z nich produktów ubocznych metabolizmu komórkowego *K. xylinus* [48, 51].

8. Podsumowanie

Celuloza bakteryjna (bionanoceluloza) to unikalny materiał o szczególnych właściwościach, które sprawiają, że surowiec ten znajduje coraz więcej praktycznych zastosowań w różnych gałęziach przemysłu, w tym w przemyśle spożywczym. Niektóre rodzaje drobnoustrojów, jak np. bakterie kwasu octowego, mogą stanowić (w odniesieniu do roślin wyższych) alternatywne źródło celulozy, która wytwarzana jest w procesie tlenowej biosyntezy prowadzonej w warunkach statycznych, wstrząsanych, jak i bioreaktorowych. Zastosowanie tradycyjnych podłoży mikrobiologicznych (np. Hestrin-Schramm'a), ze względu na ich wysokie koszty i niską wydajność dla produkcji, stanowi silne ograniczenie ich komercyjnego wykorzystania na skalę przemysłową. Dlatego współcześnie prowadzone badania skupiają się na wykorzystaniu organicznych i nieorganicznych odpadów przemysłowych, które mogą być nowym, opłacalnym źródłem węgla dla drobnoustrojów produkujących BC. Dzięki temu mikrobiologiczna produkcja BC może stać się elementem niwelowania negatywnego wpływu przedsiębiorstw produkcyjnych na środowisko naturalne. Być może z tego powodu w przyszłości produkcja BC będzie ściśle powiązana z systemami produkcji innych materiałów, którym towarzyszy proces powstawania uciążliwych odpadów i zanieczyszczeń.

Piśmiennictwo

1. Abarca-Grau A.M., Burbank L.P., Paz H.D., Crespo-Rivas J.C., Marco-Noales E., López M.M., Vinardell J.M., Bodman S.B., Penyalver R.: Role for *Rhizobium rhizogenes* K84 Cell envelope polysaccharides in surface interactions. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 1644–1651 (2012)

2. Akoğlu A., Karahan A.G., Çakmakçı M.L., Çakır I.: Properties of bacterial cellulose and usage in food industry. *GIDA/J. Food*. **35**, 127–134 (2010)
3. Arrieta M.P., Fortunati E., Dominicci F., Rayón E., López J., Kenny J.M.: PLA-PHB/Cellulose based films: mechanical, barrier and disintegration properties. *Polym. Degrad. Stabil.* **107**, 139–149 (2014)
4. Augimeri R.V., Varley A.J., Strap J.L.: Establishing a role for bacterial cellulose in environmental interactions: Lessons learned from diverse biofilm-producing. *Proteobacteria Front. Microbiol.* **6**, 1282 (2015)
5. Bae S.O., Shoda M.: Bacterial cellulose production by fed-batch fermentation in molasses medium. *Biotechnol. Prog.* **20**, 1366–1371 (2004)
6. Bae S.O., Shoda M.: Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* BPR2001 using molasses medium in a jar fermentor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **67**, 45–51 (2005)
7. Bielecki S., Kalinowska H.: Biotechnologiczne nanomateriały. *Post. Mikrobiol.* **47**, 163–169 (2008)
8. Borzani W., Souza S.J.: Mechanism of the film thickness increasing during the bacterial production of cellulose on non-agitated liquid media. *Biotechnol. Lett.* **17**, 1271–1272 (1995)
9. Brand M.T., Carter M.Q., Parker C.T., Chapman M.R., Huynh S., Zhou Y.: *Salmonella* biofilm formation on *Aspergillus niger* involves cellulose – chitin interactions. *PLoS One*, **6**, e25553 (2011)
10. Budhiono A., Rosidia B., Taher H., Iguchi M.: Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in nata-de-coco culture system. *Carbohydr. Polym.* **40**, 137–143 (1999)
11. Cakar F., Ozer I., Aytakin A.Ö., Sahin F.: Improvement production of bacterial cellulose by semi-continuous process in molasses medium. *Carbohydr. Polym.* **15**, 106, 7–13 (2014)
12. Cheng K.C., Catchmark J.M., Demirci A.: Enhanced production of bacterial cellulose by using a biofilm reactor and its material property analysis. *J. Biol. Eng.* **3** (2009)
13. Cheng K.C., Catchmark J.M., Demirci A.: Effects of CMC addition on bacterial cellulose production in a biofilm reactor and its paper sheets analysis. *Biomacromolecules*, **14**, 730–736 (2011)
14. Correa M.J., Añón M.C., Pérez G.T., Ferrero C.: Effect of modified celluloses on dough rheology and microstructure. *Food Res. Int.* **43**, 780–787 (2010)
15. Costa A.F.S., Almeida F.C.G., Vinhas G.M., Sarubbo L.A.: Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using Corn Steep Liquor as nutrient sources. *Front. Microbiol.* **8**, 2027 (2017)
16. Cowles K.N., Willis D.K., Engel T.N., Jones J.B., Barak J.D.: Diguanylate cyclases AdrA and STM1987 regulate *Salmonella enterica* exopolysaccharide production during plant colonization in an environment-dependent manner. *Appl. Environ. Microbiol.* **15**, 1237–1248 (2016)
17. Darch R., Harrison J., Rashid M.: *Sarcina ventriculi* bacteria in stomach and duodenum of a patient with gastroesophageal obstruction by Adenocarcinoma. *J. Univers. Surg.* **4**, 46, 1–3 (2016)
18. Das R., Panda A.B., Pal S.: Synthesis and characterization of a novel polymeric hydrogel based on hydroxypropyl methyl cellulose grafted with polyacrylamide. *Cellulose*, **19**, 933–945 (2012)
19. Devinder D., Mona M., Hradesh R., Patil R.T.: Dietary fibre in foods: a review. *J. Food Sci. Technol.* **49**, 255–266 (2012)
20. Dourado F., Gama M., Rodrigues A.C.: A review on the toxicology and dietetic role of bacterial cellulose. *Toxicol. Rep.* **4**, 543–553 (2017)
21. Du J., Vepachedu V., Cho S.H., Kumar M., Nixon B.T.: Structure of the cellulose synthase complex of *Gluconacetobacter hansenii* at 23.4 Å resolution. *PLoS One*, **11**, e0155886 (2016)
22. Esa F., Tasirin S.M., Rahma N.: Overview of bacterial cellulose production and application. *Agric. Agric. Sci. Procedia.* **2**, 113–119 (2014)
23. Farag S., Asker M.M.S., Mahmoud M.G., Ibrahim H., Amr A.: Comparative study for bacterial cellulose production using egyptian *Achromobacter* sp. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* **7**, 954–970 (2016)
24. Gayathry G., Gopaldaswamy G.: Production and characterization of microbial cellulosic fibre from *Acetobacter xylinum*. *Indian J. Fibre Text. Res.* **39**, 93–96 (2014)
25. George J., Ramana K.V., Sabapathy S.N., Bawa A.S.: Physico-mechanical properties of chemically treated bacterial (*Acetobacter xylinum*) cellulose membrane. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **21**, 1323–1327 (2005)
26. Heindl J.E., Yi W., Heckel B.C., Mohari B., Feirer N., Fuqua C.: Mechanisms and regulation of surface interactions and biofilm formation in *Agrobacterium*. *Front. Plant Sci.* **5**, 176–180 (2014)
27. Hornung M.L., Gerrard A.M., Schmauder H.P.: Optimizing the production of bacterial cellulose in surface culture: Evaluation of substrate mass transfer influences on the bioreaction (Part 1). *Eng. Life Sci.* **6**, 537–545 (2006)
28. Hornung M.L., Schmauder H.P.: Optimizing the production of bacterial cellulose in surface culture: A novel aerosol bioreactor working on a fed batch principle (Part 3). *Eng. Life Sci.* **7**, 35–41 (2007)
29. Hsieh J.T., Wang M.J., Lai J.T., Liu H.S.: A novel static cultivation of bacterial cellulose production by intermittent feeding strategy. *J. Taiwan Inst. Chem. E.* **63**, 46–51 (2016)
30. Huang C., Guo H.J., Xiong L., Wang B., Shi S.L., Chen X.F., Lin X.Q., Wang C., Luo J., Chen X.D.: Using wastewater after lipid fermentation as substrate for bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Carbohydr. Polym.* **20**, 136, 198–202 (2016)
31. Huang C., Yang X.Y., Xiong L., Guo H.J., Luo J., Wang B., Zhang H.R., Lin X.Q., Chen X.D.: Evaluating the possibility of using acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation wastewater for bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Letts. Appl. Microbiol.* **60**, 491–496 (2015)
32. Huang Y., Zhu C., Yang J., Nie Y., Chen C., et al.: Recent advances in bacterial cellulose. *Cellulose*, **21**, 1–30 (2014)
33. Hungund B.S., Gupta S.G.: Production of bacterial cellulose from *Enterobacter amnigenus* GH-1 isolated from rotten apple. *World. J. Microb. Biot.* **26**, 1823–1828 (2010)
34. Hyun J.Y., Mahanty B., Kim C.G.: Utilization of makgeolli sludge filtrate (MSF) as low-cost substrate for bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **172**, 3748–3760 (2014)
35. Islam M.U., Ullah M.W., Khan S., Shah N., Park J.K.: Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose. *Int. J. Biol. Macromol.* **102**, 1166–1173 (2017)
36. Jahn C.E., Selimi D.A., Barak J.D., Charkowski A.O.: The *Dickeya dadantii* biofilm matrix consists of cellulose nanofibres, and is an emergent property dependent upon the type III secretion system and the cellulose synthesis operon. *Microbiology*, **157**, 2733–2744 (2011)
37. Jessa J., Hozyasz K.K.: Wartość zdrowotna produktów kokosowych (Health value of coconut products). *Pediatr. Pol.* **90**, 415–423, (2015)
38. Ji K., Wang W., Zeng B., Chen S., Zhao Q., Chen Y., Li G., Ma T.: Bacterial cellulose synthesis mechanism of facultative anaerobe *Enterobacter* sp. FY-07. *Sci. Rep.* **6**, 21863 (2016)
39. Juda S.N., Nugraha S., Nugraha D. A.: Development of nata de coco with natural dyes using value engineering method. *The 3rd International Conference on Agro-Industry 2016 "Competitive & Sustainable Agro-Industry"*, 96–109 (2016)

40. Jung H., Ha O., Shehzad S., Khan S., Yong L.J., Won P.T., Khan J., Kon P.: Production of bacterial cellulose by a static cultivation using the waste from beer culture broth. *Korean J. Chem. Eng.* **25**, 812 (2008)
41. Jung H.I., Jeong J.H., Lee O.M., Park G.T., Kim K.K., Park H.C., Lee S.M., Kim Y.G., Son H.J.: Influence of glycerol on production and structural-physical properties of cellulose from *Acetobacter* sp. V6 cultured in shake flasks. *Bioresour. Technol.* **101**, 3602–3608 (2010)
42. Jung H.I., Lee O.M., Jeong J.H., Jeon Y.D., Park K.H., Kim H.S., An W.G., Son H.J.: Production and characterization of cellulose by *Acetobacter* sp. V6 using a cost-effective molasses-corn steep liquor medium. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **162**, 486–497 (2010)
43. Keshk S.M.: Physical properties of bacterial cellulose sheets produced in presence of lignosulfonate. *Enzyme Microb. Tech.* **40**, 9–12 (2006)
44. Keshk S.M., Razek T.M., Sameshima K.: Bacterial cellulose production from beet molasses. *Afr. J. Biotechnol.* **5**, 1519–1523 (2006)
45. Kim S.Y., Kim J.N., Wee Y.J., Park D.H., Ryu H.W.: Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter* sp. RKY5 isolated from persimmon vinegar. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **129**, 705–715 (2006)
46. Kimbrough T.G., Miller S.I.: Assembly of the type III secretion needle complex of *Salmonella typhimurium*. *Microbes. Infect.* **4**, 75–82 (2002)
47. Kiziltas E.E., Kiziltas A., Gardner D.J.: Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars. *Carbohydr. Polym.* **124**, 131–138 (2015)
48. Kubiak K., Kalinowska H., Peplińska M., Bielecki S.: Celuloza bakteryjna jako bionanomateriał. *Post. Biol. Komórki*, **36**, 85–98 (2009)
49. Lima E.B., Sousa C.N., Meneses L.N., Ximenes N.C., Santos M.A., Vasconcelos G.S., Lima N.B., Patrocínio M.C., Macedo D., Vasconcelos S.M.: *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **48**, 953–964 (2015)
50. Lin D., Lopez-Sanchez P., Li R., Li Z.: Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* CGMCC 3917 using only waste beer yeast as nutrient source. *Bioresour. Technol.* **151**, 113–119 (2014)
51. Lin S.P. i wsp.: Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose*, **20**, 2191–2218 (2013)
52. Lin S.B., Chen L.C., Chen H.H.: Physical characteristics of surimi and bacterial cellulose composite gel. *J. Food Process Eng.* **34**, 1363–1379 (2011)
53. Luo M.T., Huang C., Chen X.F., Huang Q.L., Qi G.X., Tian L.L., Xiong L., Li H.L., Chen X.D.: Efficient bioconversion from acid hydrolysate of waste oleaginous yeast biomass after microbial oil extraction to bacterial cellulose by *Komagataeibacter xylinus*. *Prep. Biochem. Biotechnol.* **47**, 1025–1031 (2017)
54. Luo M.T., Zhao C., Huang C., Chen X.F., Huang Q.L., Qi G.X., Tian L.L., Xiong L., Li H.L., Chen X.D.: Efficient using Durian shell hydrolysate as low-cost substrate for bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Indian J. Microbiol.* **57**, 393–399 (2017)
55. Ma T., Ji K., Wang W., Wang J., Li Z., Ran H., Liu B., Li G.: Cellulose synthesized by *Enterobacter* sp. FY-07 under aerobic and anaerobic conditions. *Bioresour. Technol.* **126**, 18–23 (2012)
56. Martins D., Fontão A., Dourado F., Gama M.: Bacterial cellulose as a stabilizer for oil-in-water emulsions. *Chempor.* BB16, 234–235 (2018)
57. Matthyse A.G.: Exopolysaccharides of *Agrobacterium tumefaciens*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **418**, 111–141 (2018)
58. Mc Manus J.B., Yang H., Wilson L., Kubicki J.D., Tien M.: Initiation, elongation and termination of bacterial cellulose synthesis. *ACS Omega*, **31**, 3, 2690–2698 (2018)
59. Mc Namara J.T., Morgan J.L.W., Zimmer J.: A molecular description of cellulose biosynthesis. *Annu. Rev. Biochem.* **84**, 895–921 (2015)
60. Mesomya W., Pakpeankitvatana V., Komindr S., Songklanakarin J.: Effects of health food from cereal and nata de coco on serum lipids in human. *Sci. Technol.* **28**, 23–28 (2006)
61. Molina-Ramírez C., Castro M., Osorio M., Torres-Taborda M., Gómez B., Zuluaga R., Gómez C., Gañán P., Rojas O.J., Castro C.: Effect of different carbon sources on bacterial nanocellulose production and structure using the low pH resistant strain *Komagataeibacter medellinensis*. *Materials (Basel)*, **11**, e639 (2017)
62. Molina-Ramírez C., Enciso C., Torres-Taborda M., Zuluaga R., Gañán P., Rojas O.J., Castro C.: Effects of alternative energy sources on bacterial cellulose characteristics produced by *Komagataeibacter medellinensis*. *Int. J. Biol. Macromol.* **1**, 117, 735–741 (2018)
63. Moniri M., Moghaddam A.B., Azizi S., Rahim R.A., Ariff A.B., Saad W.Z., Navaderi M., Mohamad R.: Production and status of bacterial cellulose in biomedical engineering. *Nanomaterials (Basel)*, **7**, 257–265 (2017)
64. Monteiro C., Saxena I., Wang X., Kader A., Bokranz W., Simm R., Nobles D., Chromek M., Brauner A., Brown R.M., Römling U.: Characterization of cellulose production in *Escherichia coli* Nissle 1917 and its biological consequences. *Environ. Microbiol.* **11**, 1105–1116 (2009)
65. Morgan J.L.W., Mc Namara J.T., Zimmer J.: Mechanism of activation of bacterial cellulose synthase by cyclic-di-GMP. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **21**, 489–496 (2014)
66. Morgan J.L., Strumillo J., Zimmer J.: Crystallographic snapshot of cellulose synthesis and membrane translocation. *Nature*, **493**, 181–186 (2013)
67. Omadjela O., Narahari A., Strumillo J., Mérida H., Mazur O., Bulone V., Zimmer J.: BcsA and BcsB form the catalytically active core of bacterial cellulose synthase sufficient for *in vitro* cellulose synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **29**, 110, 17856–17861 (2013)
68. Pereira R.H.V., Carvalho-Assef A.P., Albano R.M., Folescu T.W., Jones M.C., Leão R.S., Marques E.A.: *Achromobacter xylosoxidans*: characterization of strains in Brazilian cystic fibrosis patients. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 3649–3651 (2011)
69. Pontes M.H., Lee E.J., Choi J., Groisman E.A.: *Salmonella* promotes virulence by repressing cellulose production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **21**, 112, 5183–5188 (2015)
70. Premjet S., Premjet D., Ohtani Y.: The Effect of ingredients of sugar cane molasses on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* ATCC 10245. *Fibers*, **63**, 193–199 (2007)
71. Rani M.U., Appaiah K.A.: Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* UAC09 using coffee cherry husk. *J. Food Sci. Technol.* **50**, 755–762 (2013)
72. Rasheed M.R., Kim G.J., Senseng C.: A rare case of *Sarcina ventriculi* of the stomach in an asymptomatic patient. *Int. J. Surg. Pathol.* **24**, 142–145 (2016)
73. Revin V., Liyaskina E., Nazarkina M., Bogatyreva A., Shchankin M.: Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products. *Braz. J. Microbiol.* **49**, 151–159 (2018)
74. Richard V., Augimeri A., Varley J., Strap J.L.: Establishing a role for bacterial cellulose in environmental interactions: Lessons learned from diverse biofilm-producing *Proteobacteria*. *Front. Microbiol.* **6**, 1282 (2015)

75. Robledo M., Rivera L., Jiménez-Zurdo J.I., Rivas R., Dazzo F., Velázquez E., Martínez-Molina E., Hirsch A.M., Mateos P.F.: Role of *Rhizobium endoglucanase* CelC2 in cellulose biosynthesis and biofilm formation on plant roots and abiotic surfaces. *Microb. Cell Fact.* **12**, 125 (2012)
76. Rodríguez-López L., Vecino X., Barbosa-Pereira L., Moldes A.B., Cruz J.M.: A multifunctional extract from corn steep liquor: antioxidant and surfactant activities. *Food Funct.* **7**, 3724–3732 (2016)
77. Ross P., Mayer R., Benziman M.: Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol. Rev.* **55**, 35–58 (1991)
78. Römling U.: Molecular biology of cellulose production in bacteria. *Res. Microbiol.* **153**, 205–212 (2002)
79. Römling U., Galperin M.Y., Gomelsky M.: Cyclic di-GMP: the first 25 years of a universal bacterial second messenger. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **77**, 1–52 (2013)
80. Römling U., Galperin M.Y.: Bacterial cellulose biosynthesis: diversity of operons, subunits, products and functions. *Trends Microbiol.* **23**, 545–557 (2015)
81. Sabularse V.C., Montalbo M.N., Hernandez H.P., Serrano E.P.: Preparation of nata de coco-based carboxymethylcellulose coating and its effect on the post-harvest life of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **60**, 206–218 (2009)
82. Salari M., Sowti K.M., Rezaei M.R., Ghanbarzadeh B., Samadi K.H.: Preparation and characterization of cellulose nanocrystals from bacterial cellulose produced in sugar beet molasses and cheese whey media. *Int. J. Biol. Macromol.* **1**, 280–288 (2019)
83. Santos D.K., Rufino R.D., Luna J.M., Santos V.A., Sarubbo L.A.: Review biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *Int. J. Mol. Sci.* **17**, 401–408 (2016)
84. Shezad O., Khan S., Khan T., Park J.K.: Production of bacterial cellulose in static conditions by a simple fed-batch cultivation strategy. *Korean J. Chem. Eng.* **26**, 1689–1692 (2009)
85. Shi Z., Zhang Y., Phillips G.O., Yang G.: Utilization of bacterial cellulose in food. *Food Hydrocoll.* **35**, 539–545 (2014)
86. Sonia A., Dasan K.P.: Celluloses microfibers (CMF)/Poly (Ethylene-Co-Vinyl Acetate) (EVA) composites for food packaging applications: a study based on barrier and biodegradation behavior. *J. Food Eng.* **118**, 78–89 (2013)
87. Spiers A.J., Bohannon J., Gehrig S.M., Rainey P.B.: Biofilm formation at the air-liquid interface by the *Pseudomonas fluorescens* SBW25 wrinkly spreader requires an acetylated form of cellulose. *Mol. Microbiol.* **50**, 15–27 (2003)
88. Starzyk J., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka A., Swędrzyńska D.: Zmiany liczebności *Azospirillum* i *Azotobacter* w glebie pod uprawą kukurydzy (*Zea Mays* L.) z zastosowaniem różnych nawozów organicznych. *Fragm. Agron.* **30**, 147–155 (2013)
89. Suppakul P., Jutakor K., Bangchokedee Y.: Efficacy of cellulose-based coating on enhancing the shelf life of fresh eggs. *J. Food Eng.* **98**, 207–213 (2010)
90. Tabaii M.J., Emtiazi G.: Comparison of bacterial cellulose production among different strains and fermented media. *App. Food Biotechnol.* **3**, 35–41 (2016)
91. Tahara N., Tabuchi M., Watanabe K., Yano H., Morinaga Y., Yoshinaga F.: Degree of polymerization of cellulose from *Acetobacter xylinum* BPR2001 decreased by cellulase produced by the strain. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **61**, 1862–1865 (1997)
92. Tanskul S., Amornthatree K., Jaturonlak N.: A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. MI 2: screening and optimization of culture conditions. *Carbohydr. Polym.* **30**, 92, 421–428 (2013)
93. Tsouko E., Kourmentza C., Ladakis D., Kopsahelis N., Mandalala I., Papanikolaou S., Paloukis F., Alves V., Koutinas A.: Bacterial cellulose production from industrial waste and by-product streams. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 14832–14849 (2015)
94. Ul-Islam M., Khan T., Park J.K.: Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by *in situ* and *ex situ* modification. *Carbohydr. Polym.* **88**, 596–603 (2012)
95. Vazquez A., Foresti M. L., Cerrutti P., Galvagno M.: Bacterial cellulose from simple and low cost production media by *Gluconacetobacter xylinus*. *J. Polym. Environ.* **21**, 545–554 (2013)
96. Williams A., Wilkinson A., Krehenbrink M., Russo D.M., Zorreguieta A., Downie J.A.: Glucomannan-mediated attachment of *Rhizobium leguminosarum* to pea root hairs is required for competitive nodule infection. *J. Bacteriol.* **190**, 4706–4715 (2008)
97. Whitney J.C., Howell P.L.: Synthase-dependent exopolysaccharide secretion in Gram-negative bacteria. *Trends Microbiol.* **21**, 63–72 (2013)
98. Wu D., Li X., Shen C., Lu J., Chen J., Xie G.: Decreased ethyl carbamate generation during Chinese rice wine fermentation by disruption of CAR1 in an industrial yeast strain. *Int. J. Food Microbiol.* **180**, 19–23 (2014)
99. Wu J.M., Liu R.H.: Thin stillage supplementation greatly enhances bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Carbohydr. Polym.* **90**, 116–121 (2012)
100. Wu J.M., Liu R.H.: Cost-effective production of bacterial cellulose in static cultures using distillery wastewater. *J. Biosci. Bioeng.* **115**, 284–290 (2013)
101. Wu S.C., Li M.H.: Production of bacterial cellulose membranes in a modified airlift bioreactor by *Gluconacetobacter xylinus*. *J. Biosci. Bioeng.* **120**, 444–449 (2015)
102. Yang X.Y., Huang C., Guo H.J., Xiong L., Li Y.Y., Zhang H.R., Chen X.D.: Bioconversion of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) acid hydrolysate to bacterial cellulose by *Gluconacetobacter xylinus*. *J. Appl. Microbiol.* **115**, 995–1002 (2013)
103. Zhang S., Kingsley R.A., Santos R.L., Andrews-Polymeris H., Raffatellu M., Figueiredo J., Nunes J., Tsois R.M., Adams G.L., Bäumlner A.J.: Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium-induced diarrhea. *Infect. Immun.* **71**, 1–12 (2003)
104. Zhang S., Winstrand S., Guo X., Chen L., Hong F., Jönsson L.J.: Effects of aromatic compounds on the production of bacterial nanocellulose by *Gluconacetobacter xylinus*. *Microb. Cell Fact.* **13**, (2014)
105. Zhao Q., Zhao M., Li J., Yang B., Su G., Cui C., Jiang Y.: Effect of hydroxypropyl methylcellulose on the textural and whipping properties of whipped cream. *Food Hydrocoll.* **23**, 2168–2173 (2009)
106. Zhou L.L., Sun D.P., Hu L.Y., Li Y.W., Yang J.Z.: Effect of addition of sodium alginate on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **34**, 483–489 (2007)
107. Żbikowska A., Kupiec M., Onacik-Gür S.: Wpływ karagenu na teksturę i stabilność oleożeli hydroksypropylometylocelulozowych. *Acta Agroph.* **24**, 553–561 (2017)
108. Żywicka A., Junka A.F., Szymczyk P., Chodaczek G., Grzesiak J., Sedghizadeh P.P., Fijałkowski K.: Bacterial cellulose yield increased over 500% by supplementation of medium with vegetable oil. *Carbohydr. Polym.* **199**, 294–303 (2018)