



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

OPTIMALIZACE PRODUKCE BAKTERIÁLNÍ CELULÓZY

THE OPTIMALIZATION OF BACTERIAL CELLULOSE PRODUCTION

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Radim Stříž

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1572/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Bc. Radim Stříž**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Optimalizace produkce bakteriální celulózy

Zadání diplomové práce:

1. Literární rešerše na zadané téma.
2. Zvýšení produkce bakteriální celulózy změnami podmínek.
3. Produkce 3D vzorků na bázi bakteriální celulózy.
4. Vyhodnocení výsledků, jejich diskuze a závěr práce.

Termín odevzdání diplomové práce: 30.7.2021:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Radim Stříž
student(ka)

doc. Ing. Adriána Kovalčík, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zaměřuje na optimalizaci produkce bakteriální celulózy pomocí bakterie *Komagateibacter xylinus* DSM 46604. Teoretická část diplomové práce popisuje vlastnosti bakteriální celulózy, její produkci a aplikační možnosti.

Experimentální část měla za cíl posoudit vliv různých kultivačních podmínek na výtěžky bakteriální celulózy. Pro zvýšení výtěžků bakteriální celulózy za statických nebo dynamických podmínek bylo studováno několik strategií, jako například: (1) účinek acetátového pufru použitého jako médium, (2) dopad oleje přidaného do média, (3) fed-batch kultivace, (4) změna objemu kultivační nádoby a kultivačního média a (5) provzdušňování.

Kromě výroby relativně tenkých vzorků s tloušťkou okolo 100 μm byla také syntetizována unikátní 3D strukturovaná bakteriální celulóza ve formě cylindrů s výškou až 2 cm. Růst bakteriální celulózy ve formě cylindrů byl dosažen dynamickou kultivací *K. xylinus* v kombinaci s fed-batch přístupem za přítomnosti různých aditiv.

KLÍČOVÁ SLOVA

Komagateibacter xylinus, bakteriální celulóza, hydrogel, optimalizace produkce

ABSTRACT

This diploma thesis focuses on the optimization of bacterial cellulose production by *Komagateibacter xylinus* DSM 46604. The theoretical part of this thesis describes the properties of bacterial cellulose, its production and application possibilities.

The experimental part aimed to assess the effect of different cultivation conditions on the production yields of bacterial cellulose. The effects of several cultivation strategies have been studied such as: (1) effect of acetate buffer used as a medium, (2) impact of oil added into the medium, (3) fed-batch cultivation, (4) variation of the volume of cultivation vessel and cultivation media and (5) aeration.

In addition to the production of relatively thin samples, up to 100 μm was synthesized unique 3D structured bacterial cellulose in the form of cylinders, with a height up to 2 cm. The growth of bacterial cellulose in the form of cylinders was achieved by dynamically cultivating *K. xylinus* in combination with fed-batch approach.

KEY WORDS

Komagateibacter xylinus, bacterial cellulose, bacterial nanocellulose, production optimization

STŘÍŽ, Radim. *Optimalizace produkce bakteriální celulózy*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/129948>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Adriána Kovalčík.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně, a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěl poděkovat své vedoucí diplomové práce, doc. Ing. Adriáně Kovalčík, PhD., za odborné vedení, pomoc, ochotu, cenné rady při zpracování teoretické i praktické části diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Patrycji Bober, Ph.D. za změření a zaslání snímků ze SEM.

Tato práce byla podpořena projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy, projekt 7AMB19AT.

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	TEORETICKÁ ČÁST	7
2.1	Bakteriální celulóza	7
2.2	Produkce bakteriální celulózy a její zvýšení	9
2.3	Využití bakteriální celulózy	12
2.4	Modifikace bakteriální celulózy	18
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	20
3.1	Použité chemikálie, přístroje a mikroorganismy	20
3.2	Kultivace mikroorganismu	20
4	VÝSLEDKY A DISKUSE	24
4.1	Vliv přídavku oleje do média	24
4.2	Zvýšení produkce bakteriální celulózy	24
4.2.1	Vliv poměru povrchu ku objemu nádoby	24
4.2.2	Vliv aerace	26
4.2.3	Srovnání kultivace na produkčním médiu, acetátovém pufri a s přídavkem oleje 27	
4.2.4	Fed-batch kultivace	28
4.2.5	Kombinace všech poznatků	29
4.3	Produkce 3D vzorků z bakteriální celulózy	29
4.4	Absorpční schopnost bakteriální celulózy	31
4.5	Analýza pomocí elektronové mikroskopie	33
5	ZÁVĚR	38
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	39
	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	49

1 ÚVOD

Tato práce se zaměřuje na optimalizaci produkce bakteriální celulózy. Bakteriální celulóza má velmi široké možnosti využití, ale jejímu rozšíření brání relativně nízká výtěžnost a vysoká cena produkčního média. Snížení ceny média již bylo studováno řadou vědců po celém světě, nejčastěji s použitím potravinářského odpadu. Tohoto typu odpadu je každoročně produkováno velké množství, ale zároveň je mnohými způsoby valorizován. Pokud by se podařilo optimalizovat produkci na dostatečnou výtěžnost, bylo by možné část odpadu převést i na médium pro bakterie produkující bakteriální celulózu. Bakteriální celulóza je navíc biodegradabilní materiál, takže případné využití je do jisté míry příznivé pro životní prostředí.

Bakteriální celulóza je bakteriemi tvořena na rozhraní kapalina-vzduch a částečně může sloužit jako ochrana před UV zářením, případně před průchodem kyslíku. Bakteriální celulózu tvoří řada kmenů, například *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Aerobacter* nebo *Rhodobacter*. V současnosti se nejvíce využívají kmeny bakterie *Komagateibacter xylinus*, ale jsou zkoumány i možnosti využití geneticky modifikovaných bakterií.

Bakteriální celulóza je využívána v mnoha oblastech, ať už se jedná o využití v medicíně jako nosič léků, v potravinářství jako obalový materiál nebo přímo součást potravy, v poslední době se též zkoumá možnost využití bakteriální celulózy pro výrobu textilií za účelem výroby udržitelné módy. Každá z těchto aplikací však vyžaduje jiné vlastnosti materiálu, jde například o absorpci, pórovitost, mechanické vlastnosti, schopnost zadržování a uvolňování látek. Z tohoto důvodu je proto nutné BC modifikovat dle zaměření aplikace. Díky velkému množství hydroxylových skupin existují široké možnosti modifikací vlastností BC, například kovovými ionty a grafenem za účelem získání nových vlastností jako je magnetismus, elektrická vodivost.

Tato diplomová práce se zabývá optimalizací produkce bakteriální celulózy modifikací produkčního média, následně přípravou 3D vzorků bakteriální celulózy za účelem zvýšení její mechanické stability.

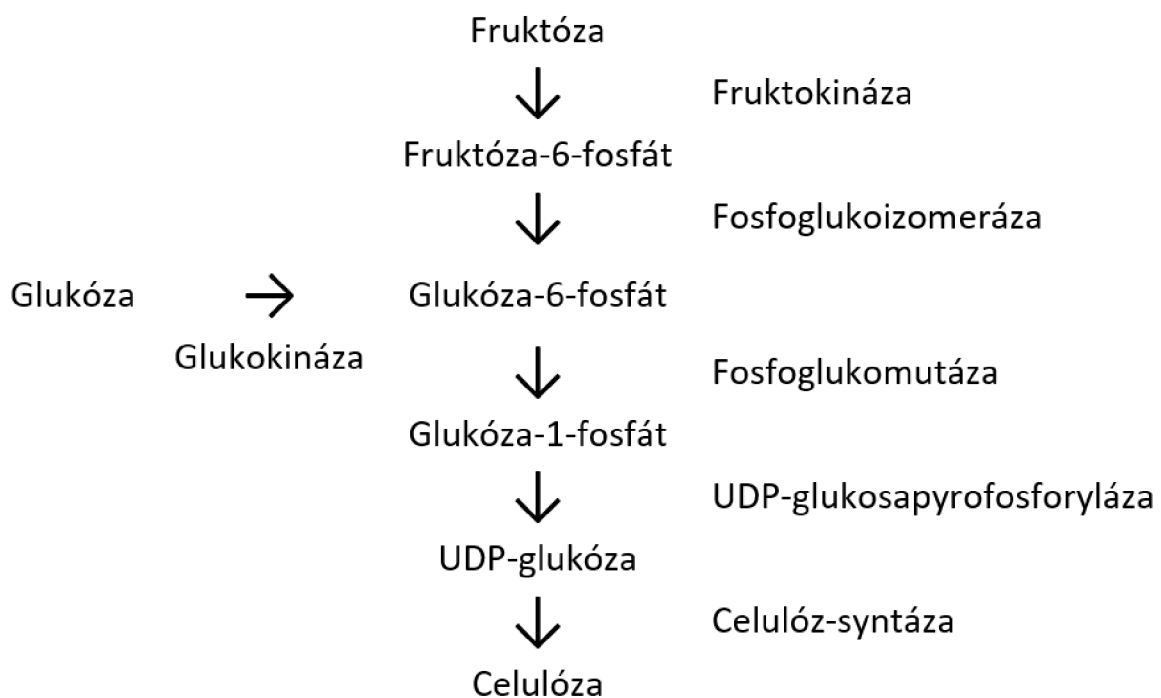
2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Bakteriální celulóza

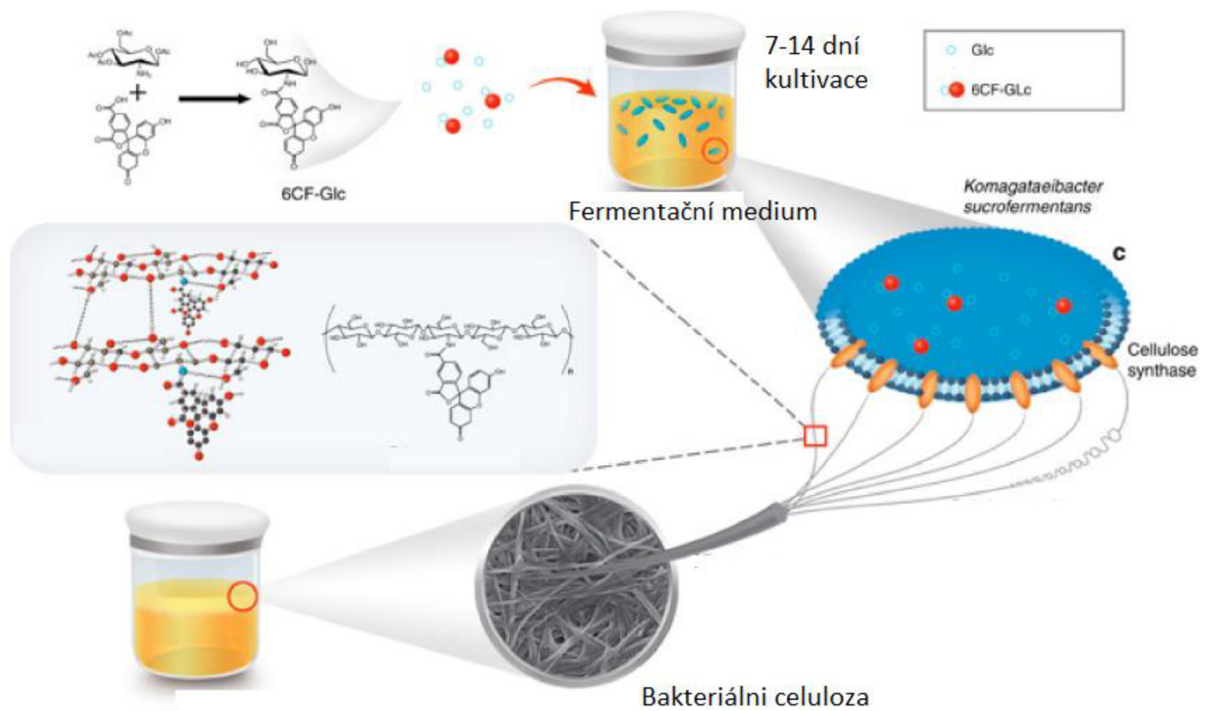
Jedná se o přirozeně se vyskytující nanomateriál, který je produkován některými bakteriemi, například druhem *Komagateibacter* (dříve znám jako *Gluconacetobacter*). Právě tento bakteriální druh je nejčastěji využívaným druhem pro výzkum i možné použití, díky své čistotě a vysokým výtěžkům. Různé kmeny tohoto druhu produkují bakteriální celulózu s různými vlastnostmi, proto je možné si vybrat kmen podle výsledných vlastností produktu. Mezi další druhy, které produkují bakteriální celulózu, patří *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Aerobacter* nebo *Rhodobacter*. Samozřejmě existuje i možnost využití geneticky upravených kmenů [1] [2].

Syntéza bakteriální celulózy byla poprvé pozorována v Číně při výrobě čaje kombucha, což je fermentovaný nápoj produkováný symbiotickými koloniemi octových bakterií a kvasinek, které na povrchu vytvoří celulózovou vrstvu. Je pravděpodobné, že ke tvorbě této ochranné vrstvy dochází za účelem ochrany před UV světlem nebo jako pomoc pro růst mikroorganismů na rozhraní kapalina-vzduch a snadnější dostupnosti kyslíku [3] [4].

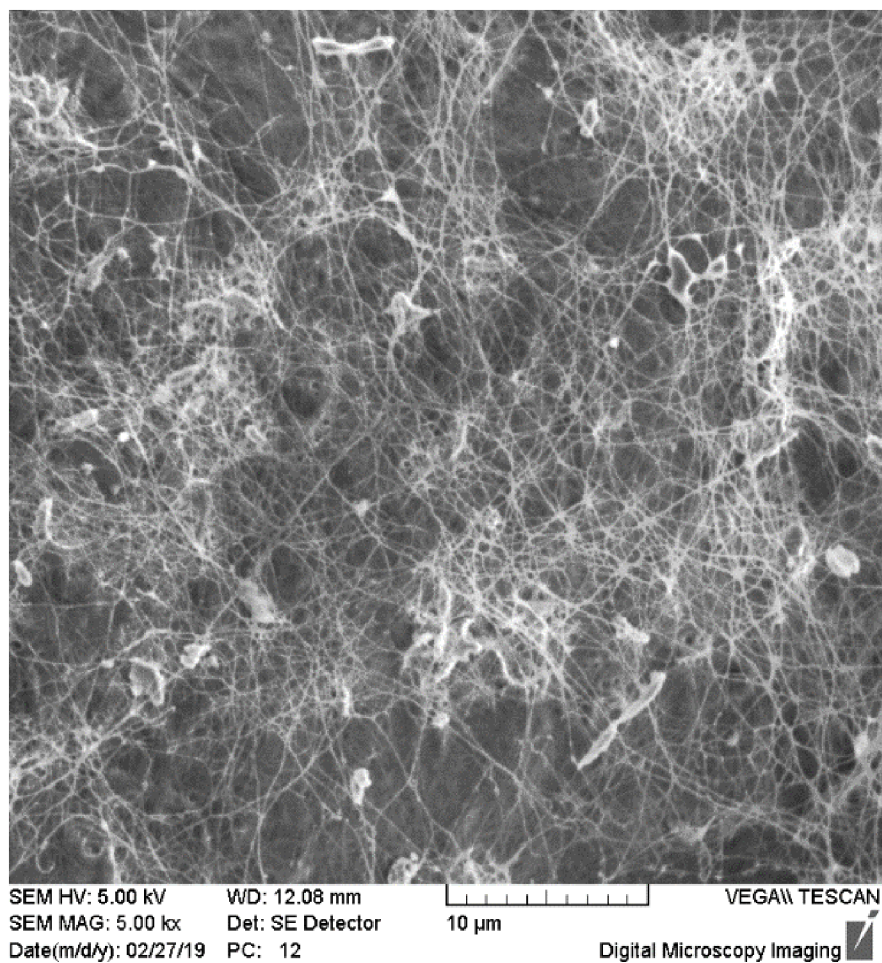
Biosyntéza je přísně regulovaný proces, který se skládá z několika kroků. Tyto kroky zahrnují využití několika enzymů, katalytických komplexů a regulačních proteinů (Obrázek 1). Pro zjednodušení lze biosyntézu rozdělit do dvou kroků – intracelulární tvorbu 1,4- β -glukanových řetězců a sestavení a krystalizace celulózových řetězců. V posledním kroku je celulóza extrudována na povrch a jsou tvořeny celulózové fibrily. Schematicky je tento postup zobrazen na obrázku 2. Struktura takto vytvořené BC je pak zobrazena na obrázku 3. Polymerizace a krystalizace nejsou dosud dokonale popsány, ale je známo, že jde o limitující krok samotné biosyntézy [4] [5].



Obrázek 1 - Biosyntéza bakteriální celulózy, převzato, upraveno [6]

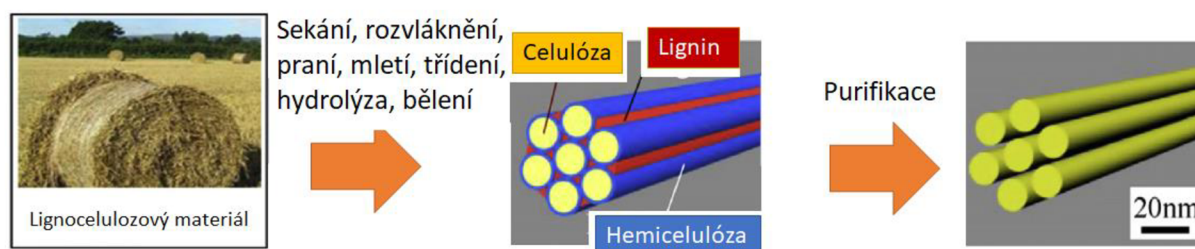


Obrázek 2 - Schematické zobrazení syntézy bakteriální celulózy, převzato, upraveno [7]



Obrázek 3 - SEM snímek struktury bakteriální celulózy [8]

Bakteriální celulóza neobsahuje lignin, hemicelulózy nebo pektin, které jsou jinak běžnou složkou rostlinné celulózy (Obrázek 4). Díky tomu je její purifikace mnohem lehčí a méně energeticky náročná, protože nevyžaduje působení silných chemikálií. Srovnání vybraných vlastností těchto typů celulózy je zobrazeno v tabulce 1. Jak je z tabulky patrné, chemické a fyzikální vlastnosti celulózy získané z lignocelulóзовého materiálu a bakteriální celulózy se výrazně liší. Důvodem je odlišné složení původního zdroje a způsob jejich produkce. Prostorové uspořádání jednotlivých fibril BC poskytuje až 95% index krystalinity. Dalšími vlastnostmi BC jsou vyšší stupeň polymerizace a dobrá odolnost proti tahu. Navíc díky své fibrilární struktuře vykazuje větší povrch a schopnost zadržení vody (až stonásobky vlastní hmotnosti). Dostatek povrchových hydroxylových skupin umožňuje řadu možných modifikací, a to nejen *in situ*, ale také *ex situ* [5].



Obrázek 4 - Zjednodušené schéma izolace celulózy z lignocelulóзовého materiálu (převzato, modifikováno) [9]

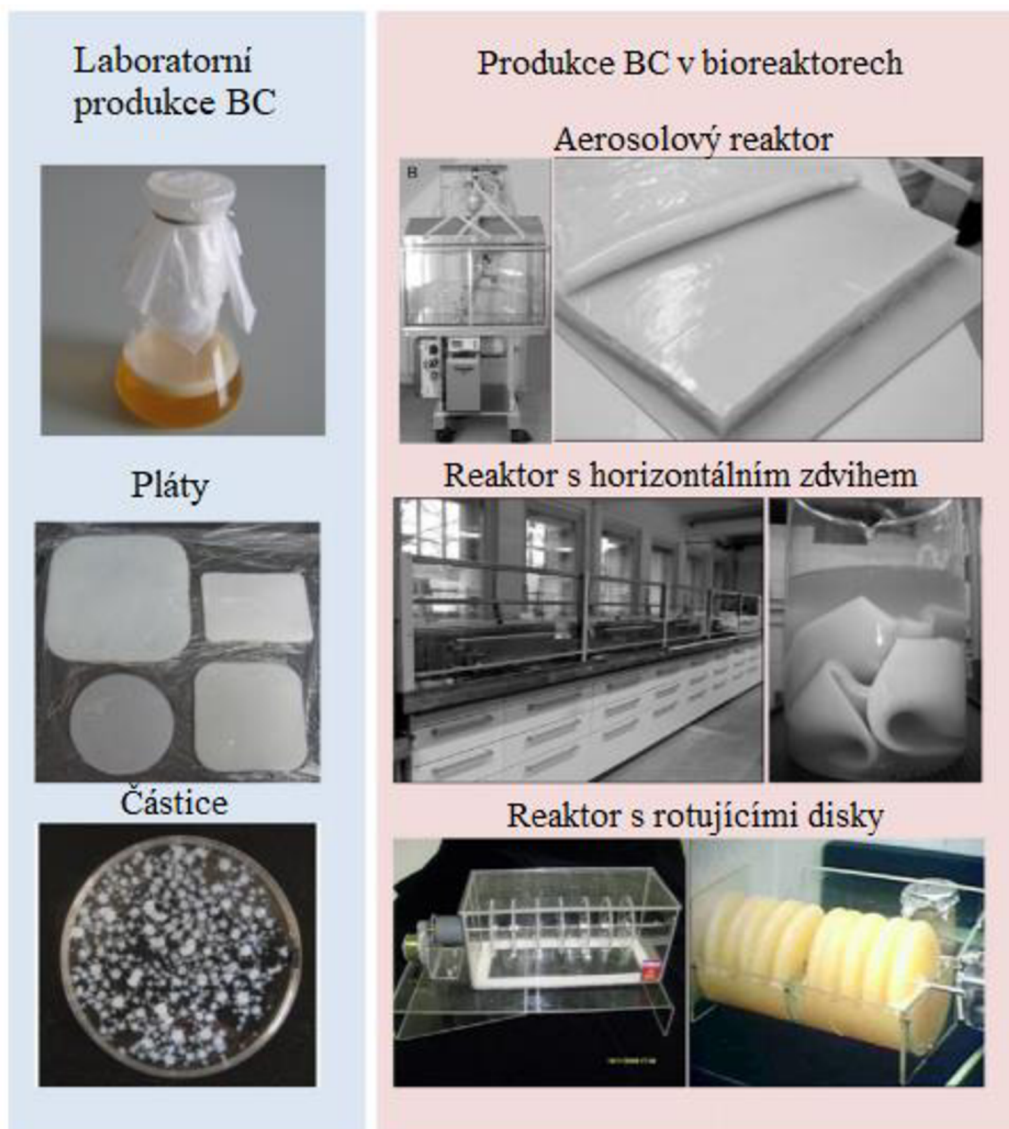
Tabulka 1 - Srovnání vybraných vlastností bakteriální a rostlinné celulózy

Vlastnost	Bakteriální celulóza	Rostlinná celulóza	Zdroj
Youngův modul (MPa)	Plát – 20 000 Vlákno – 130 000	2,5-0,17	[10] [11]
Velikost vláken (nm)	20-100	mikrometry	[12] [13]
Krystalinita (%)	74-96	40-85	[14]
Čistota (%)	> 99	< 80	[15]
Stupeň polymerace	14000-16000	300-10000	[16]

2.2 Produkce bakteriální celulózy a její zvýšení

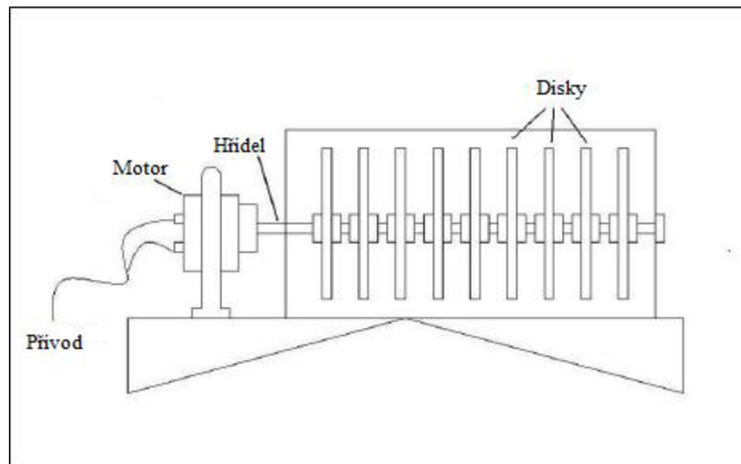
Problémem při využívání BC je hlavně její cena. Médium, které je pro produkci BC třeba využít, musí mít vysoký obsah glukózy, případně jiného sacharidu, stejně jako dostatečnou koncentraci dalších látek. Z tohoto důvodu existuje řada studií, které se zabývají možností, jak tuto cenu snížit. Mezi zkoumané možnosti patří například využití ovocných džusů, využití odpadu po produkci piva, vína, případně lze využít melasu [5].

Produkce může být realizována staticky, dynamicky nebo v bioreaktoru. Srovnání produktů těchto produkcí je na obrázku 5. Při statické kultivaci vzniká BC na rozhraní médium-vzduch. Je to z důvodu nedostatku kyslíku v celkovém objemu média, proto bakterie migrují na toto rozhraní, kde následně tvoří BC. Takto vzniká 3D struktura, která vykazuje dobré mechanické vlastnosti. Nevýhodou tohoto způsobu přípravy je však potřeba dlouhé doby kultivace, navíc na velkém prostoru kvůli potřebě velkého povrchu pro co nejvyšší produkci [17].



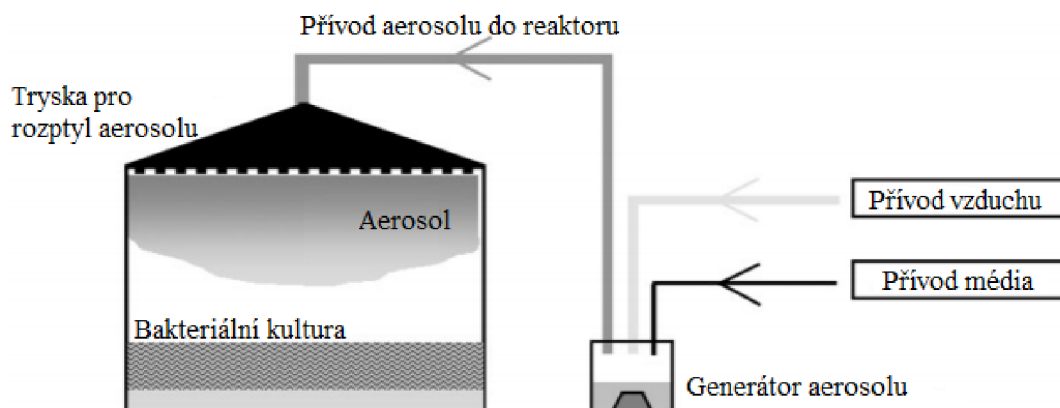
Obrázek 5 - Přehled produkce BC, převzato, upraveno [18]

Pro zvýšení produkce byl vyroben reaktor s rotujícími disky (schéma na obrázku 6). Principem tohoto reaktoru jsou rotující disky, které bakterii vystavují vzduchu. Tyto disky jsou připevněny na hřídeli, která je spojena s motorem. Disky jsou umístěny horizontálně. Spodní část disku je ponořena v médiu a při rotaci tak dochází k tomu, že bakterie jsou postupně vystaveny médiu a následně vzduchu. Tímto způsobem došlo ke zvýšení produkce BC o 86,78 %, kdy nejvyšší výtěžek byl získán při rychlosti 7 ot/min., konkrétně 139,78 g [19].



Obrázek 6 - Reaktor s rotujícími disky [19]

Také byl navržen bioreaktor, který umožňoval přívod média a vzduchu během fermentace formou aerosolu. Schéma tohoto typu bioreaktoru je na obrázku 7. Nejprve byla nakultivována vrstva BC během 5 dní a následně byl spuštěn přívod aerosolu. Přívod byl realizován v 5minutových intervalech. Během této kultivace bylo dosaženo produkce 9 g suché celulózy za den. Tato kultivace byla prováděna po dobu 6 týdnů, kdy po této době došlo ke kontaminaci [20].



Obrázek 7 - Schéma aerosolového bioreaktoru [20]

Z klasických reaktorů se využívá míchaný bioreaktor nebo air-lift reaktor. U míchaného bioreaktoru vzniká viskózní kapalina, tvořená bakteriální celulózą a buňkami bakterií, tím však také dochází ke zvýšení potřebné energie pro kultivaci a snížení aerace. Pokud chceme aeraci zajišťovat stabilněji je vhodné použít air-lift bioreaktor. Ten je také energeticky výhodnější [21].

Při dynamické kultivaci pak vzniká několik typů produktů – kulaté nebo oválné částice a vláknité suspenze. Ve srovnání se statickou kultivací však mají produkty nižší mechanickou odolnost. Při dynamické kultivaci jsou také získané výtěžky nižší. To je způsobeno poškozením některých buněk právě mícháním média, kdy tyto poškozené buňky přestanou produkovat BC a jen se množí [22] [23].

Jedním z přístupů pro zvýšení produkce bakteriální celulózy je hledání nejvíce produkujícího kmene. Produkce BC je přítomna u mnoha různých kmenů bakterií – *Azotobacter*, *Gluconacetobacter* (dříve znám jako *Acetobacter*, nebo také *Komagataeibacter*), *Pseudomonas*, *Salmonella* a *Sarcina ventriculi*. Nejvyšší produkce byla zaznamenána u bakterií *Gluconacetobacter xylinus*, *Gluconacetobacter hansenii* a *Gluconacetobacter pasteurianus*. V poslední době byly studovány i další kmeny, které jsou slibnými producenty, konkrétně například *G. sucrofermentans B-11267* nebo *Komagataeibacter rhaeticus*, který byl izolován ze zeleného čaje. Přehled vybraných kmenů a použitých médií je v tabulce 2 [24].

Tabulka 2 - Přehled produkce s využitím odpadních produktů, převzato a upraveno [24] [8]

Zdroj uhlíku	Bakteriální kmen	Kultivační podmínky	Výtěžek (g/l)
Bramborové slupky	<i>G. xylinus</i> ATCC 10245	35 °C, pH 9,0; staticky, 6 dní	4,70
Odpadní glycerol	<i>G. xylinus</i> KCCM 41431	30 °C, staticky, 7 dní	6,95
Melasa	<i>K. xylinus</i> BPR 2001	30 °C, pH 6,5; staticky, 7 dní	7,50
Řepkový olej	<i>K. xylinus</i> DSM 46604	28 °C, staticky, 7 dní	7,00
Zbytky dužiny citronu	<i>K. europaeus</i> SGP37	30 °C, staticky, 16 dní	6,40
Médium s přídavkem citronové dužiny	<i>K. europaeus</i> SGP37	30 °C, staticky, 16 dní	26,20
Syrovátka	<i>G. sucrofermentans</i> B-11267	Dynamicky	5,45
Hroznové výlisky	<i>G. xylinus</i> CCM 3611	30 °C, pH, staticky, 14 dní	13,48

2.3 Využití bakteriální celulózy

BC je čistý materiál bez příměsí, je biodegradabilní, biokompatibilní a nevykazuje cytotoxické vlastnosti. Díky tomu je tu možnost jejího využití v široké škále odvětví. To značí i počet podaných patentů týkajících se BC, který se v roce 2020 vyšplhal na 7371. Mezi nejčastější použití patří využití v medicínské oblasti. Díky velkému počtu hydroxylových skupin existují navíc široké možnosti modifikací BC, které rozšiřují možnosti využití [25] [26].

Medicína

Nanostruktura bakteriální celulózy je velmi podobná kolagenu. Obě tyto látky jsou často primární mechanická podpora pro tkáň. V medicínských aplikacích se tedy používá stejně jako kolagen například na buněčné matrice. Výhodou BC je však její biokompatibilita. Kolagen je protein, tělo jej tedy pozná a imunologicky na něj reaguje. BC je však polysacharid. Polysacharidy mají výrazně nižší imunologickou odpověď [27].

Jedním z příkladů takového využití BC je náhrada cév (Obrázek 8). Z BC je připravena trojrozměrná matrice, na které poté mohou buňky lépe růst a vytvořit náhradu za ucpanou cévu. Matrice je připravena například růstem BC na rozvětvené silikonové trubici, aby vznikl požadovaný tvar. Tato možnost zatím byla testována na zvířatech. Studie, která se tímto problémem zabývala, došla k závěru, že BC je možno využívat jako biomateriál, ale jsou potřeba další specializované testy. Testy, které již byly provedeny, ale odhalily, že BC je vysoce odolná vůči vodě nebo iontům [28].



Obrázek 8 - Připravený vzorek náhradní cévy [29]

Dále se také využívají jako krycí materiál na rány a popáleniny, případně vředy. Jde o biokompatibilní, sterilní, flexibilní a porózní materiál, který dovoluje zraněním dýchat a zároveň blokuje tvorbu jizev. Dále také snižuje bolest, nedochází přes něj ke ztrátě tělních tekutin a poskytuje ochranu před infekcí [29].

Byla provedena studie, která porovnávala účinnost krytí ran pomocí polyuretanové pěny a krycího materiálu založeného na BC. Ukázalo se, že krytí z BC může vylepšit hojení po nehodách spojených s popáleninami kůže. Ve srovnání s polyuretanovou pěnou se ukázalo krytí ran z BC dokonce lepší variantou, co se týče potřebné doby hospitalizace a počtu potřebných zákroků v celkové anestezii pacientů [30].

Díky své schopnosti nasát až 100násobky své váhy ve vodě, dochází k používání BC jako nosiče léků. Jde hlavně o přenos přes pokožku, kde se využívá možnosti ji vytvarovat na základě cílového místa. Také dochází k pozvolnému uvolňování, což umožňuje přesné dávkování. Nicméně testy ukázaly, že využití BC je vhodné hlavně pro postupně uvolňované léky. V testech bylo zjištěno, že pro krátkodobý účinek jsou na stejné úrovni jako v současné době používané metody. Pro toto využití byly testovány benzalkoniumchlorid, antibiotikum amoxicilin, dále také ampicilin a gentamycin [31] [32] [33] [34] [35].

V medicíně je také používán kompozit BC a hydroxyapatitu. Tento kompozit byl studován jako pomocný prvek pro rychlejší obnovu kostí, například po zlomenině. Poměr vápníku a fosforu v připravených membránách BC-HA se téměř shoduje s poměrem v kostech. Navíc se ukázalo, že tento kompozit zůstává v postiženém místě déle. Jeho reabsorpce je velmi pomalá [36].

Pro řízenou obnovu kostí byla také BC modifikována nejen hydroxyapatitem, ale také stronciumapatitem. Bakteriální celulóza byla nejdříve zoxidována, následně modifikována chloridem vápenatým a fosforečnanem sodným. Takto vzniklý produkt byl následně ponořen do roztoku chloridu strontnatého. Během tohoto kroku docházelo k výměně vápenatých a strontnatých iontů, čímž vznikl kompozit obsahující BC, hydroxyapatit a stronciumapatit. Během testů pak bylo prokázáno uvolňování iontů stroncia a docházelo ke kalcifikaci tohoto

kompozitu. Také docházelo k ukládání dalších potřebných iontů, například draselných a hořečnatých. Dá se tedy říct, že tato membrána byla postupně tělem vstřebávána a lze ji tedy použít pro implantaci a řízenou regeneraci poškozených kostí [37].

Další využití je ve formě tablet, kdy se využívá vlastnosti celulózy jako vlákniny. Tím pádem dochází ke stimulaci střeva, posílení jeho peristaltik, stabilizace aktivity střevní mikroflóry, podpora uvolňování cholesterolu nebo zabránění absorpce sterolu. Navíc je možné jí využít jako dietní prostředek, kdy do sebe vsákne živiny, které postupně uvolní do těla [29].

Kosmetika

Někteří vědci studovali využití BC v kosmetice. Došli k závěru, že používáním obličejové masky z BC je možné dosáhnout zpevnění obličeje. To bylo způsobeno právě vysokým obsahem vody a jejím přestupem do obličeje. Navíc nezapáchá a dobře přiléhá k obličeji [38].

Další možnosti využití poté poskytuje modifikace BC kyselinou hyaluronovou nebo sericinem [39].

Papírenský průmysl

Díky kompatibilitě s rostlinnou celulózou a schopnosti bakterií vyprodukovat BC na povrchu papíru byl proveden experiment, zda je možné posílit papír pomocí BC. Povedlo se vytvořit ochrannou vrstvu na povrchu papíru, který byl použit jako podklad pro růst. Proto se uvažuje o možnosti využít BC pro prodloužení životnosti papíru a možnosti tímto způsobem zachránit staré dokumenty z dávných dob [40].

BC je možné též využít jako aditivum pro výrobu pevného papíru. Díky své struktuře s mnoha vodíkovými můstky se Youngův modul pohybuje na hodnotách kolem 15 GPa. Právě tato vlastnost pak vede ke zpevnění papíru. Ve výrobě papíru je BC využívána už od 80. let 20. století. Další modifikace BC pak vedou k výrobě ohnivzdorného papíru, případně i magnetických papírů nebo membrán jako opatření proti krádeži [41] [42].

Potravinářský průmysl

Bakteriální celulóza je díky svým vlastnostem zajímavým materiálem i pro využití v potravinářství. Také je řazena mezi GRAS („generally recognizes as safe“) produkty od roku 1992, kdy byla schválena americkou FDA (Food and Drug Administration) [32].

V tomto odvětví nachází velké uplatnění hlavně díky svým vlastnostem jako je například schopnost zadržování vody, dále ji lze využít také jako zahušťovadlo nebo stabilizátor. Z těchto důvodů se hodí do produktů jako jsou jogurty nebo saláty, dresinky. Pokud je BC přidána do již zpracovaných jídel, je schopna delší dobu udržet senzorycké a původní vlastnosti. Za účelem přidávání BC do jídel je však BC většinou modifikována pomocí alginátu a chloridu vápenatého, které vedou ke změkčení struktury [43].

Velmi rozšířené využití je zejména v jihovýchodní Asii. Pomocí *Komagataeibacter xylinus* je připravena hmota z kokosové vody, která se dále používá jako ztužovač, případně se samotná konzumuje díky své nasládlé chuti v dezertech nebo salátech. Na Filipínách se používá

do pudinku nebo želé. Dále se využívá v Japonsku v čaji kombucha [32]. I u nás lze zakoupit tyto produkty, například ve formě nápoje (Obrázek 9).



Obrázek 9 - Nápoje s Nata de coco dostupné i v ČR [44]

Byla také provedena studie s použitím BC v různých potravinách. Například u čokoládového nápoje došlo přidavkem BC ke zvýšení viskozity. BC také díky své porézní struktuře zabraňovala srážení kakaa na dně kelímku. Navíc si tuto vlastnost zachovala i při zahřívání, na rozdíl od xanthanu. Při jeho použití se velká část kakaa vysrážela na dně [43].

Zajímavá studie byla provedena i se zmrzlinou. BC byla použita místo jiných stabilizátorů. U stabilizátorů došlo k rozpuštění po 60 minutách, zatímco při použití BC zmrzlina i po 60 minutách stále držela svůj tvar [43].

Dalším využitím je náhrada masa. Pokud BC absorbuje roztok s hovězím extraktem, lze vzniklý materiál přidat například do párků nebo hamburgerů. Tím dojde ke snížení energetické hodnoty až o 25 %. Tento produkt poté splňuje klasifikaci pro nízkokalorické jídlo. Tato vlastnost BC je tedy spíše využita pro různé vegetariánské náhražky [43].

BC je také slibným materiálem pro enkapsulaci probiotik. K tomuto využití se nejlépe jeví kombinace BC s pektinem. Studie provedená s *Lactobacillus acidophilus* 016 ukázala, že enkapsulace do BC vedla ke zvýšení šance přežití až o 71,1 %, zatímco u *B. coagulans* až na 99,43 % [45] [46].

Nejde však jen o samotnou celulózu, ale i její producenti mohou nalézt využití. Například je zkoumána možnost využití *K. xylinus* jako probiotických bakterií. Nejpoužívanějšími probiotiky v současné době jsou bakterie rodu *Lactobacillus* nebo *Bifidobacterium*, které se nacházejí v mnoha produktech jako jsou jogurty, zakysaná mléka apod. Každý kmen těchto bakterií má konkrétní účinky na zdraví hostitelského organismu. Z tohoto důvodu jsou v poslední době hledány další kmeny bakterií, které by měly vliv na prevenci před dalšími nemocemi. Některé studie ukazují, že čaj kombucha nebo tradiční jablečný ocet mohou být využity pro boj s cukrovkou nebo snižování váhy. Jednou z možností tohoto účinku je právě

přítomnost mikroorganismů včetně *K. xylinus*. Jeden z jeho kmenů se ukázal být vhodným kandidátem pro možné použití jako probiotikum [47].

Obalový materiál

Jednou z možností využití bakteriální celulózy je použití jako obalový materiál. Je potvrzeno, že při jejím využití dojde k prodloužení výdržnosti a zvýšení bezpečnosti potraviny. Je však nutné BC modifikovat antimikrobiálními složkami, kyslík a ethylen zachytávajícími složkami a absorbenty vlhkosti. BC, která byla esterifikována hexanoylchloridem, vykazuje zvýšenou hydrofobicitu při zachování struktury nemodifikované BC. Při této modifikaci také došlo ke snížení permeability plynů (dusík, kyslík, oxid uhličitý) a vody [32] [48].

Bakteriální celulóza také byla použita spolu s kurkuminem pro zlepšení vlastností filmů z bramborových slupek. Tyto filmy byly připraveny namletím očištěných a usušených bramborových slupek a jejich rozpuštěním ve vodě s přídavkem 30 % glycerolu jako změkčovadla. Po přídavku BC a kurkuminu byla tato směs promíchána, odplyněna a vylita na Petriho misky pro vytvoření aktivního filmu. Kurkumin byl do této směsi přidán za účelem získání antioxidačních vlastností, zatímco přídavek BC vedl ke zlepšení mechanických vlastností, snížení propustnosti materiálu pro světlo, kyslík a vodní páru. Tyto filmy poté byly použity jako obaly pro vepřové maso. Bylo prokázáno, že tyto filmy brání oxidaci lipidů v mase a prodlužují trvanlivost potravin, hlavně tedy potravin s vysokým obsahem tuku [49].

Další modifikací pro obalový materiál byla příprava vrstev BC obsahující kyselinu sorbovou. Tato kyselina byla využita i při přípravě obalového materiálu z polyvinylalkoholu s přídavkem namleté BC [32] [50].

Oděvní průmysl

Většina v současnosti používaných vláken jsou syntetického původu a tedy nebiodegradabilní. BC byla již studována i s ohledem na využití v této oblasti. Bylo však nutné BC modifikovat změkčovadlem – polydimethylsiloxanem. BC pak byla umístěna do roztoku s barvivem, kde byla po určitou dobu ponechána. Firmou ScobyTec byly například vyrobeny i kabelky (na obrázku 10) nebo pouzdra na notebooky [51].



Obrázek 10 - Kabelka z bakteriální celulózy [52]

Elektronika

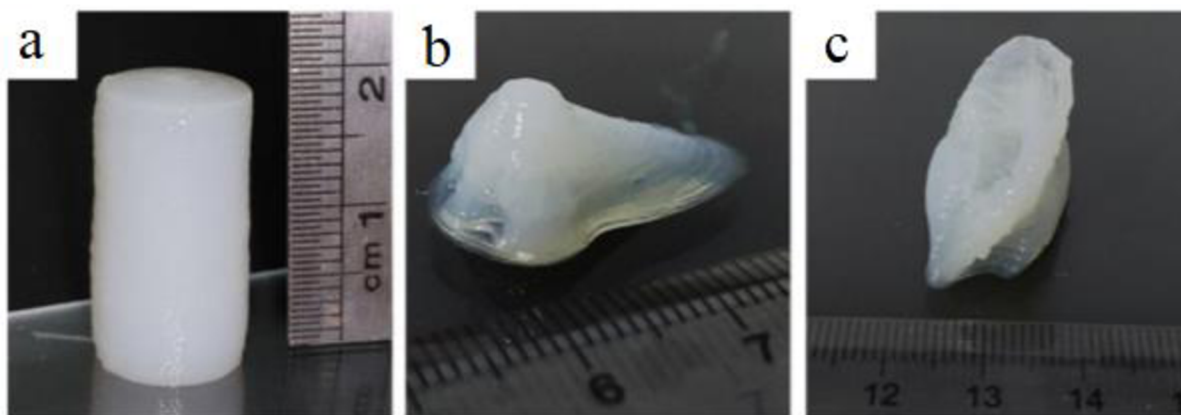
Využití BC v této oblasti vede k lepší recyklovatelnosti a udržitelnosti. Pro vylepšení vodivosti byl použit redukovaný oxid grafenu. Také se touto modifikací zvýšila celková odolnost materiálu. Vodivost se pohybovala v rozmezí od 140 do 150 S.cm⁻¹ při koncentraci RGO, což značí možnost tohoto využití například pro ohybnou elektroniku [53]. Dále bylo zjištěno, že BC po modifikaci křemičitanovými nanočásticemi a polyanilinem tvoří vodivé materiály, které jsou ohebné a lze je použít pro lithiové baterie [54]. Z bakteriální celulózy lze též vytvořit stabilní piezoelektrický materiál [55].

Biotechnologie

Díky svým dobrým absorpčním vlastnostem a vysoké čistotě lze BC využít ve formě vloček jako nosiče enzymů. Bylo zjištěno, že dynamickou kultivací je možné připravit BC ve formě kuliček o rozměrech 0,5-1,5 mm, na které je možné imobilizovat enzymy. Takto vzniklé nosiče enzymů jsou odolné i při nízké teplotě a nízkém pH. Pro imobilizaci je však nutné nejprve využít síťovací činidlo, například glutaraldehyd pro imobilizaci glukooamylázy [56]. Toto využití BC je významné například při biokatalytických procesech.

3D tisk

Pro 3D tisk je bakteriální celulóza nejčastěji využívána v kombinaci s alginátem. Alginát vede ke zlepšení mechanických vlastností hydrogelu a zvyšuje tisknutelnost takovéto směsi. Pomocí gelové extruze BC oxidované pomocí 2,2,6,6-tetramethylpiperidiny-1-oxylvého radikálu (TEMPO), alginátu a nanočástic z minerálního křemičitanů byly připraveny skafoldy, na kterých bylo pozorováno uvolňování hovězího sérového albuminu *in vitro*. Vzorky připravené tímto způsobem jsou zobrazeny na obrázku 11 [57].



Obrázek 11 - Vzorky připravené 3D tiskem; (a) válec, (b) nos, (c) ucho [57]

Další metodou 3D tisku bakteriální celulózy je zakomponování BC produkujících bakterií do takzvaného živého inkoustu. Tento živý inkoust se skládá z kyseliny hyaluronové, karagenanu, pyrogenního oxidu křemičitého a buněk *Acetobacter xylinum*. Na 3D tiskárně je tedy vytvořen požadovaný tvar, na kterém je poté produkovaná BC. Výsledný produkt je pak možné použít například pro bioremediaci nebo medicínské aplikace [58].

Podobně byly připraveny i vzorky obsahující polytetrafluorethylenové mikročástice a celulózová nanovlákná. Na místech s vysokým obsahem kyslíku byl podpořen růst bakterie *Acetobacter xylinum*. Takto se podařilo vytvořit trubice, které by mohly sloužit jako náhradní cévy. Pro toto použití byly tyto trubice ještě stabilizovány kolagenem [59].

Další aplikace

Díky vysoké porositě bakteriální celulózy ji lze využít jako filtrační materiál. Modifikací BC grafenem nebo kovovými ionty lze zvýšit selektivitu této membrány na těžké kovy nebo organická barviva, což má velký význam při čištění vody [60].

2.4 Modifikace bakteriální celulózy

Jde o její využití buď jako matrice nebo plniva. Stručný přehled modifikací z posledních let je zpracován v tabulce 3. Zatím byla BC využita spolu s anorganickými látkami, kdy došlo k zachování nejlepších vlastností BC a jejich kombinaci s anorganickými látkami. Vlastnosti, kterých bylo docíleno, se využívají při optických, magneticky senzitivních disků, zkapalnění toxického odpadu nebo flexibilního materiálu pro ukládání dat [29] [61] [62].

První využití v audiotechnice byly sluchátka od firmy Sony. Celulóza vyprodukovaná za tímto účelem je přibližně stejně pevná jako hliník, ale zároveň dostatečně lehká pro minimalizaci zkreslení zvuku [29].

BC byla také studována z hlediska možnosti modifikace pomocí kovových nanočástic, konkrétně mědi a niklu. Takto připravená BC ve formě aerogelu je schopna katalyzovat redukci nitrofenolu a nalézá tedy uplatnění v bioremediaci [63].

Bakteriální celulózu je též modifikovat pro získání antimikrobiální aktivity. Za tímto účelem byly využity nanočástice stříbra, aminoalkylace, modifikace chitosanem nebo modifikace oxidem grafenu a oxidem titaničitým. Tato modifikace by pak v případě nezávadnosti a stálosti

takto upravené BC mohla nalézt uplatnění například jako obalový materiál, případně krytí ran [64] [65] [66] [67].

Dále je zkoumána možnost využití biokompozitu BC s kopolymerem P(3HB/4HB). Tyto membrány byly následně použity pro absorpci léčivých látek nebo jako podpora pro růst kmenových buněk z mezenchymu nebo fibroblastů [68].

BC je též možno modifikovat za cílem jejího využití jako superabsorbentu. V současnosti není většina superabsorbentů vyráběna z obnovitelných nebo biodegreabilních zdrojů. Tyto látky se však vyskytují v široce používaných produktech jako pleny, ženských hygienických potřebách nebo produktech používaných při inkontinenci. Tyto superabsorbenty jsou však využívány i v zemědělství pro kontrolované uvolňování hnojiv. Proto je tu tlak právě na udržitelnost a biodegradabilitu. BC lze za tímto účelem modifikovat esterifikací hydroxylových skupin, což vede k lepší rozpustnosti ve vodě. Dalším krokem této modifikace je crosslinking, kdy se vytvoří 3D struktura. Jako crosslinking agenty se používají například kyselina citronová v kombinaci s hydrogenfosforečnanem sodným. Posledním krokem je pak vysušení produktu. Sušení produktu je však důležitým krokem, jelikož sušení lyofilizací narušuje vytvořenou 3D strukturu. Z tohoto důvodu se pro tyto aplikace využívá superkritického oxidu uhličitého [69] [70] [71].

Tabulka 3 - Přehled modifikací bakteriální celulózy za posledních 5 let, převzato a upraveno [60]

Modifikace	Aplikace	Zdroj
Vystavení rotujícímu magnetickému poli	Zvýšená schopnost zadržení vody	[72]
Ultrazvuk	Snížení průměru vláken na polovinu	[73]
Aminoalkylace	Vykazuje antimikrobiální aktivitu	[64]
Acetylace	Zvýšená hydrofobicita	[74]
TEMPO oxidace na karboxyl	Změna náboje povrchu a možnost vazby jiných látek	[75]
Kyselina hyaluronová	Vyšší hydrofobicita	[76]
Chitosan	Vykazuje antimikrobiální aktivitu	[66]
Alginát	Vyšší růst chondrocytů	[77]
Hydroxyapatit	Vyšší růst osteoblastů	[78]
Keratin	Vyšší růst fibroblastů	[79]
Stříbrné nanočástice	Vykazuje antimikrobiální aktivitu; SERS	[65]
Zlaté nanočástice	SERS	[80]
Křemíkové nanočástice	Vodivé materiály	[54]
Fe ₃ O ₄	Vykazuje antimikrobiální aktivitu	[81]
Oxid grafenu	Selektivní iontová membrána, nosič	[67]
Oxid grafenu/TiO ₂	Vykazuje antimikrobiální aktivitu	[67]
Léky	Léčení zranění, nosič léků	[35] [67]
PHA/PHB	Nosič léků, vyšší růst fibroblastů	[68]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie, přístroje a mikroorganismy

Chemikálie použité pro přípravu média

Kvasničný extrakt – Himedia, Indie

Pepton – Himedia, Indie

D-glukosa monohydrát, Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Uhličitan vápenatý srážený, čistý, Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Síran hořečnatý heptahydrát, p.a., Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát, Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Kyselina citronová, Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Kyselina octová, Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Octan sodný, Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Glycerol, Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Hydroxid sodný, mikroperle, Lach-Ner, s. r. o., Česká republika

Laboratorní přístroje a pomůcky

Třepačka, Orbital shaker – Incubator ES 20, Biosan

Temperovaná třepačka, Unimax 1010

Laminární box s UV lampou, Aura mini

Elektronické váhy, Kern 440

Analytické váhy, Pioneer

Magnetická míchačka, Benchmark

pH metr, pH Test 30, Thermo Scientific

Papírové filtry, Buchnerova nálevka, laboratorní sklo

Zavařovací sklenice

Lahve Simax

Mikroorganismus

Komagataibacter xylinus, DSM 46604, Německá sbírka Liebnitz Institut DSMZ-German Collection

3.2 Kultivace mikroorganismu

Příprava kryozkumavek

Pro dlouhodobé uchování bakteriálního kmene byly připraveny kryozkumavky. Do zkumavky bylo nejdříve pipetováno 0,5 ml 30% glycerolu a následně byly kryozkumavky vysterilovány. Po sterilaci byly ochlazeny na pokojovou teplotu a následně byl do každé kryozkumavky napipetován 1 ml bakteriální suspenze. Takto připravené kryozkumavky byly uchovávány při -80 °C v mrazícím boxu.

Příprava inokula

Startovní kultura byla připravována do 250 ml Erlenmeyerových baněk v množství 100 ml média a jedné kryozkumavky (2,5 ml) s kulturou. Po smíchání všech komponent (Tabulka 4) bylo nejprve médium vysterilováno a po ochlazení bylo zaočkováno z kryozkumavky. Startovní kultura byla následně kultivována na třepačce při 30 °C a 150 rpm po dobu 72 hodin a označena jako inokulum.

Tabulka 4 - Složení produkčního Hestrin-Schrammova média

Chemikálie	Hmotnost (g)
Glukóza	20
Pepton	5
Kvasničný extrakt	5
Kyselina citronová	0,115
Na ₂ HPO ₄ .12 H ₂ O	0,27
Destilovaná voda	1000

Použité módy kultivace

1. Statická kultivace: Tento typ kultivace probíhal ve 2 stupních. První stupeň spočíval v přípravě startovací kultury, tato fáze trvala 3 dny. Poté probíhala po dobu 14 dní samotná statická kultivace v produkčním médiu při teplotě 30 °C. Pro statickou kultivaci byly použity skleněné nádoby s různým objemem od 50 ml do 1000 ml za účelem vyhodnotit vliv poměru objemu nádoby a média na výtěžek bakteriální celulózy.

Modifikace statické kultivace přidavkem oleje

Byl proveden experiment, při kterém bylo cílem zjistit, zda přidavek oleje do produkčního média zvýší produkci bakteriální celulózy. Do produkčního média bylo přidáno 1 % řepkového oleje a byl pozorován jeho vliv na produkci. Kultivace probíhala při 30 °C po dobu 14 dní. Následovalo přečištění produktu a jeho zvážení. Dle dostupné literatury (Żywicka a spol., 2018) by přidavek oleje do média měl zvýšit produkci až o 500 %. Takto získaný vzorek by měl také vykazovat vyšší mechanickou odolnost a stupeň botnání než BC produkovaná standardním způsobem [82].

Modifikace produkce – Využití acetátového pufru

Další z ověřovaných možností zvýšení produkce bakteriální celulózy byla modifikace média pomocí acetátového pufru. Produkční médiem použité pro kultivaci bylo obdobné jako v tabulce 4 s jednou změnou, a to sice výměnou vody za acetátový pufr o daném pH. Byl použit pufr o pH=4,8. Následně byla provedena 14denní kultivace při teplotě 30 °C a po jejím ukončení byl produkt byl vyčištěn a zvážen [83].

2. Dynamická kultivace: V případě sledování vlivu provzdušňování produkčního média na výslednou produkci BC byly použity lahve Simax s přívodem kyslíku pod hladinu média. V tomto případě se nejednalo o klasickou statickou kultivaci, protože vlivem provzdušňování docházelo také k jemnému míchání média, šlo tedy o určitý typ dynamické kultivace.

3. Fed-batch statická kultivace: Pro zvýšení výtěžků produkce bakteriální celulózy byla použita fed-batch kultivace, kdy se po 7denní kultivaci přidalo nové produkční médium. Tento postup byl opakován třikrát. Byly tak vytvořeny tři BC membrány v jedné láhvi. Postup byl aplikován podle Dubey et al. 2008 [84].

4. Produkce 3D BC s modifikovanou mechanickou stabilitou

Posledním typem produkce BC byla modifikace média přidavkem emulgačního činidla 3 hm.% Cremodan Super MB a 2 hm.% Xanthanem [85]. Médium bylo po sterilaci napěněno a zaočkováno 10 obj.% inokula. Kultivace pak byla prováděna při 30 °C po dobu 14 dní.

Další způsob přípravy 3D vzorků spočíval v přidání 20 % inokula do média. Takto byly vzorky kultivovány 7 dní a následně bylo přidáno 20 ml čerstvého média s obsahem polyvinylalkoholu. Tato kultivace také probíhala při 30 °C.

Posledním způsobem přípravy 3D vzorků byl přídavek CaCO₃ do kultivačního média v kombinaci s 20% inokulací. Takto upravené médium bylo poté umístěno na třepačku na 150 ot/min při 30 °C. Tímto pohybem média docházelo k rozptýlu částic CaCO₃ v jeho objemu. BC potom během růstu obalovala tyto částice.

5. Vliv poměru povrchu média ku objemu média na celkový výtěžek produkci bakteriální celulózy

Byla provedena série kultivací v různých nádobách – malá (200 ml), střední (450 ml) a velká (650 ml) zavařovací sklenice, kádinka o objemu 100 ml a Erlenmayerova baňka o objemu 250 ml s různým objemem kultivačního média. Následně byl spočítán povrch média v nádobě dle vzorce:

$$S = \pi \cdot r^2 [cm^2], \quad (1)$$

kde S je povrch média (cm²) a r je poloměr nádoby (cm).

Objem nádoby a objem média byl stanoven odměrným válcem. Poměr povrchu ku objemu média byl spočten dle vzorce:

$$\text{Poměr} = \frac{S}{V} [cm^{-1}], \quad (2)$$

kde S je povrch média (cm²) a V je objem média (cm³).

Produkční křivka

Byla provedena série kultivací, která měla za účel stanovit produkční křivku použitého mikroorganismu. Produkční médium bylo zaočkováno 10 % inokula a ve dvoudenních intervalech byla kultivace přerušena. Odběry byly provedeny po 4, 7, 9, 11 a 14 dnech. Takto získaný produkt byl poté vyčištěn, vysušen lyofilizací a zvážen.

Absorpční kapacita

Z vysušeného plátu bakteriální celulózy byl vystřižen čtverec o straně 1 cm, který byl zvážen. Tento vzorek byl poté umístěn do vodní lázně na dobu 7 dní. Poté byl vzorek vyjmut a následně zvážen [66]. Výpočet pro zadržování vody na hmotnost BC je následující:

$$\text{Absorpční kapacita} = \frac{(m_{\text{nasáté BC}} - m_{\text{suché BC}})}{m_{\text{suché BC}}} \cdot 100 \% [\%], \quad (3)$$

Čištění bakteriální celulózy

Čištění bakteriální celulózy probíhalo v několika krocích. Nejdříve byla bakteriální celulóza louhována 15 minut v ethanolu. Poté byla čištěna 15 minut v horké vodě a následně byla přečištěna v horkém roztoku 0,1M NaOH po dobu 20 minut. Posledním krokem bylo promytí destilovanou vodou do neutrálního pH.

Morfologické vlastnosti BC

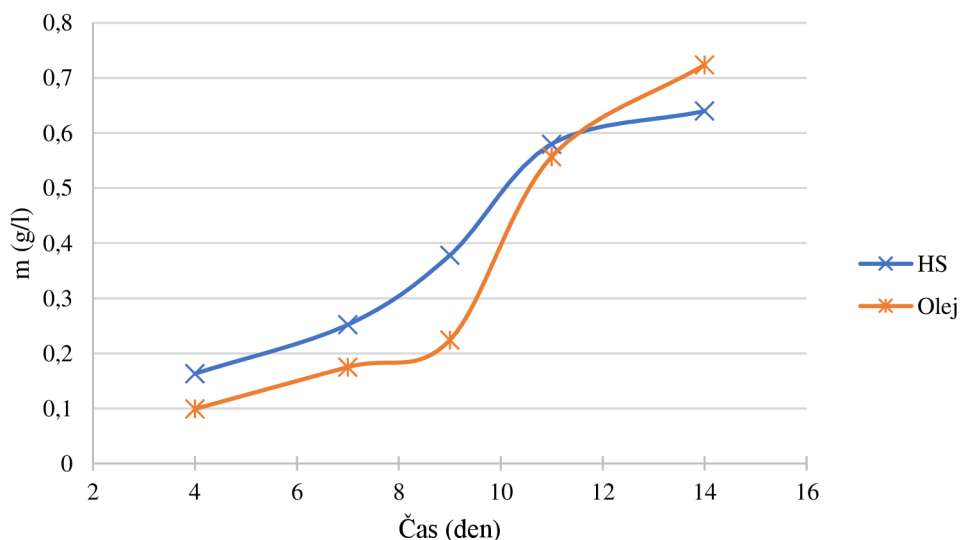
Morfologie byla stanovena rastrovacím elektronovým mikroskopem při použití vzdálenosti 6-7 mm a při 3 kV. Jako detektor byl použit SE detektor (MAIA3, Tescan). Z morfologie je možné pozorovat rozdílnou strukturu v závislosti na použité metodě přípravy.

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Vliv přídavku oleje do média

Mezi nejefektivnější média pro produkci BC patří Hestrin-Schrammovo (HS) médium. Jedním z důležitých faktorů pro kultivaci *K. xylinus* je přístup kyslíku. Předpokladem bylo, že přídavek oleje zvýší dostupnost kyslíku v médiu a tím pádem dojde ke zvýšení produkci BC. Na obrázku 12 je srovnání produkce BC v HS médiu a ve stejném médiu s přídavkem 1 % oleje.

Ze získaných dat vyplývá, že kultivace na médiu s olejem má pomalejší nástup produkce, kdy si bakterie zvykají na nové prostředí (lag fáze). Také můžeme vidět, že oba způsoby kultivace dosáhly stejné hodnoty po přibližně 11 dnech. Zatímco však standartní kultivace začala zpomalovat, kultivace s olejem pokračovala o něco vyšší rychlostí. Předpoklad, že dojde ke zvýšení produkce BC, byl tedy potvrzen. Tyto výsledky jsou v souladu s prací Żywické a spol. (2018) [82], kteří dosáhli zvýšení produkce BC až o 500 % při 7denní produkci v 1 litru HS média v 3l láhvi. Tato jejich vysoká produkce též mohla být ovlivněná použitím větších nádob a poměru média k objemu nádoby 1:3. Dalším rozdílem oproti této studii je použití jiného kmene bakterie *Komagateibacter xylinus* DSM 46602.



Obrázek 12 – Srovnání produkce BC ve 100 ml HS médiu a ve 100 ml HS média s přídavkem 1 % oleje

4.2 Zvýšení produkce bakteriální celulózy

4.2.1 Vliv poměru povrchu ku objemu nádoby

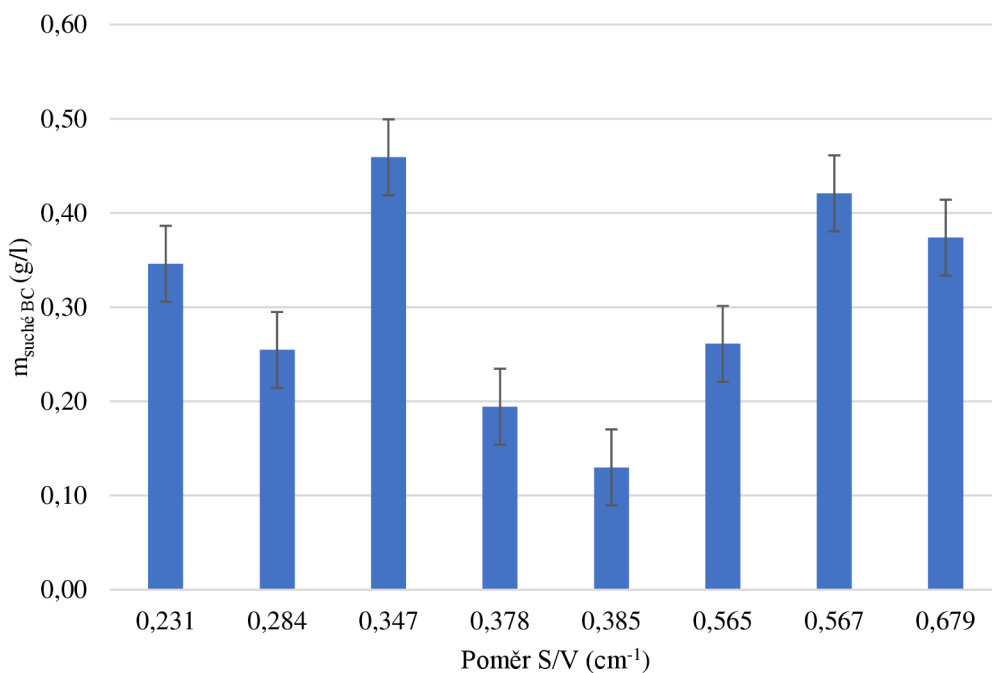
Za účelem zkoumání vlivu poměru mezi plochou a objemem média byly v této práci použity poměry 0,23; 0,28; 0,35; 0,38; 0,57 a 0,68 cm^{-1} . Předpokladem bylo, že se vzrůstajícím povrchem bude stoupat i produkce BC. Mělo se tak dít z důvodu lepšího přístupu ke kyslíku nad hladinou média. Experimenty bylo zjištěno, že však může docházet k opačnému efektu. Z výsledků statických kultivací bylo zjištěno, že z použitých poměrů byl nejvýnosnější poměr 0,347 cm^{-1} , konkrétně pak bylo získáno 0,459 g BC/l. Tento poměr odpovídá kultivaci v 50 ml média ve 100 ml kádince. Druhým nejvýtežnějším poměrem byl poměr, který odpovídal kultivaci ve 100 ml média v Erlenmayerově baňce o objemu 250 ml (Tabulka 5, Obrázek 13).

Zajímavé srovnání z hlediska výsledků poskytuje srovnání malé zavařovací sklenice o objemu 200 ml a 100ml kádinky. Při použití 50 ml kultivačního média jsou mezi těmito nádobami rozdíly, a to v poměrech objemu média ku objemu nádoby a poměru povrchu média ku jeho objemu. Ve výtěžcích těchto kultivací je však podstatný rozdíl. Zatímco v kádince bylo vyprodukováno 0,459 g BC/l, v malé zavařovací sklenici to bylo 0,261 g BC/l. Ne vždy je tedy vhodnější kombinace většího poměru S/V a V/V.

Povrch média hraje roli hlavně z hlediska dostupnosti kyslíku. Velký povrch média vede k vyšší dostupnosti kyslíku a tím i ke zvýšení produkce BC. Celkový objem nádoby hraje také roli v dostupnosti kyslíku. Proto je tedy pro kultivaci BC při použití určitého objemu média výhodnější používat nádoby s velkým povrchem a vyššími stěnami, tedy i větším objemem. Pokud by však byla použita nádoba s příliš malým objemem média mohlo by dojít k jeho vyschnutí. Z tohoto důvodu je tedy nutné vybírat vhodné nádoby pro kultivaci tak, že se zahrnou všechny faktory jako je objem nádoby, objem média a velikost povrchu nádoby.

Tabulka 5 – Srovnání poměrů S_m/V_m a V_m/V_n použitých kultivačních nádob

Poměry	Povrch (cm ²)	Objem média (cm ³)	Objem nádoby (cm ³)	Poměr S/V (cm ⁻¹)	Poměr V_m/V_n	Výtěžek (g/L)
Malá sklenice	28,28	50	200	0,57	1:4	0,261
Střední sklenice	38,49	100	450	0,38	1:4,5	0,130
Velká sklenice	27,93	100	650	0,68	1:6,5	0,374
Kádinka 100ml	17,35	50	100	0,35	1:2	0,459
		75	100	0,23	1:1,3	0,346
Erlenmayerova baňka 250 ml	56,75	100	250	0,57	1:2,5	0,421
		150	250	0,38	1:1,6	0,194
		200	250	0,28	1:1,25	0,255



Obrázek 13 – Závislost výtěžku BC na poměru povrchu ku objemu použitého média

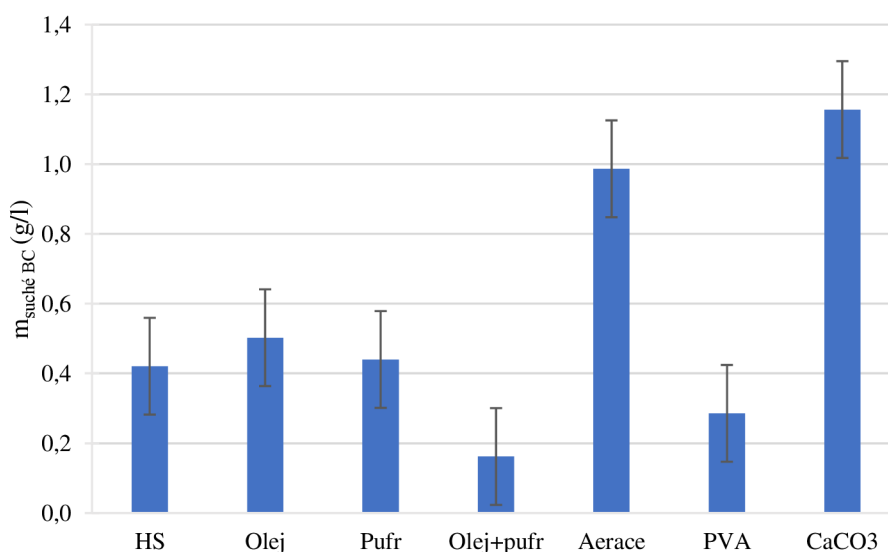
4.2.2 Vliv aerace

Bakteriální celulóza je produkována na rozhraní vzduch-kapalina. Při statické kultivaci je však velikost tohoto rozhraní značně omezena, vzhledem k nevyužitému objemu média v nádobě. Jasným řešením by bylo využití mělkých nádob, kdy médium zaujme co největší povrch. Toto řešení však sebou nese komplikace, které spočívají v možnosti vyschnutí mělké nádoby.

Dalším řešením je tedy aerace média vnějším zdrojem. I zde však hrozí nebezpečí vyschnutí média, obzvláště pak při vysokém průtoku vzduchu nebo také při umístění přívodu vzduchu nad hladinu média v kombinaci s výdechovým otvorem, který je nutností. Z tohoto důvodu se jako nejlepší možné řešení jeví umístění přívodu pod hladinu média.

Toto uspořádání bylo využito i v této práci. Přívodní hadice vzduchu byla umístěna pod hladinu média a průtok byl regulován na co nejmenší hodnoty. Při vyšších hodnotách by docházelo k mísení média. Produktem takové kultivace by nebyl plát BC, ale jednotlivé pelikuly.

Jak je vidět na obrázku 14, při aeraci vnějším zdrojem došlo ke zvýšení produkce v průměru o 234,5 % oproti statické kultivaci na HS médiu. Z hlediska výtěžků došlo ke zvýšení z 0,4208 g BC/l na 0,9867 g BC/l. Při této kultivaci vrstva BC také sílila nerovnoměrně, síla vrstvy se nejvíce zvětšila v místě přívodu vzduchu, zatímco se vzrůstající vzdáleností od ní klesala. Toto bylo při dalších kultivacích částečně eliminováno použitím přívodní hadice s otvory, které propouštěly malé množství vzduchu v různých místech média. Získaný produkt je zobrazen na obrázku 15.



Obrázek 14 – Porovnání výtěžnosti kultivace BC dle způsobu kultivace



Obrázek 15 - Aerovaná kultivace

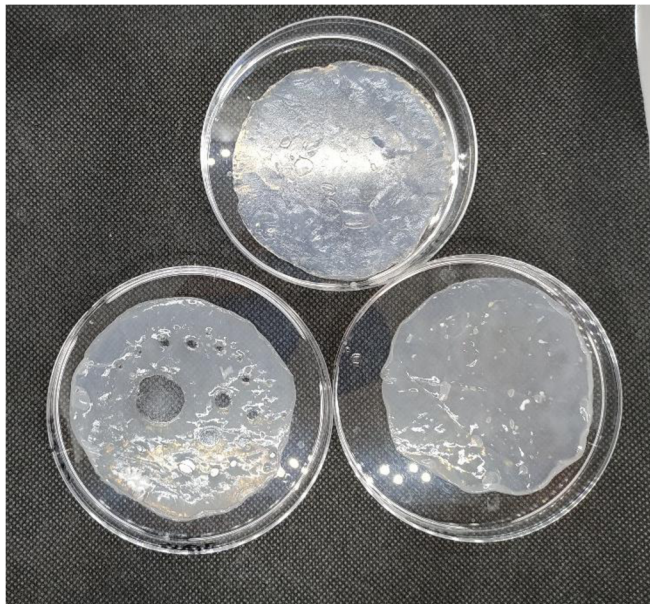
4.2.3 Srovnání kultivace na produkčním médiu, acetátovém pufru a s přídavkem oleje

Cílem tohoto pokusu bylo zjistit, zda a případně do jaké míry se liší výtěžky kultivace BC za různých podmínek. Byl proveden srovnatelný počet jednotlivých způsobů kultivace za využití kultivačního média, které je uvedeno v tabulce 4. Po kultivaci byly získané vzorky vyčištěny stejným způsobem jako v kapitole 3.2. Vzorky byly následně lyofilizovány a zváženy (Obrázek 14). Vyčištěné vzorky BC připravené dle srovnávaných způsobů kultivace jsou zobrazeny na obrázku 16. Vzorky získané z kultivace na HS médiu byly využity jako kontrolní a standartní vzorky.

Recentní literatura (Żywicka a spol., 2018) udává, že by přídavek oleje do média měl zvýšit produkci až o 500 %. Takto získaný vzorek by měl také vykazovat vyšší mechanickou odolnost a stupěň botnání než BC produkovaná standartním způsobem. Jak je vidět na grafech s výtěžky (Obrázek 14), vzorky připravené v této práci dosáhly zvýšení produkce o 19,4 % a rozdíl v absorpční kapacitě je diskutován v dané kapitole 4.4. U vzorků připravených touto cestou se však ukázal olej jako problém. Vzhledem k tomu, že olej při kultivaci zůstal na povrchu média, vznikly v připravovaných vzorcích otvory, které jsou vidět například na obrázku 16. Dosažené zvýšení produkce BC tímto způsobem však umožňuje využití této metody, obzvláště pokud si uvědomíme, že v současné době se BC využívá hlavně v nanotechnologii. Není tedy mutné mít pláty BC nepoškozené, protože v případě tohoto využití často následují kroky zpracování, které zahrnují její hydrolýzu [86].

Kuo a spol. uvádějí, že pro produkci BC lze využít i acetátový pufr o $\text{pH}=4,8$. Využití tohoto pufru umožňuje udržení optimálního pH po delší dobu kultivace, tento pufr schopen po nějakou dobu bránit poklesu pH , který je způsoben tvorbou vedlejších produktů, hlavně kyseliny glukonové. V práci Kua a spol. se podařilo zvýšit produkci BC až na 7,23 g/l, což představuje znatelný rozdíl oproti kultivaci na HS médiu (1,23 g BC/l) [83].

Při pokusech v této diplomové práci bylo při tomto typu kultivace dosaženo zvýšení produkce BC o 4,6 %, jak je patrné na obrázku 14. Z hlediska výtěžků došlo ke zvýšení z 0,4208 g BC/l na 0,4401 g BC/l. Tento rozdíl je však zanedbatelný. Nepodařilo se tak dosáhnout výrazných rozdílů ve výtěžnosti jako ve studii Kuo a spol. Rozdíl mohl být způsoben hlavně využitím jiných kultivačních nádob, kdy Kuo a spol. tuto teorii ověřovali za použití 3 ml média ve skleněných zkumavkách, a také využití rozdílného média, kdy Kuo a spol. využili YPD médium. Posledním rozdílem bylo také použití jiné bakteriální kultury [83].

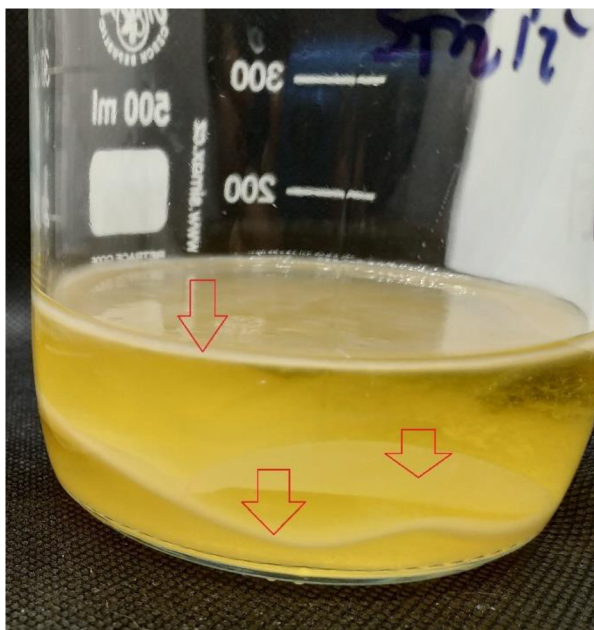


Obrázek 16 - Srovnání produktů kultivace BC dle způsobu kultivace; acetátový pufr nahoře, olej vlevo dole, HS médium vpravo dole

4.2.4 Fed-batch kultivace

Dubey a spol. 2008 stanovil rozestupy mezi přidavky na 4 dny. V těchto rozestupech bylo přidáváno 5 ml média. Jejich předpokladem bylo, že pokud jsou bakterie aktivní na rozhraní médium-vzduch, tak přidávkem dalšího média na toto rozhraní bakterie začnou utilizovat přidané médium pro svůj růst a produkci BC. Tím dojde k vytvoření několika vrstev BC nad sebou a ve srovnání se statickou kultivací bude získáno vyšší množství BC. Tyto experimenty vedly ke zvýšení produkce BC z 6,3 g/l na 38 g/l [84].

Díky poznatkům z kapitoly 3.1 bylo určeno, že ideální dobou k přidání substrátu pro kultivaci je 11 dní. Byl tedy proveden pokus dle protokolu Dubey a spol., jen s jinými rozestupy přidavku kultury. Tento experiment vedl ke zvýšení produkce BC až na 0,5144 g/l. V porovnání se statickou kultivací, která dosáhla výtěžnosti pouze 0,4208 g BC/l jde o zvýšení produkce o 22,2 %. Tento způsob kultivace je zobrazen na obrázku 17. Tak výrazného rozdílu jako ve studii Dubeyho a spol. nebylo dosaženo z důvodu využití různých médií a kmenů *Komagateibacter*.



Obrázek 17 – Produkt fedbatch kultivace, šipky zvýrazňují jednotlivé pláty

4.2.5 Kombinace všech poznatků

Všechny tyto uvedené experimenty byly provedeny s cílem vytvoření ideální kombinace pro produkci BC. Protože všechny dříve zmíněné postupy vedly ke zvýšení produkce, byl následně proveden experiment, při kterém došlo ke kombinaci všech těchto postupů produkce.

Bylo tedy použito médium jako v tabulce 4, ale voda byla nahrazena acetátovým pufrem a do média bylo přidáno 1 % řepkového oleje. Výsledek kultivace je zobrazen na obrázku 14. Tato kombinace měla vést ke zvýšení produkce, bohužel však při experimentech došlo ke snížení produkce na 0,1620 g BC/l z 0,4208 g BC/l.

4.3 Produkce 3D vzorků z bakteriální celulózy

3D vzorky bakteriální celulózy byly v této práci připravovány několika způsoby.

První způsob využíval zaočkování produkčního media dvojnásobným množstvím inokula (20 % místo 10 %) s přidavkem uhličitanu vápenatého. Nejprve byla připravena startovací kultura, z které bylo získáno 3denní inokulum, které bylo využito k zaočkování dalších kultur. Zbylé inokulum bylo doplněno dalšími 100 ml čerstvého inokulačního média. Takto získané médium bylo kultivováno při 30 °C a 150 otáčkách za minutu. Inokulum tak bylo částečně aerováno a zároveň v něm docházelo k rozptýlu částic CaCO_3 . Aplikací tohoto postupu došlo k vytvoření 3D vzorku BC. Takto připravené vzorky měly po vyčištění hmotnost 1,1563 g/l. Struktura těchto vzorků zjištěná pomocí SEM je pak zobrazena v kapitole 4.5 na obrázku 22b.

Druhý způsob přípravy 3D vzorků spočíval v kultivaci bakterie *K. xylinus* v napěněném produkčním mediu. Tento postup pak opět využívá aerace média, kdy médium s přidavkem Cremodanu a xanthanu vytvoří pěnu. Cremodan je povrchově aktivní látka, která se standartně používá ke stabilizaci zmrzlin a skládá se z nasycených mastných kyselin. Xanthan slouží jako zahušťovadlo a slouží i k zpomalení oddělení vody z pěny. Jedná se o přírodní větvený polysacharid produkovaný kmenem *Xantomonas campestris* [85] [87].

Díky vytvořené pěně bakterie přichází do styku se zakomponovanými bublinami vzduchu v celém objemu média, mohou tedy produkovat BC v kterémkoli místě média, nejen na hladině. Produkce BC v celém objemu pěny vede k její stabilizaci. Použitý kmen *K. xylinus* však vykazuje pomalou produkci v prvních dnech kultivace, což v tomto případě vede k nedostatečné stabilizaci pěny, jak je vidět na obrázku 18.

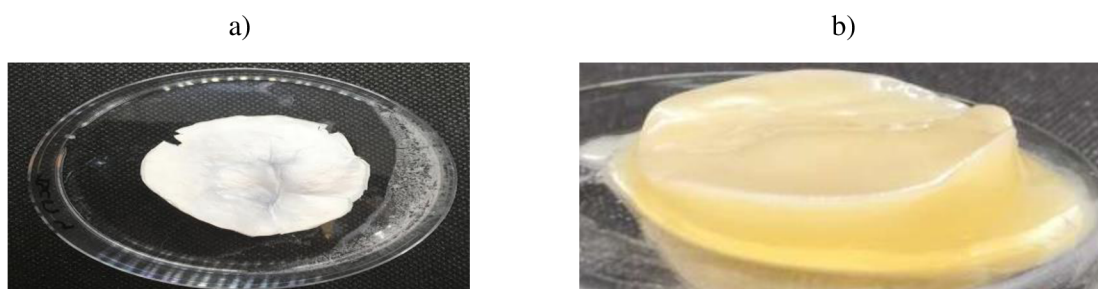
Nepodařilo se tedy dosáhnout výsledků jako Ruhsovi a spol., kteří však ve své studii použili jiný druh bakterie produkující BC, konkrétně pak *Gluconacetobacter xylinus* ATCC-700178 [85].



Obrázek 18 - Ukončená produkce 3D BC v napěněném médiu po 14 dnech

Dalším způsobem produkce 3D vzorků bylo použití metody fed-batch v kombinaci s 20% inokulací, kdy do kultivačního média bylo po týdnu přidáno 20 ml čerstvého média. V přidávaném médiu byl též rozpuštěn polyvinylalkohol, který vedl ke stabilizaci vzniklého 3D produktu, který je zobrazen na obrázku 20. Takto připravené vzorky měly hmotnost po lyofilizaci 0,2857 g/l.

Na obrázku 19 je možné vidět srovnání vzorku statické produkce s tloušťkou 80 μm a vzorku bakteriální celulózy vyprodukované metodou fed-batch za přítomnosti polyvinylalkoholu s tloušťkou 2 cm. Dosažené výsledky představují významný posun v produkci BC, jelikož se běžně statickou kultivací daří připravit pláty bakteriální celulózy o tloušťce kolem 100–300 μm .



Obrázek 19 - Srovnání statické kultivace (a) na HS médiu a (b) fedbatch kultivace 3D vzorku s polyvinylalkoholem



Obrázek 20 - Výsledek fedbatch produkce 3D vzorku v médiu s přidavkem polyvinylalkoholu

4.4 Absorpční schopnost bakteriální celulózy

Absorpční schopnost BC byla zjišťována u části vzorků z každého způsobu produkce. Ze vzorků bakteriální celulózy byl vystříhnut čtverec o hraně 1 cm, který byl zvážen a ponořen do roztoku na 7 dnů. Po uplynutí této doby byl analyzovaný čtverec vyjmut a znovu zvážen. Naměřené výsledky shrnuje tabulka 6.

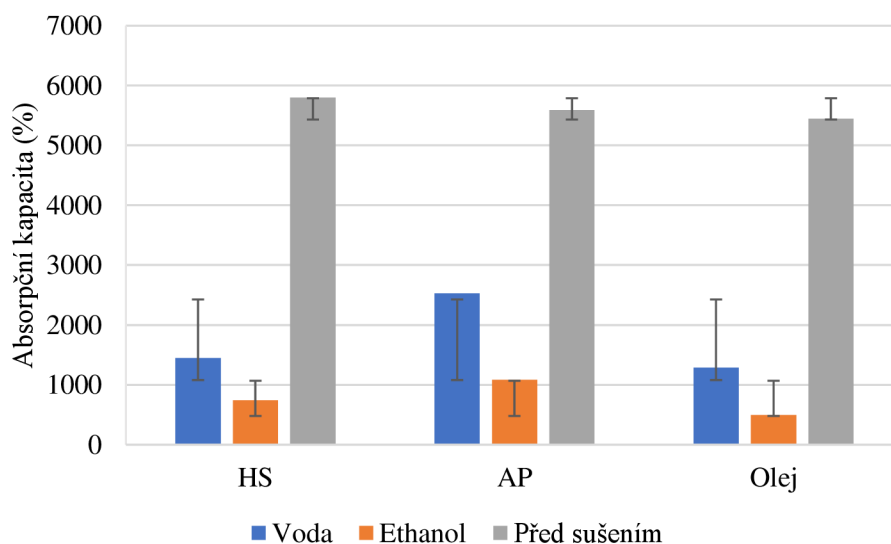
Vzorky připravené standardní kultivací v HS médiu vykazovali schopnost zadržet 1445 % své hmotnosti ve vodě a 742 % v ethanolu. Vzorky, které byly připravovány v acetátovém pufru vykazovali zadržování 2525 % své hmotnosti ve vodě a 1082 % v ethanolu. Co se týče vzorků připravených v médiu s olejem, ty vykazovali schopnost zadržet 1288 % své hmotnosti ve vodě a 495 % v ethanolu. Nejlepší schopnost rehydratace tedy jasně vykazují vzorky připravené v acetátovém pufru, jak je vidět na grafu na obrázku 21.

Pokud však srovnáme hmotnosti vzorků po vyčištění a osušení buničinou s hmotností vzorků po vysušení, jsou získané hodnoty ještě výraznější. Rozdíl mezi vzorky získanými standardní kultivací jsou 6970 % a pro kultivaci s olejem 5543 %.

Tato schopnost absorpce velkého množství kapaliny nalézá uplatnění při využití BC jako nosiče léků nebo v kosmetice na výrobu hydratačních masek.

Tabulka 6 - Absorpční schopnost BC; HS – kultivace na HS médiu; AP – na acetátovém pufru; O – s přidavkem oleje

Ethanol	m _{před} (g)	m _{po} (g)	Kapacita (%)	Voda	m _{před} (g)	m _{po} (g)	Absorpční kapacita (%)
HS1	0,0031	0,0332	970,97	HS4	0,0033	0,0507	1436,36
HS2	0,0022	0,0174	690,91	HS5	0,0041	0,0791	1829,27
HS3	0,002	0,0133	565,00	HS6	0,0027	0,0316	1070,37
				HS7	2,1050	0,0373	5543,43
				HS8	2,6762	0,0435	6052,18
AP1	0,0021	0,0213	914,29	AP4	0,0017	0,0527	3000,00
AP2	0,002	0,0257	1185,00	AP5	0,0022	0,0424	1827,27
AP3	0,0017	0,0212	1149,06	AP6	0,0018	0,0513	2750,00
				AP7	2,4461	0,0430	5588,61
O1	0,0048	0,0276	475,00	O4	0,0027	0,0385	1325,93
O2	0,0048	0,032	566,67	O5	0,0025	0,0347	1288,00
O3	0,0018	0,0098	444,44	O6	0,0022	0,0364	1554,55
				O7	4,0786	0,0724	5533,43
				O8	2,6887	0,0493	5353,76



Obrázek 21 - Absorpční kapacita vzorků připravených různým způsobem; HS médium, AP – acetátový pufr a O – s přidavkem oleje

4.5 Analýza pomocí elektronové mikroskopie

Analýza pomocí elektronové mikroskopie je nezbytnou součástí při zkoumání výsledné struktury BC. Ve své práci jsem použil metodu elektronové mikroskopie pro určení strukturálních rozdílů mezi vzorky, které byly připraveny rozdílnými postupy, jak je popsáno v kapitole 3.2.

Co se týče srovnání statické kultivace s využitím HS média, pufrovaného média a média s přídavkem oleje, nebyly pozorovány velké rozdíly mezi jednotlivými vzorky. Všechny vzorky vykazovaly vláknitou strukturu podobnou netkané textilií. Tato struktura je zobrazena na obrázku 22a.

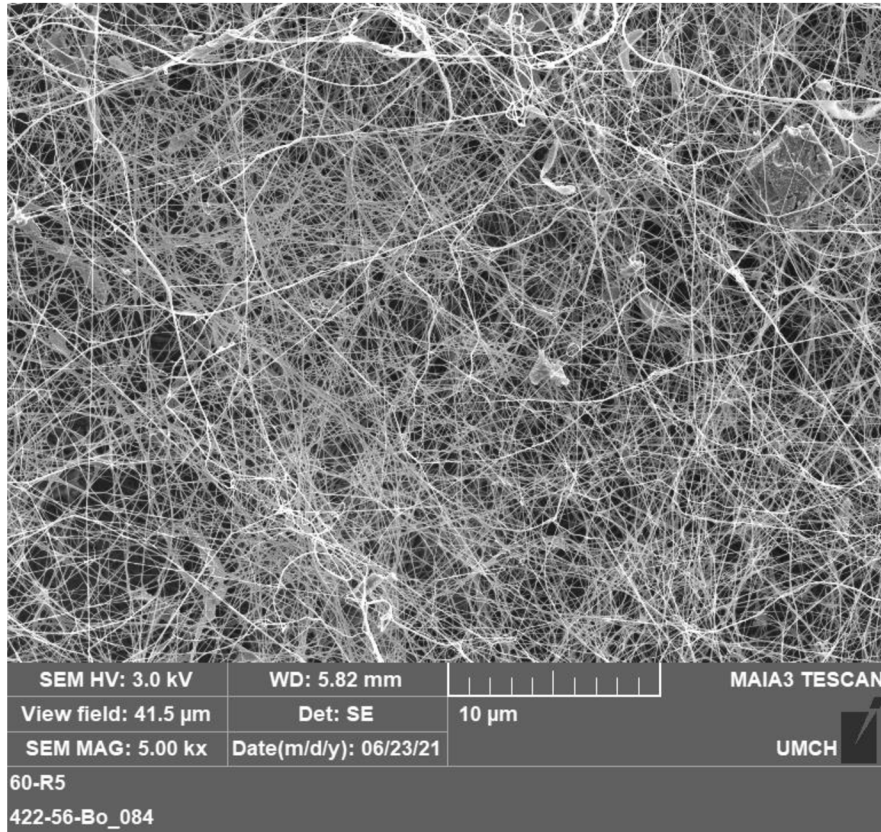
Nejzajímavější z tohoto hlediska bylo srovnání připravených 3D vzorků. Na výsledných obrázcích ze SEM byly znatelné rozdíly mezi jednotlivými vzorky. Vzorky, které byly připraveny na médiu s CaCO_3 , byly částice této chemikálie rozeznatelné v celé struktuře, jak je vidět na obrázku 22b. Tyto částice však znemožnily určení velikosti pórů ve vzorku.

Vzorky, které byly stabilizovány přídavkem polyvinylalkoholu, vykazovaly ve srovnání se vzorky připravenými inokulací s fed-batchovaným médiem vyšší výskyt menších pórů. Na SEM snímku, který je na obrázku 23, jsou též vidět částice PVA. Pórovitost 3D vzorku s přídavkem PVA je zobrazena na obrázku 23d. Distribuce pórů je vyhodnocena na obrázku 25. Analyzovaný vzorek s PVA vykazoval průměrnou velikost pórů $0,25 \mu\text{m}$, medián byl stanoven na $0,22 \mu\text{m}$.

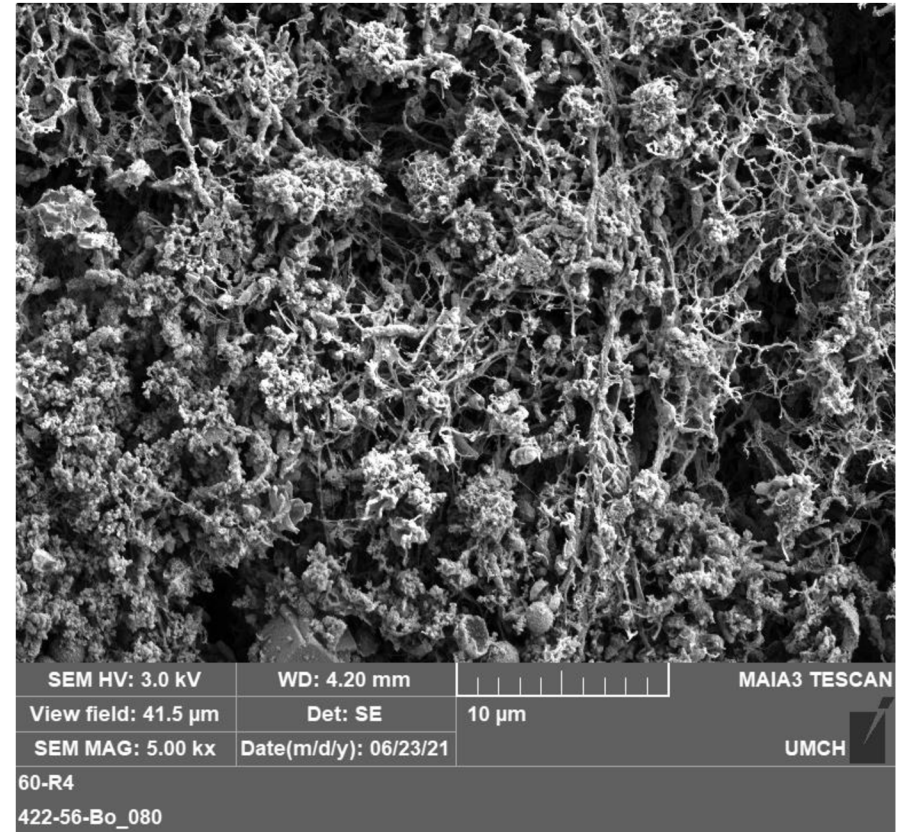
Co se týče vzorku připraveného inokulací byla velikost pórů $0,70 \mu\text{m}$ a medián $0,63 \mu\text{m}$. Distribuce těchto pórů je zobrazena na obrázku 24f a jejich histogram na obrázku 26.

Pórovitost je z hlediska možností využití BC významná hlavně pro transport léčiv. Větší póry umožňují zabudování větších struktur složitějších látek. Menší póry by pak mohly být významné pro využití v oblasti filtrace, v případě modifikací pak také budou menší póry vykazovat větší specifický povrch pro případné další reakce.

a)



b)

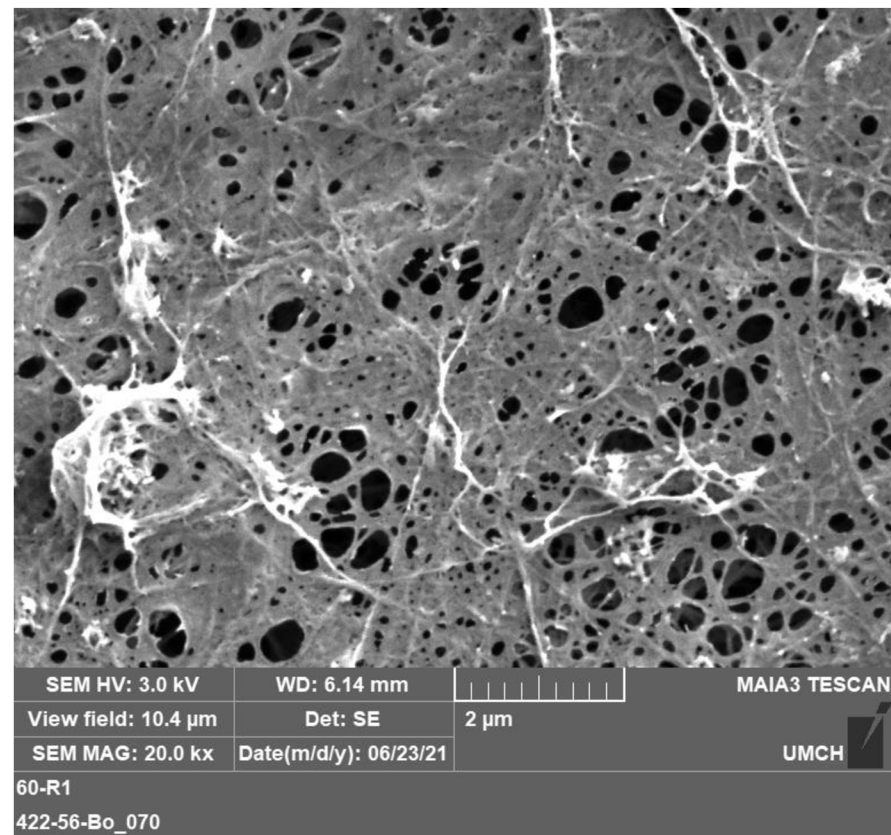


Obrázek 22 - Struktura (a) HS vzorku a (b) 3D vzorku s CaCO_3

c)

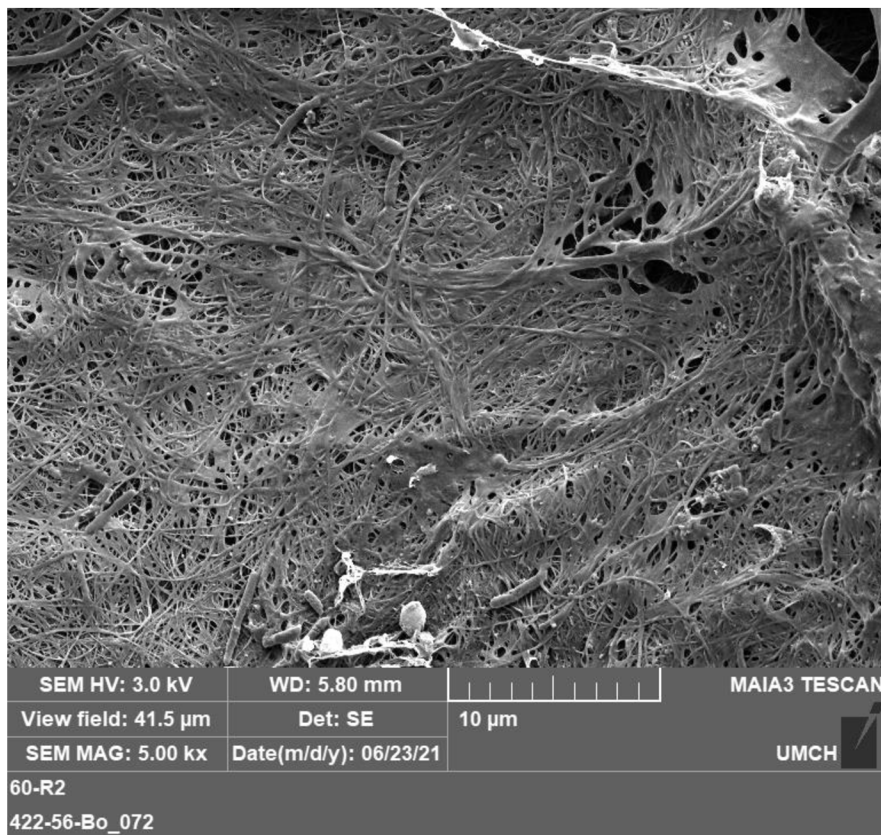


d)

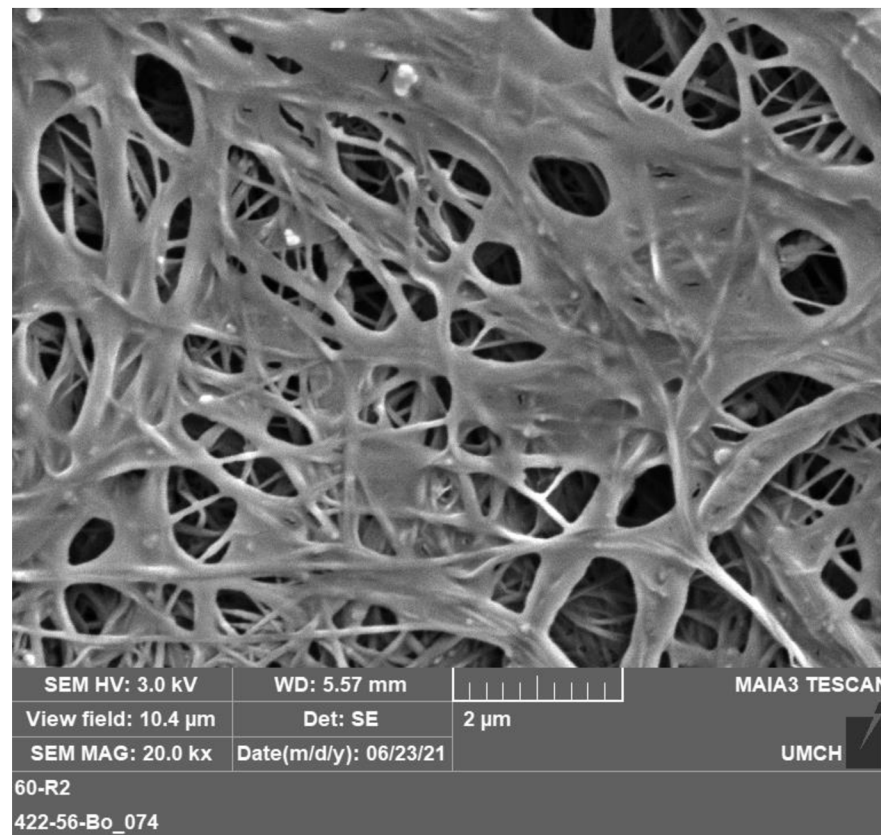


Obrázek 23 - Struktura 3D vzorku s PVA při různém přiblížení SEM

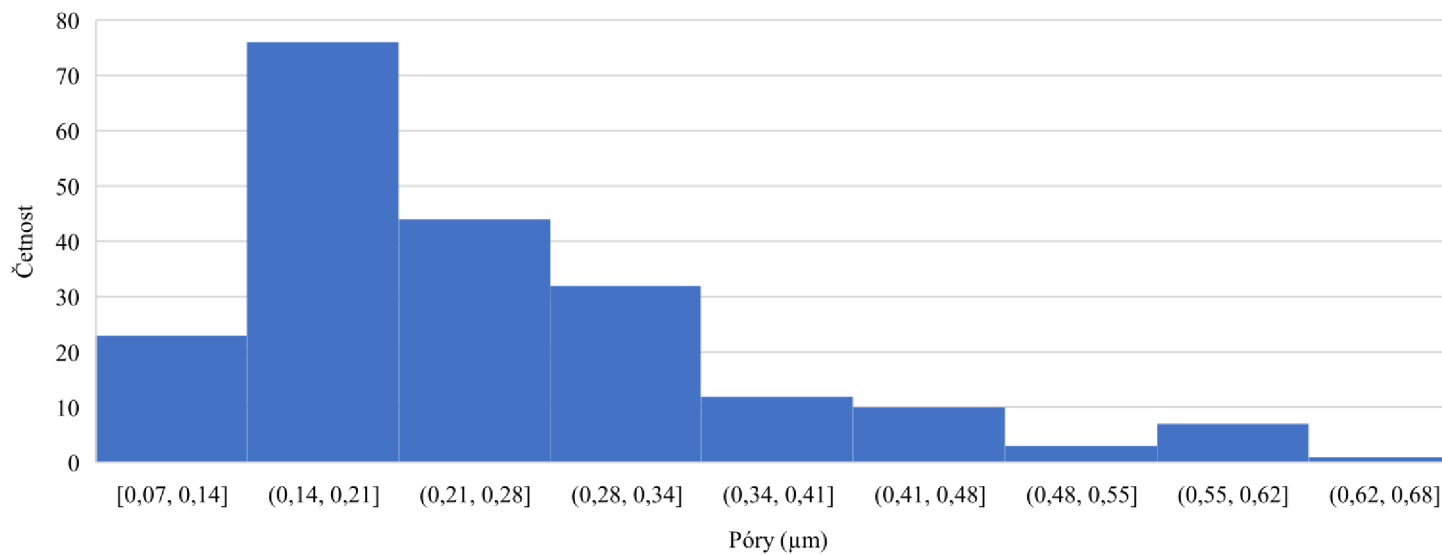
e)



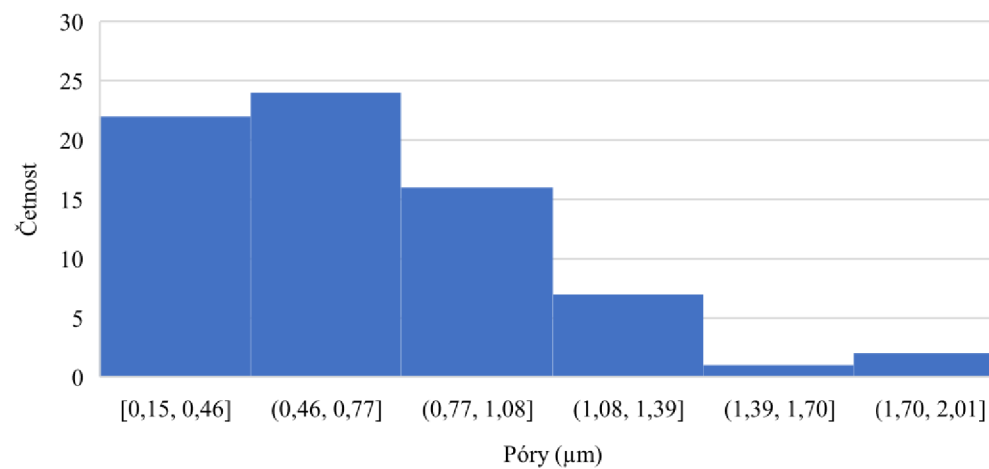
f)



Obrázek 24 - Struktura 3D vzorku připraveného 20% inokulací při různém přiblížení SEM



Obrázek 25 - Rozložení velikosti pórů ve 3D vzorku připraveného s přidavkem polyvinylalkoholu



Obrázek 26 - Rozložení velikosti pórů ve 3D vzorku připraveného 20% inokulací

5 ZÁVĚR

Bakteriální celulóza je v současné době díky široké škále modifikací perspektivním materiálem se širokým využitím. Hlavním omezením je však nízká produkce BC jednotlivými kmeny a základními metodami. Tato diplomová práce byla cílená právě na zvýšení produkce a možnost produkce 3D vzorků bakteriální celulózy.

Zvýšení produkce bylo dosaženo hned několika způsoby. Prvním způsobem byla kultivace s využitím acetátového pufru. Tato metoda přinesla zvýšení o 4,6 %. Druhou metodou byl přidavek 1 % oleje na povrch média, který zvýšil produkci o 19,4 %. Další metodou bylo využití aerace média. Aktivní aerace vnějším zdrojem vedla ke zvýšení o 234,5 %. Byl také zkoumán způsob kultivace ze statické vsádkové na statickou fed-batch kultivaci. Tento krok vedl ke zvýšení produkce o 22,2 %.

Všechny zmíněné způsoby poté byly kombinovány pro co nejvyšší produkci BC. Produkci BC v acetátovém pufru o pH=4,8 s přídavkem oleje bohužel nebylo dosaženo zvýšení produkce, naopak došlo k jejímu snížení. Další zvýšení této produkce je stále možné, jde například o využití jiného sacharidického zdroje jako jsou potravinářské odpady. Tím by došlo i ke snížení ceny produkce BC a zvýšil se její konkurenceschopnost k dalším materiálům.

Další část této práce se poté věnovala produkci 3D vzorků bakteriální celulózy. Opakovaně bylo připraveno několik 3D vzorků se stálými vlastnostmi. Bohužel zvolený kmen *K. xylinus* za zvolených podmínek neměl dostatečnou rychlost růstu pro zpevnění zpěněného média. Opakovaně však byly úspěšně připraveny vzorky s využitím fed-batch kultivace v kombinaci s přídavkem PVA do média. Vzorky připravené s CaCO₃ naopak měly při čištění tendenci jej uvolňovat, což vedlo k postupné ztrátě pevnosti a tvaru. Byly však také připraveny vzorky 3D gelů BC o výšce několika centimetrů, které se doposud nepodařilo připravit.

Připravené vzorky byly následně analyzovány z hlediska schopnosti absorbovat vodu. Tato schopnost má největší uplatnění v medicíně. Nejlepší schopnost v tomto ohledu vykazovaly vzorky připravené metodou modifikace média pomocí acetátového pufru, kdy vzorky absorbovaly 2525 % své hmotnosti. Ostatní vzorky byly stále schopny zadržovat stonásobky své hmotnosti. Vzorky připravené v médiu přídavkem oleje zadržovaly 1228 % a vzorky připravené kultivací v klasickém Hestrin-Schrammově médiu byly schopny absorbovat 1445 % své hmotnosti. Tyto výsledky tedy ukazují jasné možnosti uplatnění bakteriální celulózy v medicíně jako nosič léků.

Tato práce přinesla zajímavé výsledky, hlavně co se týče produkce 3D vzorků. V této práci byly připraveny 3D vzorky o různé pórovitosti, tedy i s různým využitím jako například nosiče léků nebo jako filtračního materiálu. Tyto vzorky také vykazují výšku až 2 cm, což je výrazný posun oproti statické kultivaci, kdy tato výška dosahuje přibližně 100–300 μm. Do budoucna je u těchto vzorků jistě potřeba stanovit reologické a mechanické vlastnosti. Tyto vzorky by pak mohly nalézt využití právě pro transport léků nebo imobilizaci enzymů.

Výsledky této práce tedy ukazují, že bakteriální celulóza je zajímavým materiálem a její další výzkum rozhodně má budoucnost. Pokud se její cena bude snižovat, což souvisí i se zvyšováním její produkce, její dostupnost bude nadále vzrůstat a její využití je opravdu široké.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] RAJWADE, J., K. PAKNIKAR a J. KUMBHAR. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015, **99**(6), 2491-2511. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-015-6426-3
- [2] RUKA, Dianne, George SIMON a Katherine DEAN. Altering the growth conditions of *Gluconacetobacter xylinus* to maximize the yield of bacterial cellulose. *Carbohydrate Polymers*. 2012, **89**(2), 613-622. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2012.03.059
- [3] MARSH, Alan, Orla O'SULLIVAN, Colin HILL, R. ROSS a Paul COTTER. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*. 2014, **38**, 171-178. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2013.09.003
- [4] REINIATI, Isabela, Andrew HRYMAK a Argyrios MARGARITIS. Recent developments in the production and applications of bacterial cellulose fibers and nanocrystals. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2016, **37**(4), 510-524. ISSN 0738-8551. Dostupné z: doi:10.1080/07388551.2016.1189871
- [5] AZEREDO, Henriette, Hernane BARUD, Cristiane FARINAS, Vanessa VASCONCELLOS a Amanda CLARO. Bacterial Cellulose as a Raw Material for Food and Food Packaging Applications. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2019, **3**. ISSN 2571-581X. Dostupné z: doi:10.3389/fsufs.2019.00007
- [6] LIN, Shin-Ping, Iris LOIRA CALVAR, Jeffrey CATCHMARK, Je-Ruei LIU, Ali DEMIRCI a Kuan-Chen CHENG. Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose*. 2013, **20**(5), 2191-2219. ISSN 0969-0239. Dostupné z: doi:10.1007/s10570-013-9994-3
- [7] GORGIEVA, a TRČEK. Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials* [online]. 2019, **9**(10) [cit. 2021-07-25]. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano9101352
- [8] STRÍŽ, Radim. *Studium produkce bakteriální celulózy za využití hroznových výlisků jako uhlíkového zdroje*. Brno, 2019. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Doc. Ing. Kovalčík Adriána.
- [9] NG, Hon-Meng, Lee SIN, Tiam-Ting TEE, Soo-Tueen BEE, David HUI, Chong-Yu LOW a A.R. RAHMAT. Extraction of cellulose nanocrystals from plant sources for application as reinforcing agent in polymers. *Composites Part B: Engineering*. 2015, **75**, 176-200. ISSN 13598368. Dostupné z: doi:10.1016/j.compositesb.2015.01.008

- [10] LYND, Lee, Paul WEIMER, Willem VAN ZYL a Isak PRETORIUS. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2002, **66**(3), 506-577. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.66.3.506-577.2002
- [11] NISHI, Y., M. URYU, S. YAMANAKA, K. WATANABE, N. KITAMURA, M. IGUCHI a S. MITSUHASHI. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. *Journal of Materials Science*. 1990, **25**(6), 2997-3001. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1007/BF00584917
- [12] SZYMAŃSKA-CHARGOT, Monika, Justyna CYBULSKA a Artur ZDUNEK. Sensing the Structural Differences in Cellulose from Apple and Bacterial Cell Wall Materials by Raman and FT-IR Spectroscopy. *Sensors*. 2011, **11**(6), 5543-5560. ISSN 1424-8220. Dostupné z: doi:10.3390/s110605543
- [13] GENET, Marie, Alexia STOKES, Franck SALIN, Slobodan MICKOVSKI, Thierry FOURCAUD, Jean-François DUMAIL a Rens VAN BEEK. The Influence of Cellulose Content on Tensile Strength in Tree Roots. *Plant and Soil*. 2005, **278**(1-2), 1-9. ISSN 0032-079X. Dostupné z: doi:10.1007/s11104-005-8768-6
- [14] PARK, Sunkyu, John BAKER, Michael HIMMEL, Philip PARILLA a David JOHNSON. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*. 2010, **3**(1). ISSN 1754-6834. Dostupné z: doi:10.1186/1754-6834-3-10
- [15] KLEMM, Dieter, Brigitte HEUBLEIN, Hans-Peter FINK a Andreas BOHN. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *Angewandte Chemie International Edition*. 2005, **44**(22), 3358-3393. ISSN 1433-7851. Dostupné z: doi:10.1002/anie.200460587
- [16] TAHARA, Naoki, Mari TABUCHI, Kunihiro WATANABE, Hisato YANO, Yasushi MORINAGA a Fumihiro YOSHINAGA. Degree of Polymerization of Cellulose from *Acetobacter xylinum* BPR2001 Decreased by Cellulase Produced by the Strain. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2014, **61**(11), 1862-1865. ISSN 0916-8451. Dostupné z: doi:10.1271/bbb.61.1862
- [17] HESTRIN, S., M. ASCHNER a J. MAGER. Synthesis of Cellulose by Resting Cells of *Acetobacter xylinum*. *Nature*. 1947, **159**(4028), 64-65. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/159064a0
- [18] SHI, Zhijun, Yue ZHANG, Glyn PHILLIPS a Guang YANG. Utilization of bacterial cellulose in food. *Food Hydrocolloids*. 2014, **35**, 539-545. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2013.07.012

- [19] ZAHAN, Khairul, Khairul PA'E a Ida MUHAMAD. Production of Biopolymer from *Acetobacter xylinum* Using Different Fermentation Methods. *International Journal of Engineering & Technology IJET-IJENS*. 2011, **11**(5), 90-95.
- [20] HORNUNG, M., M. LUDWIG a H. P. SCHMAUDER. Optimizing the Production of Bacterial Cellulose in Surface Culture: A Novel Aerosol Bioreactor Working on a Fed Batch Principle (Part 3). *Engineering in Life Sciences*. 2007, **7**(1), 35-41. ISSN 16180240. Dostupné z: doi:10.1002/elsc.200620164
- [21] WU, Sheng-Chi a Meng-Hsun LI. Production of bacterial cellulose membranes in a modified airlift bioreactor by *Gluconacetobacter xylinus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2015, **120**(4), 444-449. ISSN 13891723. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiosc.2015.02.018
- [22] WANG, Jing, Javad TAVAKOLI a Youhong TANG. Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review. *Carbohydrate Polymers*. 2019, **219**, 63-76. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2019.05.008
- [23] SHAH, Nasrullah, Mazhar UL-ISLAM, Waleed KHATTAK a Joong PARK. Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. *Carbohydrate Polymers*. 2013, **98**(2), 1585-1598. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2013.08.018
- [24] FERNANDES, Isabela, Alessandra PEDRO, Valéria RIBEIRO, Débora BORTOLINI, Mellany OZAKI, Giselle MACIEL a Charles HAMINIUK. Bacterial cellulose: From production optimization to new applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020, **164**, 2598-2611. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.255
- [25] ROL, Fleur, Mohamed BELGACEM, Alessandro GANDINI a Julien BRAS. Recent advances in surface-modified cellulose nanofibrils. *Progress in Polymer Science*. 2019, **88**, 241-264. ISSN 00796700. Dostupné z: doi:10.1016/j.progpolymsci.2018.09.002
- [26] PORTELA, Raquel, Catarina LEAL, Pedro ALMEIDA a Rita SOBRAL. Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications. *Microbial Biotechnology*. 2019, **12**(4), 586-610. ISSN 1751-7915. Dostupné z: doi:10.1111/1751-7915.13392
- [27] PETERSEN, Nathan a Paul GATENHOLM. Bacterial cellulose-based materials and medical devices: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011, **91**(5), 1277-1286. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-011-3432-y
- [28] ESGUERRA, Maricris, Helen FINK, Matthias LASCHKE, Anders JEPPSSON, Dick DELBRO, Paul GATENHOLM, Michael MENDER a Bo RISBERG. Intravital

fluorescent microscopic evaluation of bacterial cellulose as scaffold for vascular grafts. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2009, **9999**, -. ISSN 15493296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.32516

- [29] NIYAZBEKOVA, Zh.T., G.Zh. NAGMETOVA a A.A. KURMANBAYEV. AN OVERVIEW OF BACTERIAL CELLULOSE APPLICATIONS. *Biotechnology. Theory and practice*. 2018. ISSN 10289399. Dostupné z: doi:10.11134/btp.2.2018.3
- [30] MAURER, Kristina, Miriam RENKERT, Malte DUIS, Christel WEISS, Lucas WESSEL a Bettina LANGE. *Burns*. 2021. ISSN 03054179. Dostupné z: doi:10.1016/j.burns.2021.07.002
- [31] TROVATTI, Eliane, Carmen FREIRE, Pedro PINTO, Isabel ALMEIDA, Paulo COSTA, Armando SILVESTRE, Carlos NETO a Catarina ROSADO. Bacterial cellulose membranes applied in topical and transdermal delivery of lidocaine hydrochloride and ibuprofen: In vitro diffusion studies. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, **435**(1), 83-87. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2012.01.002
- [32] ULLAH, Hanif, Hélder SANTOS a Taous KHAN. Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery. *Cellulose*. 2016, **23**(4), 2291-2314. ISSN 0969-0239. Dostupné z: doi:10.1007/s10570-016-0986-y
- [33] WEI, Bin, Guang YANG a Feng HONG. Preparation and evaluation of a kind of bacterial cellulose dry films with antibacterial properties. *Carbohydrate Polymers*. 2011, **84**(1), 533-538. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2010.12.017
- [34] KAPLAN, Engin, Tuncay INCE, Esmâ YORULMAZ, Fadile YENER, Ersan HARPÜTLÜ a Nelisa LAÇIN. Controlled Delivery of Ampicillin and Gentamycin from Cellulose Hydrogels and Their Antibacterial Efficiency. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*. 2014, **4**(7), 543-549. ISSN 21579083. Dostupné z: doi:10.1166/jbt.2014.1198
- [35] PAVALOIU, Ramona-Daniela, Anicuta STOICA, Marta STROESCU a Tanase DOBRE. Controlled release of amoxicillin from bacterial cellulose membranes. *Open Chemistry*. 2014, **12**(9), 962-967. ISSN 2391-5420. Dostupné z: doi:10.2478/s11532-014-0541-3
- [36] SASKA, S., H. BARUD, A. GASPAR, R. MARCHETTO, S. RIBEIRO a Y. MESSADDEQ. Bacterial Cellulose-Hydroxyapatite Nanocomposites for Bone Regeneration. *International Journal of Biomaterials*. 2011, **2011**, 1-8. ISSN 1687-8787. Dostupné z: doi:10.1155/2011/175362
- [37] LUZ, Erika, Bruna DAS CHAGAS, Natália DE ALMEIDA et al. Resorbable bacterial cellulose membranes with strontium release for guided bone regeneration. *Materials Science and Engineering: C*. 2020, **116**. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2020.111175

- [38] LEE, Chang, Kuan HSU, Jun CHO, Youn KIM a Sang HAN. *COSMETIC BIO-CELLULOSE MASK PACK SHEET AND METHOD FOR MANUFACTURING SAME*. Uděleno 2013.
- [39] WANG, Xin, Jing TANG, Jihong HUANG a Ming HUI. Production and characterization of bacterial cellulose membranes with hyaluronic acid and silk sericin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2020, **195**. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2020.111273
- [40] SANTOS, Sara, José CARBAJO, Nuria GÓMEZ, Ester QUINTANA, Miguel LADERO, Arsenio SÁNCHEZ, Gary CHINGA-CARRASCO a Juan VILLAR. Use of bacterial cellulose in degraded paper restoration. Part I: application on model papers. *Journal of Materials Science*. 2016, **51**(3), 1541-1552. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1007/s10853-015-9476-0
- [41] YAMANAKA, S., K. WATANABE, N. KITAMURA, M. IGUCHI, S. MITSUHASHI, Y. NISHI a M. URYU. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. *Journal of Materials Science*. 1989, **24**(9), 3141-3145. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1007/BF01139032
- [42] VANDAMME, E.J., S. DE BAETS, A. VANBAELEN, K. JORIS a P. DE WULF. Improved production of bacterial cellulose and its application potential. *Polymer Degradation and Stability*. 1998, **59**(1-3), 93-99. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/S0141-3910(97)00185-7
- [43] OKIYAMA, Atsushi, Masao MOTOKI a Shigeru YAMANAKA. Bacterial cellulose IV. Application to processed foods. *Food Hydrocolloids*. 1993, **6**(6), 503-511. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/S0268-005X(09)80074-X
- [44] Nápoj Nata de coco, nápoje. In: [Http://natadecoco.sk](http://natadecoco.sk) [online]. [cit. 2021-07-26]. Dostupné z: <http://natadecoco.sk>
- [45] JAYANI, T., B. SANJEEV, S. MARIMUTHU a Sivakumar UTHANDI. Bacterial Cellulose Nano Fiber (BCNF) as carrier support for the immobilization of probiotic, *Lactobacillus acidophilus* 016. *Carbohydrate Polymers*. 2020, **250**. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2020.116965
- [46] GREGORY, David, Lakshmi TRIPATHI, Annabelle FRICKER, Emmanuel ASARE, Isabel ORLANDO, Vijayendran RAGHAVENDRAN a Ipsita ROY. Bacterial cellulose: A smart biomaterial with diverse applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2021, **145**. ISSN 0927796X. Dostupné z: doi:10.1016/j.mser.2021.100623
- [47] LAVASANI, Paria, Elahe MOTEVASELI, Nafiseh SANIKHANI a Mohammad MODARRESSI. *Komagataeibacter xylinus* as a novel probiotic candidate with high

- glucose conversion rate properties. *Heliyon*. 2019, **5**(4). ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2019.e01571
- [48] TOMÉ, Liliana, Lúcia BRANDÃO, Adélio MENDES, Armando SILVESTRE, Carlos NETO, Alessandro GANDINI, Carmen FREIRE a Isabel MARRUCHO. Preparation and characterization of bacterial cellulose membranes with tailored surface and barrier properties. *Cellulose*. 2010, **17**(6), 1203-1211. ISSN 0969-0239. Dostupné z: doi:10.1007/s10570-010-9457-z
- [49] XIE, Yumei, Xuening NIU, Jingwen YANG, Runze FAN, Jiahao SHI, Niamat ULLAH, Xianchao FENG a Lin CHEN. Active biodegradable films based on the whole potato peel incorporated with bacterial cellulose and curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020, **150**, 480-491. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.01.291
- [50] JIPA, Iuliana, Anicuta STOICA-GUZUN a Marta STROESCU. Controlled release of sorbic acid from bacterial cellulose based mono and multilayer antimicrobial films. *LWT*. 2012, **47**(2), 400-406. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2012.01.039
- [51] CAY, Ahmet, Işık TARAKÇI OĞLU a Arif HEPBASLI. Assessment of finishing processes by exhaustion principle for textile fabrics: An exergetic approach. *Applied Thermal Engineering*. 2009, **29**(11-12), 2554-2561. ISSN 13594311. Dostupné z: doi:10.1016/j.applthermaleng.2008.12.032
- [52] Handbag. In: *ScobyTec* [online]. [cit. 2020-11-29]. Dostupné z: <http://scobytec.com/portfolio/handbag>
- [53] DHAR, Prodyut, Bruna PRATTO, Antonio GONÇALVES CRUZ a Sandip BANKAR. Valorization of sugarcane straw to produce highly conductive bacterial cellulose / graphene nanocomposite films through in situ fermentation: Kinetic analysis and property evaluation. *Journal of Cleaner Production*. 2019, **238**. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2019.117859
- [54] PARK, Minsung, Dajung LEE, Sungchul SHIN, Hyun-Joong KIM a Jinho HYUN. Flexible conductive nanocellulose combined with silicon nanoparticles and polyaniline. *Carbohydrate Polymers*. 2016, **140**, 43-50. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2015.12.046
- [55] TUUKKANEN, Sampo a Satu RAJALA. Nanocellulose as a Piezoelectric Material. *Piezoelectricity - Organic and Inorganic Materials and Applications*. InTech, 2018. ISBN 978-1-78923-646-0. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.77025
- [56] WU, Sheng-Chi a Ying-Ke LIA. Application of bacterial cellulose pellets in enzyme immobilization. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2008, **54**(3-4), 103-108. ISSN 13811177. Dostupné z: doi:10.1016/j.molcatb.2007.12.021

- [57] WEI, Jiabin, Baoxiu WANG, Zhe LI et al. A 3D-printable TEMPO-oxidized bacterial cellulose/alginate hydrogel with enhanced stability via nanoclay incorporation. *Carbohydrate Polymers*. 2020, **238**. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2020.116207
- [58] SCHAFFNER, Manuel, Patrick RÜHS, Fergal COULTER, Samuel KILCHER a André STUDART. 3D printing of bacteria into functional complex materials. *Science Advances*. 2017, **3**(12). ISSN 2375-2548. Dostupné z: doi:10.1126/sciadv.aao6804
- [59] SHIN, Sungchul, Hojung KWAK, Donghyeok SHIN a Jinho HYUN. Solid matrix-assisted printing for three-dimensional structuring of a viscoelastic medium surface. *Nature Communications*. 2019, **10**(1). ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-019-12585-9
- [60] BLANCO PARTE, Francisco, Shella SANTOSO, Chih-Chan CHOU, Vivek VERMA, Hsueh-Ting WANG, Suryadi ISMADJI a Kuan-Chen CHENG. Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020, **40**(3), 397-414. ISSN 0738-8551. Dostupné z: doi:10.1080/07388551.2020.1713721
- [61] VITTA, Satish, Marc DRILLON a A. DERORY. Magnetically responsive bacterial cellulose: Synthesis and magnetic studies. *Journal of Applied Physics*. 2010, **108**(5). ISSN 0021-8979. Dostupné z: doi:10.1063/1.3476058
- [62] WANG, Wei, Tai-Ji ZHANG, De-Wen ZHANG, Hong-Yi LI, Yu-Rong MA, Li-Min QI, Ying-Lin ZHOU a Xin-Xiang ZHANG. Amperometric hydrogen peroxide biosensor based on the immobilization of heme proteins on gold nanoparticles–bacteria cellulose nanofibers nanocomposite. *Talanta*. 2011, **84**(1), 71-77. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2010.12.015
- [63] SONG, Lian, Lian SHU, Yaquan WANG, Xiong-Fei ZHANG, Zhongguo WANG, Yi FENG a Jianfeng YAO. Metal nanoparticle-embedded bacterial cellulose aerogels via swelling-induced adsorption for nitrophenol reduction. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020, **143**, 922-927. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.09.152
- [64] FERNANDES, Susana, Patrizia SADOCCO, Ana ALONSO-VARONA, Teodoro PALOMARES, Arantxa ECEIZA, Armando SILVESTRE, Iñaki MONDRAGON a Carmen FREIRE. *Bioinspired Antimicrobial and Biocompatible Bacterial Cellulose Membranes Obtained by Surface Functionalization with Aminoalkyl Groups*. 2013, **5**(8), 3290-3297. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/am400338n
- [65] POURALI, Parastoo, Behrooz YAHYAEI, Hatef AJOUDANIFAR, Rahele TAHERI, Hassan ALAVI a Ashraf HOSEINI. Impregnation of the Bacterial Cellulose Membrane

- with Biologically Produced Silver Nanoparticles. *Current Microbiology*. 2014, **69**(6), 785-793. ISSN 0343-8651. Dostupné z: doi:10.1007/s00284-014-0655-z
- [66] DEHNAD, Danial, Habibollah MIRZAEI, Zahra EMAM-DJOMEH, Seid-Mahdi JAFARI a Saeed DADASHI. Thermal and antimicrobial properties of chitosan–nanocellulose films for extending shelf life of ground meat. *Carbohydrate Polymers*. 2014, **109**, 148-154. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2014.03.063
- [67] LUO, Honglin, Haiyong AO, Gen LI, Wei LI, Guangyao XIONG, Yong ZHU a Yizao WAN. Bacterial cellulose/graphene oxide nanocomposite as a novel drug delivery system. *Current Applied Physics*. 2017, **17**(2), 249-254. ISSN 15671739. Dostupné z: doi:10.1016/j.cap.2016.12.001
- [68] VOLOVA, T.G., A.A. SHUMILOVA, E.D. NIKOLAEVA, A.K. KIRICHENKO a E.I. SHISHATSKAYA. Biotechnological wound dressings based on bacterial cellulose and degradable copolymer P(3HB/4HB). *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019, **131**, 230-240. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.03.068
- [69] CHAIYASAT, Amorn, Sirinard JEARANAI, Lew CHRISTOPHER a Md ALAM. Novel superabsorbent materials from bacterial cellulose. *Polymer International*. 2019, **68**(1), 102-109. ISSN 09598103. Dostupné z: doi:10.1002/pi.5701
- [70] CIECHOLEWSKA-JUŚKO, Daria, Anna ŻYWICKA, Adam JUNKA et al. Superabsorbent crosslinked bacterial cellulose biomaterials for chronic wound dressings. *Carbohydrate Polymers*. 2021, **253**. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2020.117247
- [71] BALDINO, Lucia, Simona ZUPPOLINI, Stefano CARDEA, Laura DIODATO, Anna BORRIELLO, Ernesto REVERCHON a Luigi NICOLAIS. Production of biodegradable superabsorbent aerogels using a supercritical CO₂ assisted drying. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2020, **156**. ISSN 08968446. Dostupné z: doi:10.1016/j.supflu.2019.104681
- [72] FIJAŁKOWSKI, Karol, Anna ŻYWICKA, Radosław DROZD et al. Increased water content in bacterial cellulose synthesized under rotating magnetic fields. *Electromagnetic Biology and Medicine*. 2016, **36**(2), 192-201. ISSN 1536-8378. Dostupné z: doi:10.1080/15368378.2016.1243554
- [73] PAXIMADA, Paraskevi, Eleni DIMITRAKOPOULOU, Erminda TSOUKO, Apostolos KOUTINAS, C. FASSEAS a Ioanna MANDALA. Structural modification of bacterial cellulose fibrils under ultrasonic irradiation. *Carbohydrate Polymers*. 2016, **150**, 5-12. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2016.04.125
- [74] ÁVILA RAMÍREZ, Jhon, Catalina GÓMEZ HOYOS, Silvana ARROYO, Patricia CERRUTTI a María FORESTI. Acetylation of bacterial cellulose catalyzed by citric acid:

Use of reaction conditions for tailoring the esterification extent. *Carbohydrate Polymers*. 2016, **153**, 686-695. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2016.08.009

- [75] MORALES-NARVÁEZ, Eden, Hamed GOLMOHAMMADI, Tina NAGHDI, Hossein YOUSEFI, Uliana KOSTIV, Daniel HORÁK, Nahid POURREZA a Arben MERKOÇI. Nanopaper as an Optical Sensing Platform. *ACS Nano*. 2015, **9**(7), 7296-7305. ISSN 1936-0851. Dostupné z: doi:10.1021/acsnano.5b03097
- [76] LOPES, Tatyane, Izabel RIEGEL-VIDOTTI, Aline GREIN, Cesar TISCHER a Paula FARIA-TISCHER. Bacterial cellulose and hyaluronic acid hybrid membranes: Production and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014, **67**, 401-408. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.03.047
- [77] MARTÍNEZ ÁVILA, Héctor, Eva-Maria FELDMANN, Mieke PLEUMEEKERS et al. Novel bilayer bacterial nanocellulose scaffold supports neocartilage formation in vitro and in vivo. *Biomaterials*. 2015, **44**, 122-133. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2014.12.025
- [78] SASKA, Sybele, Lucas TEIXEIRA, Larissa DE CASTRO RAUCCI et al. Nanocellulose-collagen-apatite composite associated with osteogenic growth peptide for bone regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017, **103**, 467-476. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.05.086
- [79] KESKIN, Zalike, Aylin SENDEMIR URKMEZ a E. HAMES. Novel keratin modified bacterial cellulose nanocomposite production and characterization for skin tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*. 2017, **75**, 1144-1153. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2017.03.035
- [80] WEI, Haoran, Katia RODRIGUEZ, Scott RENNECKAR, Weinan LENG a Peter VIKESLAND. Preparation and evaluation of nanocellulose-gold nanoparticle nanocomposites for SERS applications. *The Analyst*. 2015, **140**(16), 5640-5649. ISSN 0003-2654. Dostupné z: doi:10.1039/C5AN00606F
- [81] MONIRI, Mona, Amin BOROUMAND MOGHADDAM, Susan AZIZI, Raha ABDUL RAHIM, Wan ZUHAINIS SAAD, Mohammad NAVADERI, Palanisamy ARULSELVAN a Rosfarizan MOHAMAD. Molecular study of wound healing after using biosynthesized BNC/Fe₃O₄ nanocomposites assisted with a bioinformatics approach. *International Journal of Nanomedicine*. 2018, **13**, 2955-2971. ISSN 1178-2013. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S159637
- [82] ŻYWICKA, Anna, Adam JUNKA, Patrycja SZYMCZYK, Grzegorz CHODACZEK, Jakub GRZESIAK, Parish SEDGHIZADEH a Karol FIJAŁKOWSKI. Bacterial cellulose yield increased over 500% by supplementation of medium with vegetable oil. *Carbohydrate Polymers*. 2018, **199**, 294-303. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2018.06.126

- [83] KUO, Chia-Hung, Jing-Hua CHEN, Bo-Kang LIOU a Cheng-Kang LEE. Utilization of acetate buffer to improve bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Food Hydrocolloids*. 2016, **53**, 98-103. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2014.12.034
- [84] DUBEY, Swati, Jyoti SINGH a R.P. SINGH. Biotransformation of sweet lime pulp waste into high-quality nanocellulose with an excellent productivity using *Komagataeibacter europaeus* SGP37 under static intermittent fed-batch cultivation. *Bioresource Technology*. 2018, **247**, 73-80. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2017.09.089
- [85] RÜHS, Patrick, Flavian STORZ, Yuly LÓPEZ GÓMEZ, Matthias HAUG a Peter FISCHER. 3D bacterial cellulose biofilms formed by foam templating. *Npj Biofilms and Microbiomes*. 2018, **4**(1). ISSN 2055-5008. Dostupné z: doi:10.1038/s41522-018-0064-3
- [86] VASCONCELOS, Niédja Fittipaldi, Judith Pessoa Andrade FEITOSA, Francisco Miguel Portela DA GAMA, João Paulo Saraiva MORAIS, Fábila Karine ANDRADE, Men de Sá Moreira DE SOUZA FILHO a Morsyleide de Freitas ROSA. Bacterial cellulose nanocrystals produced under different hydrolysis conditions: Properties and morphological features. *Carbohydrate Polymers*. 2017, **155**, 425-431. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2016.08.090
- [87] SWORN, G. Xanthan gum. *Handbook of Hydrocolloids*. Elsevier, 2009, , 186-203. ISBN 9781845694142. Dostupné z: doi:10.1533/9781845695873.186

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

UV	ultrafialový
BC	bakteriální celulóza
BC-HA	kompozit bakteriální celulózy a hydroxyapatitu
P(3HB/4HB)	Poly(3-hydroxybutyrát-ko-4-hydroxybutyrát)
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxylový radikál
RGO	redukovaný oxid grafenu
SERS	Surface-enhance Raman spectroscopy
PVA	polyvinylalkohol
HS	Hestrin-Schrammovo médium
AP	acetátový pufr