

Научная статья
УДК 579.69:604.2
doi: 10.17223/19988591/60/2

Получение бактериальной целлюлозы при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* с продуцентами декстрана *Leuconostoc mesenteroides* и ксантана *Xanthomonas campestris*

Наталья Борисовна Назарова¹, Елена Владимировна Лияськина²,
Виктор Васильевич Ревин³

^{1, 2, 3} Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П.Огарева, Саранск, Россия

¹ n.sapunowa2016@yandex.ru

² liyaskina@yandex.ru

³ revinvv2010@yandex.ru

Аннотация. Впервые проведено совместное культивирование продуцента бактериальной целлюлозы *Komagataeibacter sucrofermentans* с продуцентами декстрана *Leuconostoc mesenteroides* и ксантана *Xanthomonas campestris* на среде с мелассой с целью увеличения выхода продукта. Доказано, что совместное культивирование продуцента бактериальной целлюлозы с продуцентом декстрана позволило увеличить выход бактериальной целлюлозы в два раза, что составило $5,99 \pm 0,02$ г/л по сравнению с $2,25 \pm 0,05$ г/л. Изучены структура и физико-химические свойства полученной бактериальной целлюлозы методами атомно-силовой микроскопии, ИК-спектроскопии и рентгеновской дифрактометрии. Показано, что при совместном культивировании штаммов степень кристалличности бактериальной целлюлозы уменьшается в 2 раза с 64 до 32%.

Ключевые слова: микробные полисахариды, совместное культивирование, бактериальная целлюлоза, декстран, ксантан

Источник финансирования: работа выполнена благодаря финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ 19-515-80002) и Министерства науки и высшего образования РФ (грант FZRS-2020-0003).

Для цитирования: Назарова Н.Б., Лияськина Е.В., Ревин В.В. Получение бактериальной целлюлозы при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* с продуцентами декстрана *Leuconostoc mesenteroides* и ксантана *Xanthomonas campestris* // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2022. № 60. С. 23–42. doi: 10.17223/19988591/60/2

The Production of Bacterial Cellulose by Co-Cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* with Dextran Producers *Leuconostoc mesenteroides* and Xanthan *Xanthomonas campestris*

Natalia B. Nazarova¹, Elena V. Liyaskina², Viktor V. Revinv³

^{1, 2, 3} National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

¹ n.sapunowa2016@yandex.ru

² liyaskina@yandex.ru

³ revinvv2010@yandex.ru

Summary. Bacterial cellulose (BC) is an extracellular product of bacterial metabolism. Like plant cellulose, BC has the same molecular formula but its structure is significantly different. Due to its unique properties (high degree of crystallinity, purity, good water-holding capacity), BC is widely used in many areas of human life. However, despite all the advantages of BC over plant polymers, its production is a relatively expensive process. Thus, one of the ways to increase the polymer yield can be to jointly cultivate a BC producer strain with other polysaccharide producers. The positive effect of some water-soluble polysaccharides on the BC output is known from the literature data. In addition, many biosynthetic genes remain silent and not expressed in vitro, thereby severely limiting the chemical diversity of microbial compounds that can be obtained by fermentation. In contrast, the co-cultivation of two or more different microorganisms mimics a real "situation" where microorganisms coexist in complex microbial communities. It has been proven that competition or antagonism occurring within co-cultivation leads to a significant increase in the existing compounds and / or accumulation of new compounds which are not found in axial cultures of the producer strain. The purpose of this study is to investigate co-cultivation as a way to increase the yield of BC during the cultivation of BC producers with other polysaccharide-forming strains.

The strain of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 was used as a BC producer, *Xanthomonas campestris* was used as a xanthan producer, and *Leuconostoc mesenteroides* was used as a dextran producer. The cultivation was carried out under dynamic conditions on a medium with molasses. The polysaccharide yield was expressed as the absolute dry weight of the polymers per unit volume of the culture medium. We have studied the BC morphology using atomic force microscopy (AFM) and FTIR spectroscopy. Crystallinity was checked by X-ray diffraction analysis.

The interest in BC makes it necessary to synthesize it in large quantities on an industrial scale. The problem of increasing productivity was solved by co-cultivating the BC producer *Komagataeibacter sucrofermentans* with the producers of dextran *Leuconostoc mesenteroides* and xanthan *Xanthomonas campestris*, since the addition of water-soluble polysaccharides is known to increase the viscosity of the medium and facilitate the dispersion of bacterial cellulose granules. Thereby increasing the number of free cells, which can accelerate sugar consumption and polymer formation. At the first stage of the study, the most optimal conditions for co-cultivation of the BC producer with the producers of xanthan and dextran were selected, namely, the optimal pH value of the medium. Monoculture of bacteria *X. campestris*, *L. mesenteroides*, and *K. sucrofermentans* was carried out at different pH values (See Fig. 1-3). Based on the data obtained, we can say that the most optimal pH value for co-cultivation of microorganisms is pH 5.0. In this regard, at the second stage of this

study, we carried out joint cultivation of the BC producer strain *K. sucrofermentans* with the xanthan and dextran producers *X. campestris* and *L. mesenteroides*, respectively, on molasses medium. From the data presented (See Fig. 4), it can be seen that the largest amount of polysaccharide is formed on the third day during co-cultivation of the BC producer and the dextran producer. The amount of BC was 5.99 ± 0.02 g/l, which is two and a half times higher than the amount of polymer formed during monocultivation of a BC producer (2.25 ± 0.05 g/l). Co-cultivation of the BC producer strain with the xanthan producer did not lead to an increase in the polysaccharide yield. Therefore, no further study of co-cultivation of these microorganisms was carried out. To assess the success of the joint cultivation of BC and dextran producer strains and investigate the properties of the obtained polysaccharide, studies using AFM, FTIR spectroscopy, and X-ray structural analysis were carried out. The surface relief of the obtained BC was studied using the AFM method (See Fig. 7). Analysis of the AFM images showed the presence of an association of *K. sucrofermentans* and *L. mesenteroides* cells in the BC. Also, the obtained BC was investigated using the method of FTIR spectroscopy (See Fig. 8). The obtained IR spectra show similarity of the detected peaks with the literature data of peaks corresponding to BC. To determine the degree of crystallinity, the structure of cellulose was studied by X-ray structural analysis (See Fig. 9). The degree of crystallinity of the studied cellulose samples is 64% and 32% with monocultivation of *K. sucrofermentans* and co-cultivation of *K. sucrofermentans* and *L. mesenteroides*, respectively.

The article contains 9 Figures, 1 Table, 37 References.

Keywords: microbial polysaccharides, co-cultivation, bacterial cellulose, dextran, xanthan

Funding: This work was partially supported by the international grant RFBR "Development of new generation functional materials based on hydrogels, aerogels and film forms of bacterial cellulose with antibacterial, regenerative and hemostatic properties" (Grant No 19-515-80002).

For citation: Nazarova NB, Liyaskina EV, Revin VV. The Production of Bacterial Cellulose by Co-Cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* with Dextran Producers *Leuconostoc mesenteroides* and Xanthan *Xanthomonas campestris*. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya* = *Tomsk State University Journal of Biology*. 2022;60:23-42. doi: 10.17223/19988591/60/2. In Russian, English Summary

Введение

Бактериальная целлюлоза (БЦ) – это внеклеточный продукт метаболизма бактерий [1–3]. Продуцентами бактериальной целлюлозы являются бактерии родов *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Komagataeibacter*, *Rhizobium* и *Salmonella* [4, 5]. Однако наиболее известным продуцентом данного полимера является бактерия *Komagataeibacter xylinus*, которая принадлежит к группе уксуснокислых бактерий [6].

К настоящему времени получено значительное количество новых продуцентов БЦ. Из симбиотического сообщества «чайный гриб» выделены штаммы *G. hansenii* GH-1/2008 (ВКПМ В-10547) [патент РФ 2464307], *G. sucrofermentans* В-11267 [патент РФ 2523606], *K. xylinus* В-12068 [патент РФ 2568605], *K. rhaeticus* CALU-1629 [патент ЕАПВ 201700517] и др.

Подобно растительной целлюлозе, БЦ имеет ту же молекулярную форму, однако их структура значительно отличается [6, 7]. Прежде всего,

БЦ – это химически чистое соединение, не требующее дополнительной очистки от примесей. В ее составе отсутствуют гемицеллюлоза, лигнин и пектин [8, 9]. Кроме того, бактериальный полимер и его растительный аналог различаются степенью полимеризации: степень полимеризации БЦ значительно ниже: типичный диапазон полимеризации составляет от 2 000 до 6 000 по сравнению с 13 000–140 000 растительной целлюлозы [7].

Структурная особенность фибриллированной сети БЦ придает полимеру уникальные свойства, такие как высокая степень кристалличности (80–90%) [1, 2, 10], высокая водоудерживающая способность (до 100 раз превышающая собственную массу полимера) [11], большая механическая прочность (100–160 ГПа для одного волокна, сравнимо со сталью или кевларом), формуемость и термохимическая стабильность [12–15].

Благодаря своим уникальным свойствам бактериальная целлюлоза находит широкое применение во многих сферах жизнедеятельности человека [16]. Это перспективный биоматериал для техники и медицины, который может использоваться в производстве пищевых продуктов для придания им волокнистой структуры, а также как наполнитель, для приготовления особых сортов бумаги и акустических диафрагм, получения сорбентов [17] и во многих других областях. БЦ имеет большой потенциал использования в медицине как биоматериал для тканевой инженерии [18, 19], создания раневых покрытий [20, 21] и систем контролируемой доставки лекарственных средств [11, 22, 23].

Несмотря на все преимущества БЦ перед полимерами растительного происхождения, ее производство является относительно дорогостоящим процессом прежде всего из-за низкой продуктивности известных штаммов и использования дорогостоящих питательных сред [24–26]. В связи с этим является целесообразным поиск новых способов и условий культивирования штаммов продуцентов бактериальной целлюлозы с целью увеличения выхода полисахарида. Так, одним из способов увеличения выхода полимера может являться совместное культивирование штамма продуцента бактериальной целлюлозы с другими продуцентами полисахаридов.

Из литературных данных известно о положительном влиянии некоторых водорастворимых полисахаридов на выход БЦ [27]. Кроме того, многие биосинтетические гены сохраняют молчание и не экспрессируются *in vitro*, тем самым серьезно ограничивая химическое разнообразие микробных соединений, которые могут быть получены путем ферментации. В противоположность этому совместное культивирование двух или более различных микроорганизмов имитирует реальную «ситуацию», когда микроорганизмы сосуществуют в сложных микробных сообществах. Доказано, что конкуренция или антагонизм, которые возникают во время совместного культивирования, приводят к значительному увеличению существующих соединений и/или к накоплению новых соединений, которые не обнаруживаются в аксиальных культурах штамма-продуцента [28].

Цель данного исследования – изучить совместное культивирование полисахаридаобразующих штаммов как способ увеличения выхода бактериальной целлюлозы.

Материалы и методики исследования

Условия культивирования. В качестве продуцента бактериальной целлюлозы использовали штамм *Komagataeibacter sucrofermentans* Н-110 (патент РФ 2523606), выделенный на кафедре биотехнологии Мордовского государственного университета (г. Саранск, Республика Мордовия) в 2012 г. Штамм идентифицирован до вида с помощью анализа 16S рРНК в ГосНИИГенетика и депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) под регистрационным номером В-11267. В качестве продуцента ксантана использовали штамм *Xanthomonas campestris* М 28, выделенный также на кафедре биотехнологии Мордовского государственного университета (г. Саранск, Республика Мордовия) в 2005 г. Культура идентифицирована в ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» на основании последовательности гена 16S рРНК [29] и депонирована во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) под регистрационным номером В-2373D. В качестве продуцента декстрана использовали бактерию *Leuconostoc mesenteroides* ВКМ В-2317D.

В качестве исходного посевного материала использовали культуру на скошенной агаризованной среде следующего состава, г/л:

- для *Komagataeibacter sucrofermentans*: глюкоза – 10,0; дрожжевой экстракт – 10,0; пептон – 7,0; агар – 15,0; лимонная кислота – 0,2; уксусная кислота – 0,1; этанол – 10,0. рН 5,0–6,0;

- для *Leuconostoc mesenteroides*: хлорид калия – 0,1; сульфат магния – 0,1; дигидроортофосфат калия – 1,0; гидрофосфат натрия – 2,5; хлорид аммония – 0,5; соль Мора – 0,01; ПБК – 0,05; пептон – 0,2–0,3; сахароза – 140; агар – 16. рН 7,2;

- для *Xanthomonas campestris*: сахароза – 20,0; дрожжевой экстракт – 5,0; пептон – 10,0; агар – 15,0. рН 6,0–6,5.

Инокулят получали путем переноса культур, выращенных на скошенной агаризованной среде, в жидкие питательные среды следующего состава, г/л:

- для *Komagataeibacter sucrofermentans* среда HS: глюкоза – 20,0; пептон – 5,0; дрожжевой экстракт – 5,0; гидрофосфат натрия – 2,7; лимонная кислота – 1,15;

- для *Leuconostoc mesenteroides* среда следующего состава: хлорид кальция – 0,02; хлорид натрия – 0,01; дигидроортофосфат калия – 20,0; сульфат магния – 0,02; сульфат марганца – 0,01; сульфат железа – 0,01; сахароза – 140; дрожжевой экстракт – 20,0. рН 7,2.

Культивирование штаммов продуцентов полисахаридов проводили в колбах объемом 250 мл, содержащих 100 мл среды на шейкере-инкубаторе ES-20/60 (Biosan, Латвия) при 250 об/мин в течение 24 ч при температуре 28±1 °С. Полученные культуры использовали в качестве инокулята для последующих экспериментов.

В качестве опытной среды для получения полисахаридов использовали среду с мелассой следующего состава, г/л: меласса – 50; вода – 1 л. рН сред доводили до значений 4,0; 5,0; 6,0; 7,0.

Культивирование штаммов бактерий проводили в динамических условиях на шейкере-инкубаторе ES-20/60 (Biosan, Латвия) при 250 об/мин при температуре 28 ± 1 °C в течение 3 сут и в статических условиях в термостате ТС-1/80 СПУ (Россия) при температуре 28 ± 1 °C в течение 5 сут.

Очистка и определение количества бактериальной целлюлозы. Полученную при культивировании бактерий целлюлозу подвергали обработке для удаления клеток и компонентов среды 0,1 Н раствором NaOH при 80 °C в течение 30 мин. От раствора щелочи бактериальную целлюлозу отмывали дистиллированной водой, 0,5% водным раствором уксусной кислоты и снова водой до нейтральной реакции [30, 31].

Количество бактериальной целлюлозы определяли весовым методом после высушивания до постоянной массы при температуре 60 °C в сушильном шкафу ШС-80-01 СПУ (Россия). Количество полученного полисахарида определяли по формуле [8]

$$P = m/V \times 1000,$$

где m – масса сухой бактериальной целлюлозы, г; V – объем среды, мл.

Очистка и определение количества декстрана и ксантана. Количество декстрана и ксантана в культуральной жидкости определяли весовым методом после отделения клеток центрифугированием и осаждения экзополисахарида 96% этанолом [29]. Этот метод широко применяют для оценки количества полисахаридов в жидких питательных средах.

Определение состоит из следующих операций: доведения массы фильтров до постоянного значения, осаждения декстрана и ксантана из супернатанта этиловым спиртом, определения количества полисахарида в супернатанте.

Количество декстрана и ксантана определяли по формуле [29]

$$P = \frac{A-B}{V} \times 1000,$$

где A – масса фильтра с осадком, г; B – масса фильтра без осадка, г; V – объем, взятый для анализа, мл.

Определение pH. Определение pH культуральных жидкостей проводили потенциометрическим способом (в основе которого лежит зависимость равновесного потенциала электрода от активности (концентрации) определяемого иона) на pH-метре S-220 Sevencompact (MettlerToledo, Швейцария).

Инфракрасная (ИК) Фурье-спектроскопия. ИК Фурье-спектры регистрировали на ИК Фурье-спектрометре IRPrestige-21 (Shimadzu, Япония) в средней инфракрасной области $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$. В качестве образцов использовали очищенную и лиофильно высушенную на установке FreeZone (Labconco, США) целлюлозу, полученную при монокультивировании, а также целлюлозу, полученную при совместном культивировании двух микроорганизмов.

Индекс кристалличности образца бактериальной целлюлозы рассчитывали по формуле [32, 33]

$$ИК = A_{1430}/A_{893}.$$

Рентгеновская дифрактометрия. Степень кристалличности определяли методом рентгеновской дифрактометрии на дифрактометре ЕМРУ-

REAN (PANalytical, Нидерланды) с детектором PJXcel3D на отражение (CuK_α -излучение). Отобранные образцы размером 30×30 мм устанавливали в аппарат и производили измерение. Подложка – аморфная кремниевая. Программируемая цель с длиной освещенной области 16 мм. Степень кристалличности рассчитывали по формуле [33]

$$X = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\%,$$

где I_{002} – суммарная интенсивность кристаллического пика 002; $I_{002} - I_{am}$ – интенсивность кристаллического пика 002 за вычетом фонового сигнала.

Атомно-силовая микроскопия. Для изучения морфологии поверхности бактериальной целлюлозы и бактериальных клеток использовали метод атомно-силовой микроскопии (АСМ). Изображения получали с помощью сканирующего зондового микроскопа SPM 9600 (Shimadzu, Япония).

Статистическая обработка данных. Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Excel.

Полученные данные обработаны с использованием параметрических критериев и представлены в виде средней арифметической из трех повторностей, стандартной ошибки среднего; статистическую значимость различий оценивали по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты исследования и обсуждение

Интерес к бактериальной целлюлозе обуславливает необходимость синтезировать её в больших количествах в промышленных масштабах [8]. Задачу повышения продуктивности решали путем совместного культивирования продуцента бактериальной целлюлозы *Komagataeibacter sucrofermentans* с продуцентами декстрана *Leuconostoc mesenteroides* и ксантана *Xanthomonas campestris*, поскольку известно, что добавление водорастворимых полисахаридов увеличивает вязкость среды и облегчает дисперсию гранул БЦ, тем самым увеличивая количество свободных клеток, что может ускорять потребление сахара и образование полимера [27]. Кроме того, как уже упоминалось ранее, конкуренция, которая возникает во время совместного культивирования, также способна приводить к значительному увеличению существующих соединений и/или к накоплению новых продуктов [28].

В качестве полисахаридообразующих микроорганизмов для совместного культивирования выбрали продуценты ксантана и декстрана, поскольку есть сведения о положительном влиянии данных полисахаридов на выход БЦ [27]. Так, совместное культивирование бактерий *G. xylinus* и полисахаридообразующих молочнокислых бактерий *Lactobacillus mali* на среде с сахарозой увеличивает количество бактериальной целлюлозы с 1,4 до 4,2 г/л соответственно [34]. Водорастворимый полисахарид ацетан, структура которого сходна со структурой ксантана, также увеличивает выход полимера, что объяснено меньшим повреждением клеток в процессе перемешивания и меньшей коагуляцией клеток продуцента [27].

В качестве питательной среды для совместного культивирования микроорганизмов использовали мелассу в концентрации 50 г/л среды. Меласса – это побочный продукт конечной стадии кристаллизации в процессе производства сахара, который является одним из наиболее экономичных источников углерода в микробной промышленности [35].

На первом этапе исследования проводили подбор наиболее оптимальных условий совместного культивирования продуцента БЦ с продуцентами ксантана и декстрана, а именно оптимальное значение pH среды. Проводили монокультивирование бактерий *X. campestris*, *L. mesenteroides* и *K. sucrofermentans* при различных значениях pH. Результаты представлены на рис. 1–3.

Согласно представленным данным, наиболее оптимальным значением для получения декстрана и ксантана является pH 7,0. Количество образуемого полисахарида в таком случае составляет 23,01 и 22,54 г/л на третьи сутки культивирования соответственно. Для получения бактериальной целлюлозы наиболее оптимальным является значение pH 5,0, при котором количество полимера составляет $2,99 \pm 0,49$ г/л на третьи сутки культивирования.

Согласно представленным данным, наиболее оптимальным значением pH для совместного культивирования *K. sucrofermentans* и *L. mesenteroides* является pH 5,0. В связи с этим на втором этапе работы мы проводили совместное культивирование штамма продуцента БЦ с продуцентом декстрана при данном значении pH.

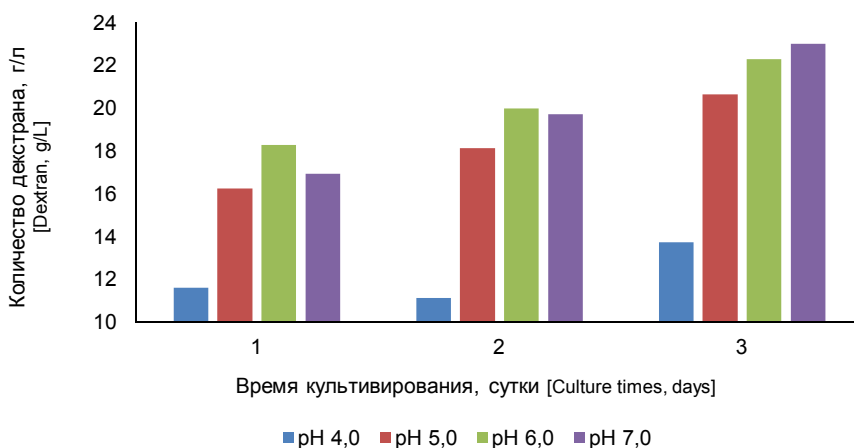


Рис. 1. Количество декстрана, синтезируемого *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D в течение 3 сут культивирования при различных значениях pH среды с мелассой

[Fig. 1. Dextran production by *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D during 3 days of cultivation at different pH values of the medium with molasses. On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – Dextran, g/L]

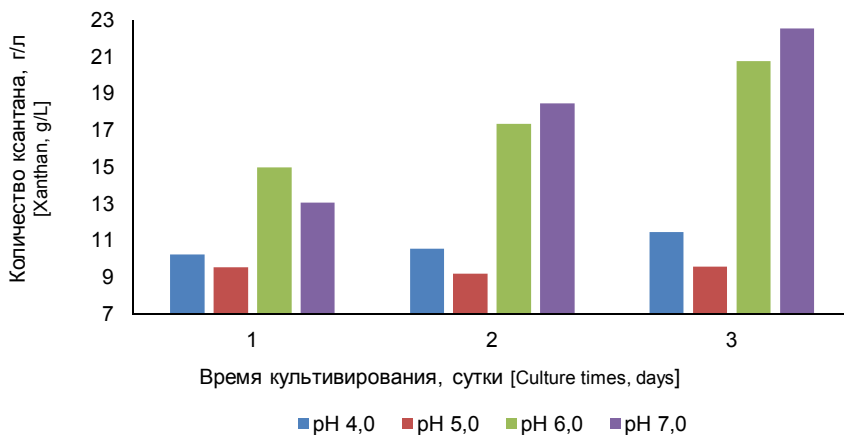


Рис. 2. Количество ксантана, синтезируемого *Xanthomonas campestris* B-2373 D в течение 3 сут культивирования при различных значениях pH среды с мелассой
 [Fig. 2. Xanthan production by *Xanthomonas campestris* B-2373 D during 3 days of cultivation at different pH values of the medium with molasses.
 On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – Xanthan, g/L]

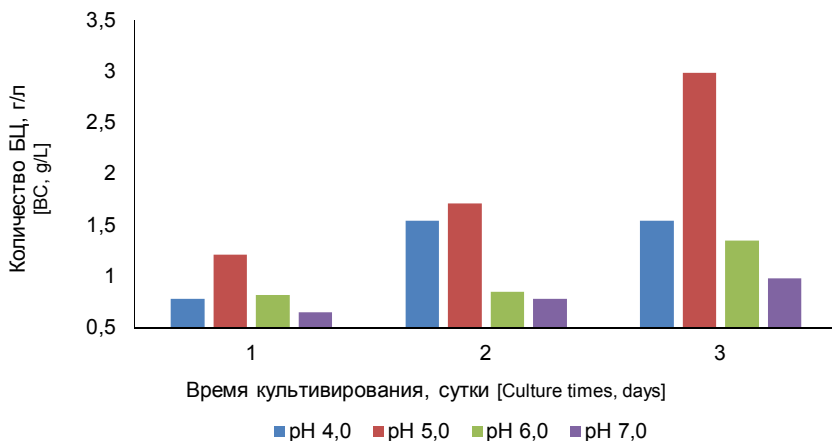


Рис. 3. Количество бактериальной целлюлозы, синтезируемой *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 в течение 3 сут культивирования при различных значениях pH среды с мелассой
 [Fig. 3. BC production by *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 during 3 days of cultivation at different pH values of the medium with molasses.
 On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – BC, g/L]

Поскольку в ходе предыдущего опыта было показано, что при pH 5,0 количество ксантана, образуемого *X. campestris*, невысоко, то исследование совместного культивирования с продуцентом ксантана проводилось при различных значениях pH среды. Полученные результаты представлены на рис. 4.

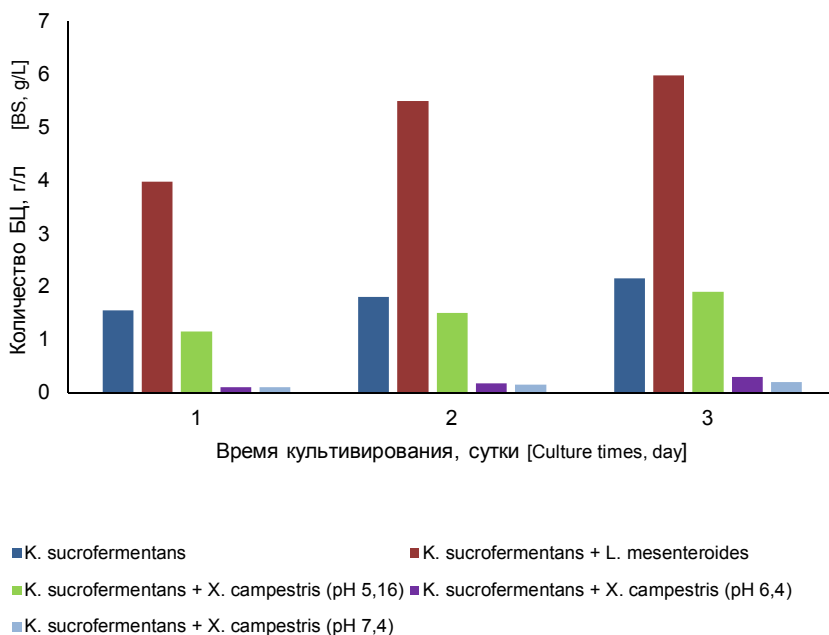


Рис. 4. Количество полисахарида, образуемого при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 с *Xanthomonas campestris* B-2373 D и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D

[Fig. 4. Polysaccharide production during co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 with *Xanthomonas campestris* B-2373 D and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D
On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – BC, g/L]

Из представленных на рисунке данных видно, что наибольшее количество полисахарида образуется на третьи сутки при совместном культивировании продуцента бактериальной целлюлозы и продуцента декстрана. Количество бактериальной целлюлозы составило $5,99 \pm 0,02$ г/л, что в два с половиной раза превышает количество полимера, образуемого при монокультивировании продуцента бактериальной целлюлозы, – $2,25 \pm 0,05$ г/л.

Совместное культивирование штамма продуцента бактериальной целлюлозы с продуцентом ксантана не привело к увеличению выхода полисахарида. Поэтому дальнейшее исследование совместного культивирования этих микроорганизмов не проводилось.

Увеличение выхода БЦ при совместном культивировании *K. sucrofermentans* и *L. mesenteroides*, возможно, связано с тем, что фермент декстрансахараза, который образуют бактерии рода *Leuconostoc*, позволяет быстрее расщепить сахара, содержащиеся в мелассе. Образующий бактериями декстран также может способствовать образованию БЦ. Возможно также, что увеличение выхода продукта связано с фруктозой, которая образуется при расщеплении сахарозы ферментом. Известно, что фруктоза является хорошим источником углерода для культивирования продуцентов БЦ [9]. Согласно литературным данным, в результате метаболизма фрукто-

зы образуется меньше органических кислот и не происходит сильного закисления среды, как при использовании глюкозы, которая превращается в глюконовую кислоту.

Для подтверждения результатов была дополнительно проведена серия экспериментов по совместному культивированию *K. sucrofermentans* с *L. mesenteroides*. Полученные данные представлены на рис. 5.

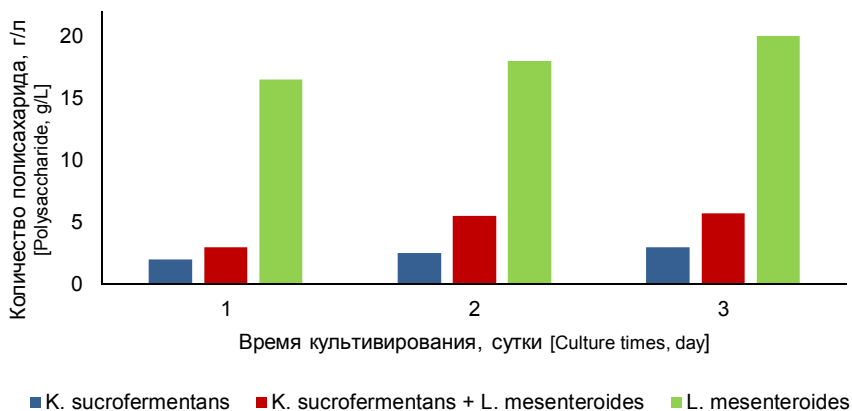


Рис. 5. Количество полисахаридов, образуемых при совместном и раздельном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D

[Fig. 5. Polysaccharides production formed during co-cultivation and separate cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D. On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – Polysaccharides, g/L]

Исследовалось также изменение pH среды при культивировании в динамических условиях (рис. 6).

Согласно представленным данным, в случае монокультивирования *L. mesenteroides* наблюдается снижение значения pH в результате закисления среды, что, вероятно, связано с образованием кислот при гетероферментативном молочнокислом брожении продуцентом декстрана. При монокультивировании *K. sucrofermentans* в 1-е сут культивирования наблюдается незначительное понижение значений pH, что, вероятно, связано с активным ростом бактерий, потреблением сахаров и образованием органических кислот. Со 2-х сут происходит изменение pH в щелочную сторону, что, вероятно, связано с процессом потребления образованных органических кислот. При совместном культивировании микроорганизмов происходит плавное повышение pH среды до наиболее оптимального для синтеза бактериальной целлюлозы значения.

Для оценки успешности проведения совместного культивирования и изучения свойств полученного полисахарида проводили исследования с помощью АСМ, ИК-спектроскопии и рентгеновской дифрактометрии.

Для исследования микроскопической структуры биополимера использовалась атомно-силовая микроскопия (АСМ) (рис. 7). На рис. 7, а, б пред-

ставлены изображения БЦ, полученной в результате совместного культивирования бактерий до очистки, с включением палочковидных клеток *K. sucrofermentans* и сферических бактерий *L. mesenteroides* соответственно. На рис. 7, с изображена микроморфология БЦ после очистки от компонентов среды и клеток, представленная нанопористой трехмерной сетевой структурой со случайным расположением лентовидных фибрилл. Толщина фибрилл БЦ, формируемых на среде с мелассой, составляет 60–90 нм.

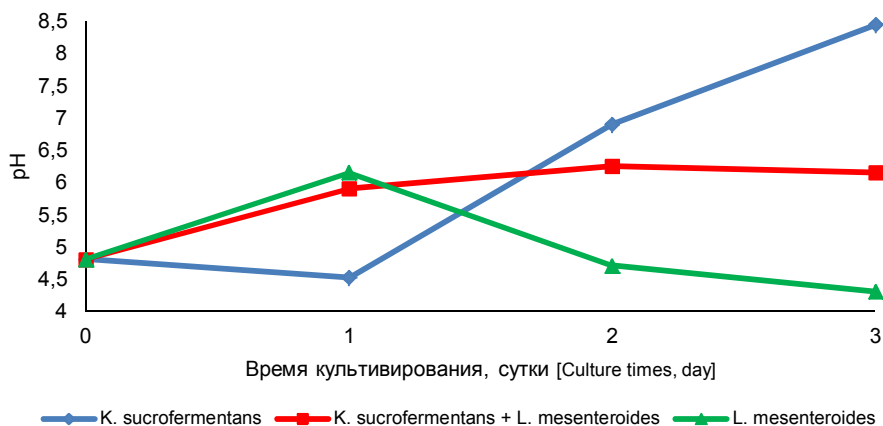


Рис. 6. Динамика изменения pH среды при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D [Fig. 6. Time-course of pH of the medium during co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D. On the X-axis – Culture times, days; on the Y-axis – pH, g/L]

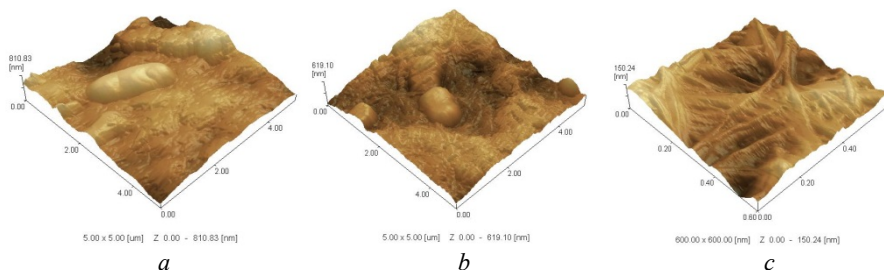


Рис. 7. АСМ-изображения неочищенной БЦ, полученной при совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 (a) и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D (b) и БЦ после очистки (c) [Fig. 7. AFM-image of unpurified BC obtained by co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 (a) and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D (b) and BC after purification]

Также полученную бактериальную целлюлозу исследовали с помощью метода ИК-спектроскопии. Данный метод позволяет анализировать молекулярный состав полимера и помогает обнаружить появление в спектре новых пиков или их сдвигов, что может быть связано со структурными различиями бактериальной целлюлозы, полученной при моно- и совместном культивировании. Результаты представлены на рис. 8.



Рис. 8. ИК-спектры бактериальной целлюлозы, полученной при монокультивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D

[Fig. 8. FTIR spectroscopy of bacterial cellulose obtained by monoculture of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D.

On the X-axis – Wave numbers, cm^{-1} ; on the Y-axis – Absorption, a.u.]

В инфракрасном спектре БЦ можно выделить область поглощения при $3\,200\text{--}3\,500\text{ см}^{-1}$, которая соответствует валентным колебаниям гидроксильных групп, связанных межмолекулярными и внутримолекулярными водородными связями. Поглощение в областях $1\,164$ и $1\,061\text{ см}^{-1}$ вызвано асимметричными колебаниями С-О-С-группы и вибрациями С-С-, С-ОН-, С-Н-групп пиранозного кольца глюкозы соответственно [36].

Полученные ИК-спектры показывают сходство обнаруженных пиков с литературными данными пиков, соответствующих бактериальной целлюлозе.

Поскольку оба полисахарида состоят из остатков глюкозы и отличие имеется только по типу связи, ИК-спектры являются идентичными. Факт наличия дектрана в целлюлозе пытались определить с помощью индекса кристалличности. Согласно литературным данным, при внесении дополнительных полисахаридов может происходить снижение степени и индекса кристалличности.

Определяли данный показатель с помощью метода ИК-спектроскопии путем измерения относительных высот или областей пика. Это является самым простым методом, но дает примерные значения, поскольку спектр всегда содержит показатели и кристаллической, и аморфной областей. Результаты представлены в таблице.

Для оценки кристалличности БЦ использовали рентгеновскую дифрактометрию, дифрактограммы БЦ представлены на рис. 9.

Индекс кристалличности и содержание α и β фаз БЦ, полученной на мелассной среде при монокультивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D
[Crystallinity index and content of α and β phases of BC obtained on molasses medium during monoculture of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D]

Бактериальная целлюлоза, полученная при монокультивировании и совместном культивировании микроорганизмов [Bacterial cellulose obtained by monoculture and co-cultivation of microorganisms]	I_{α} , %	I_{β} , %	Индекс кристалличности [Crystallinity index]
<i>K. sucrofermentans</i>	42,8	57,2	1,66
<i>K. sucrofermentans</i> и <i>L. mesenteroides</i>	47,6	52,4	1,31

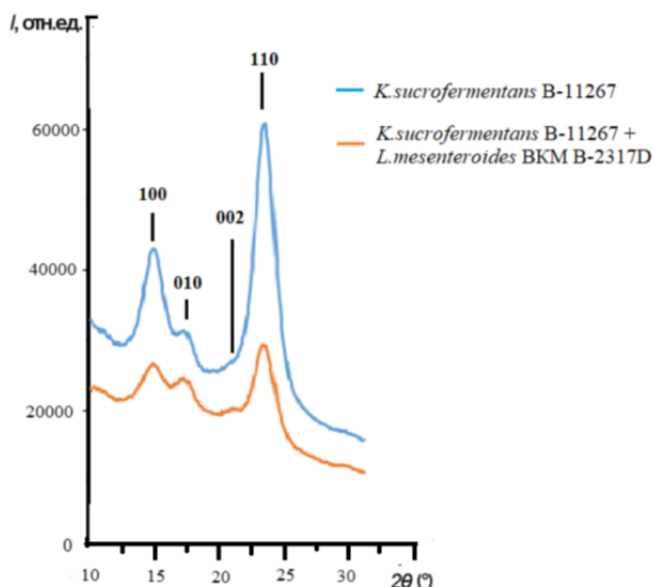


Рис. 9. Дифрактограммы (режим отражения) БЦ, полученной при монокультивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и совместном культивировании *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D
[Fig. 9. X-ray diffraction spectra (reflection mode) of BC obtained by single cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and co-cultivation of *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 and *Leuconostoc mesenteroides* BKM B-2317D]

На дифракционных диаграммах БЦ, полученных от всех образцов БЦ, присутствуют три основных пика при 2θ 14,4, 16,8 и 22,5°, соответствующих кристаллографическим плоскостям (100), (010) и (110) соответственно [37]. Интенсивность отражения 100 больше, чем у отражения 010, когда пленка параллельна рентгеновскому лучу, и эффект меняется на противо-

положный при перпендикулярной ориентации. При этом обнаруживается сильная унипланарность, связанная с тем, что ленты целлюлозы преимущественно ориентированы параллельно поверхности пленки во время сушки. Степень кристалличности исследуемых образцов целлюлозы составляет 64 и 32% при монокультивировании *K. sucrofermentans* и совместном культивировании *K. sucrofermentans* и *L. mesenteroides* соответственно.

Заключение

В настоящем исследовании установлено, что совместное культивирование штамма продуцента бактериальной целлюлозы *Komagataeibacter sucrofermentans* B-11267 и штамма продуцента декстрана *Leuconostoc mesenteroides* ВКМ В-2317D позволяет увеличить выход бактериальной целлюлозы в два раза по сравнению с монокультивированием с 2,64 до 5,99 г/л соответственно. Таким образом, использование смешанного культивирования продуцентов бактериальной целлюлозы и декстрана на среде с мелассой, являющейся отходом сахарного производства, является перспективным для создания эффективной и недорогой технологии получения бактериальной целлюлозы.

Список источников

1. Revin V.V., Liyaskina E.V., Parchaykina M.V., Kuzmenko T.P., Kurgaeva I.V., Revin V.D., Ullah M.W. Bacterial Cellulose-Based Polymer Nanocomposites: A Review // *Polymers*. 2022. Vol. 14. P. 4670. doi: 10.3390/polym14214670.
2. Moniri M., Boroumand Moghaddam A., Azizi S., Rahim R., Ariff A., Saad W., Mohamad R. Production and Status of Bacterial Cellulose in Biomedical Engineering // *Nanomaterials*. 2017. Vol. 7. No. 9. PP. 257–283. doi: 10.3390/nano7090257
3. Revin V.V., Nazarova N.B., Tsareva E.E., Liyaskina E.V., Revin V.D., Pestov N.A. Production of Bacterial Cellulose Aerogels With Improved Physico-Mechanical Properties and Antibacterial Effect // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020. Vol. 8. PP. 603407. doi: 10.3389/fbioe.2020.603407
4. Rangaswamy B.E., Vanith K.P., Hungund B.S. Microbial Cellulose Production from Bacteria Isolated from Rotten Fruit // *International Journal of Polymer Science*. 2015. Vol. 2015. PP. 1–8. doi: 10.1155/2015/280784
5. Скворцова З.Н., Громовых Т.И., Грачев В.С., Траскин В.Ю. Физико-химическая механика бактериальной целлюлозы // *Коллоидный журнал*. 2019. Т. 81, № 4. С. 441–452. doi: 10.1134/S0023291219040165
6. Blanco Parte F.G., Santoso S.P., Chou C.C., Verma V., Wang H.T., Ismadji S., Cheng, K.C. Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose // *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020. Vol. 40. No. 16. PP. 1–18. doi: 10.1080/07388551.2020.1713721
7. Ahmed J., Gultekinoglu M., Edirisinghe M. Bacterial cellulose micro-nano fibres for wound healing applications // *Biotechnology Advances*. 2020. Vol. 41. No. 8. PP. 1–14. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107549
8. Киселева О.И., Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Гаврюшина И.А., Садыкова В.С., Пигалева М.А., Рубина М.С., Громовых Т.И. Структура популяции *Komagataeibacter hansenii* GH 1/2008 в статической культуре на различных источниках углерода // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2021. № 53. С. 22–46. doi: 10.17223/19988591/53/2

9. Ревин В.В., Лияськина Е.В., Сапунова Н.Б., Богатырева А.О. Выделение и характеристика штаммов – продуцентов бактериальной целлюлозы // Микробиология. 2020. Т. 89. № 1. – С. 88–98. doi: 10.31857/S0026365620010139
10. Gorgieva S., Trček J. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications // *Nanomaterials*. 2019. Vol. 9. No. 10. PP. 1352–1372. doi: 10.3390/nano9101352
11. Ullah H., Wahid F., Santos H.A., Khan T. Advances in biomedical and pharmaceutical applications of functional bacterial cellulose-based nanocomposites // *Carbohydrate Polymer*. 2016. Vol. 150. PP. 330–352. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.05.029
12. Singhsa P., Narain R., Manuspiya H. Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions // *Cellulose*. 2018. Vol. 25. PP. 1571–1581. doi: 10.1007/s10570-018-1699-1
13. Sulaeva I., Henniges U., Rosenau T. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review // *Biotechnology Advances*. 2015. Vol. 33. PP. 1547–1571. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.009
14. Hussain Z., Sajjad W., Khan T. Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review // *Cellulose*. 2019. Vol. 26. PP. 2895–2911. doi: 10.1007/s10570-019-02307-1
15. Lee K.Y., Buldum G., Mantalaris A., Bismarck A. More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites // *Macromol. Biosci*. 2014. Vol. 14. PP. 10–32. doi: 10.1002/mabi.201300298
16. Ревин В.В., Лияськина Е.В., Пестов Н.А. Получение бактериальной целлюлозы и нанокмпозиционных материалов: монография. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2014. 128 с.
17. Revin V.V., Dolganov A.V., Liyaskina E.V., Nazarova N.B., Balandina A.V., Devyataeva A.A., Revin V.D. Characterizing Bacterial Cellulose Produced by *Komagataeibacter sucrofermentans* H-110 on Molasses Medium and Obtaining a Biocomposite Based on It for the Adsorption of Fluoride // *Polymers*. 2021. Vol. 13 (9). P. 1422. doi: 10.3390/polym13091422.
18. Pang M., Huang Y., Meng F., Zhuang Y., Liu H., Du M., Ma Q., Wang Q., Chen Z., Chen L., Cai T., Cai Y. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering // *Eur. Polym. J*. 2020. Vol. 122. PP. 109365. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109365
19. Khan S., Ul-Islam M., Ullah M.W., Zhu Y., Narayanan K.B., Han S.S., Park J.K. Fabrication strategies and biomedical applications of three-dimensional bacterial cellulose-based scaffolds: A review // *Int. J. Biol. Macromol*. 2022. Vol. 209. PP. 9–30. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.03.191
20. Volova T.G., Prudnikova S.V., Kiselev E.G., Nemtsev I.V., Vasiliev A.D., Kuzmin A.P., Shishatskaya E.I. Bacterial Cellulose (BC) and BC Composites: Production and Properties // *Nanomaterials*. 2022. Vol. 12. PP. 192. doi: 10.3390/nano12020192
21. Liu W., Due H., Zhang M., Liu K., Liu H., Xie H., Zhang X., Si C. Bacterial cellulose based composite scaffolds for biomedical applications: a review // *ACS Sustain. Chem. Eng*. 2020. Vol. 8. PP. 7536–7562. doi: 10.1021/acssuschemeng.0c00125
22. Solomevich S.O., Dmitruk E.I., Bychkovsky P.M., Nebytov A.E., Yurkshtovich T.L., Golub N.V. Fabrication of oxidized bacterial cellulose by nitrogen dioxide in chloroform/cyclohexane as a highly loaded drug carrier for sustained release of cisplatin // *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 248. PP. 116745. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116745
23. Carvalho T., Guedes G., Sousa F.L., Freire C.S.R., Santos H.A. Latest advances on bacterial cellulose-based materials for wound healing, delivery systems, and tissue engineering // *Biotechnol. J*. 2019. Vol. 14. P. 1900059. doi: 10.1002/biot.201900059
24. 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 // *Biore-source Technology*. 2014. Vol. 151. P. 113–119. doi: 10.1016/j.biortech.2013.10.052
25. Islam M.U., Ullah M.W., Khan S., Shah N., Park J.K. Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017. Vol. 102. PP. 1166–1173. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110

26. Revin V., Liyaskina E., Nazarkina M., Bogatyreva A., Shchankin M. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018. Vol. 49. No. 1. PP. 1–9. doi: 10.1016/j.bjm.2017.12.012
27. Ishida T., Mitarai M., Sugano Y., Shoda M. Role of water-soluble polysaccharides in bacterial cellulose production // *Biotechnol. Bioeng.* 2003. Vol. 83. PP. 474–478. doi: 10.1002/bit.10690
28. Marmann A., Aly A., Lin W., Wang B., Proksch P. Co-Cultivation – A Powerful Emerging Tool for Enhancing the Chemical Diversity of Microorganisms // *Marine Drugs*. 2014. Vol. 12. No. 2. PP. 1043–1065. doi: 10.3390/md12021043
29. Ревин В.В., Лияськина Е.В., Покидько Б.В., Пименов Н.В., Марданов А.В., Равин Н.В. Характеристика нового штамма *Xanthomonas campestris* М 28 – продуцента ксантана, исследование генома, условий культивирования и физико-химических и реологических свойств полисахарида // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2021. Том 57, № 3. С. 251–261. doi: 10.31857/S0555109921030107
30. Wu R.Q., Li Z.X., Yang J.P., Xing X.H., Shao D.Y., Xing, K.L. Mutagenesis induced by high hydrostatic pressure treatment: a useful method to improve the bacterial cellulose yield of a *Gluconacetobacter xylinus* strain // *Cellulose*. 2009. Vol. 17. P. 399–405. doi: 10.1007/s10570-009-9388-8
31. Castro C., Zuluaga R., Putaux J.L., Caro G., Mondragon I., Ganán P. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter swingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes // *Carbohydrate Polym.* 2011. Vol. 84. PP. 96–102. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.10.072
32. Ciolacu D., Ciolacu F., Popa V.I. Amorphous cellulose – structure and characterization // *Cellulose chemistry and technology*. – 2011. – Vol. 45, I.1. – P.13–21.
33. Keshk S., Sameshima K. Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture // *Enzyme Microb. Technol.* 2006. Vol. 40. P. 4–8. doi: 10.1016/j.enzmictec.2006.07.037
34. Seto A., Saito Y. Effective cellulose production by a coculture of *Komagataeibacter xylinus* and *Lactobacillus mali* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006. Vol. 73. No. 4. PP. 915–992. doi: 10.1007/s00253-006-0515-2
35. Сапунова Н.Б., Богатырева А.О., Щанкин М.В., Лияськина Е.В., Ревин В.В. Получение бактериальной целлюлозы на среде с мелассой // *Вестник технологического университета*. 2016. Т. 19. № 24. С.154–156.
36. Czaja W., Romanovicz D., Brown R. Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture // *Cellulose*. 2004. Vol.11. PP. 403–411. doi: 10.1023/B:CELL.0000046412.11983.61
37. Castro C., Zuluaga R., Álvarez C, et al. Putaux J., Caro G., Rojas O.J., Mondragon I., Gañán P. Bacterial cellulose produced by a new acid-resistant strain of *Gluconacetobacter* genus // *Carbohydr. Polym.* 2012. Vol. 89. P.1033–1037. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.045

References

1. Revin VV, Liyaskina EV, Parchaykina MV, Kuzmenko TP, Kurgaeva IV, Revin VD, Ullah MW. Bacterial Cellulose-Based Polymer Nanocomposites: A Review. *Polymers*. 2022;14:4670. doi: 10.3390/polym14214670.
2. Moniri M, Boroumand Moghaddam A, Azizi S, Rahim R, Ariff A, Saad W, Mohamad R. Production and Status of Bacterial Cellulose in Biomedical Engineering. *Nanomaterials*. 2017;7(9):257-283. doi: 10.3390/nano7090257
3. Revin VV, Nazarova NB, Tsareva EE, Liyaskina EV, Revin VD, Pestov NA. Production of Bacterial Cellulose Aerogels With Improved Physico-Mechanical Properties and Antibacterial Effect. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020;8(3):603407. doi: 10.3389/fbioe.2020.603407
4. Rangaswamy BE, Vanith KP, Hungund BS. Microbial Cellulose Production from Bacteria Isolated from Rotten Fruit. *International Journal of Polymer Science*. 2015;15:1-8. doi: 10.1155/2015/280784

5. Skvortsova ZN, Grachev VS, Traskin VY, Gromovych TI. Physicochemical mechanics of bacterial cellulose. *Kolloidnyy zhurnal – Colloid Journal*. 2019;81(4):441-452. doi: 10.1134/S0023291219040165. In Russian, English summary
6. Blanco Parte FG, Santos SP, Chou CC, Verma V, Wang HT, Ismadji S, Cheng KC. Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020;40(16):1-18. doi: 10.1080/07388551.2020.1713721
7. Ahmed J, Gultekinoglu M, Edirisinghe M. Bacterial cellulose micro-nano fibres for wound healing applications. *Biotechnology Advances*. 2020;41(8):1-14. doi: 10.1016/j.biotechadv.2020.107549
8. Kiselyova OI, Lutsenko SV, Feldman NB, Gavryushina IA, Sadykova VS, Pigaleva MA, Rubina MS, Gromovych TI. The structure of *Gluconacetobacter hansenii* GH 1/2008 population cultivated in static conditions on various sources of carbon. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;53:22-46. doi: 10.17223/19988591/53/2. In Russian, English Summary
9. Revin VV, Liyaskina EV, Sapunova NB, Bogatyreva AO. Isolation and characterization of the strains producing bacterial cellulose. *Mikrobiologiya – Microbiology*. 2020;89(1):88-98. doi: 10.31857/S0026365620010139. In Russian, English Summary
10. Gorgieva S, Trček J. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials*. 2019;9(10):1352-1372. doi: 10.3390/nano9101352
11. Ullah H, Wahid F, Santos HA, Khan T. Advances in biomedical and pharmaceutical applications of functional bacterial cellulose-based nanocomposites. *Carbohydrate Polymer*. 2016;150:330-352. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.05.029
12. Singhsa P, Narain R, Manuspiya H. Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different *Komagataeibacter xylinus* strains and carbon sources in static and agitated conditions. *Cellulose*. 2018;25:1571-1581. doi: 10.1007/s10570-018-1699-1
13. Sulaeva I, Henniges U, Rosenau T. Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications. A review. *Biotechnology Advances*. 2015;33:1547-1571. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.009
14. Hussain Z, Sajjad W, Khan T. Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review. *Cellulose*. 2019;26:2895-2911. doi: 10.1007/s10570-019-02307-1
15. Lee KY, Buldum G, Mantalaris A, Bismarck A. More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. *Macromol. Biosci*. 2014;14:10-32. doi: 10.1002/mabi.201300298
16. Revin VV, Liyaskina EV, Pestov NA. Poluchenie bakterial'noy tsellyulozy i nanokompozitsionnykh materialov [Production of bacterial cellulose and nanocomposite materials]. Saransk: Izdatel'stvo Mordovskogo universiteta; 2014. 128 p. In Russian
17. Revin VV, Dolganov AV, Liyaskina EV, Nazarova NB, Balandina AV, Devyataeva AA, Revin VD. Characterizing Bacterial Cellulose Produced by *Komagataeibacter sucrofermentans* H-110 on Molasses Medium and Obtaining a Biocomposite Based on It for the Adsorption of Fluoride. *Polymers*. 2021;13(9):1422. doi: 10.3390/polym13091422
18. Pang M, Huang Y, Meng F, Zhuang Y, Liu H, Du M, Ma Q, Wang Q, Chen Z, Chen L, Cai T, Cai Y. Application of bacterial cellulose in skin and bone tissue engineering. *Eur. Polym. J*. 2020;122:109365. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109365
19. Khan S, Ul-Islam M, Ullah MW, Zhu Y, Narayanan KB, Han SS, Park JK. Fabrication strategies and biomedical applications of three-dimensional bacterial cellulose-based scaffolds: A review. *Int. J. Biol. Macromol*. 2022;209:9-30. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.03.191
20. Volova TG, Prudnikova SV, Kiselev EG, Nemtsev IV, Vasiliev AD, Kuzmin AP, Shishatskaya EI. Bacterial Cellulose (BC) and BC Composites: Production and Properties. *Nanomaterials*. 2022;12:192. doi: 10.3390/nano12020192
21. Liu W, Due H, Zhang M, Liu K, Liu H, Xie H, Zhang X, Si C. Bacterial cellulose based composite scaffolds for biomedical applications: a review. *ACS Sustain. Chem. Eng*. 2020;8:7536-7562. doi: 10.1021/acssuschemeng.0c00125
22. Solomevich SO, Dmitruk EI, Bychkovsky PM, Nebytov AE, Yurkshtovich TL, Golub NV. Fabrication of oxidized bacterial cellulose by nitrogen dioxide in chloro-

- form/cyclohexane as a highly loaded drug carrier for sustained release of cisplatin. *Carbohydrate Polymers*. 2020;248:116745. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116745
23. Carvalho T, Guedes G, Sousa FL, Freire CSR, Santos HA. Latest advances on bacterial cellulose-based materials for wound healing, delivery systems, and tissue engineering. *Biotechnol. J*. 2019;14:1900059. doi: 10.1002/biot.201900059
24. 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. *Biore-source Technology*. 2014;151:113-119. doi: 10.1016/j.biortech.2013.10.052
25. Islam MU, Ullah MW, Khan S, Shah N, Park JK. Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;102:1166-1173. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110
26. Revin V, Liyaskina E, Nazarkina M, Bogatyreva A, Shchankin M. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018;49(1):1-9. doi: 10.1016/j.bjm.2017.12.012
27. Ishida T, Mitarai M, Sugano Y, Shoda M. Role of water-soluble polysaccharides in bacterial cellulose production. *Biotechnol. Bioeng*. 2003;83:474-478. doi: 10.1002/bit.10690
28. Marmann A, Aly A, Lin W, Wang B, Proksch P. Co-Cultivation – A Powerful Emerging Tool for Enhancing the Chemical Diversity of Microorganisms. *Marine Drugs*. 2014;12(2):1043-1065. doi: 10.3390/md12021043
29. Revin VV, Liyaskina EV, Pokidko BV, Pimenov NV, Mardanov AV, Ravin NV. Characteristics of the new xanthan-producing strain *Xanthomonas campestris* M 28: study of the genome, cultivation conditions, and physicochemical and rheological properties of the polysaccharide. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya – Applied Biochemistry and Microbiology*. 2021;57(3):356-365. doi: 10.31857/S0555109921030107. In Russian, English summary
30. Wu RQ, Li ZX, Yang JP, Xing XH, Shao DY, Xing KL. Mutagenesis induced by high hydrostatic pressure treatment: a useful method to improve the bacterial cellulose yield of a *Gluconacetobacter xylinus* strain. *Cellulose*. 2009;17:399-405. doi: 10.1007/s10570-009-9388-8
31. Castro C, Zuluaga R, Putaux JL, Caro G, Mondragon I, Ganán P. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter swingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes. *Carbohydrate Polym*. 2011;84:96-102. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.10.072
32. Ciolacu D, Ciolacu F, Popa VI. Amorphous cellulose – structure and characterization. *Cellulose chemistry and technology*. 2011;45(1):13-21.
33. Keshk S, Sameshima K. Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture. *Enzyme Microb. Technol*. 2006;40:4-8. doi: 10.1016/j.enzmtec.2006.07.037
34. Seto A, Saito Y. Effective cellulose production by a coculture of *Komagataeibacter xylinus* and *Lactobacillus mali*. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2006;73(4):915-992. doi: 10.1007/s00253-006-0515-2
35. Sapunova NB, Bogatyreva AO, Shchankin MV, Liyaskina EV, Revin VV. Poluchenie bakterial'noy tsellyulozy na srede s melassoy [Preparation of bacterial cellulose on a medium with molasses]. *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta – Herald of technological university*. 2016;19(24):154-156. In Russian
36. Czaja W, Romanovicz D, Brown R. Structural investigations of microbial cellulose produced in stationary and agitated culture. *Cellulose*. 2004;11:403-411. doi: 10.1023/B:CELL.0000046412.11983.61
37. Castro C, Zuluaga R, Álvarez C, Putaux J, Caro G, Rojas OJ, Mondragon I, Gañán P. Bacterial cellulose produced by a new acid-resistant strain of *Gluconacetobacter* genus. *Carbohydr. Polym*. 2012;89:1033-1037. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.03.045

Информация об авторах:

Назарова Наталья Борисовна – канд. биол. наук, преподаватель кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии факультета биотехнологии и биологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0002-4237-5148>

E-mail: n.sapunowa2016@yandex.ru

Лняськина Елена Владимировна – канд. биол. наук, доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии факультета биотехнологии и биологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0003-1719-8052>

E-mail: liyaskina@yandex.ru

Ревин Виктор Васильевич – д-р биол. наук, профессор, декан факультета биотехнологии и биологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева (Саранск, Россия).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0001-6542-2667>

E-mail: revinvv2010@yandex.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about the authors:

Nazarova Natalia B., Cand. Sci. (Biol.), lecturer at the Department of Biotechnology and Biochemistry, Faculty of Biotechnology and Biology National Research Ogarev Mordovia State University (Saransk, Russian Federation).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0002-4237-5148>

E-mail: n.sapunowa2016@yandex.ru

Liyaskina Elena V., Cand. Sci. (Biol.), associate professor of the Department of Biotechnology and Biochemistry, Faculty of Biotechnology and Biology National Research Ogarev Mordovia State University (Saransk, Russian Federation).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0003-1719-8052>

E-mail: liyaskina@yandex.ru

Revin Viktor V., Professor, Dr. Sci. (Biol.), Head of the Department of Biotechnology and Biochemistry, Faculty of Biotechnology and Biology National Research Ogarev Mordovia State University (Saransk, Russian Federation).

ORCIDiD: <https://orcid.org/0000-0001-6542-2667>

E-mail: revinvv2010@yandex.ru

The Authors declare no conflict of interest.

*Статья поступила в редакцию 14.11.2021;
одобрена после рецензирования 15.11.2022; принята к публикации 29.12.2022.*

*The article was submitted 14.11.2021;
approved after reviewing 15.11.2022; accepted for publication 29.12.2022.*