

7. Zusammenfassung

Die Untersuchungen zu den schwachen Wechselwirkungen innerhalb von Biofilmen von *Pseudomonas aeruginosa* SG81 und ihren Isolaten (EPS, Alginat) zeigen, dass die mechanischen Eigenschaften des Biofilms maßgeblich durch das Milieu des wässrigen Lösemittels (pH - Wert, Ionenstärke, Art der mono- und bivalenten Gegenionen) bestimmt werden.

Die Linienformanalyse der Li^+ -Konzentrationsreihen bestätigen die Übertragbarkeit der rheologischen und spektroskopischen Befunde von *Kirschner* und *Moritz* [97] an dem Modellsystem Polyacrylsäure auf Isolate mikrobieller Herkunft. Ein Vergleich der C-5 Resonanzlinien mit simulierten Spektren belegt eindeutig die starke Abnahme der Korrelationszeit τ_c schon bei geringen Ionenstärken. Die Addition von monovalenten Gegenionen führt somit zu einer Reduktion der intramolekularen, elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen benachbarten Carboxylgruppen innerhalb des Polysaccharids und erlaubt eine stärkere Verknäuelung der Makromoleküle.

Erwartungsgemäß weisen die NMR- spektroskopischen Messergebnisse zur Wechselwirkung zwischen bakteriellem Alginat und bivalenten Ionen (Mg^{2+} , Ca^{2+}) große Differenzen hinsichtlich ihrer Natur und Ausprägung auf. So werden für Mg^{2+} - Ionen lediglich unspezifische, elektrostatische Wechselwirkungen beobachtet, wohingegen Ca^{2+} - Ionen ein spezifisches Bindungsverhalten gegenüber Bakterienalginat zeigen.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte ein neues Modell zur Beschreibung der Wechselwirkung zwischen Ca^{2+} - Ionen und bakteriellem Alginat vorgeschlagen werden, welches die spezifischen Struktureigenschaften der Bakterienalginat, namentlich die Abwesenheit von Guluronatblöcken, berücksichtigt. Kernpunkt dieses Modells stellt die chelat-ähnliche Komplexierung der Ca^{2+} - Ionen in den Bereichen alternierender MG- Sequenzen dar. Die Calciumbindung in diesen MG- "Taschen" führt aufgrund ihrer kooperativen, elektrostatischen Wechselwirkung zu einer drastischen Herabsetzung der lokalen, molekularen Beweglichkeit und zur Ausbildung eines potentiellen Netzwerkpunktes. Bei zunehmender Dotierung mit Calciumionen erhöht sich die Anzahl dieser Netzwerkpunkte und es kommt zu Ca^{2+} -vermittelten intermolekularen Wechselwirkungen benachbarter Alginatketten - ein Gelnetzwerk entsteht. Wie die beobachtete Reversibilität der Gelbildung von Bakterienalginaten

mit Ca^{2+} - Ionen zeigt, handelt es sich hierbei um ein Gelnetzwerk mit fluktuierenden Netzwerkpunkten.

Die Dotierung von EPS- Lösung mit paramagnetischen Mn^{2+} - Ionen lieferte grundlegende Informationen zum Komplexbildungsverhalten von bakteriellem Alginat und der lokalen Konformation der potentiellen Verknüpfungsstellen. Die Messungen zeigten, dass die paramagnetische Linienverbreiterung bei den Resonanzsignalen der Guluronatresonanzen wesentlich ausgeprägter ist als im Falle der Mannuronatlinien. Gleichzeitig unterstreichen die experimentellen Befunde die Bedeutung der Acetylierung für das Komplexbildungsverhalten von Alginaten gegenüber bivalenten Ionen. So konnte nachgewiesen werden, dass die Acetylierung des bakteriellen Alginats an den O-2 und O-3 Sauerstoffatomen der Mannuronatbausteine die Assoziation von Me^{2+} - Ionen infolge der sterischen Hinderung durch die Acetylgruppen stark beeinträchtigt.

Die Auswirkungen von Stressfaktoren (Nährstoff- und Sauerstoffarmut) auf Mikroorganismen und ihre umgebende Biofilmmatrix konnten *in vivo* untersucht werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass es unter Stress zu einer verstärkten Ausschüttung von Alginatlyase kommt, welche einen enzymatischen Abbau des Alginats in Gang setzt. Eine exakte Charakterisierung der Spalt- und Sekundärprodukte konnte aufgrund der schwachen Signalintensitäten und der unzureichenden Auflösung im Methylgruppenresonanzbereich nicht vorgenommen werden. Dennoch stellen diese Untersuchungen eine Grundlage für weiterführende Forschungen hinsichtlich der Korrelation von Lebensbedingungen und Strukturmerkmalen der Matrixpolysaccharide dar.