

REZUMAT

al tezei de doctorat intitulată:

OBȚINEREA NANOCELULOZEI DIN CULTURI DE KOMBUCHA ȘI UTILIZAREA ACESTEIA PENTRU FORMULĂRI MUCOADEZIVE

Doctorand: **COMAN (MORARU) Angela**

Conducător științific: **C.S.I Dr. OANCEA Florin**

CUVINTE CHEIE: nanoceluloză, Kombucha, formulări mucoadezive, extracte vegetale

Celuloza produsă de culturile simbiotice de bacterii și drojdii (SCOBY, Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts), cunoscute și sub denumirea de Kombucha este un biopolimer produs sub forma unei pelicule/ membrane de către bacteriile acetice din SCOBY. Pelicula / membrana de celuloză din culturile de Kombucha este sursă de nanoceluloză cu proprietăți superioare celei obținute din plante. Nanoceluloza este una dintre cele mai studiate nanostructuri datorită interesantelor sale proprietăți: rezistența mecanică ridicată, suprafața specifică foarte mare, stabilitate chimică, hidrofilicitate, cristalinitate, transparență, biocompatibilitate, sensibilitate electro-magnetică, conductivitate pentru protoni, reactivitate chimică de suprafață ridicată, disponibilitate - celuloza fiind cel mai abundent material regenerabil. Aceste proprietăți fac ca nanoceluloza să fie interesantă pentru diverse aplicații, în diferite domenii. În domeniul biomedical/farmaceutic, nanoceluloza are multiple utilizări - pansamente, dispozitive de sterilizare prin ultrafiltrare, sisteme de eliberare controlată a medicamentelor, suport pentru culturi celulare, regenerare tisulară sau bioimprimare 3D/4D. În industria alimentară, nanoceluloza este ingredient alimentar funcțional, stabilizator alimentar sau aditiv în nanocompozite cu proprietăți diverse pentru ambalarea alimentelor

Scopul principal al acestei lucrări a vizat obținerea nanoceluloză din culturi de Kombucha și utilizarea pentru formulări mucoadezive prin valorificarea unor fluxuri laterale din bioeconomie și utilizarea consorțiilor SCOBY. În mod specific, s-a vizat dezvoltarea unei tehnologii pentru valorificarea industrială a unor fluxuri laterale agroindustriale în vederea obținerii nanoceluloză pentru formulări mucoadezive, în paralel cu producerea de nutraceutice.

Cercetările desfășurate au urmărit realizarea următoarelor obiective specifice:

1. Optimizarea procesului de biosinteză a membranelor celulozice de Kombucha concomitent cu produsele de tip aliment funcțional / supliment nutritiv prin suplimentarea mediului de cultivare cu extracte vegetale și obținerea nanocelulozei din membranele celulozice;
2. Realizarea unor formulări mucoadezive pentru menținerea și reechilibrarea microflorei vaginale și caracterizarea fizico-chimică a acestora;
3. Determinarea proprietăților biologice ale formulărilor mucoadezive realizate.

Partea teoretică a tezei este reprezentată de studiu documentar al cunoștinșelor din domeniu, structurat în trei capitole referitoare la: (i) sursele și proprietățile specifice ale nanocelulozei și potențialele aplicații ale acesteia; (ii) formulările mucoadezive și rolul lor; și (iii) avantajele utilizării nanocelulozei bacteriene pentru realizarea de formulări mucoadezive. Primul capitol al părții teoretice descrie trei tipuri de celuloză (celuloza microfibrilată, celuloza nanocristalină și celuloza bacteriană), sursele și proprietățile specifice ale acestora și potențialul de a utiliza membranele Kombucha ca o sursă de nanoceluloză bacteriană. Tot în acest capitol sunt prezentate utilizările nanocelulozei în diferite aplicații, printre care se enumeră industria materialelor plastice (crearea de compozite și de materiale de ranforsare), aplicații biomedicale, industria hârtiei și a ambalajelor, industria componentelor electronice. Al doilea capitol face referire la formulările mucoadezive, descriind mucoasele și mucoadezivitatea, interacțiile dintre formulările mucoadezive și mucoase și trei tipuri de formulări mucoadezive: formulări nazale, vaginale și bucale. Al treilea capitol se concentrează pe avantajele utilizării nanocelulozei pentru formulările mucoadezive.

Partea de cercetări proprii a lucrării este structurată în trei capitole experimentale, corespunzătoare celor trei obiective specifice ale tezei. Primul capitol experimental al tezei urmărește optimizarea procesului de obținere a membranelor celulozice de Kombucha (și ulterior a nanocelulozei), concomitent cu produse de tip aliment funcțional / supliment nutritiv, prin suplimentarea mediului de cultivare cu extracte de frunze de gutui. S-a demonstrat faptul că extractul de frunze de gutui poate crește cristalinitatea membranei inițiale și a nanocelulozei bacteriene obținută în urma microfluidizării, în același timp îmbunătățind interacția cu mucina, extractul de gutui inducând o structură fibrilară mai bine interconectată a nanocelulozei, în comparație cu martorul. Aceste modificări sunt cel mai probabil datorate modificărilor produse în consorțiul SCOBY, în care coexistă bacterii aerobe (bacteriile acetice), bacterii anaerobe / microaerofile (bacterii lactice) și drojdii care fermentează glucidele.

Al doilea capitol experimental a vizat realizarea unor formulări mucoadezive, precum și caracterizarea fizico-chimică a acestora. În cadrul acestui capitol a fost realizată specificația de ridicare la scară a cultivării Kombucha cu extract de frunze de gutui, s-au realizat noi formulări mucoadezive pentru menținerea și reechilibrarea microflorei vaginale, s-a realizat caracterizarea ultrastructurală a hidrogelurilor (prin diferite tehnici de microscopie), caracterizarea fizico-chimică prin spectroscopie IR cu transformată Fourier, difracție de raze X, evaluarea vâscozității și a mucoadeziunii prin analize reologice și determinarea cantitativă a mucoadeziunii sistemelor de hidrogel mucoadeziv. Au fost formulate trei hidrogeluri, dintre care două hidrogeluri binare (H1 și H2), bazate pe nanoceluloză bacteriană niciodată uscată și Poloxamer 407, și un hidrogel ternar (H3), format din nanoceluloză bacteriană, Poloxamer 407 și chitosan. Cele trei hidrogeluri au fost încărcate cu extracte vegetale pentru a se obține sisteme mucoadezive biocompatibile, cu activitate antimicrobiană, care promovează dezvoltarea bacteriilor probiotice.

În cadrul capitolului 3 sunt prezentate rezultatele testelor pentru determinarea proprietăților biologice ale formulărilor mucoadezive realizate. În urma caracterizării celor trei hidrogeluri s-a constatat faptul că hidrogelul H2 a fost cea mai promițătoare formulare, fiind capabil să aibă rezultate pozitive în toate aspectele, adică proliferarea celulelor L929,

având de asemenea și efect prebiotic, activitate antimicrobiană și o temperatură optimă de tranziție a sol-gelului.

În capitolul de concluzii finale și perspective sunt însumate concluziile studiilor efectuate. Adăugarea de extracte vegetale antioxidante îmbunătățește o serie de caracteristici ale nanocelulozei produse din membrane din Kombucha definitorii pentru mucoadezivitate. Nanoceluloza rezultată, menținută în permanență în starea de gonflare maximă (never-dried – niciodată uscată) formează hidrogeluri stabile cu polimeri semi-naturali (chitosan) sau sintetici (Poloxamer 407). Hidrogelurile formate au o bună capacitate de o foarte bună compatibilitate și o tranziție de fază care favorizează aplicarea, fiind cu viscozitate ridicată la temperatura camerei, și cu viscozitate redusă după aplicare pe mucoase, la temperatura corpului. Aderența la mucină și citocompatibilitatea hidrogelurilor formate cu nanoceluloză produsă din membrane de Kombucha biosintetizate pe medii suplimentate cu extracte vegetale antioxidante este ridicată. Hidrogelurile rezultate au și un efect prebiotic, de stimulare a dezvoltării bacteriilor benefice și antimicrobian, de blocare a dezvoltării bacteriilor patogene.

Perspectivile studiului realizat sunt descrise în directă legătură cu cele două direcții în care s-au adus contribuții originale: (i) optimizarea / dirijarea biosintezei de membrane de celuloză bacteriană în culturile de Kombucha prin modularea activității antioxidante a mediului de cultură și (ii) utilizarea nanocelulozei menținută în permanență în starea de gonflare maximă (never-dried – niciodată uscată) ca un ingredient de formulare multifuncțional, cu rol și în amplificarea efectelor componentelor bioactive din diferitele formulări adezive.