

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.

„Bioimmobilizacja laktazy oraz probiotycznych bakterii  
w celu otrzymania nośnika do procesu biokonwersji  
i dodatku funkcjonalnego do żywności”

Autor: mgr inż. Magdalena Stobińska

Promotor: prof. Dr hab. Inż. Artur Bartkowiak

Produkty bezlaktozowe w ostatnich latach zyskały na dużej popularności i stały się obecne w wielu domach, nie tylko wśród osób cierpiących na nietolerancję laktozy. Immobilizacja jest procesem unieruchamiania, zarówno żywych komórek, jak i ich części oraz rozmaitych substancji aktywnych, w tym enzymów. Najważniejszą funkcją immobilizacji jest ochrona unieruchamianej struktury przed czynnikami zewnętrznymi oraz możliwość ponownego użycia. Jedną z metod immobilizacji enzymów i komórek bakteryjnych jest mikrokapsułkowanie. W pracy wykorzystano dwie metody formowania mikrokapsulek hydrożelowych: koekstruzję elektrostatyczną oraz technikę cięcia strugi cieczy JetCutter, która charakteryzuje się dużą powtarzalnością procesu i wysoką wydajnością procesu otrzymywania kapsulek.

Metoda koekstruzji elektrostatycznej pozwoliła na otrzymanie kapsulek z płynnym rdzeniem otoczonym polimerową otoczką. Otrzymanie centrycznego rdzenia kapsułki było możliwe przez zastosowanie ściśle określonych lepkości roztworów wykorzystywanych w procesie mikrokapsułkowania oraz odpowiednich warunków procesu kapsułkowania, takich jak odległość dyszy oraz różnica potencjału elektrycznego. W pracy tą metodą mikrokapsułkowano zarówno czysty enzym jak i bakterie *Lactobacillus rhamnosus*, jako modelowy przykład bakterii probiotycznych, posiadających właściwości hydrolizujące laktozę. Technika JetCutter otrzymano jednorodne kapsułki hydrożelowe z enzymem laktazą. W pracy została określona zależność pomiędzy rodzajem i budową chemiczną cieczy jonowych a aktywnością laktazy immobilizowanej w hydrożelowych mikrokapsułkach z wykorzystaniem metody koekstruzji. Celem pracy było otrzymanie stabilnych kapsulek z ich docelowym przeznaczeniem do półciągłych lub ciągłych procesów biokonwersji laktozy obecnej w serwatce pochodzącej z zakładów mleczarskich. W badaniach, podczas immobilizacji zarówno samego enzymu  $\beta$ -galaktozydazy, jak i bakterii zdolnych do biokonwersji laktozy została wykorzystana referencyjna ciecz jonowa. Charakteryzowała się ona najmniejszym działaniem

antymikrobiologicznym spośród trzech badanych modelowych cieczy jonowych, wybranych na podstawie przeglądu literatury.

Drugim procesem immobilizacji, jaki został zweryfikowany, była liofilizacja, która jest procesem suszenia sublimacyjnego i polega na usuwaniu wody z zamrożonego materiału biologicznego. W pracy wykonano liofilizację dwóch szczepów probiotycznych *Lactobacillus rhamnosus* oraz *Lactobacillus delbruecki bulgaricus* w zmodyfikowanych nośnikach zawierających produkty biokonwersji z wykorzystaniem kapsułek z enzymem w środowisku bezlaktozowej serwatki oraz mleka bezlaktozowego. Wyniki potwierdziły, że bakterie probiotyczne można liofilizować na nośnikach bezlaktozowych, a bakterie podczas przechowywania zachowują swoją liczebność na podobnym poziomie, jak w liofilizatach zawierających laktozę. Jako nośnik do liofilizacji może zostać zastosowana również serwatka, po reakcji hydrolizy laktozy za pomocą kapsułek zawierających immobilizowany enzym. Kapsułki hydrożelowe zawierające unieruchomiony enzym lub bakterie probiotyczne mogą być również poddawane procesowi liofilizacji. Proces ten umożliwia przechowywanie ich poza środowiskiem wodnym. Kapsułki liofilizowane po dodaniu do środowiska wodnego i rehydratacji są nadal zdolne do biokatalizy reakcji hydrolizy laktozy.

Najważniejszym wnioskiem z pracy doktorskiej jest potwierdzenie, że mikrokapsułkowanie metodą koekstruzji elektrostatycznej pozwala na uzyskanie kapsułek z płynnym hydrofilowym rdzeniem, w którym mogą być immobilizowane zarówno enzymy jak i bakterie. Zaproponowane w pracy różne rodzaje hydrożelowych kapsułek mogą być stosowane w procesach hydrolizy laktozy, gdzie co istotne istnieje możliwość skalowania każdego z zaproponowanych procesów. Hipoteza, iż cieczy jonowe zwiększają aktywność enzymu jakim jest laktaza i stabilizują go podczas immobilizacji, niestety nie została potwierdzona. Otrzymane wyniki wskazują, że cieczy jonowe nie są obojętne dla immobilizowanych mikroorganizmów i dlatego nie powinny być rekomendowane jako „zielone rozpuszczalniki” w procesach biokonwersji. Liofilizacja bakterii probiotycznych na nośnikach pozbawionych laktozy jest możliwa, a przeżywalność bakterii podczas przechowywania jest na podobnym poziomie, jak w przypadku nośników z laktozą.

M. Słobinińska