

ORIGINAL ARTICLE

탄소원 종류에 따른 환경친화성 생물소재인 세균 섬유소의 생산 및 특성

박성진 · 최승훈 · 박민주 · 이오미¹⁾ · 손홍주*

부산대학교 생명환경화학학과 및 생명산업융합연구원, ¹⁾농림축산검역본부 식물검역기술개발센터

Production and Characteristics of Bacterial Cellulose, an Eco-Friendly Biomaterial, using Different Carbon Sources

SungJin Park, Seunghoon Choi, MinJoo Park, O-Mi Lee¹⁾, Hong-Joo Son*

Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Life and Industry Convergence Institute, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

¹⁾Plant Quarantine Technology Center, Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon 39660, Korea

Abstract

Production of Bacterial Cellulose (BC) by *Gluconacetobacter* sp. A5 was studied in shaken culture using different cost-effective carbon sources and its structural and mechanical properties were evaluated. Glycerol showed the highest level (7.26 g/l) of BC production, which was about three times higher than the yield in glucose medium. BC production depended not only on the decrease in pH, but also on the ability of *Gluconacetobacter* sp. A5 to synthesize glucose from different carbon sources and then polymerize it into BC. All BC produced from different carbon sources exhibited a three-dimensional reticulated structure consisting of ultrafine cellulose fibrils. Carbon sources did not significantly change the microfibril structure of the resulting BC. BC produced from glucose medium had the lowest water-holding capacity, while BC from molasses medium had the highest. XRD data revealed that all BC were cellulose type I, the same as typical native cellulose. The crystalline strength of BC produced in glucose medium was the highest, and that in molasses medium was the lowest. Our results suggest that glycerol could be a potential low-cost substrate for BC production, leading to the reduction in the production cost, and also to produce BC with different mechanical properties by selecting appropriate carbon source.

Key words : Cellulose, Cost-effective substrate, *Gluconacetobacter*, Production

1. 서론

자연환경 중에 가장 풍부하게 존재하는 바이오폴리머인 섬유소(cellulose)는 β -1,4 결합으로 연결된 glucose

단량체로 구성되어 있다. 섬유소는 식물, 일부 곰팡이 및 조류 세포벽의 기본 구조단위이다(Vijayendra and Shamala, 2014). 이러한 형태의 섬유소는 헤미셀룰로스(Hemicellulose) 및 리그닌(Lignin)을 포함한 많은

Received 9 June, 2020; Revised 22 June, 2020;

Accepted 20 July, 2020

*Corresponding author: Hong-Joo Son, Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Pusan National University, Miryang 50463, Korea
Phone: +82-55-350-5544
E-mail: shjoo@pusan.ac.kr

The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.
© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

불순물을 함유하기 때문에 산업적 활용을 위해서는 가혹한 조건에서 불순물을 제거하는 화학적 처리가 필요하다(Delmer and Amor, 1995). 그러나 화학적 처리는 섬유소 구조에 비가역적 변화를 일으킴으로써 중합체의 유용한 특성을 영구적으로 제거시키는 단점이 있다(Yamanaka et al., 1989). 식물 섬유소는 종이 및 목재 기반 제품의 생산에 필수적이지만 천연 섬유소에 대한 수요가 증가함에 따라 섬유소 원료로서 목재의 소비 또한 증가하여 삼림 벌채 등 지구환경학적 문제를 발생시키고 있다(Sutherland, 1998).

Gluconacetobacter 속 세균은 Acetobacteraceae에 속하는 그람 음성, 절대 호기성 간균이다(Kerstens et al., 2006). 이 세균의 주목할 만한 특징은 식물 섬유소와 구별되는 높은 결정화도를 가진 세균 섬유소(Bacterial cellulose)를 불순물이 전혀 포함되지 않은 상태로 생산한다는 것이다(Ross et al., 1991). 세균 섬유소는 20~50 nm의 미세섬유(Microfibril)가 수소결합에 의해 서로 연결된 3차원 망상구조를 이루고 있고, 높은 신장강도와 탄성계수 및 수분보유력을 가지고 있으므로 고성능 진동판, 상처 피복재, 인공피부, 인공혈관 등으로서 잠재적 활용가치가 높은 것으로 알려져 있다(Sharma and Bhardwaj, 2019). 무엇보다 세균 섬유소는 환경친화적 소재이기 때문에 생태학적 관점에서도 매력적인 생물소재라고 할 수 있다(Lee et al., 2014). 그러나 지금까지의 세균 섬유소를 생산하기 위한 대부분의 연구는 생산가격이 높은 glucose를 탄소원으로 이용하였기에 결과적으로 식물 섬유소보다 경제성이 떨어지는 단점이 있었다(Chawla et al., 2009). 따라서 세균 섬유소 생산을 위한 보다 경제적인 기질의 탐색이 필요한 실정이다.

Gluconacetobacter 속 세균 중, *G. xylinus*를 모델 세균으로 이용하여 섬유소 합성의 생화학 및 유전학에 대한 기초 및 응용 연구가 광범위하게 수행되었으며, 결과적으로 식물에서의 섬유소 합성 기전 해명에 크게 기여했다(Ross et al., 1991; Brown and Saxena, 2000; Romling, 2002). 최근, 식물 세포벽의 분자 수준에서의 조립과 구조 및 역학적 거동을 조사하기 위해 *in vitro*에서 *G. xylinus*가 성공적으로 활용되었고, 이에 따라 향후 식물 세포벽 구조의 정확한 합성 기전을 조사함에 있어 *Gluconacetobacter* 속 세균이 이용될 가능성은 매우 높다(Whitney et al., 2006). 따라서 *Gluconacetobacter*

속 세균에 의한 섬유소 생산을 효과적으로 조절할 수 있는 방법이 강구되어야 하며, 이를 위하여 선행적으로 연구되어야 할 것은 *Gluconacetobacter* 속 세균의 각종 탄소원 이용능과 이것이 섬유소의 생산과 구조적 특성에 미치는 영향을 파악하는 것이다.

본 연구에서는 다양한 저가의 탄소원이 세균 섬유소 생산에 미치는 영향을 검토한 후, 세균 섬유소의 미세구조 및 수분 보유력 등의 특성을 조사함으로써 세균 섬유소의 대량생산과 합성 기전의 이해에 필요한 기초자료를 제공하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 사용균주 및 배양조건

실험에 사용된 세균은 본 실험실에서 전통 식초로부터 분리 및 동정한 후, 보관 중인 *Gluconacetobacter* sp. A5이었다. 세균 섬유소 생산에 사용된 기본 배지의 조성은 glucose 2%, yeast extract 0.5%, polypeptone 0.5%, Na₂HPO₄·12H₂O 0.675%, ethanol 0.3% (pH 6.5)이었다. 기본배지 50 ml가 함유된 250-ml 용량의 플라스크에 보존 중인 균주 한 백입을 접종하여 30°C에서 3일 동안 정치배양한 후, 생성된 섬유소로부터 세포를 유리시키기 위하여 5분간 강하게 진탕하였다. 이어 멸균된 5겹의 거즈로 여과하여 회수된 세균 현탁액 5% (v/v)를 아래 각 조건으로 조절된 기본배지 50 ml가 함유된 플라스크에 접종하여 30°C, 200 rpm에서 7일간 배양하였다.

2.2. 경제적 탄소원 탐색

세균 섬유소 생산을 위한 저가 탄소원을 조사하기 위하여 기본배지의 탄소원인 glucose 대신 식품산업에 널리 사용되는 고과당 시럽(Fructose 55%), sucrose와 inverted sugar를 함유한 당밀, 막걸리박, 바이오디젤 부산물인 glycerol을 첨가하였다. 이때 glycerol은 2% (w/v), 그 외 탄소원은 환원당 기준으로 2% (w/v)가 되도록 배지에 첨가하였다. 환원당은 dinitrosalicylic acid method (Miller, 1959)에 의하여 측정하였다. 본 실험에 사용된 당밀과 막걸리박은 각각 유원당밀(주)와 밀양소재 막걸리 양조장에서 구입하였다. 증류수를 이용하여 환원당 4% (w/v)가 되도록 희석한 당밀과 막걸리박을 각각 9,677×g에서 30분 동안 원심분리한 후, 상등액을

회수하였다. 회수된 각 상등액을 적당하게 희석한 후, 기본배지 조제를 위한 용매로 사용하였다.

2.3. 세균 섬유소의 생산량 측정

배양액에 생성된 세균 섬유소를 회수한 후, 증류수로 충분히 세척하여 배양액 성분을 제거하였다. 세척한 세균 섬유소를 0.5 N NaOH 용액에 침지하여 60℃에서 3 시간 동안 처리함으로써 섬유소 내에 포획된 세포를 용해시킨 후, 증류수에 넣어 중성이 될 때까지 세척하였다. 이어서 105℃에서 항량이 될 때까지 건조하여 건조중량을 측정하였다(Embuscado et al., 1996).

2.4. 세균 섬유소의 3차원적 미세구조 관찰

세균 섬유소를 동결건조하여 2.5% glutaraldehyde 용액, 70~99.9% ethanol 및 isoamyl acetate 용액에 연속적으로 침지한 후, 건조하였다. 이것을 백금으로 코팅한 후, 주사전자현미경(JEOL JSM-6390, JEOL TECHNIC LTD., Japan)을 이용하여 세균 섬유소의 3차원적 미세구조를 관찰하였다.

2.5. 세균 섬유소의 결정 구조 분석

세균 섬유소를 sheet 형태로 성형하여 105℃에서 12 시간 동안 건조시킨 후, X-ray Diffractometer (Rigaku III, Rigaku Corp., Japan)를 이용하여 결정구조를 분석하였다. 분석조건은 40 kV, 30 mA에서 $2\theta = 5^\circ\text{--}40^\circ$, scan speed = $10^\circ/\text{min}$ 이었다.

2.6. 세균 섬유소의 수분 보유력 측정

동결건조한 세균 섬유소 1 g을 적당량의 증류수가 들어있는 원심분리관에 첨가하여 충분히 흡수될 때까지 방치한 후, 1,075×g에서 15분간 원심분리하여 상층의 물을 제거하였다. 이어서 세균 섬유소가 침전되어 있는 원심분리관의 무게를 측정하여 다음 식에 의하여 수분 보유력을 구하였다(Watanabe et al., 1998).

$$\text{WHC (g H}_2\text{O/g cellulose)} = (W_2 - W_1)/W_0$$

여기서 W_0 는 건조된 세균 섬유소의 무게(g), W_1 은 원심분리관과 건조된 세균 섬유소의 무게(g), W_2 는 원심분리관과 침전된 세균 섬유소의 무게(g)이다.

2.7. 세균 섬유소의 역학적 특성 분석

세균 섬유소의 인장강도(Tensile strength), 연신율

(Elongation), 탄성계수(Young's modulus) 등의 기계적 특성은 universal testing machine (UTM; SSTM-1, United corp., USA)을 이용하여 측정하였다.

별도로 언급하지 않은 한, 모든 실험은 세 번 반복하였으며, 결과는 평균값±표준편차로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 탄소원이 세균 섬유소의 생산에 미치는 영향

Gluconacetobacter 속 세균은 glucose, sucrose, fructose를 포함한 다양한 탄소원으로부터 세균 섬유소를 생산할 수 있는 것이 보고되었다(Keshk and Sameshima, 2005). 그러나, 세균 섬유소 합성에 대한 대부분의 연구는 glucose가 함유된 배지에서 수행되었기 때문에 glucose 이외의 다른 탄소원으로부터 생산된 세균 섬유소의 미세구조와 역학적 특성은 물론 생산 기전에 참고할 만한 내용은 알려진 바가 거의 없다. 본 연구에서는 각종 탄소원이 세균 섬유소 생산에 미치는 영향을 조사하였으며, 그 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 탄소원의 첨가는 세균 섬유소 생산에 필수적임을 알 수 있었으며, 조사한 탄소원 중 glycerol이 가장 높은 생산량(7.26 g/l)을 나타내었다. 당밀과 막걸리박이 첨가된 배지에서도 1.45~1.5 g/l의 세균 섬유소가 생산되었다. Glycerol은 바이오디젤 생산시 발생하는 부산물로서, citric acid, dihydroxyacetone, ethanol 등 많은 미생물 대사산물 생산에 이용되고 있다(da Silva et al., 2009; Morgunov et al., 2013). 바이오디젤 생산이 공업적 규모로 진행될 때 glycerol도 비례적으로 대량 발생할 것이고, 결과적으로 미생물 이용 산업에 있어 중요한 기질로 활용될 수 있을 것이다. 막걸리박을 포함한 에탄올 발효 폐액 또한 탄수화물과 다양한 무기염을 함유하고 있어, 미생물로부터 수용성 다당, 부탄올 등을 생산하기 위한 기질로서의 가능성이 타진되고 있다(Khan et al., 2007; Ahn et al., 2011).

한편, 배양액의 최종 pH는 세균 섬유소 배양액에서 발생하는 부반응의 지표이다(Keshk and Sameshima, 2005). Glucose가 첨가된 배양액의 최종 pH (pH 3.1)가 가장 낮았음에도 불구하고 세균 섬유소의 생산은 당밀 (pH 5.5), 막걸리박(pH 4.3)이 첨가된 배지보다 높았다. 또한 glycerol 및 당밀이 첨가된 배지에서의 최종 pH는 거의

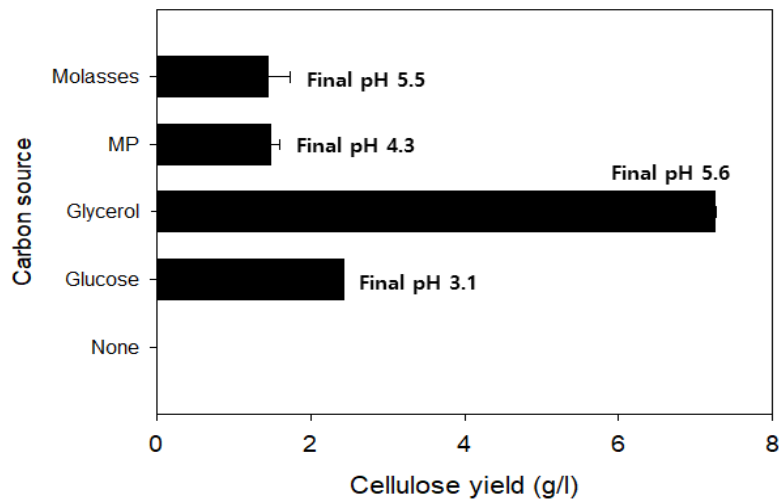


Fig. 1. Effects of different carbon sources on bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter* sp. A5. MP: Makgeolli pomace.

차이가 없었으나 세균 섬유소 생산량의 차이는 매우 컸다 (Fig. 1). 세균 섬유소를 생산할 수 있는 *Gluconacetobacter* 속 세균은 glucose를 gluconic acid로 산화시키고, 이에 따라 배양액의 pH를 저하시켜 세균 섬유소 생산을 저해하는 것으로 보고되었다(Schramm et al., 1957). 본 실험의 결과는 세균 섬유소의 생산성을 지배하는 요인은 pH 저하 뿐만 아니라 다양한 탄소원으로부터 glucose를 합성하고, glucose를 세균 섬유소로 중합시키는 능력에 좌우된다는 것을 나타내었다.

3.2. 탄소원이 세균 섬유소의 미세구조에 미치는 영향

탄소원별로 생산된 세균 섬유소의 미세구조를 주사전 자현미경을 사용하여 관찰한 결과는 Fig. 2에서 보는바와 같다. 모든 실험구에서 미세섬유가 광범위하게 직조된 다공성의 3차원적 망상구조를 관찰할 수 있었다. 이러한 미세 망상구조로 인하여 세균 섬유소는 식물 섬유소에서 볼 수 없는 독특한 물성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Klemm et al., 2001). 당밀과 막걸리박이 첨가된 배지에서 생산된 세균 섬유소의 경우, 미세섬유가 국소적인 방향성을 나타내었지만 nm 수준에서는 무작위적인 방향성을 나타내었다. Glycerol과 막걸리박이 첨가된 배지에서 생산된 세균 섬유소의 섬유(Fiber)는 다른 시료에 비해 약간 더 두꺼운 것으로 나타났다. 특히 glycerol

에서 생산된 세균 섬유소는 서로 응집하여 국소적인 망상구조를 형성하는 것으로 일관되게 관찰되었는데, 이것은 시료 전처리과정에서 파생된 형태인 것으로 판단되었다. Glucose에서 생산된 세균 섬유소가 가장 조밀하였으며, 당밀에서 생산된 것이 가장 느슨하였다. 전체적으로, 본 연구에서 사용된 탄소원이 세균 섬유소 내의 주요 미세섬유 구조를 크게 변화시키지 않았음을 알 수 있었다.

3.3. 탄소원이 세균 섬유소의 수분 보유력에 미치는 영향

수분 보유력은 망상구조를 형성하는 미세섬유의 단위 무게당 보유된 물의 무게를 의미한다. 탄소원별로 생산된 세균 섬유소의 수분 보유력을 조사한 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. 즉 모든 실험구에서 대조구인 α -cellulose 보다 높은 수분 보유력을 나타내었다. 이것은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 세균 섬유소가 미세섬유로 이루어진 3차원적 망상구조로 직조되어 있음에 기인하는 것으로 판단되었다. 또한 가장 치밀한 구조를 보였던 glucose에서 생산된 세균 섬유소의 수분 보유력이 가장 낮았으며, 가장 느슨한 형태의 미세구조를 나타내었던 당밀에서 생산된 세균 섬유소가 가장 높았다. 이러한 세균 섬유소의 치밀도와 수분 보유력의 관계는 Seifert et al.(2005)에 의하여 보고된 바 있다. 세균 섬유소를 생체 의학적으로 활용할 경우, 보다 치밀한 미세구조를 갖는

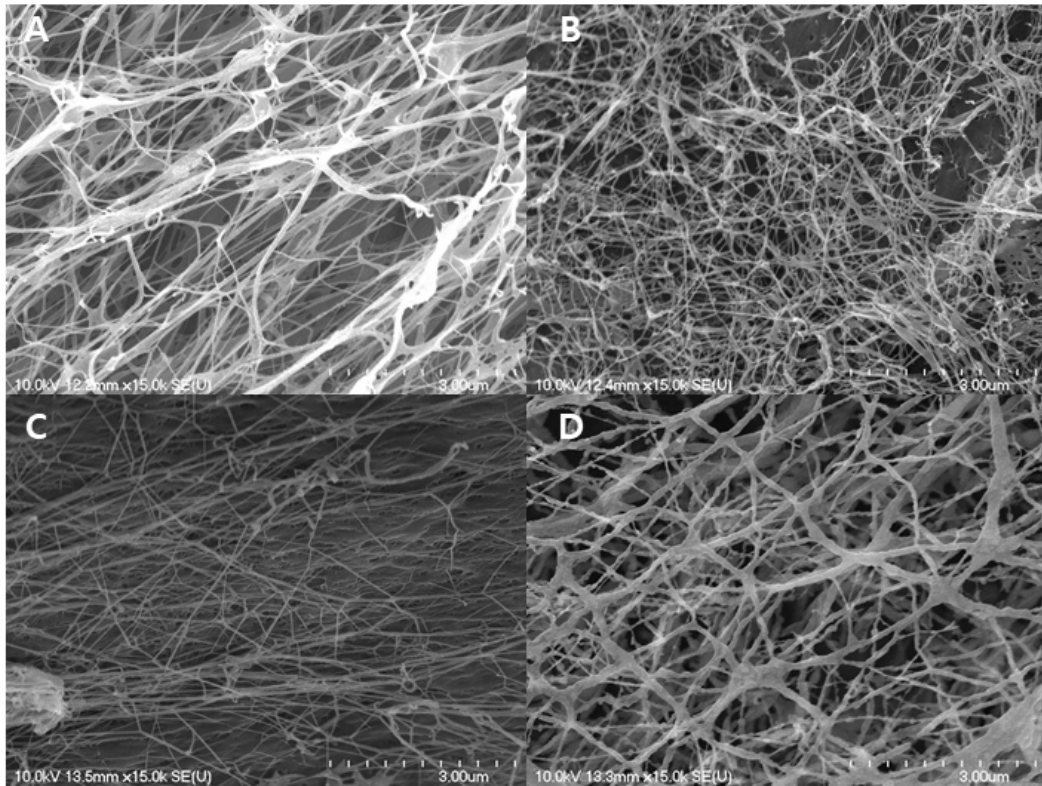


Fig. 2. Scanning electron micrographs showing microstructures of bacterial celluloses produced from different carbon sources by *Gluconacetobacter* sp. A5. (A) Makgeolli pomace, (B) glucose, (C) molasses, (D) glycerol.

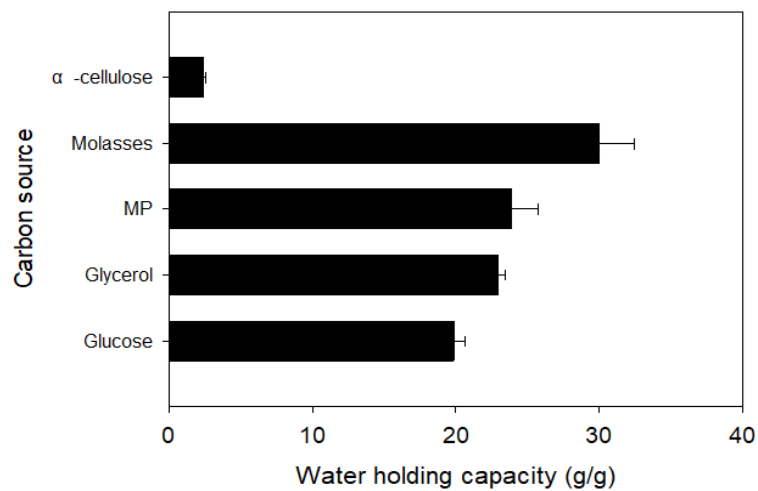


Fig. 3. Water-holding capacities of bacterial celluloses produced from different carbon sources by *Gluconacetobacter* sp. A5. MP: Makgeolli pomace.

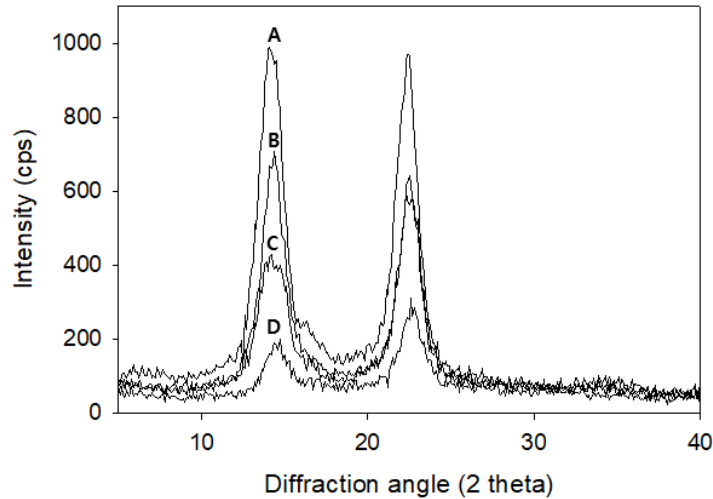


Fig. 4. X-ray diffraction patterns of bacterial celluloses produced from different carbon sources by *Gluconacetobacter* sp. A5. (A) glucose, (B) glycerol, (C) Makgeolli pomace, (D) molasses.

Table 1. Mechanical properties of bacterial celluloses produced from different carbon sources by *Gluconacetobacter* sp. A5.

Carbon source	Tensile strength (N/mm ²)	Elongation (%)	Young's modulus (MPa)
Molasses	56.9±2.3	3.793±0.062	45.7±2.5
Makgeolli pomace	48.3±2.1	3.825±0.075	40.2±1.8
Glycerol	39.8±1.5	3.087±0.032	37.2±0.6
Glucose	57.6±0.9	3.793±0.030	36.6±0.6
Filter paper	10.1±0.5	1.640±0.004	33.7±0.5

것이 내피 세포(Endothelial cell)의 부착 및 증식을 향상시킬 수 있는 매끄러운 표면을 부여할 수 있기 때문에 혈관 이식편(Vascular graft), 골 이식재(Bone graft) 등에 유리할 수 있다(Bodin et al., 2006). 그러나 수분결합을 필요로 하는 향장 및 의료용 패드나 식품에 사용할 경우, 치밀도가 낮은 것이 유리하다. 따라서 세균 섬유소 생산을 위한 탄소원을 적절하게 선택함으로써 이 바이오필머의 응용분야를 확대할 수 있을 것으로 판단되었다.

3.4. 탄소원이 세균 섬유소의 결정구조에 미치는 영향

탄소원별로 생산된 세균 섬유소의 결정구조를 조사하기 위하여 X-ray diffraction (XRD)을 측정한 결과, 모든 실험구의 세균 섬유소는 $2\theta = 14.3^\circ$ 근처에서 (101) 면과 (101)면의 회절피크를, $2\theta = 22.4^\circ$ 에서 (002)면

의 회절피크를 보여주었다(Fig. 4). 이것은 자연계에 존재하는 천연 cellulose type I의 결정구조와 일치하는 것이었다. 그러나 각 실험구에서 생산된 세균 섬유소별 결정성의 강도는 상이했는데, glucose가 첨가된 배지에서 생산된 세균 섬유소의 결정성 강도가 가장 높은 반면, 당밀에서 생산된 세균 섬유소의 결정성 강도는 가장 낮았다. 이 결과는 당밀의 사용이 *Acetobacter xylinum*에 의해 생산된 세균 섬유소의 결정성을 감소시켰다는 Keshk and Sameshima(2005)의 보고와 일치했다. 결과적으로 탄소원을 적절하게 선택함으로써 세균 섬유소의 결정성을 조절할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

3.5. 탄소원이 세균 섬유소의 역학적 특성에 미치는 영향

탄소원별로 생산된 세균 섬유소의 역학적 특성을

조사한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. Glucose 및 당밀 배지에서 생산된 세균 섬유소의 경우, 대조구인 여과지보다 약 5.6-5.7배 정도 높은 인장강도를 나타내었다. 연신율은 glycerol 배지에서 생산된 세균 섬유소를 제외하고는 비슷한 값을 나타내었다. 탄성계수는 대조구인 여과지에 비해 모든 실험구에서 비교적 높은 값을 나타내었는데, 특히 당밀과 막걸리박에서 생산된 세균 섬유소의 탄성계수가 우수하였다. 세균 섬유소의 탄성계수의 증가는 3차원적 미세망상구조 내에 존재하는 미세섬유의 배향(Orientation)에 기인하는 것으로 알려져 있는데 (Retegi et al., 2010), 당밀과 막걸리박의 경우 국소적인 방향성을 나타내었던 본 실험의 결과(Fig. 2)와 잘 일치하였다. 본 실험의 결과는 경제적인 저가의 배지로서 당밀을 사용하여 생산된 세균 섬유소가 다른 고분자 물질과의 복합재 제조 및 활용에 더 적합하다는 것을 의미한다(Ebrahimi et al., 2017).

4. 결론

본 연구에서는 *Gluconacetobacter* sp. A5에 의한 세균 섬유소의 생산과 생산된 세균 섬유소의 구조와 물성에 대한 몇몇 저가 탄소원(당밀, 고과당 시럽, 막걸리박, glycerol)의 영향을 조사하였다. 실험에 사용된 탄소원 중에서 바이오디젤 생산 부산물인 glycerol이 가장 높은 수준(7.26 g/l)의 세균 섬유소 생산을 유도하였는데, 이 값은 기본배지 성분에 함유된 탄소원인 glucose보다 3배 정도 높은 것이었다. 배양액의 최종 pH와 세균 섬유소 생산량 간의 관계를 분석한 결과, 세균 섬유소의 생산은 배양액의 pH 저하와 함께 탄소원으로부터 glucose를 합성하고, glucose를 세균 섬유소로 중합시키는 균주의 능력에 좌우된다는 것을 알 수 있었다. 세균 섬유소를 주사 전자현미경으로 관찰한 결과, 실험에 사용된 탄소원에서 생산된 모든 섬유소는 미세섬유로 구성된 3차원적 망상 구조를 나타내었다. 또한 탄소원의 종류가 세균 섬유소 내의 주요 미세섬유 구조를 크게 변화시키지 않았음을 알 수 있었다. 가장 치밀한 구조를 보였던 glucose에서 생산된 세균 섬유소의 수분 보유력이 가장 낮았던 반면, 가장 느슨한 형태의 미세구조를 나타내었던 당밀에서 생산된 세균 섬유소의 수분 보유력이 가장 높았다. 세균 섬유소를 XRD로 분석한 결과, 모든 세균 섬유소는

cellulose type I임을 알 수 있었으며, glucose가 첨가된 배지에서 생산된 세균 섬유소의 결정성 강도가 가장 높았으나 당밀에서 생산된 세균 섬유소의 결정성 강도는 가장 낮았다. 이러한 결과는 glycerol이 *Gluconacetobacter* sp. A5에 의한 BC 생산을 위한 잠재적인 저가 기질이 될 수 있으며, 또한 적절한 탄소원을 선정함으로써 역학적 특성이 서로 다른 BC를 생산할 수 있음을 시사한다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

- Ahn, J. H., Sang, B. I., Um, Y., 2011, Butanol production from thin stillage using *Clostridium pasteurianum*. *Biores. Technol.*, 102, 4934-4937.
- Bodin, A., Backdahl, H., Fink, H., Gustafsson, L., Risberg, B., Gatenholm, P., 2006, Influence of cultivation conditions on mechanical and morphological properties of bacterial cellulose tubes, *Biotechnol. Bioeng.*, 97, 425-434.
- Brown, R. M., Saxena, I. M., 2000, Cellulose biosynthesis: a model for understanding the assembly of biopolymers, *Plant Physiol. Bioch.*, 38, 57-67.
- Chawla, P. R., Bajaj, I. B., Survase, S. A., Singhal, R. S., 2009, Microbial cellulose: fermentative production and applications, *Food Technol. Biotechnol.*, 47, 107-124.
- da Silva, G. P., Mack, M., Contiero, J., 2009, Glycerol: a promising and abundant carbon source for industrial microbiology, *Biotechnol. Adv.*, 27, 30-39.
- Delmer, D. P., Amor, Y., 1995, Cellulose biosynthesis, *Plant Cell* 7, 987-1000.
- Ebrahimi, E., Babaeipour, V., Meftahi, A., Alibakhshi, S., 2017, Effects of bio-production process parameters on bacterial cellulose mechanical properties, *J. Chem. Eng. Jpn.*, 50, 857-861.
- Embuscado, M. E., BeMiller, N., Marks, J. S., 1996, Isolation and partial characterization of cellulose produced by *Acetobacter xylinum*, *Food Hydrocoll.*, 10, 75-82.
- Kerstens, K., Lisdiyanti, P., Komagata, K., Swings, J., 2006, The family Acetobacteraceae: The genera *Acetobacter*,

- Acidomonas, Asaia, Gluconacetobacter, Gluconobacter and Kozakia*, in: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., Stackebrandt E. (eds.), *The Prokaryotes*, vol. 5, 3rd ed., Springer, New York, 163-200.
- Keshk, S. M. A. S., Sameshima, K., 2005, Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production, *Afr. J. Biotechnol.*, 4, 478-482.
- Khan, T., Hyun, S. H., Park, J. K., 2007, Production of glucuronan oligosaccharides using the waste of beer fermentation broth as a basal medium, *Enzyme Microb. Technol.*, 42, 89-92.
- Klemm, D., Schumann, D., Udhard, U., Marsch, S., 2001, Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery, *Prog. Polym. Sci.*, 26, 1561-1603.
- Lee, K., Buldum, G., Mantalaris, A., Bismarck, A., 2014, More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites, *Macromol. Biosci.*, 14, 10-32.
- Miller, G. L., 1959, Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Ana. Chem.*, 31, 426-428.
- Morgunov, I. G., Kamzolova, S. V., Lunina, J. N., 2013, The citric acid production from raw glycerol by *Yarrowia lipolytica* yeast and its regulation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, 7387-7397.
- Retegi, A., Gabilondo, N., Pena, C., Zuluaga, R., Castro, C., Ganan, P., de la Caba, K., Mondragon, I., 2010, Bacterial cellulose films with controlled microstructure - mechanical property relationships, *Cellulose* 17, 661-669.
- Romling, U., 2002, Molecular biology of cellulose production in bacteria, *Res. Microbiol.*, 153, 205-212.
- Ross, P., Mayer, R., Benziman, M., 1991, Cellulose biosynthesis and function in bacteria, *Microbiol. Rev.*, 55, 35-58.
- Schramm, M., Gromet, Z., Hestrin, S., 1957, Role of hexose phosphate in synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*, *Nature*, 179, 28-29.
- Seifert, M., Hesse, S., Kabrelian, V., Klemm, D., 2004, Controlling the water content of never dried and reswollen bacterial cellulose by the addition of water-soluble polymers to the culture medium, *J. Polym. Sci.*, 42, 463-470.
- Sharma, C., Bhardwaj, N. K., 2019, Bacterial nanocellulose: present status, biomedical applications and future perspectives, *Mater. Sci. Eng. C* 104, 109963-109981.
- Sutherland, I. W., 1998, Novel and established applications of microbial polysaccharides, *Tibtech*. 16, 41-46.
- Vijayendra, S. V. N., Shamala, T. R., 2014, Film forming microbial biopolymers for commercial applications - a review, *Crit. Rev. Biotechnol.*, 34, 338-357.
- Watanabe, K., Tasbuchi, M., Morinaga, Y., Yoshinaga, F., 1998, Structural features and properties of bacterial cellulose produced in agitated culture, *Cellulose* 5, 187-200.
- Whitney, S. E. C., Wilson, E., Webster, J., Bacic, A., Reid, J. S. G., Gidley, M. J., 2006, Effects of structural variation in xyloglucan polymers on interaction with bacterial cellulose, *Am. J. Bot.*, 93, 1402-1414.
- Yamanaka, S., Watanabe, K., Kitamura, N., Iguchi, M., Mitsuhashi, S., Nishi, Y., Uryu, M., 1989, The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose, *J. Mat. Sci.*, 24, 3141-3145.

-
- Graduate student. Sung-Jin Park
Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Pusan National University
shvc2966@pusan.ac.kr
 - Graduate student. Seung-Hoon Choi
Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Pusan National University
cookie30830@pusan.ac.kr
 - Graduate student. Min-Joo Park
Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Pusan National University
alswn940809@pusan.ac.kr
 - Researcher. O-Mi Lee
Plant Quarantine Technology Center Animal and Plant Quarantine Agency
lomi78@korea.kr
 - Professor. Hong-Joo Son
Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Pusan National University
shjoo@pusan.ac.kr