

RÉSUMÉ

de la thèse de doctorat intitulée:

OBTENTION DE NANOCELLULOSE À PARTIR DE CULTURES DE KOMBUCHA ET SON UTILISATION POUR DES FORMULATIONS MUCOADHÉSIVES

Doctorante: **COMAN (MORARU) Angela**

Directeur scientifique: **C.S.I Dr. OANCEA Florin**

MOTS CLÉS : nanocellulose, Kombucha, formulations mucoadhésives, extraits végétaux

La cellulose produite par les cultures symbiotiques de bactéries et de levures (SCOBY, Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts), également connue sous le nom de Kombucha, est un biopolymère produit sous forme de pellicule/membrane par les bactéries acétiques présentes dans le SCOBY. La pellicule/membrane de cellulose issue des cultures de Kombucha est une source de nanocellulose aux propriétés supérieures à celles obtenues à partir de plantes. La nanocellulose est l'une des nanostructures les plus étudiées en raison de ses propriétés intéressantes : haute résistance mécanique, grande surface spécifique, stabilité chimique, hydrophilicité, cristallinité, transparence, biocompatibilité, sensibilité électromagnétique, conductivité protonique, haute réactivité chimique de surface, disponibilité - la cellulose étant le matériau renouvelable le plus abondant. Ces propriétés rendent la nanocellulose intéressante pour diverses applications dans différents domaines. Dans le domaine biomédical/pharmaceutique, la nanocellulose a de multiples utilisations : pansements, dispositifs de stérilisation par ultrafiltration, systèmes de libération contrôlée de médicaments, support pour cultures cellulaires, régénération tissulaire ou bioimpression 3D/4D. Dans l'industrie alimentaire, la nanocellulose est utilisée comme ingrédient alimentaire fonctionnel, stabilisateur alimentaire ou additif dans des nanocomposites avec diverses propriétés pour l'emballage des aliments.

L'objectif principal de ce travail a été l'obtention de nanocellulose à partir de cultures de Kombucha et son utilisation pour des formulations mucoadhésives, en valorisant des flux secondaires en bioéconomie et en utilisant les consortiums SCOBY. Plus précisément, il a visé le développement d'une technologie pour la valorisation industrielle de flux secondaires agroindustriels en vue de l'obtention de nanocellulose pour des formulations mucoadhésives, tout en produisant des nutraceutiques.

Les recherches menées ont cherché à atteindre les objectifs spécifiques suivants :

1. Optimiser le processus de biosynthèse des membranes cellulosiques de Kombucha, concomitamment avec des produits de type aliment fonctionnel / supplément nutritionnel, par supplémentation du milieu de culture avec des extraits végétaux et obtenir la nanocellulose à partir des membranes cellulosiques ;
2. Réaliser des formulations mucoadhésives pour maintenir et rééquilibrer la flore vaginale et caractériser physico-chimiquement ces formulations ;
3. Déterminer les propriétés biologiques des formulations mucoadhésives réalisées.

La partie théorique de la thèse est constituée d'une étude documentaire des connaissances dans le domaine, structurée en trois chapitres relatifs à : (i) les sources et les propriétés spécifiques de la nanocellulose et ses applications potentielles ; (ii) les formulations mucoadhésives et leur rôle ; et

(iii) les avantages de l'utilisation de la nanocellulose bactérienne pour réaliser des formulations mucoadhésives. Le premier chapitre de la partie théorique décrit trois types de cellulose (cellulose microfibrillée, cellulose nanocristalline et cellulose bactérienne), leurs sources et propriétés spécifiques, et le potentiel d'utilisation des membranes de Kombucha comme source de nanocellulose bactérienne. Ce chapitre présente également les utilisations de la nanocellulose dans diverses applications, telles que l'industrie des plastiques (création de composites et de matériaux de renforcement), les applications biomédicales, l'industrie du papier et de l'emballage, et l'industrie des composants électroniques. Le deuxième chapitre se réfère aux formulations mucoadhésives, décrivant les muqueuses et la mucoadhésivité, les interactions entre les formulations mucoadhésives et les muqueuses, ainsi que trois types de formulations mucoadhésives : formulations nasales, vaginales et buccales. Le troisième chapitre se concentre sur les avantages de l'utilisation de la nanocellulose pour les formulations mucoadhésives.

La partie expérimentale du travail est structurée en trois chapitres expérimentaux correspondant aux trois objectifs spécifiques de la thèse. Le premier chapitre expérimental visait l'optimisation du processus d'obtention des membranes cellulosiques de Kombucha (et ultérieurement de la nanocellulose), conjointement avec des produits de type aliment fonctionnel / supplément nutritionnel, par supplémentation du milieu de culture avec des extraits de feuilles de coing. Il a été démontré que l'extrait de feuilles de coing peut augmenter la cristallinité de la membrane initiale et de la nanocellulose bactérienne obtenue après microfluidisation, tout en améliorant l'interaction avec la mucine, l'extrait de coing induisant une structure fibrillaire mieux interconnectée de la nanocellulose, par rapport au témoin. Ces modifications sont probablement dues aux changements dans le consortium SCOBY, où coexistent des bactéries aérobies (bactéries acétiques), des bactéries anaérobies/microaérophiles (bactéries lactiques) et des levures qui fermentent les glucides.

Le deuxième chapitre expérimental visait la réalisation de formulations mucoadhésives et leur caractérisation physico-chimique. Dans ce chapitre, la spécification de mise à l'échelle de la culture de Kombucha avec extrait de feuilles de coing a été réalisée, de nouvelles formulations mucoadhésives pour maintenir et rééquilibrer la flore vaginale ont été développées, la caractérisation ultrastructurale des hydrogels a été effectuée (par différentes techniques de microscopie), la caractérisation physico-chimique a été réalisée par spectroscopie IR à transformée de Fourier, diffraction des rayons X, évaluation de la viscosité et de la mucoadhésion par analyses rhéologiques et détermination quantitative de la mucoadhésion des systèmes d'hydrogel mucoadhésif. Trois hydrogels ont été formulés, dont deux hydrogels binaires (H1 et H2), basés sur la nanocellulose bactérienne jamais séchée et le Poloxamer 407, et un hydrogel ternaire (H3), composé de nanocellulose bactérienne, Poloxamer 407 et chitosane. Les trois hydrogels ont été chargés d'extraits végétaux pour obtenir des systèmes mucoadhésifs biocompatibles, avec une activité antimicrobienne, favorisant le développement des bactéries probiotiques.

Le chapitre 3 présente les résultats des tests pour déterminer les propriétés biologiques des formulations mucoadhésives réalisées. Suite à la caractérisation des trois hydrogels, il a été constaté que l'hydrogel H2 était la formulation la plus prometteuse, capable d'obtenir des résultats positifs dans tous les aspects, c'est-à-dire la prolifération des cellules L929, avec également un effet prébiotique, une activité antimicrobienne et une température de transition sol-gel optimale.

Le chapitre des conclusions finales et perspectives résume les conclusions des études réalisées. L'ajout d'extraits végétaux antioxydants améliore un certain nombre de caractéristiques de la nanocellulose produite à partir de membranes de Kombucha, essentielles pour la mucoadhésivité. La nanocellulose résultante, maintenue en permanence dans un état de gonflement maximal (never-dried – jamais séchée) forme des hydrogels stables avec des polymères semi-naturels (chitosane)

ou synthétiques (Poloxamer 407). Les hydrogels formés ont une très bonne compatibilité et une transition de phase favorable à l'application, étant avec une viscosité élevée à température ambiante, et une viscosité réduite après application sur les muqueuses, à la température du corps. L'adhérence à la mucine et la cytocompatibilité des hydrogels formés avec la nanocellulose produite à partir de membranes de Kombucha biosynthétisées sur des milieux supplémentés avec des extraits végétaux antioxydants sont élevées. Les hydrogels résultants ont également un effet prébiotique, stimulant le développement des bactéries bénéfiques, ainsi qu'un effet antimicrobien, bloquant le développement des bactéries pathogènes.

Les perspectives de l'étude réalisée sont décrites en lien direct avec les deux directions dans lesquelles des contributions originales ont été apportées : (i) l'optimisation / la gestion de la biosynthèse des membranes de cellulose bactérienne dans les cultures de Kombucha par la modulation de l'activité antioxydante du milieu de culture et (ii) l'utilisation de la nanocellulose maintenue en permanence dans un état de gonflement maximal (never-dried – jamais séchée) comme ingrédient de formulation multifonctionnelle, avec un rôle dans l'amplification des effets des composants bioactifs dans les différentes formulations adhésives.