

Streszczenie rozprawy doktorskiej

**mgr inż. Ilony Trawczyńskiej**

**pt.: „Badanie i modelowanie procesu permeabilizacji komórek drożdży piekarskich wybranymi alkoholami”**

Głównym celem niniejszej dysertacji było przeprowadzenie badań i opracowanie modeli matematycznych dla permeabilizacji komórek drożdży piekarskich etanolem, 1-propanolem i 2-propanolem. Proces permeabilizacji polega na zwiększaniu przepuszczalności ściany i błon komórkowych mikroorganizmów. Stosuje się go przede wszystkim w celu ułatwienia dyfuzji reagentów przy jednoczesnym zachowaniu właściwości komórki m.in. aktywności enzymatycznej i struktury. Mimo wielu publikacji dotyczących badań nad permeabilizacją, dokładny przebieg procesu nie został jeszcze w pełni zdefiniowany. Na ogół zakłada się, że czynnik permeabilizujący poprzez usuwanie składników tłuszczowych wywołuje zaburzenie struktury membran komórkowych i tym samym zwiększa ich przepuszczalność.

W prezentowanej rozprawie doktorskiej skuteczność procesu zwiększania przepuszczalności membran komórkowych oceniano poprzez pomiar aktywności wewnątrzkomórkowej katalazy. Analizie poddano wpływ zmiany stężenia użytego alkoholu, temperatury i czasu trwania procesu na aktywność enzymu.

Ze względu za złożoność procesu, badania i modelowanie permeabilizacji prowadzono w myśl zasad metody powierzchni odpowiedzi (RSM). Na podstawie wyników eksperymentów przeprowadzonych w punktach planów czynnikowych i kompozycyjnych sporządzono modele matematyczne pierwszo- i drugorzędowe. Szeroka ocena statystyczna pozwoliła wyznaczyć stopnie ich dopasowania do danych eksperymentalnych. Na podstawie modeli matematycznych określono optymalne warunki dla permeabilizacji komórek drożdży alkoholami.

Najbardziej skutecznym alkoholem w permeabilizacji okazał się 2-propanol. Komórki traktowane roztworem alkoholu wykazują 60 – krotnie większą szybkość procesu dyfuzji reagentów rozkładu nadtlenu wodoru, w porównaniu do komórek niepermeabilizowanych. Najwyższa aktywność katalazy wynosi  $A_{opt} = 6310 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$  i nieznacznie różni się od wyznaczonej całkowitej aktywności enzymu w komórkach drożdży. Świadczy to o możliwości swobodnego dostępu nadtlenu wodoru do enzymu. Proces z wykorzystaniem pozostałych dwóch alkoholi pozwala osiągnąć również dobre rezultaty.

Użycie etanolu w warunkach optymalnych prowadzi do zwiększenia aktywności katalazy 47 – krotnie, a 1–propanolu 40 – krotnie.

W pracy przeanalizowano możliwości: prowadzenia permeabilizacji w temperaturze otoczenia, zmniejszenia ilości czynnika permeabilizującego jak również skrócenia czasu trwania procesu. Założenie przebiegu procesu permeabilizacji etanolem i 2–propanolem w temperaturze otoczenia umożliwia otrzymanie komórek drożdży piekarskich o aktywnościach odpowiednio o 32% i 19% mniejszych od aktywności optymalnych  $A_{opt}$ . W pracy udowodniono również, że procesy permeabilizacji z użyciem roztworów 1–propanolu i 2–propanolu w porównaniu do etanolu są bardziej tolerancyjne na zmniejszenie ilości czynnika permeabilizującego. Najmniej czuły na skracanie czasu jest proces permeabilizacji komórek drożdży z użyciem 2–propanolu.

Biokatalizatory w formie permeabilizowanych komórek drożdży piekarskich dodatkowo zyskują na atrakcyjności dzięki swej dużej stabilności enzymatycznej podczas przechowywania. W pracy wykazano, że komórki permeabilizowane etanolem, 1–propanolem i 2–propanolem zachowały odpowiednio 85%, 90% i 78% wyjściowej aktywności katalazy po siedmiodniowym przechowywaniu.