

Streszczenie

Głównym celem rozprawy doktorskiej było wykorzystanie innowacyjnego biomateriału jakim jest celuloza bakteryjna (CB), jako nośnika do immobilizacji substancji bioaktywnych oraz mikroorganizmów o potencjale biotechnologicznym.

Do produkcji CB wykorzystano szczepy referencyjne *Komagataeibacter xylinus*. Biosyntezę CB prowadzono w różnym czasie w warunkach stacjonarnych wykorzystując pożywkę Hestrin-Schramm (H-S). W celu zwiększenia efektywności procesu produkcji CB oraz modyfikacji jej struktury, do biosyntezy wykorzystano pożywkę H-S z dodatkiem oleju roślinnego. Po oczyszczeniu nośnika z komórek bakteryjnych i pożywki hodowlanej analizowano jego właściwości fizykochemiczne tj. porowatość, parametry wodne, cytotoksyczność, wytrzymałość mechaniczną, stopień krystaliczności i polimeryzacji. Do immobilizacji wykorzystano bakterie *Lactobacillus delbruecki* o kształcie pałeczek, owalne drożdże *Saccharomyces cerevisiae* oraz dymorficzne drożdże *Yarrowia lipolytica*. Komórki immobilizowano metodą adsorpcji-inkubacji, a następnie oceniano efektywność adsorpcji, proliferację komórek wewnątrz nośnika oraz stopień ich uwalniania. Do immobilizacji wykorzystano również substancje bioaktywne o działaniu przeciwdrobnoustrojowym na bazie długołańcuchowego kwasu linolowego, tyrozyny i etylenodiaminy [EDA][DLA-Tyr] oraz erytromycynę. Substancje te immobilizowano poprzez impregnację nośnika, a następnie oceniano efektywność immobilizacji i szybkość uwalniania substancji z nośnika w czasie.

Wyniki badań potwierdziły, że efektywność adsorpcji, proliferacja komórek wewnątrz nośnika oraz stopień ich uwalniania zależy bezpośrednio od właściwości fizykochemicznych CB. Wykazano, że liczba immobilizowanych komórek zwiększała się wraz z porowatością, wodochłonnością oraz stopniem uwalniania wody, a także stopniem polimeryzacji CB. Odwrotną tendencję zaobserwowano w przypadku zdolności do utrzymywania wody i stopniem krystaliczności. Na podstawie wyników badań, stwierdzono, że efektywność adsorpcji jak i proliferacji komórek zależy głównie od wielkości immobilizowanych komórek i wzrasta wraz z porowatością nośnika. Wykazano, że stopień uwalniania komórek z nośnika zależy od wielkości i kształtu immobilizowanych komórek. Zwiększona porowatość nośnika sprzyjała uwalnianiu komórek, szczególnie bakterii. Dodatkowo, potwierdzono, że procedura immobilizacji metodą adsorpcji-inkubacji nie wpływa negatywnie na właściwości mechaniczne nośnika.

Celuloza bakteryjna wykorzystana w doświadczeniu jako nośnik do substancji bioaktywnych charakteryzowała się stopniem adsorpcji i retencji, a także porowatością oraz wytrzymałością mechaniczną odpowiednimi dla biomateriałów do zastosowań medycznych. Potwierdzono, że [EDA][DLA-Tyr] i erytromycyna były efektywnie immobilizowane w CB. Udowodniono, że nośnik impregnowany [EDA][DLA-Tyr], jak i erytromycyną wykazywał właściwości antybakteryjne względem *S. aureus* i *S. epidermidis*. Wyniki badań wykazały również, że [EDA][DLA-Tyr] uwalniała się z celulozowego nośnika znacznie wolniej w porównaniu do erytromycyny. Po 48 h CB impregnowana [EDA][DLA-Tyr], nadal zachowywała właściwości antybakteryjne. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że efektywność immobilizacji substancji bioaktywnych oraz szybkość ich uwalniania zależą od struktury nośnika, fizykochemicznych właściwości substancji oraz charakteru oddziaływań nośnik-substancja.

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły, że suplementacja pożywki hodowlanej olejem roślinnym pozwala na zwiększenie efektywności procesu produkcji CB nawet do 500%. Potwierdzono również, że dodatek do pożywki hodowlanej oleju roślinnego istotnie wpływa na właściwości fizykochemiczne CB. Wykazano, że CB uzyskana w pożywce suplementowanej olejem charakteryzowała się trzykrotnie zwiększoną wytrzymałością

mechaniczną oraz dwukrotnie wyższą wodochłonnością w porównaniu do CB uzyskanej w pożywce bez dodatku oleju.

Podsumowując, przeprowadzone badania wykazały, że wybór nośnika musi być indywidualnie dobrany do wielkości i kształtu immobilizowanych komórek lub rodzaju immobilizowanej substancji, ze szczególnym uwzględnieniem parametrów związanych z porowatością. Udowodniono również, że suplementacja pożywki hodowlanej olejem roślinnym jest metodą umożliwiającą nie tylko zwiększenie ilości produkowanej CB, ale także pozwalającą na modyfikację właściwości fizykochemicznych CB istotnych dla procesu immobilizacji.

22.02.19 *Zywicka*

Data i podpis