

ПОВЕРХНОСТЬ, ТОНКИЕ ПЛЕНКИ

УДК 661.728; 539.25

МИКРОСТРУКТУРА ГЕЛЬ-ПЛЕНОК БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ, СИНТЕЗИРУЕМОЙ В СТАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008 НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ С РАЗЛИЧНЫМИ ИСТОЧНИКАМИ УГЛЕРОДА

© 2023 г. А. Л. Болгова^{1,*}, А. А. Шевцов^{2,3}, Н. А. Архарова^{4,**}, Д. Н. Каримов⁴, И. С. Макаров⁵, Т. И. Громоных^{1,4}, В. В. Клечковская⁴

¹Московский политехнический университет, Москва, Россия

²Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, Россия

³Институт искусственного интеллекта AIRI, Москва, Россия

⁴Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН, Москва, Россия

⁵Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва, Россия

*E-mail: ashi-chi@yandex.ru

**E-mail: natalya.arkharova@yandex.ru

Поступила в редакцию 14.04.2023 г.

После доработки 15.05.2023 г.

Принята к публикации 15.05.2023 г.

Проведен сравнительный анализ структуры высушенных пленок бактериальной целлюлозы (БЦ), продуцируемых бактериями штамма *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008 при статическом культивировании на питательных средах с различными источниками углерода: глюкоза, сахароза, мальтоза, фруктоза, лактоза. Обнаружено, что надмолекулярная структура пленок представляет собой пространственную сетку из ориентационно-упорядоченных микрофибрилл со средним диаметром от 30 до 60 нм, состоящих из кристаллических и аморфных областей. Анализ рентгенограмм показал, что кристаллические области микрофибрилл сформированы целлюлозой I. В зависимости от состава питательной среды степень кристалличности пленок изменяется в диапазоне от ~20 до 90%. Обнаружено, что независимо от источника углерода микроструктура верхней и нижней поверхностей пленок БЦ различна и определяется статическими условиями культивирования: на верхней поверхности гель-пленок присутствуют поры диаметром до 500 нм; на нижней поверхности распределение пор по размерам носит более широкий характер (до 600 нм). Разница между средними значениями пор на верхних и нижних поверхностях варьируется от 95 до 180 и от 100 до 200 нм соответственно. Результаты измерений механических свойств пленок показали, что максимальную прочность имеют пленки, полученные при культивировании на фруктозе и сахарозе, а минимальную – на лактозе и мальтозе. Приведены данные продуктивности БЦ штамма GH-1/2008.

DOI: 10.31857/S002347612370025X, EDN: IENXQA

ВВЕДЕНИЕ

Возможность управления биологическими процессами с целью создания конечных продуктов с определенными свойствами для различных сфер человеческой деятельности базируется на использовании потенциала биологических агентов и систем различной степени организации и сложности (микроорганизмов, вирусов, растительных и животных клеток и тканей), что открывает огромные перспективы для их дальнейшей оптимизации и прогнозирования процессов [1].

Одним из таких уникальных объектов с управляемыми характеристиками является бактериальная целлюлоза (БЦ), представляющая собой

пористую биополимерную матрицу, состоящую из переплетающихся между собой кристаллических нанобиофибрилл.

Этот биополимер демонстрирует более высокую степень химической чистоты по сравнению с растительной целлюлозой [2, 3], улучшенные механические и влагоудерживающие свойства, высокую степень кристалличности, является биоразлагаемым, биосовместимым и неаллергенным материалом [4, 5]. Это делает его перспективным для биомедицинских приложений, таких как создание тканеинженерных конструкций [6, 7], включая искусственный хрящ [8, 9], протезы сердечных клапанов [10], искусственные кровеносные сосуды [11, 12], оболочку роговицы [13], а

также для лечения корневых каналов зубов и восстановления кожных покровов и в качестве структурирующего агента в чистящих составах [14, 15]. БЦ используется в косметологии в качестве натурального скраба и масок для лица [16, 17].

Биосинтез БЦ изучен достаточно хорошо и на данный момент с целью увеличения выхода материала интерес ученых направлен на изменение условий культивирования, прежде всего за счет варьирования источника углерода. Помимо глюкозы, как основного источника углерода, могут быть использованы другие углеводы: фруктоза, лактоза, глицерин, сахароза и др. Варьирование состава питательной среды, а также условий культивирования продуцентов приводит к изменению их биосинтетических способностей, что, безусловно, влияет на характеристики конечного матрикса БЦ, такие как степень кристалличности, морфологию волокон, водопоглощающую и влагоудерживающую способность, а также оптическую прозрачность полученного полимера, зависящую от плотности фибрилл и количества влаги в полимере [18–20]. Важную роль в применении матрицы БЦ играет морфология поверхности, которая не только отражает структуру контактной области, но и является неотъемлемой частью архитектуры БЦ в целом, как объемного полимерного материала со сложным иерархическим строением. Иерархическое строение БЦ определяется условиями ее культивирования: при выращивании пленки БЦ в статических условиях новые слои формируются снизу на слое полимера в объеме питательной среды, а ранее образовавшиеся слои располагаются выше формирующегося слоя [21]. Поэтому в настоящей работе особое внимание уделено детальному изучению морфологических особенностей поверхностей, сформированных в начале и в конце синтеза пленки БЦ.

Известны работы по исследованию влияния различных источников углерода на формирование структуры гель-пленок БЦ с использованием микроорганизмов рода *Acetobacter*, *Komagataebacter* и *Gluconacetobacter*, где доказана структурная обусловленность гель-пленок от вида сахаров, используемых в субстрате для культивирования продуцента, а также отмечено изменение количественного выхода БЦ в зависимости от источника углерода в питательной среде [22–26]. Так, показано, что культивирование разных штаммов вида *Komagataebacter xylinus* на одном и том же источнике углерода не оказывает существенного влияния на микроструктуру пленок, и, напротив, выявлены существенные различия микроструктуры на разных источниках углерода для одного и того же штамма [23].

Таким образом, имея представления об эффективности использования источников углеро-

да, а также о корреляционных характеристиках структуры БЦ, появляется возможность управлять процессом формирования структуры целлюлозы, оптимизировать условия ее получения, что позволит создать платформу для прогнозирования биологических процессов.

Среди выделенных продуцентов БЦ следует особо отметить род *Gluconacetobacter*, а именно российский штамм *G. hansenii*. Растущий интерес к исследованиям БЦ приводит к необходимости синтезировать ее в больших количествах и, как следствие, искать способы удешевления и оптимизации питательных сред. Литературных данных о культивировании штамма *G. hansenii* крайне мало, несмотря на его способность к синтезу олигомера глюкуроновой кислоты, имеющего высокий потенциал для практического применения. Первые проведенные исследования показали, что источник углерода играет селективную роль в соотношении численности популяции целлюлозонегативных и целлюлозоположительных клеток *Gluconacetobacter hansenii*, что в свою очередь может приводить к изменению внутренней структуры пленок [27–29]. До настоящего времени не было изучено влияние культивирования на структурно-морфологические особенности пленок БЦ, продуцируемых штаммом *Gluconacetobacter hansenii* ГН-1/2008 [30].

В настоящей работе впервые рассматривается влияние источника углерода в питательной среде на морфологические особенности микроструктуры пленок БЦ при культивировании штамма *Gluconacetobacter hansenii* ГН-1/2008. Особое внимание уделено изучению морфологических особенностей полученных пленок, их механическим и сорбционным свойствам.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В исследованиях использовали гель-пленки БЦ, синтезируемые продуцентом *Gluconacetobacter hansenii* ГН-1/2008 [30] в условиях стационарного жидкофазного культивирования на модифицированной питательной среде Хестрина–Шрамма (HS) [31] с различными источниками углерода: глюкоза, лактоза, мальтоза, фруктоза и сахароза. Состав питательной среды HS (мас. %): сахар — 2.0, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 0.3, K_2HPO_4 — 0.2, Na_2HPO_4 — 0.27, моногидрат лимонной кислоты — 0.115, дрожжевой экстракт — 0.5. Культивирование проходило при температуре 27°C, pH = 5.0, в течение 5 сут.

После культивирования выращенные гель-пленки отмывали от остатков питательной среды и бактерий-продуцентов в растворе RIPA в течение 3–5 сут и промывали дистиллированной водой до прекращения образования пены при взбалтывании. Полимер, очищенный от клеток и

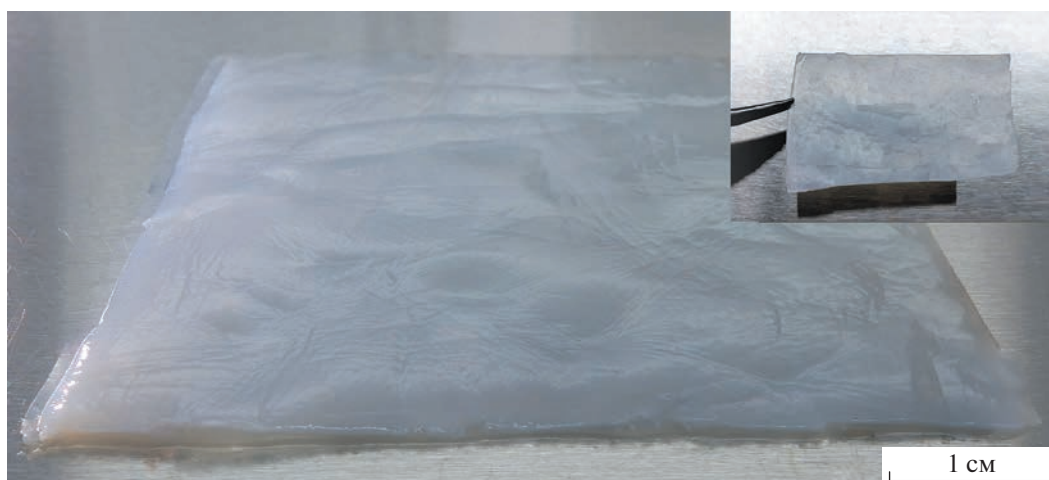


Рис. 1. Изображение исходной и высушенной (на вставке) гель-пленки БЦ, синтезированной продуцентом *Gluconacetobacter hansenii* на среде с глюкозой.

эндотоксина, хранили в закрытой колбе в дистиллированной воде при 5°C .

Массу гель-пленок определяли сразу после извлечения из воды и после сушки до постоянной массы при температуре $60 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Для исследования структурных особенностей пленок образцы в виде квадратов со сторонами 2 см сушили при комнатных условиях в течение суток.

Морфологию и микроструктуру поверхностей высушенных пленок изучали методом низковольтной растровой электронной микроскопии (РЭМ) с помощью автоэмиссионного растрового электронно-ионного микроскопа Scios FEI при ускоряющем напряжении менее 1 кэВ в режиме Optiplan. Оценка толщины наночастиц и размеров пор проведена с помощью плагина DiameterJ в программе ImageJ по полученным РЭМ-изображениям.

Структуру образцов изучали с помощью рентгенофазового анализа (РФА) на порошковом рентгеновском дифрактометре Rigaku MiniFlex 600 (излучение $\text{CuK}\alpha$). Регистрацию дифрактограмм проводили в диапазоне углов 2θ от 3° до 60° . Степень кристалличности пленок X (%) была рассчитана по формуле Сегала [32]:

$$X = \frac{I_{200} - I_{am}}{I_{200}} \times 100, \quad (1)$$

где I_{200} – суммарная интенсивность рефлекса 200 при $2\theta \approx 22.9^{\circ}$, I_{am} – интенсивность фонового сигнала при $2\theta \approx 18^{\circ}$.

Испытания механических характеристик пленок проводили на разрывной машине Instron 1122 при одноосном растяжении образцов целлюлозных пленок по ГОСТ 10213.0-2002. Для этого вырезали образцы размером $3 \times 1 \text{ см}^2$ (погрешность

не более 0.1 мм), на поверхности которых не было структурных дефектов, в том числе трещин, определяемых с помощью оптического микроскопа. Испытания проводили при температуре $20 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Деформацию образцов со скоростью 10 мм/мин проводили до их разрыва.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Продуктивность штамма является важным показателем при подборе источника углерода и оценке качества синтезируемых пленок полимера. Результаты синтеза БЦ показали, что на углеводных субстратах штамм *G. hansenii* GH-1/2008 в течение 5 сут культивирования при температурах 27°C позволяет получить пленки белого цвета толщиной до $5.0 \pm 0.6 \text{ мм}$ (рис. 1). Максимальная масса БЦ наблюдается при культивировании штамма на среде с фруктозой и составляет $115.5 \pm 1.5 \text{ г/л}$. Самые низкие показатели массы гель-пленок отмечены на питательных средах с мальтозой ($23.0 \pm 0.9 \text{ г/л}$) и лактозой ($30.7 \pm 1.2 \text{ г/л}$). При этом гель-пленки БЦ, синтезируемые на мальтозе, более рыхлые, хотя абсолютно сухой вес у этих пленок выше, чем у пленок, синтезируемых на лактозе (табл. 1).

РЭМ-анализ. РЭМ-изображения поверхностей пленок БЦ в зависимости от источника углерода представлены на рис. 2. Анализ изображений позволил провести оценку диаметров фибрилл и размеров пор на поверхностях пленок БЦ. Обнаружено, что размер фибрилл, продуцируемых штаммом *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008, варьируется от нескольких нанометров до $\sim 90 \text{ нм}$, установлено, что источник углерода питательной среды оказывает влияние на диаметр фибрилл (оценку диаметров проводили из расчета 100 произвольно выбранных фибрилл на каждом изображении).

Таблица 1. Масса гель-пленок бактериальной целлюлозы, синтезируемой штаммом *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008 на средах с различными углеводами

Углевод	Масса до сушки, г	Масса после сушки, г	Масса влаги, %
Фруктоза	115.0 ± 1.5	3.70 ± 0.03	96.8
Глюкоза	94.0 ± 1.3	1.80 ± 0.02	98.1
Сахароза	81.8 ± 1.4	2.00 ± 0.02	97.5
Лактоза	30.7 ± 1.2	0.10 ± 0.01	99.6
Мальтоза	23.0 ± 0.9	0.40 ± 0.02	98.3

жении). Средний размер фибрилл для штамма GH-1/2008 варьируется в диапазоне 30–63 нм, при этом наибольшим средним диаметром волокна, равным ~63 нм, обладают гель-пленки, выращенные на субстрате с сахарозой, а наименьшим – 37 нм на среде с глюкозой (табл. 2). Показано, что диаметры фибрилл на верхней поверхности пленки в среднем больше, чем на нижней. Подобная зависимость характерна для всех гель-пленок БЦ, кроме пленок на основе сахарозы.

Размеры пор на поверхности пленок являются важной характеристикой, показывающей способность адсорбировать внутрь различные комплексы, удерживать их на поверхности/приповерхностном слое. Гель-пленка БЦ имеет иерархическое строение, обусловленное природой ее формирования в процессе синтеза: нижняя часть гель-пленки (погруженная в питательный раствор) имеет более рыхлую структуру по сравнению с верхней (находящейся над раствором), что подтверждается РЭМ-изображениями морфологии верхней и нижней поверхностей пленок БЦ на разных субстратах (рис. 2). Размеры диаметров пор для верхней поверхности варьируются от нескольких десятков до 500 нм, а для нижней поверхности достигают значений до 600 нм. Видно,

что наиболее пористой является пленка на среде с глюкозой со средним значением диаметра пор, равным 185.42 ± 3.5 нм, а менее пористыми – пленки, выращенные на среде с лактозой, сахарозой и фруктозой со средними значениями пор 98.8 ± 3.5 , 111.6 ± 3.5 и 117.6 нм соответственно (табл. 2). На гистограммах распределения диаметров пор по размерам наблюдается сдвиг максимума в сторону увеличения для нижней поверхности по сравнению с верхней независимо от источника углерода. Данный факт, по всей вероятности, связан с разными окружающими условиями для разных поверхностей БЦ: верхняя поверхность, более плотная, расположена на границе питательная среда–воздух, нижняя поверхность полностью находится в питательной среде.

Рентгенофазовый анализ. БЦ представляет собой гомогенное поликристаллическое макромолекулярное соединение, состоящее из кристаллитов и менее упорядоченных аморфных областей [33, 34]. Так, исследования структуры БЦ *Acetobacter xylinum* выявили существование двух кристаллических полиморфных форм Iα и Iβ. Для структуры целлюлозы Iα предложена одноцепочечная триклинная элементарная ячейка с параметрами $a = 6.717$, $b = 5.962$, $c = 10.400$ Å; $\alpha = 118.08^\circ$, $\beta = 114.80^\circ$, $\gamma = 80.37^\circ$ (пр. гр. P1). Целлюлоза Iβ кристаллизуется в моноклинной сингонии с параметрами ячейки: $a = 7.784$, $b = 8.201$, $c = 10.380$ Å; $\gamma = 96.55^\circ$ (пр. гр. P2₁). Отношение Iα/Iβ может изменяться при выборе различных штаммов и условий культивирования [35–38]. Эти модификации рентгенографически различаются незначительно и могут присутствовать в образцах одновременно.

Результаты РФА пленок БЦ штамма *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008, выращенных на различных субстратах, представлены на рис. 3. На всех использованных в работе питательных средах формируется пленка со структурой нативной

Таблица 2. Диаметры фибрилл и пор пленок бактериальной целлюлозы, синтезируемой штаммом *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008 на средах с различными источниками углерода

Углевод	Диаметр фибрилл*, нм				Диаметр пор**, нм			
	верх		низ		верх		низ	
	ср. зн.	макс. зн.	ср. зн.	макс. зн.	ср. зн.	макс. зн.	ср. зн.	макс. зн.
Глюкоза	36.9	57.2	36.2	50.0	185.4	488.6	195.2	588.1
Лактоза	44.8	69.3	37.2	70.7	98.8	224.8	102.2	312.2
Мальтоза	46.5	64.7	39.6	74.1	133.9	401.0	190.3	451.1
Сахароза	55.6	87.1	62.7	85.1	111.6	226.0	153.6	297.3
Фруктоза	40.4	58.9	40.1	55.1	117.6	311.9	146.9	348.8

Примечание. При измерении диаметра пор указывается ее латеральный размер.

* Погрешность ±1.75 нм.

** Погрешность ±3.5 нм.

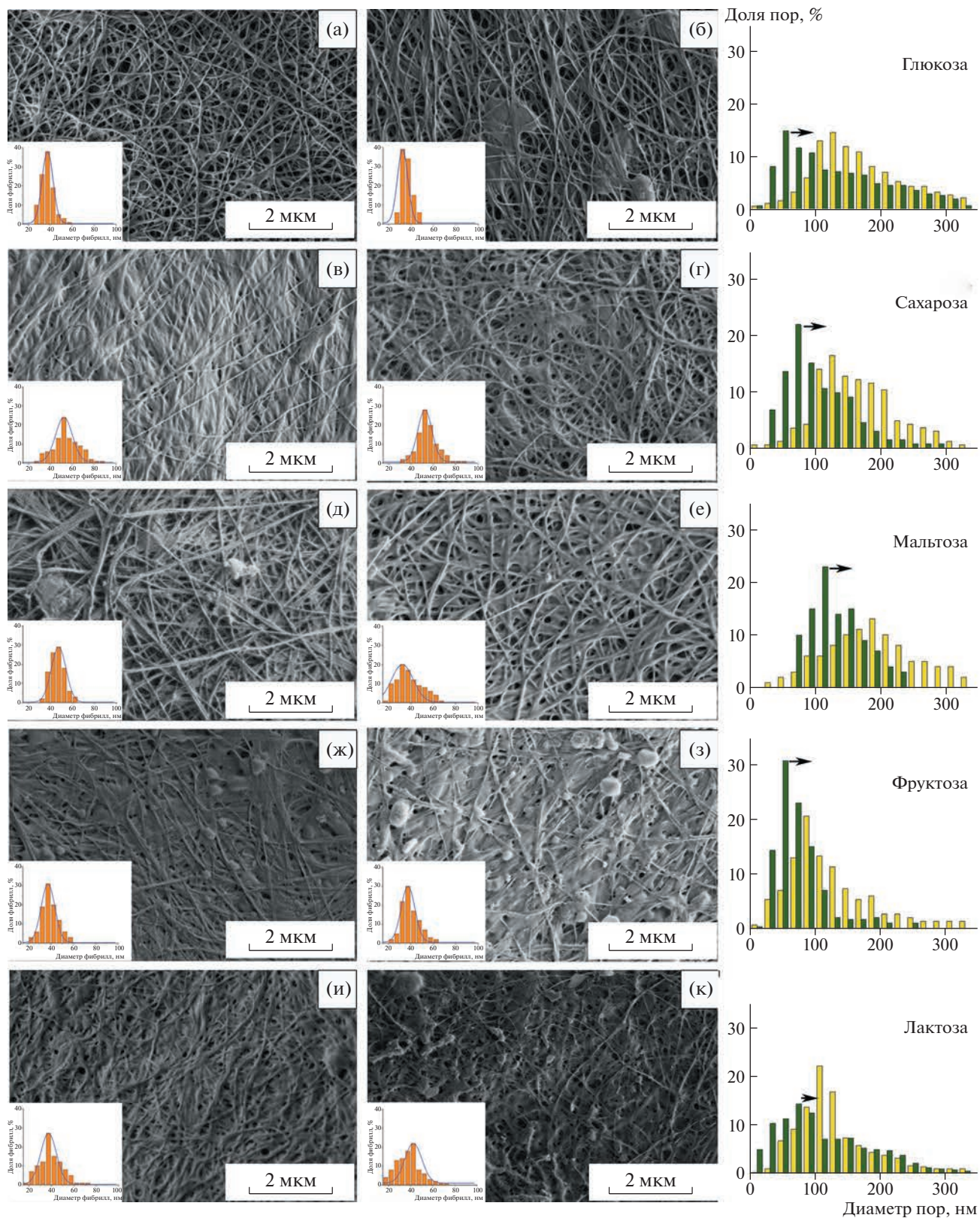


Рис. 2. РЭМ-изображения верхней (слева) и нижней (справа) поверхности гелевых пленок БЦ, выращенных на субстратах: а, б – глюкоза, в, г – сахароза, д, е – мальтоза, ж, з – фруктоза, и, к – лактоза. Справа приведены гистограммы распределения пор по размерам на верхней (темный цвет) и на нижней (светлый цвет) поверхностях пленки соответственно. Стрелками показано направление смещения максимума среднего значения диаметров пор на нижних и верхних поверхностях пленок.

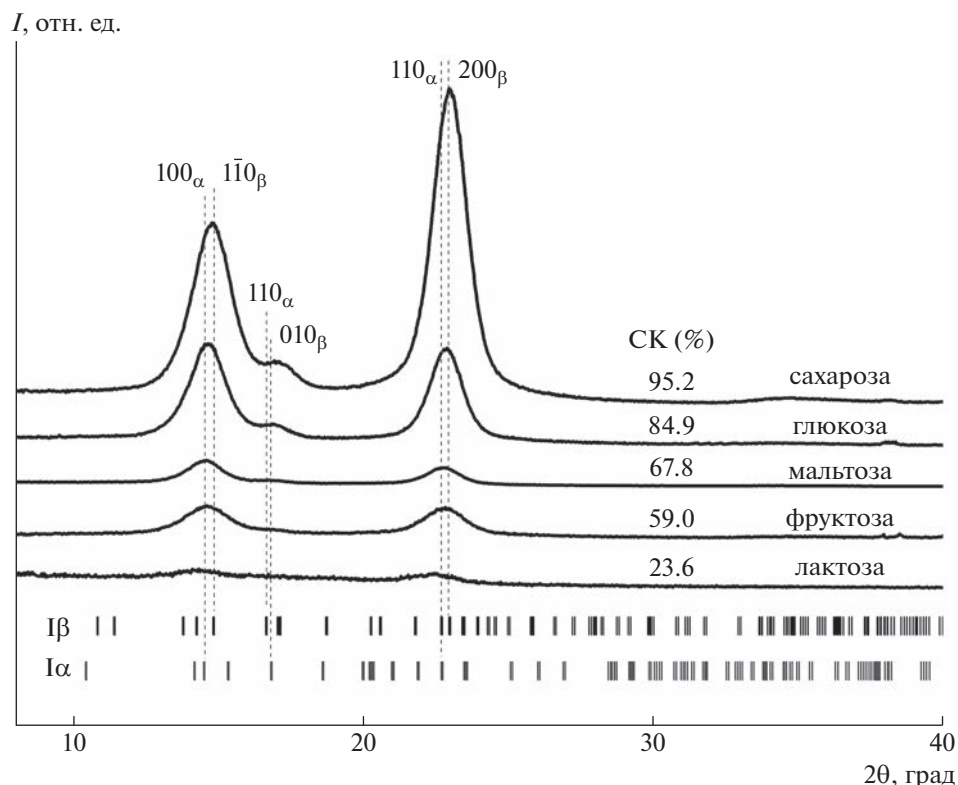


Рис. 3. Рентгеновские дифрактограммы гелевых пленок БЦ, выращенных на различных субстратах. Показаны угловые положения рефлексов Брэгга для модификаций I α и I β [34]. СК (%) – степень кристалличности.

целлюлозы типа I. На дифрактограммах присутствуют три интенсивных дифракционных пика при $2\theta \sim 15.1^\circ, 16.6^\circ, 22.8^\circ$, которые можно отнести к отражениям от кристаллографических плоскостей (100), (010), (110) целлюлозы I α и/или плоскостей (1 $\bar{1}0$), (110) и (200) целлюлозы типа I β . Поскольку пики двух полиморфов нативной целлюлозы I близки друг другу, то, основываясь только на положениях пиков на дифрактограммах, различить две эти фазы не представляется возможным.

Оценка степени кристалличности пленок в зависимости от источника углерода рассчитана для каждой пленки БЦ по формуле (1). Обнаружено, что степень кристалличности по ряду сахара → лактоза падает от ~90 до ~20% (рис. 3). Степень кристалличности полимерных материалов влияет на их проницаемость, которая является очень важным практическим параметром, поскольку определяет скорость прохождения молекул через полимерную матрицу, что, в свою очередь, зависит от физической структуры полимера (диаметра фибрилл, размера пор, определяющих 3D-сетку полимерной матрицы) [38].

Механические свойства. Механические характеристики пленок БЦ определяются как сформированной структурой в целлюлозных лентах, так

и плотностью физических зацеплений между этими лентами, а также дисперсионным взаимодействием между макромолекулами целлюлозы. Как показали результаты измерений механических свойств пленок, синтезируемых *G. hansenii* GH-1/2008, приведенные в табл. 3, максимальную прочность имеют пленки, полученные при культивировании штамма на фруктозе и сахарозе, минимальную – на лактозе и мальтозе. Пленки БЦ, синтезируемые на среде с мальтозой, имели низкие показатели прочности и относительного удлинения. Наблюдаемые значения хорошо коррелируют с результатами морфологических исследований (микроструктурой полученных пленок): фибриллы в пленках, синтезированных на мальтозе и лактозе, тоньше, чем на сахарозе. Кроме того, средние значения диаметра пор как на верхней, так и нижней поверхности для мальтозы больше, чем данные значения для сахарозы и фруктозы. При этом толщина пленок, синтезируемых на фруктозе и сахарозе, составляла 30 и 24.5 мкм, в то время как на мальтозе и лактозе – 14 и 13.83 мкм соответственно. Пленки, синтезируемые на среде с глюкозой, более эластичные, так как имеют самый высокий показатель удлинения.

Таблица 3. Механические свойства полимеров, синтезируемых штаммом *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008

Углевод	Толщина, мкм	Предел прочности на разрыв, МПа	Модуль Юнга E , ГПа	Удлинение, %
Фруктоза	20.7 ± 0.3	20.3 ± 1.1	1.60 ± 0.05	2.5 ± 0.2
Сахароза	24.5 ± 0.3	19.8 ± 1.2	1.10 ± 0.03	2.8 ± 0.5
Глюкоза	20.3 ± 0.3	17.6 ± 1.8	1.50 ± 0.08	3.3 ± 0.5
Мальтоза	14.0 ± 0.3	5.7 ± 0.6	0.20 ± 0.05	0.8 ± 0.6
Лактоза	13.8 ± 0.3	5.5 ± 0.7	0.20 ± 0.04	2.3 ± 0.2

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований установлено, что пленки, синтезируемые продуцентом *G. hansenii* GH-1/2008 на разных источниках углерода, обладают различной микроструктурой. Средний размер фибрилл для штамма GH-1/2008 варьируется в диапазоне 30–63 нм, при этом наибольшим средним диаметром волокна (~63 нм) обладают гель-пленки, выращенные на субстрате с сахарозой, а наименьшим (~37 нм) – на среде с глюкозой. Обнаружено, что на верхней поверхности гель-пленок присутствуют поры диаметром до 500 нм; на нижней поверхности распределение пор по размерам носит более широкий характер (до 600 нм). Разница между средними значениями пор на верхних и нижних поверхностях варьируется от 95 до 180 и от 100 до 200 нм соответственно. Данные РФА показали, что кристаллическая структура всех пленок соответствует целлюлозе I, наблюдается тенденция к увеличению степени кристалличности материала с увеличением возможности биохимической усвояемости продуцентом субстрата. Показано, что максимальная масса БЦ, полученная при культивировании штамма на среде с фруктозой, превышает значение 115 г/л при культивировании в течение 5 сут, наименьший показатель массы наблюдается на питательной среде с мальтозой. Максимальные показатели предела прочности на разрыв и модуля Юнга отмечены у пленок, синтезируемых продуцентом при использовании фруктозы, а минимальные – на средах с мальтозой и лактозой.

Таким образом, полученные данные о структурно-морфологических характеристиках и свойствах пленок, синтезируемых продуцентом *G. hansenii* GH-1/2008 на разных источниках углерода, позволяют расширить не только имеющиеся методики получения БЦ, но и фундаментальные знания о ее строении и синтезе с целью поиска рационального подхода к масштабируемому синтезу БЦ с управляемыми характеристиками.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 23-29-00952) с использованием оборудования ЦКП ФНИЦ “Кристаллография и фотоника” РАН. Культи-

вирование продуцента *Gluconacetobacter hansenii* GH-1/2008 проведено в рамках государственного задания ФГАОУ ВО “Московский политехнический университет (проект АААА-А20-120092190052-9).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Basu A., Vadan S.V., Lim S. // Sci Rep. 2018. P. 447. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23701-y>
2. Ross P., Mayer R., Benziman M. // Microbiol. Rev. 1991. V. 55. № 1. P. 35. <https://doi.org/10.1128/mr.55.1.35-58.1991>
3. Hassan E.A., Abdelhady H.M., El-Salam S.S. A. et al. // Microbiol. Res. J. 2015. V. 9. P. 1. <https://doi.org/10.9734/BMRJ/2015/18223>
4. Hong F., Qiu K. // Carbohydr. Polym. 2008. P. 545. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.09.015>
5. Huang Y., Zhu C., Yang J. et al. // Cellulose. 2014. V. 21. P. 1. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-0088-z>
6. Frone A.N., Panaitescu D.M., Nicolae C.A. et al. // Polymers. 2020. V. 14. 5358. <https://doi.org/10.3390/polym14245358>
7. Arkharova N., Suvorova E., Severin A. et al. // Scanning. 2016. V. 38. P. 757. <https://doi.org/10.1002/sca.21325>
8. Svensson A., Nicklasson E., Harrah T. et al. // Biomaterials. 2005. P. 419. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.02.049>
9. Буянов А.Л., Гофман И.В., Хрипунов А.К. и др. // Высокмолекулярные соединения. А. 2013. Т. 55. С. 512. <https://doi.org/10.7868/S0507547513050036>
10. Millon L., Wan W. // Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. 2006. V. 79 (2). P. 245. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30535>
11. Klemm D., Schumann D., Udhardt U. et al. // Prog. Polym. Sci. 2001. V. 26. P. 1561. [https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(01\)00021-1](https://doi.org/10.1016/S0079-6700(01)00021-1)
12. Wan Y., Gao C., Han M. et al. // Polym. Adv. Technol. 2011. V. 22. P. 2643. <https://doi.org/10.3390/app9010107>
13. Wang J., Gao C., Zhang Y. et al. // Mater. Sci. Eng. C. 2010. P. 214. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2009.10.006>

14. *Yoshino A., Tabuchi M., Uo M.* // *Acta Biomater.* 2013. V. 9. P. 6116.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.12.022>
15. *Coffindaffer T.W., Heath B.P., Kyte K.E. et al.* U.S. Patent 8.097.574. 2012.
16. *Hasan N., Biak D.R.A., Kamarudin S.* // *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inform. Technol.* 2012. V. 2. P. 272.
<https://doi.org/10.18517/ijaseit.2.4.201>
17. *Amnuaiakit T., Chusuit T., Raknam P. et al.* // *Med. Dev.* 2011. V. 4. P. 77.
<https://doi.org/10.2147/MDER.S20935>
18. *Czaja W., Romanovicz D., Brown Rm.* // *Cellulose.* 2004. V. 11. P. 403.
<https://doi.org/10.1023/b:cell.0000046412.11983.61>
19. *Watanabe K., Tabuchi M., Morinaga Y. et al.* // *Cellulose.* 1998. V. 5. P. 187.
<https://doi.org/10.1023/a:1009272904582>
20. *Wang J., Tavakoli J., Tang Y.* // *Carbohydrate Polymers.* 2019. V. 219. P. 63.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.008>
21. *Bakhman M., Petrukhin I.Yu., Butenko I.Ye. et al.* // *ЕНО.* 2018. № 6–2 (40). P. 61.
22. *Singha P., Narain R., Manuspiya H.* // *Cellulose.* 2018. V. 25. P. 1571.
<https://doi.org/10.1007/s10570-018-1699-1>
23. *Costa A., Almeida F., Vinhas G. et al.* // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8. P. 528.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02027>
24. *Mikkelsen D., Flanagan B.M., Dykes G.A. et al.* // *Microbiol.* 2009. V. 107. P. 576.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04226.x>
25. *Keshk S.M.A.S., Sameshima K.* // *Afr. J. Biotechnol.* 2005. V. 4. № 6. P. 478.
<https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3087>
26. *Wang S.S., Han Y.-H., Chen J.-L. et al.* // *Polymers.* 2018. V. 10. P. 963.
<https://doi.org/10.1016/10.3390/polym10090963>
27. *Киселева О.И., Луценко С.В., Фельдман Н.Б. и др.* // *Вестн. Том. гос. ун-та. Биология.* 2021. № 53. С. 22.
<https://doi.org/10.17223/19988591/53/2>
28. *Gromovykh T.I., Pigaleva M.A., Gallyamov M.O. et al.* // *Carbohydr. Polym.* 2020. V. 237. P. 116140
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116140>
29. *Skvortsova Z.N., Gromov T.I., Grachev V.S. et al.* // *Colloid J.* 2019. V. 81. № 4. P. 441.
<https://doi.org/10.1134/S1061933X19040161>
30. *Gromovykh T.I., Fan M.K., Danil'chuk T.N.* *Glucanacetobacter hansenii* GH-1/2008 bacterial strain - bacterial cellulose producer // Patent RF. № 2464307. 2012.
31. *Hestrin S., Schramm M.* // *Biochem. J.* 1954. V. 58. P. 345.
<https://doi.org/10.1042/bj0580345>
32. *Bi J.C., Liu S.X., Li C.F. et al.* // *J. Appl. Microbiol.* 2014. V. 117. P. 1305.
33. *Atalla R., Vanderhart D.* // *Science.* 1984. V. 223. P. 283.
<https://doi.org/10.1126/science.223.4633.283>
34. *French A.D.* // *Cellulose.* 2014. V. 21. P. 885.
<https://doi.org/10.1007/s10570-013-0030-4>
35. *Fink H.-P., Purz H., Bohn A., Kunze J.* // *Macromol. Symp.* 1997. V. 120. P. 207.
<https://doi.org/10.1021/bm3005929>
36. *Клечковская В.В., Баклагина Ю.Г., Степина Н.Д. и др.* // *Кристаллография.* 2003. Т. 48. № 5. С. 813.
<https://doi.org/10.1134/1.1612596>
37. *Horii F., Yamamoto H., Hirai A.* // *Macromol. Symp.* 1997. V. 120. P. 197.
<https://doi.org/10.1002/masy.19971200120>
38. *Алешина Л.А., Глазкова С.В., Луговская Л.А. и др.* // *Химия растительного сырья.* 2001. № 1. С. 5.