



UNIVERZITET U
KRAGUJEVCU
AGRONOMSKI FAKULTET U
ČAČKU



UNIVERSITY OF
KRAGUJEVAC
FACULTY OF
AGRONOMY
CACAK

XXVI SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI

sa međunarodnim učešćem

- ZBORNIK RADOVA -



Čačak, 12 - 13. mart 2021. godine

**XXVI SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI
sa međunarodnim učešćem**

- Z b o r n i k r a d o v a -

ORGANIZATOR I IZDAVAČ

**Univerzitet u Kragujevcu,
Agronomski fakultet u Čačku**

Organizacioni odbor

Prof. dr Milun Petrović, prof. dr Ljiljana Bošković-Rakočević, dr Duško Brković, spec. dr vet. med Miloš Petrović, dipl. inž. Miloš Marjanović

Programski odbor

Dr Vladimir Kurćubić, vanredni profesor, prof. dr Tomo Milošević, prof. dr Snežana Bogosavljević-Bošković, prof. dr Radojica Đoković, prof. dr Goran Dugalić, prof. dr Biljana Veljković, prof. dr Milena Đurić, prof. dr Milomirka Madić, prof. dr Leka Mandić, prof. dr Drago Milošević, prof. dr Aleksandar Paunović, prof. dr Lenka Ribić-Zelenović, prof. dr Vladeta Stevović, prof. dr Gordana Šekularac, dr Goran Marković, vanredni profesor, dr Pavle Mašković, vanredni profesor, dr Gorica Paunović, vanredni profesor, dr Snežana Tanasković, vanredni profesor, dr Mlađan Garić, vanredni profesor, dr Tomislav Trišović, vanredni profesor, dr Jelena Mašković, vanredni profesor, dr Jelena Mladenović, vanredni profesor, dr Vladimir Dosković, vanredni profesor, dr Ivan Glišić, docent, dr Dragan Vujić, docent, dr Marko Petković, docent, dr Nemanja Miletić, docent, dr Igor Đurović, docent, dr Simeon Rakonjac, docent, dr Dalibor Tomić, docent, dr Ranko Koprivica, docent, dr Mirjana Radovanović, docent, dr Milan Lukić, viši naučni saradnik

Tehnički urednici

Spec. dr vet. med Miloš Petrović, dipl.inž. Dušan Marković

Tiraž: 100 primeraka

Štampa

Štamparija Birograf Comp, 11080 Beograd

Godina izdavanja, 2021

SINTEZA I STRUKTURA BAKTERIJSKE CELULOZE PRIMENOM BAKTERIJA SIRĆETNOG VRENJA

Aleksandra Janićijević¹, Suzana Filipović², Vladimir B. Pavlović³, Aleksandra Sknepnek⁴, Danijela Kovačević¹, Nenad Đorđević¹, Miljana Mirković⁵, Predrag Živković⁶

Izvod: Kao jedan od najzastupljenijih biopolimera na Zemlji, celuloza je našla primenu u prehrambenoj industriji, biomedicini i biotehnologiji. Dobijanje celuloznih vlakana iz biljaka je praćeno prisustvom nusproizvoda, čije je uklanjanje zahtevan proces. Stoga, materijali na bazi bakterijske nanoceluloze (BCN), nalaze sve širu primenu u svakodnevnici. Imajući u vidu prednosti BCN, u ovom radu su ispitivane promene u strukturi i morfologiji BCN u funkciji parametara sinteze. Analiziran je uticaj vrste i zapremine medijuma, kao i dužine prečišćavanja u NaOH, na promene u prinosu i strukturi BCN. Navedene promene su ispitivane metodama XRD, FTIR, kao i primenom SEM i EDS analize.

Ključne reči: bakterijska celuloza, kombuha, bakterije sirćetnog vrenja, SEM, XRD.

Uvod

Kao sastavni deo biljaka, nekih rodova bakterija, algi i gljiva, celuloza predstavlja biopolimer koji je veoma rasprostranjen i zastupljen u najrazličitijim oblastima svakodnevnog života (Siro i Plackett, 2010). Koristi se u pripremi kozmetičkih preparata, proizvodnji i preradi hrane, elektronici, tekstilnoj industriji, proizvodnji papira, antimikrobnim oblogama, membranama za slušalice, optičkim senzorima, itd. (Gama i sar., 2013.). Za mnoge od navedenih oblasti primene celuloze bitan je faktor njene „čistoće“. Postoje dva najznačajnija i najčistija izvora dobijanja celuloznih vlakana, a to su biljna celuloza (BC) i bakterijska celuloza (BCN). Međutim, dobijanje celuloznih vlakana iz biljaka predstavlja dugotrajan i ekološki štetan proces, jer se sporedne komponente koje ona sadrži (ligin, hemiceluloza, pektin i inulin) uklanjaju hemijskim procesom hidrolize jakim kiselinama (Sun, 2008). Takođe povećanje potražnje za derivatima BC povećava i potrošnju drveta kao sirovine, što dovodi do krčenja šuma i nastajanja globalnog ekološkog problema (Park i sar., 2003). S druge strane kada je

¹The Academy of Applied Technical Studies Belgrade, Belgrade, Serbia

²Institute of Technical Sciences of SASA, Belgrade, Serbia

³University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia

⁴University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Institute for Food Technology and Biochemistry, Belgrade, Serbia

⁵Department of Material Science, "VINČA" Institute of Nuclear Sciences -National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

⁶University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy, 11120 Belgrade, Serbia

reč o BCN, to nije slučaj. Iako se po hemijskoj strukturi BC i BCN ne razlikuju, njihova makromolekulska struktura a samim tim i svojstva znatno se razlikuju (Nikolić, 2011).

BCN je potpuno (100%) čist izvor celuloznih vlakana, uz daleko povoljnije ekonomsko-ekološke faktore dobijanja. Jedinstvene karakteristike BCN se ogledaju u visokom stepenu hidrofilnosti, kristaličnosti, čistoći, sposobnosti zadržavanja vode, mehaničkoj trajnosti, biokompatibilnosti, netoksičnosti, itd. Ona pripada specifičnim proizvodima primarnog metabolizma bakterija koje pripadaju rodovima *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* i *Sarcina*. Dosadašnjim istraživanjima bakterijske celuloze ustanovljeno je da je najefikasniji proizvođač BNC-a Gram-negativna bakterija sirćetne kiseline vrste *Komagataeibacter xylinus* (prema najnovijoj klasifikaciji) (Jang i sar., 2019). Tu činjenicu potvrđuje i veliko broj radova u kojima su korišćene baš bakterije sirćetnog vrenja (BSV), prilikom sinteze BCN-e (Gama, Gatenholm, 2013; Huang i sar., 2019; Siro i Plackett, 2010; Shan-Shan, Yong-He, 2017). BSV se uglavnom izoluju iz poznatog tradicionalnog fermentisanog Kombuha napitka. Kombuha je u široj javnosti poznata i pod imenom čajna gljiva uprkos činjenici da ona nije gljiva u pravom smislu te reči. Čajna gljiva, kao simbiotska zajednica bakterija sirćetnog vrenja (rodova *Acetobacter* i *Gluconobacter*) i autohtonih vrsta kvasaca (rodova *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Torulaspora* i dr.), predstavlja radnu kulturu kombuha fermentacije (Konovalov i Semenova, 1955.; Greenwalt i sar., 2000.). Uloga kvasaca u ovoj zajednici je da enzimom invertazom (saharaza, β -fruktozidaza) hidrolizuju saharozu u podlozi za kultivaciju čajne gljive i tako je učine dostupnom bakterijama sirćetnog vrenja. Mikrobiološki sastav ove jedinstvene zajednice prokariotskih i eukariotskih mikroorganizama zavisi od porekla inokuluma za kombuha fermentaciju. Celulozna masa, koju tokom kultivacije stvaraju bakterije sirćetnog vrenja i koja pluta po površini fermentisane tečnosti, je verovatno i glavni razlog zašto se kombuha naziva „čajna gljiva“ (Stojanović i Janković, 1996.).

Zbog niza pogodnih svojstava, mogućnosti bioloških, fizičkih i hemijskih modifikacija BCN predstavlja materijal budućnosti. Za istraživanje prikazano u ovom radu, korišćene su bakterije sirćetnog vrenja (BSV), koje su prethodno izolovane iz kombuhe. Cilj ovoga rada je bio ispitati uticaj parametara kao što su vrsta i zapremina medijuma u kojem nastaje BCN i dužina tretiranja u NaOH na promene u strukturi, morfologiji i prinosu BCN.

Materijal i metode rada

Karakteristike radne kulture

Čajna gljiva tj. Kombuha, koja je korišćena kao radna kultura u cilju izolacije bakterija sirćetnog vrenja-producenata celuloze, potiče iz kolekcije kultura Katedre za tehnološku mikrobiologiju, Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Iz kulture su izolovane i identifikovane sledeće vrste i rodovi kvasaca:

Saccharomyces sp. i *Zygosaccharomyces* sp. Pored kvasaca identifikovan je i sojevi bakterija sirćetnog vrenja kao *Komagataeibacter* sp. i *Gluconobacter* sp.

Priprema inokuluma

Prvi medijum, YPM (yeast extract-peptone-mannitol), za sintezu BCN je bio bujon koji se sastojao od kvaščevog ekstrakta 5 g/L peptona 3 g/L i mannitola 25 g/L, dok je drugi Hestrin-Schramm (HS) medijum sadržao kvaščev ekstrakt 5 g/L, pepton 5 g/L, Na₂HPO₄ 2,7 g/L, limunska kiselina 1,15 g/L (Isabela R., Andrew N. 2017). Period gajenja BCN, sa neindentifikovanim bakterijama PA1, PA2, PA3 i PA4 (izolovanih kultura iz kombuhe) trajao je osam dana. Dobijeni filmovi su izmereni na analitičkoj vagi.

U drugom delu istraživanja kao medijum je korišćen YPM. Formiranje inokuluma podrazumevalo je zasejavanje bakterija sirćetnog vrenja iz štoka u sterilnim bujonima, različite zapremine. Proizvodnja celuloze odvijala se u osam erlenmajera od kojih je četiri bilo sa YPM podlogom od 100 mL, a preostali sa istom podlogom od 50 mL.

Period rasta filmova je trajao 12 dana na temperaturi od 25°C. Dobijeni su beličasti vlažni celulozni filmovi sa žutim mrljama (tragovima), koji potiču od ostateka bakterija kao i od same podloge. Uzorci su tretirani sa 100 mL 0.1 M NaOH u trajanju od 1 h na 90 °C radi prečišćavanja celuloznih filmova od ostateka podloge i bakterija. Prvi set uzoraka koji su rasli na 50 i 100 mL podloge i tretirani 1 h u NaOH obeležen je sa BCN1h50 i BCN1h100, istim redom. Set uzoraka koji je tretiran sa NaOH dodatnih 1 h, ukupno 2 h na 90°C, je obeležen sa BCN2h50 i BCN2h100. Nakon tretiranja u natrijum hidroksidu, usledilo je ispiranje destilovanom vodom do postizanja pH između 5 i 6, što je i potvrđeno merenjem pH vrednosti.

Masa svakog vlažnog celuloznog filma je izmerena, a uzorci su potom smešteni u petri šolje i odloženi na -80°C. Odlaganje na pomenutoj temperaturi trajalo je 24 h, što je predstavljalo predtretman za proces – liofilizacije, koja je izvršena na uređaju *Alpha 1-4 LSCplus – Martin Christ*. Liofilizacija je trajala 24 h, a kao rezultat su dobijeni čvrsti suvi celulozni filmovi.

Metode karakterizacije

XRD karakterizacija je izvršena snimanjem uzoraka u formi liofilizovanog filma na rendgenskom difraktometru zaprah marke *Ultima IV Rigaku*, koji je opremljen rendgenskom cevi bakarne (Cu) anode - CuK $\alpha_{1,2}$ zračenja. Snimanje je vršeno u opsegu od 5 ° do 60 °2θ, sa korakom 0,02° i brzinom snimanja 5 °min⁻¹ pomoću *D/TeX Ultra* brzog detektora. Za faznu identifikaciju i određivanje mikrostrukturnih parametara ispitivanih uzoraka korišćen je softver PDXL2 (Ver. 2.8.4.0). Infracrveni spektri sa Furijeovom transformacijom snimljeni su u transmisionom modu u opsegu od 400 do 4000 cm⁻¹. Korišćen je uređaj *Thermo Scientific Nicolet iS1*, čija je rezolucija 4 cm⁻¹. Morfologija vlakana BCN je praćena SEM i EDS analizom. Uzorci, u formi filma, su najpre naparavani zlatom u vremenskom intervalu od 100 s na 30 mA, na uređaju *Bal-tec SCD 005 Sputter*.

coater. Nakon pripreme, uzorci su snimani na skenirajućem elektronском mikroskopu *JEOL JSM-6390LV*. EDS analizom utvrđen elementarni sastav uzorka.

Rezultati istraživanja i diskusija

Radi ispitivanja uticaja medijuma u kojem nastaje BCN, prvi segment istraživanja se odnosio na merenje prinosa BCN nakon 8 dana biosinteze u dva različita medijuma (HS i YPM). Rezultati su prikazani u Tabeli 1., gde su date mase dobijenih celuloznih uzoraka. U pogledu samog prinosa proizvoda, YPM podloga je dala daleko bolje rezultate.

Tabela 1. Prinos vlažnih celuloznih filmova iz dve različite podloge

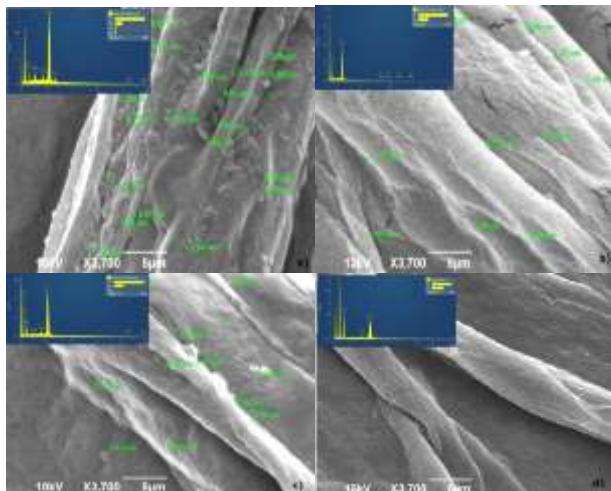
Table 1. Yield of wet cellulose fillings from two different media

Neidentifikovane vrste Unidentified species	PA1 ^a	PA2	PA3	PA4
YPM (prinos/yield)	16.6	4.8	8.9	13.2
HS (prinos/yield)	1.7	2	1.7	14

^aPA1, PA2, PA3, PA4 – neidentifikovani izolati bakterija sirčetnog vrenja iz kombuhe.

U podlozi sa glukozom (HS) nastaje manje celuloze usled stvaranja glukonske kiseline iz glukoze, što dovodi do pada pH vrednosti (Janković, 1995).

Uzimajući u obzir ostvarene prinose, u nastavku istraživanja korišćena je YPM podloga sa manitolom. Nakon 12 dana rasta I naknadne liofilizacije, zapaženo je da su mase liofilizovanih uzoraka daleko manje (za oko 98%) nego početne mase vlažnih uzoraka, što samo potvrđuje svojstvo izrazite hidrofilnosti i bubreњa celuloznog filma. Takođe je uočeno da zapremina podloge nema značajniji uticaj na prinos, podloga od 50 mL i duplo veća podloga od 100 mL imaju skoro identičan prinos finalnog proizvoda.



Slika 1. SEM-EDS prikaz uzoraka a)BCN1h50, b)BCN2h50, c)BCN1h100 i d)BCN2h100.

Picture 1.SEM and EDS of the samples a)BCN1h50, b)BCN2h50, c)BCN1h100 i d)BCN2h100.

Mikrostruktura celuloznih filmova prikazana je na Slici 1. Poređenjem uzoraka gajenih u različitim zapreminama podloge i tretiranih u 0,1M NaOH u različitim vremenskim intervalima, zapaženo je da svi imaju gusto isprepletana celulozna vlakana širine oko 2 um. Ovakav rezultat ukazuje da zapremina podloge nije imala značajaniji uticaj na prinos kao i na strukturni izgled vlakana. Kod uzoraka koji su kraći vremenski period tretirani u NaOH, zapaženo je postojanje sfernih čestica smeštenih između niti BNC. Radi utvrđivanja porekla ovih čestica na svim uzorcima je urađena EDS analiza, kojom su dodatno okarakterisane uočene promene.

Detektovano je da uzorci tretirani kraće u NaOH (BCN1h50 i BCN1h100) sadrže malu količinu Na, dok to nije slučaj sa uzorcima BCN2h50 i BCN2h100. Kod uzoraka koji su stajali 2h u 0.1M NaOH tokom procesa prečišćavanja, uočeno je stvranje „pene“, koja je posledica reakcije saponifikacije Na sa zaostalim mastima iz ćelija zida bakterija i podloge. Na taj način dolazi do naknadnog čišćenja nastale BCN.

Rendgenskom difrakcionom analizom dobijeni su rezultati prikazani na Slici 2. Identifikacija pikova izvršena je poređenjem dobijenih rezultata sa ICDD karticom broj 00-056-1718. Na predstavljenim graficima uočavaju se samo pikovi celuloze, bez prisustva sekundarne faze. Jedinjenja natrijuma koja su uočena EDS analizom, nisu detektovana na prikazanim difraktogramima zbog niske koncentracije, koja je ispod praga detekcije uređaja. Postojanje širokih pikova na položajima 14.5 i 22.7 2θ ukazuju na postojanje I_α i I_β kristalne faze nanoceluloze (Ceyhun, 2009).

Na osnovu podataka dobijenih rendgenskom difrakcijom izračunati su parametri veličine kristalita i odgovarajućih mikronaprezanja. Zapaženo je da se u manjoj zapremini stvaraju veći kristaliti (Tabela 2.). Dobijene vrednosti od 47 do 67 Å, ukazuju na postojanje kristalita izuzetno malih dimenzija. Mikronaprezanja unutar kristalne rešetke su uočljiva, što je svojevrsna potvrda postojanja izuzetno malih

kristalita, velike površine granica podzrna, kod kojih je mikronaprezanje izraženije. Najmanje naprezanje detektovano je za BCN koja je gajena u 100 ml podloge i naknadno tretirana dva sata u NaOH.

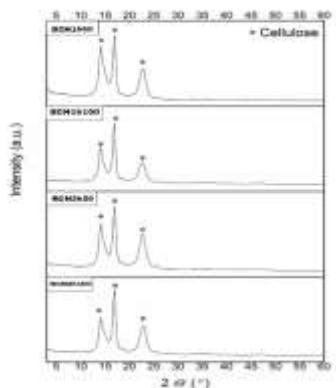


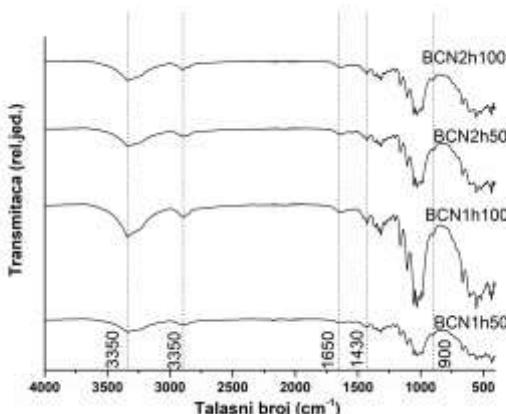
Tabela 2. Rezultati prikaza veličine kristalita i njihovih vrednosti naprezanja
Table 2. Results of crystallite size display and their stress values

Naziv uzorka Samplena me	Veličina kristalita (A) Crystallite size(A)	Mikronaprezanje Strain(%)
BCN1h50	55(23)	2.7(15)
BCN1h100	47(26)	3(2)
BCN2h50	67.67(12)	2.61(6)
BCN2h100	59(9)	1.5(7)

Slika 2 . Rendgenski difraktogrami sintetisanih uzoraka BCN.

Fig. 2. XRD patterns of the all four synthesized BCN samples.

Imajući u vidu da je FTIR spektroskopija posebno pogodna tehnika za analizu filmova na bazi organskih polimera, spektri svih ispitivanih BNC filmova su snimljeni i prikazani na Slici 3.



Slika 3. FTIR spektri uzoraka BCN1h50, BCN1h100, BCN2h50 i BCN2h100.

Fig.3. FTIR spectra of the samples BCN1h50, BCN1h100, BCN2h50 i BCN2h100.

Analizom spektara prikazanih na slici 3. uočeni su svi karakteristični modovi celuloze. Na talasnom broju $\sim 3350 \text{ cm}^{-1}$ detektovan je mod istežuće vibracije -OH grupe. Takođe, detektovane su i istežuće vibracije $-\text{CH}_2$ i $-\text{CH}_3$ grupa na $\sim 2900 \text{ cm}^{-1}$, kao i savijajuće vibracije -OH grupe na $\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$, što je i obeleženo na spektrima. Pikovi detektovani u opsegu od 1500 cm^{-1} do 1000 cm^{-1} , kao i

najintenzivniji pik na oko 1100 cm^{-1} ukazuju na prisustvo čiste celuloze. Navedeni pikovi se često javljaju u spektrima bakterijske celuloze nastale iz sojeva bakterija *Komagataeibacter sp.*, *A. xylinum* ATCC 10245 (Ceyhun B., 2009; Shan-Shan W., Yong-He H., 2017). Postojanje modova malog intenziteta na $\sim 900\text{ cm}^{-1}$ i na $\sim 1400\text{ cm}^{-1}$, kao i odsustvo pomeranja karakterističnih pikova potvrđuju prisustvo čiste BCN u svim uzorcima (Ceyhun B., 2009), što je u saglasnosti sa rezultatima XRD analize.

Zaključak

U ovom radu ispitivan je uticaj parametara podloge na kojima je rasla BCN i trajanja procesa prečišćavanja na sintezu i strukturu dobijene BCN. Istraživanjem prikazanom u ovom radu, može se zaključiti da vrsta medijuma ima značajan uticaj na sintezu BCN-a i favorizovao je podlogu označenu sa YPM. Ona je dala daleko veći prinos proizvoda u odnosu na HS podlogu u kojoj je došlo do stvaranja glukonske kiseline i smanjenja pH vrednos/ti. Zapremina podloge nije imala bitan uticaj na prinos BCN. U zapremini od 50ml i u zapremini od 100ml produktivnost bakterija je bila približno ista, što upućuje da ušteda zapremine medijuma ne utiče negativno na prinos. Prečišćavanjem natrijum hidroksidom u trajanju od 2h dobija se BCN bez ostataka bakterija i podloge.

Identifikacijom rezultata dobijenih XRD analizom, ustanovljeno je prisustvo samo celuloznih pikova, bez prisustva sekundarne faze. Kod uzoraka kraće tretiranih u NaOH, male količine jedinjenja natrijuma, detektovane EDS analizom, nisu registrovane korišćenjem metode rendgenske difraktometrije. Stoga se može zaključiti da su ova jedinjenja prisutna u tragovima. Takođe, analiza rezultata XRD ukazala je da zapremina podloge, u kojoj je celuloza rasla, utiče na veličinu kristalita. Pokazano da se u manjoj zapremini stvaraju veći kristaliteti. Što se tiče veličine mikronaprezanja, BCN nastala na medijumu od 100ml, a koja je naknadno tretirana 2h NaOH ima najmanje vrednosti mikronaprezanja. Svi izneti rezultati dobijeni pomenutim metodama su dodatno potvrđeni FTIR spektroskopijom, gde je skup pikovi detektovanih na karakterističnim talasnim brojevima ukazao na prisustvo dominantno čiste celuloze.

Svi ispitani parametri su svojim uticajem na različite načine doprineli, prinosu i strukturi BCN. Za primenu, i dalju modifikaciju, je od krucijalnog značaja i apsolutno čista BCN, što je ovim istraživanjem i postignuto.

Zahvalnica

Istraživanja su finansirana od strane MPNTR Republike Srbije brojevi ugovora: 451-03-9/2021-14/ 200116; 451-03-9/2021-14/ 200175; 451-03-9/2021-14/ 200017.

Literatura

- Janković, I. (1995): Određivanje međusobnih odnosa mikrobnih asocijacija i biohemijskih karakteristika čajne gljive, Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Siró, I., Plackett, D. (2010) Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose* 17, 459–494.
- Shan-Shan W., Yong-He H., Yu-Xuan Y., Xiao-Xia S., Ping X., Deng-Long C. and Min L.: Physicochemical characterization of high-quality bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter* sp. strain W1 and identification of the associated genes in bacterial cellulose production(2017)
- Nikolić, T. J. Doktorska disertacija: Dobijanje bioliški aktivnih vlakana na bazi selektivno oksidisane celuloze. (Tehnološko- metalurški fakultet, Beograd, 2011)
- Stojanović M., Janković I. (1996): Gajenje čajne gljive - kombuhe, IGP SANBA, Beograd.
- Konovalov, I.N., Semenova, M.N. (1955): K fiziologiji "čajnogog griba", Bot. Žurnal, Moskva, 40, 4, 567-570.
- Greenwalt, C. J., Ledford, R. A., Steinkraus, K. H. (1998). Determination and characterization 38 of the antimicrobial activity of the fermented tea kombucha. *LWT. Food. Sci. Technol.*, 31, 291–296.
- J. Huang, X. Ma, G. Yang, A. Dufresne, Introduction of NanoCellulose, J. Huanf, A. Dufresne, N. Lin (ur.) u NanoCellulose: From Fundamentals to Advanced Materials, Wiley – VCH Verlag GMBH & Co. KGaA, 2019., str. 1–20
- Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U., Teuber, M. (1995): Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtain from a Tea Fungus Fermentation, *Systematic Applied of Microbiology* 18:590-594.
- A. Gama, P. Gatenholm, D. Klemm (ur.), Bacterial NanoCellulose: A Sophisticated Multifunctional Material CRC Press, Taylor & Francis Group, 2013.
- Sun, R.-C.(2008) Detoxification and separation of lignocellulosic biomass prior to fermentation for bioethanol production by removal of lignin and hemicelluloses. *Bioresources* 4, 452-455.
- Ceyhun B., Tülin KUTSAL* Erhan PIŞKİN Hacettepe University, Chemical Engineering Department and Bioengineering Division, Beytepe, Ankara, TURKEY; International Journal of Natural and Engineering Sciences 3 (2): 19-22, 2009
- Park, J.K., Park, Y.H., Jung, J.Y.(2003) Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* PJK isolated from rotten apple. *Biotechnol. Bioproc. E* 8, 83-88.
- Isabela Reiniati *, Andrew N. Hrymak, Argyrios Margaritis, Biochemical Engineering Journal 127 (2017) 21–31
- Weikai Y., Hunt L.A. (2001). Interpretation of genotype x environment interaction for winter wheat yield in Ontario. *Crop Science*, 41, 19-25.
- Kinetics of cell growth and crystalline nanocellulose production by *Komagataeibacter xylinus*

SYNTHESIS AND STRUCTURE OF BACTERIAL CELLULOSE BY ACETIC ACID BACTERIA

Aleksandra Janićijević¹, Suzana Filipović², Vladimir B. Pavlović³, Aleksandra Sknepnek⁴, Danijela Kovačević¹, Nenad Đorđević¹, Miljana Mirković⁵, Predrag Živković⁶

Abstract

As one of the most common biopolymers on Earth, cellulose has found an important role in food industry, biomedicine and biotechnology. The process of obtaining cellulose fibers is often followed with the presence of the byproduct, whose removal is required procedure. From that reason, the process of obtaining material on a bacterial cellulose (BC) basis, finds wide application in everyday life. Having in mind her many features, we have investigated the change in structure and morphology of BC depending on the synthesis parameters. The influence of the medium volume and different time intervals of NaOH treatment relative to different BCN yields and structure. The mentioned changes were examined by XRD, FTIR spectroscopy, as well as SEM and EDS analyzes.

Key words: bacterial cellulose; kombucha; acetic acid bacteria; SEM; XRD

¹The Academy of Applied Technical Studies Belgrade, Belgrade, Serbia

²Institute of Technical Sciences of SASA, Belgrade, Serbia

³University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Belgrade, Serbia

⁴University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Institute for Food Technology and Biochemistry, Belgrade, Serbia

⁵Department of Material Science, "VINČA" Institute of Nuclear Sciences -National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

⁶University of Belgrade, Faculty of Technology and Metallurgy, 11120 Belgrade, Serbia

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије,
Београд
63(082)(0.034.2)
606:63(082)(0.034.2)

**SAVETOVANJE o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem (26 ;
2021 ; Čačak)**

Zbornik radova [Elektronski izvor] / XXVI savetovanje o biotehnologiji
sa međunarodnim učešćem, Čačak, 12 - 13. mart 2021. godine ;
[organizator]

Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku. - Čačak :
Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, 2021 (Beograd : Birograf
Comp). - 1 elektronski optički disk (CD-ROM) ; 12 cm

Sistemski zahtevi: Nisu navedeni. - Nasl. sa naslovne strane dokumenta. -
Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 100. - Bibliografija uz svaki rad.

ISBN 978-86-87611-80-1

a) Пољопривреда - Зборници b) Биотехнологија - Зборници

COBISS.SR-ID 33682953

DOI: 10.46793/SBT26