

Katarzyna Górka, Zbigniew Garncarek

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

e-mail: katarzyna.gorska@ue.wroc.pl

WŁAŚCIWOŚCI, ZASTOSOWANIE ORAZ BIOEKONOMICZNE ASPEKTY OTRZYMYWANIA DIHYDROKSYACETONU

PROPERTIES, APPLICATIONS AND BIOECONOMIC CONDITIONS OF DIHYDROXYACETONE PRODUCTION

DOI: 10.15611/pn.2018.542.02

JEL Classification: L66

Streszczenie: Dihydroksyacetone (DHA) jest trójwęglowym monosacharydem redukującym, zaliczanym do ketotrioz. Ze względu na obecność grupy karbonylowej, dwóch I-rzędowych grup hydroksylowych i grup metylowych jest bardzo aktywny chemicznie. DHA znajduje zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. W przemyśle kosmetycznym jest stosowany jako aktywny składnik kremów samoopalających. W medycynie stanowi komponent biomateriałów tamujących krwotoki, jest używany do leczenia bielactwa skóry, wspomaga fotochemioterapeutyczne metody leczenia łuszczyca oraz wykazuje działanie antagonistyczne przy zatruciu cyjankami. Rośnie też zainteresowanie jego zastosowaniem w produkcji żywności. Obecnie na skalę przemysłową DHA jest wytwarzany metodą biologiczną poprzez biokonwersję glicerolu prowadzoną przez bakterie *Gluconobacter oxydans* ATCC621. W pracy przedstawiono właściwości i zastosowanie dihydroksyacetone oraz metody jego otrzymywania, z wykorzystaniem jako substratu glicerolu powstającego w produkcji biodiesla.

Słowa kluczowe: dihydroksyacetone, biokonwersja glicerolu, bakterie octowe.

Summary: Dihydroxyacetone (DHA) is a three-carbon reducing monosaccharide, classified as ketotriose. Due to the presence of a carbonyl group, two hydroxyl groups and methyl groups, it is very chemically active. DHA is used in a lot of industries. In the cosmetics industry it is used as an active ingredient in self-tanning creams. In medicine, it is a component of biomaterials that inhibit haemorrhage and it is used to treat skin albinism, supports photochemotherapeutic methods of psoriasis treatment and has an antagonistic effect in cyanide poisoning. There is also growing interest in its use in food production. Currently, on an industrial scale, DHA is produced by a biological method through a bioconversion of glycerol carried out by *Gluconobacter oxydans* ATCC621. The paper presents the properties and the use of dihydroxyacetone and the method of its preparation using glycerol as a substrate formed in the production of biodiesel.

Keywords: dihydroxyacetone, bioconversion of glycerol, acetic acid bacteria.

1. Wstęp

Dihydroksyaceton jest trójwęglowym monosacharydem redukującym, występującym naturalnie w burakach cukrowych i trzcinie. Ze względu na obecność grupy karbonylowej, dwóch I-rzędowych grup hydroksylowych i grup metylowych dihydroksyaceton jest bardzo aktywny chemicznie. Dihydroksyaceton znajduje zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, m.in. w przemyśle kosmetycznym i medycynie. Rośnie też zainteresowanie jego wykorzystaniem w produkcji żywności, w której jest stosowany jako substancja słodząca i suplement diety oraz emulgator i plastyfikator. Obecnie na skalę przemysłową dihydroksyaceton jest wytwarzany metodą biologiczną poprzez biokonwersję glicerolu prowadzoną przez bakterie *Gluconobacter oxydans* ATCC621. Szerokie zastosowanie dihydroksyacetonu w różnych gałęziach przemysłu powoduje, że zapotrzebowanie na ten produkt stale rośnie, dlatego zasadne jest poszukiwanie takich metod otrzymywania dihydroksyacetonu, które będą gwarantować maksymalizację stężenia produktu i minimalizację kosztów produkcji.

Celem niniejszej pracy był przegląd piśmiennictwa na temat właściwości i zastosowania dihydroksyacetonu. Przedstawiono także aktualny stan badań nad otrzymywaniem dihydroksyacetonu, uwzględniając zastosowanie odpadowego glicerolu jako surowca.

2. Właściwości dihydroksyacetonu

Dihydroksyaceton (1,3-dihydroksy-2-propanon) jest trójwęglowym monosacharydem redukującym, zaliczonym do ketotrioz [Ślepokura, Lis 2004], o masie molowej $M = 90,08 \text{ g mol}^{-1}$. Dihydroksyaceton (DHA) jest białym, higroskopijnym proszkiem o słodkim, orzeźwiającym smaku i charakterystycznym zapachu [O'Neil (ed.) 2006; Lewis 2007]. Podgrzany do temperatury wrzenia (188°C) wydziela silnie drażniące opary [Lewis 2007]. Występuje w różnych postaciach, w zależności od stanu skupienia lub rozpuszczalnika użytego do przygotowania jego roztworu. Wśród występujących struktur należy wyróżnić transdimeryczną formę, charakterystyczną dla stanu stałego (DHA-dimer) oraz formę monomeryczną (DHA), obecną w roztworze wodnym. Postać monomeryczna bardzo dobrze rozpuszcza się w wodzie, alkoholu etylowym, eterze i acetonie. Trudno rozpuszczalny dimer ulega w wodzie dysocjacji z uwolnieniem monomeru [Ślepokura, Lis 2004]. W wodnych roztworach dihydroksyacetonu występuje także aldehyd glicerynowy, będący jego izomerem [Yaylayan i in. 1999], który łatwo ulega rozkładowi do formaldehydu i kwasu mrówkowego [O'Neil (ed.) 2006].

Dihydroksyaceton jest stabilny w środowisku kwaśnym o pH w granicach od 4,0 do 6,0; w środowisku zasadowym równowaga jest przesunięta w kierunku aldehydu glicerynowego – zachodzą wówczas reakcje izomeryzacji i kondensacji, których produktami są brązowe oligomery [Fesq i in. 2001]. W celu ograniczenia

tautomeryzacji DHA do aldehydu glicerynowego obniża się pH wodnych roztworów DHA do 4,0 [Shipar 2006]. Dihydroksyaceton nie posiada centrum chiralnego i dlatego nie wykazuje aktywności optycznej [Ferroni i in. 1999]. Ze względu na obecność grupy karbonylowej, dwóch I-rzędowych grup hydroksylowych i grup metylowych DHA jest bardzo aktywny chemicznie – bierze udział m.in. w reakcji Maillarda, kondensacji i polimeryzacji [Petersen i in. 2004; Enders i in. 2005; Błażej 2013]. Dihydroksyaceton jest niezwykle istotnym elementem budulcowym w nieenzymatycznych, ale bezpośrednich, organokatalitycznych reakcjach addycji aldolowej [Enders i in. 2005].

Dihydroksyaceton jest jednym z podstawowych produktów pośrednich metabolizmu glicerolu w komórkach prokariotów i eukariotów [Tkáč i in. 2001; Saint-Amans i in. 2001]. Występuje w naturze w komórkach roślin wyższych i zwierząt w postaci fosforanu, można go wyizolować z buraków cukrowych lub trzciny cukrowej [Błażej 2013]. Stanowi źródło węgla dla bakterii [Ivy 1998], uczestniczy w osmoregulacji drożdży i glonów [Akhtar i in. 1997] oraz odgrywa główną rolę w asymilacji metanolu przez niektóre organizmy [Ro i in. 1997; Stewart i in. 2001].

W żywych komórkach dihydroksyaceton, podobnie jak pozostałe sacharydy, ulega fosforylacji i w ten sposób jest przygotowywany do transformacji metabolicznych [Ślepokura, Lis 2006]. Choć obecny stan wiedzy nie pozwala jasno określić roli DHA w funkcjonowaniu organizmów żywych, to wiadomo, że jego ufosforylowany analog jest powszechnie występującym składnikiem budulcowym i kluczowym związkiem pośrednim w procesach przemian energii i biosyntezy [Enders i in. 2005; Ślepokura, Lis 2006]. Dihydroksyaceton jest związkiem łatwo przyswajalnym przez organizm człowieka [Obeid i in. 2006].

DHA pobudza wydzielanie insuliny [Tsuura i in. 1994; Antinozzi i in. 2002] oraz jest stosowany jako prekursor glukoneogenezy przez tkanki ssaków [Antinozzi i in. 2002; Taguchi i in. 2002; Erni i in. 2006].

Dodatek dihydroksyacetonu do diety szczurów stymuluje syntezę glikogenu oraz powoduje redukcję spożycia pokarmu i masy ciała, jednakże ten efekt jest krótkotrwały. Stymulowanie syntezy glikogenu w wątrobie może pomóc w normalizacji ilości spożywanego pokarmu i być nowym sposobem walki z otyłością [Obeid i in. 2006].

3. Zastosowanie dihydroksyacetonu

Dihydroksyaceton znajduje zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu, a zwłaszcza w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym i medycynie. Rośnie też zainteresowanie jego wykorzystaniem w produkcji żywności.

Dihydroksyaceton jest najczęściej stosowanym i często jedynym dopuszczonym do użytku środkiem brązującym skórę, wykorzystywanym w produkcji preparatów samoopalających [Green i in. 1961; Rogers 2005; Schmid i in. 2007]. W kosmetykach brązujących skórę stosuje się 3–5-procentowe alkoholowe lub wodno-alkoho-

lowe roztwory dihydroksyacetonu o odczynie kwaśnym [Draelos 2002]. Efekt opalenizny pojawia się po ok. 1 godzinie od aplikacji kosmetyku i utrwała się przez kolejne 24 godziny. Zanika po 5–7 dniach, wraz z regeneracją naskórka [Yourick i in. 2004]. Podczas tego procesu powstają melanoidyny, które wykazują nieznaczne działanie ochronne wobec promieniowania UVA, nie zapewniają natomiast ochrony przed promieniami UVB [Levy 2001; Draelos 2002; Nguyen, Kochevar 2003; Schmid i in. 2007; Choquet i in. 2009].

Właściwości pigmentacyjne DHA wykorzystano również w medycynie jako terapię w leczeniu nabytego bielactwa skóry, tzw. choroby vitiligo [Rogers 2005; Choquet i in. 2009] oraz piebaldyzmu [Suga i in. 2002]. Badania przeprowadzone w grupie osób cierpiących na bielactwo wykazały, że preparat zawierający dihydroksyacetony wpływa na złagodzenie objawów choroby u 80% pacjentów [Fesq i in. 2001; Mistowska i in. 2009]. DHA jest związkiem bezpiecznym, niewywołującym podrażnień i reakcji alergicznych, nie powoduje uszkodzeń naskórka, nie ma działania kancerogennego oraz toksycznego. Reakcja zachodzi w obrębie naskórka, głównie w warstwie rogowej, bez możliwości wnikania w głąb do skóry właściwej [Zegarska i in. 2008].

Dihydroksyacetony pozwala na bezpieczny kamuflaż miejsc dotkniętych bielactwem, szczególnie dłoni i stóp, gdzie inne sposoby leczenia często zawodzą [Rajatanavin i in. 2008]. Kiedy postępujący proces chorobowy prowadzi do obniżenia jakości życia oraz nietolerancji społecznej, odpowiednie maskowanie zmian za pomocą tego związku może być jedyną możliwością poprawiającą stan psychosomatyczny oraz jakość życia pacjentów cierpiących na bielactwo [Zegarska i in. 2008; Rajatanavin i in. 2008].

Dihydroksyacetony stosowany powierzchniowo może wspomagać fotochemioterapeutyczne metody leczenia łuszczycy (PUVA – *Psoralen Ultra-Violet A*). Podczas leczenia PUVA dihydroksyacetony stanowi ochronę dla niezmiętej chorobowo skóry, co umożliwia wyższą tolerancję skóry na promieniowanie UVA. Pozwala to zmniejszyć liczbę zabiegów prowadzących do usunięcia zmian łuszczycowych na skórze [Taylor i in. 1999].

DHA może być stosowany do ochrony przeciwsłonecznej przez chorych na porfirię mieszaną, gdy w przypadku występowania objawów skórnych pacjent musi unikać bezpośredniego działania światła słonecznego. W miejscach wystawionych na działanie światła słonecznego (grzbietowa strona dłoni, twarz, nogi) skóra staje się krucha, pęka, tworząc trudno gojące się miejsca, które łatwo ulegają infekcjom [Asawanoda i in. 1999].

Dihydroksyacetony wykazuje działanie antagonistyczne przy zatruciu cyjankami. Kwas cyjanowodorowy i jego sole powodują zablokowanie oksydazy cytochromowej (enzymu odpowiadającego za aktywację tlenu w łańcuchu oddechowym). DHA, wiążąc się odwracalnie z jonami CN^- , przeciwdziała skutkom zatrucia, tworząc cyjanohydrynę. Przywraca zahamowaną aktywność mitochondriów i dodatkowo wspomaga odbudowanie poziomu ATP zaniżonego przez cyjanki, a także za-

pobiega drgawkom przez nie wywoływany [Niknahad, O'Brien 1996; Niknahad, Ghelichkhani 2002]. Dihydroksyaceton pełni funkcję związku pośredniego w syntezie metotreksatu, popularnego i skutecznego leku w leczeniu chorób nowotworowych [Gätgens i in. 2007].

DHA jest stosowany jako składnik budulcowy wielu rodzajów polimerów: poliwęglanów, poliestrów oraz poliuretanów [Zelikin, Putnam 2005; Zelikin i in. 2006; Weiser i in. 2011]. Kowalencyjne związanie dihydroksyacetonu z glikolem polietylenowym umożliwia otrzymanie specyficznego biomateriału (MPEGpDHA), który w kontakcie z przeciętą tkanką powoduje gwałtowne zahamowanie krwawienia. Dzięki temu możliwe jest skrócenie procesu gojenia ran pooperacyjnych [Henderson i in. 2010]. Stwarza także obiecujące możliwości zastosowania w wielu procedurach chirurgicznych, od zabiegów kosmetycznych po resekcję nowotworu, ponieważ zapobiega nagromadzeniu płynu surowiczego i eliminuje martwą przestrzeń [Zawaneh i in. 2010].

Poliwęglan 2-oksypopylenu otrzymywany z DHA jest polimerem, którego powierzchnię można łatwo i jednoetapowo funkcjonalizować, ma temperaturę zeszklenia, która przekracza temperaturę ciała, a jego wytrzymałość na ściskanie jest podobna do ludzkiej kości – te wszystkie unikalne właściwości pozwalają na potencjalne zastosowanie go w organizmie człowieka [Zelikin i in. 2006]. Polimery, których składnikiem jest dihydroksyaceton, mogą być hydrolizowane do bezpiecznych produktów i umożliwiają zwiększanie biogodności materiałów [Zawaneh i in. 2010].

Dihydroksyaceton wykazuje właściwości przeciwpasożytnicze wobec *Plasmodium falciparum* (zarodźca sierpowatego) należącego do pierwotniaków, wywołującego malarię. Udowodniono, że jednorazowa dawka 2,5 mmol dm⁻³ roztworu DHA hamuje aktywność dehydrogenazy gliceraldehydu 3-fosforanowego oraz cykl glikolizy u tych pierwotniaków w ciągu 6 godzin od aplikacji [Pavlovic-Djuranovic i in. 2006]. Antyproliferacyjny wpływ dihydroksyacetonu zaobserwowano także w stosunku do *Trypanosoma brucei* (świdrowca nagany) – pasożyta krwi wywołującego chorobę nagana [Bakker i in. 1999]. Roztwór DHA o stężeniu 2 mM powoduje zatrzymanie cyklu życiowego u 70% tego pierwotniaka i może być punktem wyjścia do projektowania nowych leków przeciwpasożytniczych [Uzcátegui i in. 2007].

Przeprowadzone badania *in vitro* wykazują aktywność przeciwgrzybiczą dihydroksyacetonu przeciw dermatofitom i gatunkom z rodzaju *Candida*, będącym źródłem dermatomikoz. Te zakażenia grzybicze, które obejmują warstwę rogową skóry, paznokcie, włosy i błony śluzowe [Stopiglia i in. 2011], powodują wysoką zachorowalność, szczególnie u pacjentów powyżej 25. roku życia z osłabioną odpornością [Barchiesi i in. 2009]. DHA wydaje się obiecującą substancją do leczenia grzybicy skóry, ponieważ wykazuje właściwości przeciwgrzybicze w takich samych stężeniach, jakie są stosowane w sztucznych samoopalaczach, jest nietoksyczny w stężeniach nieprzekraczających 10% i może być stosowany miejscowo ze względu na penetrację do warstwy rogowej skóry [Stopiglia i in. 2011].

Dihydroksyaceton może być wykorzystywany jako substrat podczas syntezy biodegradowalnych związków pośrednich, stosowanych do wytwarzania farmaceutyków, a także jako emulgator i plastyfikator w produkcji żywności i kosmetyków [Mishra i in. 2008; Weiser i in. 2011].

DHA jest stosowany jako substancja słodząca i suplement diety, zwykle w połączeniu z pirogronianem wapnia, sodu lub potasu. Taka mieszanina wywołuje silny efekt metaboliczny, zmniejsza łaknienie, obniża masę ciała i tkanki tłuszczowej bez jednoczesnego ubytku masy białka w organizmie. Ma to znaczenie w żywieniu ludzi otyłych, będących tuż po kuracji odchudzającej [Stanko, Arch 1996; Ivy 1998; Ślepokura, Lis 2006]. Przyjmowanie preparatów zawierających dihydroksyaceton wspomaga wzrost tkanki mięśniowej u osób uprawiających sporty siłowe. Dodatkowo suplementacja diety mieszaniną dihydroksyacetonu i soli pirogronianu w stosunku wagowym 3:1 opóźnia zmęczenie podczas wysiłku fizycznego [Stanko i in. 1992; Obeid i in. 2005; Ślepokura, Lis 2006].

DHA jest substratem do produkcji 6-acetylo-1,2,3,4-tetrahydropirydyny, która jest związkiem zapachowym odpowiedzialnym między innymi za wrażenia wywierane przez skórki pieczywa pszennego. Jej zapach został opisany jako „zapach popcornu, krakersów”. Nadaje aromat wielu produktom, m.in.: chipsom, ciastu chlebowemu, tostom, popcornowi, tortillom kukurydzianym i wafłom ryżowym [Schieberle 1991; Rychlik, Grosch 1996; Buttery i in. 1999; Adams i in. 2004].

Najnowsze badania wykazują, że dihydroksyaceton w roztworach pofermentacyjnych może być bezpośrednio stosowany do syntezy kwasu mlekowego, tworząc nowy szlak metaboliczny syntezy tego produktu [Lux, Siebenhofer 2013]. Trwają badania nad zastosowaniem dihydroksyacetonu do syntezy cukrów wyższych, odgrywających znaczącą rolę w biologii komórki, potencjalnie stosowanych jako analogi antybiotyków i aktywatory biologiczne [Liu i in. 2004], poprzez organokatalizę [Cieplak i in. 2012].

Dihydroksyaceton może być używany do syntezy fosforanu dihydroksyacetonu (DHAP) o dużej czystości i z dużą wydajnością [Charmantray i in. 2004]. DHAP jest naturalnym substratem do syntezy różnych stereospecyficznych aldolaz, które wytwarzają szeroką gamę określonych monosacharydów i ich pochodnych [Takayama i in. 1997; Koeller i Wong 2001].

4. Bioekonomiczne uwarunkowania otrzymywania dihydroksyacetonu

4.1. Metody chemiczne

W celu otrzymywania dihydroksyacetonu wykorzystuje się reakcję autokondensacji formaldehydu lub reakcję katalitycznego utleniania glicerolu [Gehrer i in. 1995; Painter i in. 2010]. Podczas autokondensacji formaldehydu w aprotycznym rozpuszczalniku, katalizowanej przez ylid tiazolowy, powstaje mieszanina produktów ta-

kich jak: glukoza, galaktoza, dihydroksyaceton, ksylozy i arabinozy [Castells i in. 1983], wśród których występują również toksyczne substancje [Castells i in. 1980]. Wydajność produkcji dihydroksyacetonu tą metodą wynosi 82%, jednak trudności, jakie niesie ze sobą oczyszczenie dihydroksyacetonu, zwiększają koszty produkcji tego związku [Mishra i in. 2008].

Selektywne utlenianie glicerolu do dihydroksyacetonu zachodzi w procesach z wykorzystaniem katalizatorów zawierających nanocząstki metali szlachetnych: platyny [Kimura i in. 1993; Garcia i in. 1995] i złota [Dimitratos i in. 2006; Rodrigues i in. 2011]. Ze względu na wysoką temperaturę wrzenia glicerolu reakcje prowadzone są w fazie wodnej z wykorzystaniem wody jako rozpuszczalnika [Cichy 2012]. Katalizatory z platyną wykazują aktywność w środowisku kwaśnym. Dihydroksyaceton jest tworzony przez bezpośrednie katalityczne utlenianie II-rzędowej grupy hydroksylowej glicerolu. Konwersja glicerolu i wydajność produkcji dihydroksyacetonu jest proporcjonalna do zawartości platyny w katalizatorze, a selektywność procesu jest niezależna od zawartości platyny [Katryniok i in. 2011]. Zastosowanie bizmutu jako promotora w katalizatorze platynowym [Brandner i in. 2009; Hu i in. 2010] pozwala zwiększyć aktywność katalizatora i selektywność tworzenia dihydroksyacetonu [Bianchi i in. 2005]. Katalizatory ze złotem [Dimitratos i in. 2006; Claus i in. 2007; Demirel i in. 2007] są aktywne w środowisku zasadowym. Mechanizm reakcji opiera się na utlenianiu I-rzędowej grupy hydroksylowej glicerolu. Powstający aldehyd glicerynowy jest następnie przekształcany do dihydroksyacetonu [Katryniok i in. 2011].

Główną wadą katalitycznego utleniania glicerolu jest dezaktywacja katalizatora w długim czasie reakcji [Bagheri i in. 2015] oraz obecność wielu produktów utleniania w środowisku reakcji [Katryniok i in. 2011].

Obecnie trwają prace nad wykorzystaniem innych związków chemicznych jako katalizatorów. Crotti i Farnetti [2015] jako katalizator zastosowali kompleksy żelaza w połączeniu z bis(2-pirydynmetyl)aminą. Produktem reakcji katalitycznego utleniania oprócz dihydroksyacetonu był kwas mrówkowy. Wydajność reakcji syntezy dihydroksyacetonu wynosiła 50%. Autorzy postawili tezę, że w jej wyniku można uzyskać tylko dihydroksyaceton (100% selektywności).

Obiecujący ze względu na wysoką selektywność wydaje się proces elektrokatalitycznego utleniania glicerolu z użyciem 2,2,6,6-tetrametylopiperidyno-1-oksylu (TEMPO), ponieważ jedynym ubocznym produktem tej reakcji jest kwas 3-hydroksy-2-oksopropionowy [Ciriminna i in. 2006; Zheng i in. 2012; Wang i in. 2013].

Selektywne utlenianie glicerolu jest trudne ze względu na podobną reaktywność I- i II-rzędowych grup hydroksylowych w cząsteczce glicerolu [Padhi i in. 2013] i szereg czynników, które mają wpływ na przebieg reakcji, m.in. skład katalizatora, rodzaj utleniacza, środowisko reakcji, czas jej prowadzenia [Cichy 2012].

Przemysłowa produkcja dihydroksyacetonu w procesach chemicznych jest nieopłacalna ze względu na brak możliwości skutecznego kontrolowania i ukierunkowania przebiegu reakcji katalitycznego utleniania glicerolu, problem z oddzielaniem

ubocznych produktów, a także obecność szkodliwych substancji powstających i towarzyszących temu procesowi.

4.2. Metody biotechnologiczne

Od chwili odkrycia możliwości otrzymywania dihydroksyacetonu na drodze mikrobiologicznej przebadano wiele rodzajów i gatunków drobnoustrojów pod kątem ich przydatności do otrzymywania dihydroksyacetonu.

Istnieją dwa naturalne szlaki metaboliczne biosyntezy dihydroksyacetonu w drobnoustrojach, z udziałem dehydrogenazy glicerolowej lub syntazy dihydroksyacetonu. Do drobnoustrojów, u których występuje dehydrogenaza glicerolowa, należą m.in. bakterie *Acetobacter xylinum*, *Gluconobacter oxydans* [Wethmar, Deckwer 1999; Deppenmeier i in. 2002] oraz *Escherichia coli* [Piattoni i in. 2013]. Bakterie z rodzaju *Acinetobacter* produkują dihydroksyaceton z udziałem syntazy dihydroksyacetonu [Ro i in. 1997]. Niektóre metylotroficzne drożdże, np. *Hansenula polymorpha*, *Candida boidinii* i *Hansenula ofunaensis*, posiadają syntazę dihydroksyacetonu i mogą produkować dihydroksyaceton z metanolu, który najpierw utlenia się do aldehydu mrówkowego. Następnie aldehyd mrówkowy bierze udział w reakcji kondensacji z ksylulozo-5-fosforanem katalizowanej przez syntazę dihydroksyacetonu, której produktami są dihydroksyaceton i gliceraldehydo-3-fosforan [Nguyen, Nevoigt 2009]. Zdolność do produkcji dihydroksyacetonu zaobserwowano u osmofilnych drożdży *Pichia membranifaciens*. W przeprowadzonych badaniach uzyskano stężenie dihydroksyacetonu $P_K = 13,57 \text{ g dm}^{-3}$ po 24 godzinach hodowli w bioreaktorze [Liu i in. 2008].

Za najlepszego producenta dihydroksyacetonu na drodze utleniania biologicznego uznawane są bakterie octowe [Raška i in. 2007]. Biotransformacja glicerolu do dihydroksyacetonu przez bakterie octowe może przebiegać dwoma szlakami. Pierwszy szlak to bezpośrednie utlenianie glicerolu, niezależne od adenozyntriofosforanu (ATP) i dinukleotydu nikotynoamidoadenionowego (NAD), katalizowane przez dehydrogenazę glicerolową. Jest to enzym związany z błoną cytoplazmatyczną, którego centrum aktywne jest skierowane do przestrzeni peryplazmatycznej, co pozwala na bezpośrednie wydzielanie produktu do środowiska, bez udziału mechanizmów transportowych obecnych w komórce [Deppenmeier i in. 2002; Bauer i in. 2005]. Powstający dihydroksyaceton zostaje uwolniony do podłoża lub jest dalej metabolizowany przez komórki drobnoustrojów. Aktywatorami dehydrogenazy glicerolowej są jony NH_4^+ , K^+ i Rb^+ . Obecność kationów Zn^{2+} , Li^+ lub Na^+ powoduje obniżenie aktywności tego enzymu [Błażejczak 2013]. Podczas utleniania glicerolu do dihydroksyacetonu jako produkt uboczny powstaje kwas glicerynowy [Švitel, Šturdík 1994; Habe, Fukoka i in. 2009; Habe i in. 2010]. W tym procesie najpierw dehydrogenaza alkoholowa utlenia glicerol do aldehydu glicerynowego, który następnie jest przekształcany w kwas glicerynowy za pomocą niezidentyfikowanego dotychczas enzymu [Habe, Shimada i in. 2009; Habe i in. 2010; Wendisch i in. 2011].

Drugi szlak umożliwia tworzenie dihydroksyacetonu w obecności ATP i jonów Mg^{2+} z udziałem kinazy glicerolowej. Podczas tej przemiany powstaje 3-fosfoglicerol, przekształcany przez dehydrogenazę 3-fosfoglicerolową, zależną od dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD). Końcowym produktem biotransformacji glicerolu nie jest dihydroksyaceton, ale jego ufosforylowana forma – fosforan dihydroksyacetonu, powstający w wyniku reakcji katalizowanej przez kinazę dihydroksyacetonu w obecności ATP i jonów magnezu (Mg^{2+}) [Błażejczak 2013].

4.2.1. Metody i warunki otrzymywania dihydroksyacetonu z udziałem bakterii octowych

Biokonwersja glicerolu do dihydroksyacetonu przez bakterie octowe może być prowadzona we wglębnych hodowlach okresowych. Proces wglębnej hodowli okresowej obciążony jest wieloma wadami, które ograniczają jego szersze zastosowanie. Należą do nich:

- długi czas trwania procesu,
- konieczność przeprowadzenia procedury czyszczenia, sterylizacji i inokulacji po każdym cyklu hodowli,
- wysokie zużycie energii do sterylizacji,
- silna inhibicja procesu przez wysokie początkowe stężenie substratu i przez wysokie stężenie końcowe produktu [Hekmat i in. 2007],
- wieloetapowy proces przygotowania inokulatu bakterii octowych, który obejmuje proliferację bakterii octowych w pożywce hodowlanej i aktywację dehydrogenazy glicerolowej [Stasiak-Róžańska, Błażejczak 2012],
- zawartość w płynie pohodowlanym innych metabolitów wytwarzanych przez bakterie, co utrudnia oczyszczanie i krystalizację dihydroksyacetonu [Hu i in. 2011].

Bardziej skuteczną metodą produkcji dihydroksyacetonu jest proces zasilanej wglębnej hodowli okresowej [Hekmat i in. 2003; Bauer i in. 2005; Hekmat i in. 2007; Hu, Liu i in. 2010; Hu, Zheng i in. 2010; Hu, Zheng 2011; Zheng i in. 2016], który pozwala zniwelować wpływ inhibicji substratu na wydajność procesu [Raška i in. 2007].

4.2.2. Modyfikacje genetyczne bakterii octowych

Badania zmierzające do intensyfikacji biotransformacji glicerolu w dihydroksyaceton oprócz ustalenia optymalnych parametrów procesu (pH, stężenie składników podłoża, szybkość napowietrzania) obejmują również modyfikacje genetyczne bakterii octowych [Gätgens i in. 2007; Ma i in. 2010; Li, Wu, Liu i in. 2010; Błażejczak i in. 2011; Hu i in. 2011; Lu i in. 2012; Hu i in. 2012] oraz unieruchamianie komórek tych bakterii [Navrátil i in. 2001; Tkáč i in. 2001; Hekmat i in. 2003; Hekmat i in. 2007; Wei i in. 2007a; Wei i in. 2007b; Raška i in. 2007; Stasiak-Róžańska i in. 2010; Stasiak-Róžańska i in. 2011; Stasiak-Róžańska, Błażejczak 2012; Black, Nair 2013].

Indukcja zmian w kodzie genetycznym bakterii za pomocą czynników mutagennych może powodować zwiększenie efektywności produkcji pożądanej substancji, np. dihydroksyacetonu [Hekmat i in. 2007]. Jako czynniki mutagenne stosowano m.in. naświetlanie laserem He-Ne [Ma i in. 2010], promieniowanie ultrafioletowe [Błażej i in. 2011; Hu, Zheng 2011], implantację wiązki jonów N^+ [Hu i in. 2012].

Jedną z pierwszych prób zastosowania inżynierii genetycznej obejmowała otrzymanie szczepu bakterii *Gluconobacter oxydans* DSM 2343, zdolnego do nadprodukcji dehydrogenazy glicerolowej [Gätgens i in. 2007]. W podłożu hodowlanym o początkowym stężeniu glicerolu $S_0 = 550 \text{ mol dm}^{-3}$ mutant DSM 2343 wytworzył 350 mol dm^{-3} dihydroksyacetonu, natomiast szczep dziki – 280 mol dm^{-3} dihydroksyacetonu. Ponadto wykazano, że wyższe stężenie dehydrogenazy glicerolowej zahamowało całkowitą inaktywację enzymu oraz ograniczyło inhibicję utleniania glicerolu i zdolności życiowej komórek bakteryjnych.

W wyniku napromieniowania komórek bakterii *Gluconobacter oxydans* laserem helowo-neonowym He-Ne o długości fali 632,8 nm otrzymano mutant GM51 [Ma i in. 2010]. Zastosowanie tego mutantu pozwoliło na skrócenie procesu o 16 godzin i zwiększenie wydajności wytwarzania dihydroksyacetonu na drodze biokonwersji o 77,6%, do poziomu 91,5%, w porównaniu ze szczepem dzikim. Zaobserwowano również, że naświetlanie laserem He-Ne zmniejszało inhibicję produktem.

Modyfikacje genetyczne bakterii można także przeprowadzić z wykorzystaniem promieniowania UV [Hu, Liu i in. 2010; Gätgens i in. 2007]. Błażej i wsp. prowadzili badania nad wykorzystaniem promieniowania ultrafioletowego do zwiększenia zdolności biokonwersji glicerolu do dihydroksyacetonu przez bakterie *Gluconobacter xylinus* [Błażej i in. 2011]. Naświetlając promieniami UV bakterie przez 45,9 sekundy, uzyskali szczep o zwiększonej o 32% zdolności utleniania glicerolu do dihydroksyacetonu [Błażej i in. 2011]. Hu i Zheng [2011], wykorzystując naświetlanie promieniami UV przez 60 sekund, otrzymali szczep bakterii *Gluconobacter oxydans*, który w zasilanej węgłnej hodowli okresowej w podłożu hodowlanym o początkowym stężeniu glicerolu $S_0 = 20 \text{ g dm}^{-3}$ pozwalał na uzyskanie maksymalnego stężenia dihydroksyacetonu $P_K = 209,6 \text{ g dm}^{-3}$ oraz objętościowej szybkości biokonwersji glicerolu do dihydroksyacetonu na poziomie $R_p = 2,91 \text{ g dm}^{-3}\text{h}^{-1}$. Stwierdzono także, że otrzymany mutant ZJB11001 tolerował wysokie stężenia dihydroksyacetonu w podłożu hodowlanym.

Inna mutacja polegała na implantacji szczepu bakterii *Gluconobacter oxydans* wiązką jonów N^+ o niskiej energii [Hu i in. 2012]. Uzyskany w ten sposób mutant ZJB 09113, we węgłnej hodowli okresowej prowadzonej w kolbach na wstrząsarce, wyprodukował 40 g dm^{-3} dihydroksyacetonu, przy początkowym stężeniu glicerolu $S_0 = 52,86 \text{ g dm}^{-3}$. Stwierdzono, że bombardowanie wiązką jonów powoduje wzrost aktywności dehydrogenazy glicerolowej, co skutkuje poprawą produkcji dihydroksyacetonu.

Przeprowadzono również mutację szczepu *Gluconobacter oxydans*, polegającą na wprowadzeniu do komórek bakterii plazmidu, który zawierał gen kodujący

hemoglobinę [Li, Wu, Lin i in. 2010; Li, Wu, Liu i in. 2010], co pozwoliło na obniżenie zapotrzebowania na tlen podczas hodowli zmutowanych bakterii. Stężenie dihydroksyacetonu otrzymane w wyniku biotransformacji prowadzonej z udziałem szczepu poddanego mutacji, po 32 godzinach hodowli, wynosiło $P = 34,78 \text{ g dm}^{-3}$ w podłożu hodowlanym o początkowym stężeniu glicerolu $S_0 = 80 \text{ g dm}^{-3}$.

Li i wsp. zastosowali nadekspresję genu dehydrogenazy glicerolowej w szczepie bakterii *Gluconobacter oxydans*, który nie posiadał genu kodującego dehydrogenazę alkoholową [Li, Wu, Liu i in. 2010]. Taka modyfikacja spowodowała zwiększoną aktywność dehydrogenazy glicerolowej odpowiedzialnej za biokonwersję glicerolu do dihydroksyacetonu i doprowadziła do znacznej poprawy parametrów kinetycznych produkcji dihydroksyacetonu. We węgłnej hodowli okresowej mutantu M5AM/GDH, prowadzonej w podłożu hodowlanym o początkowym stężeniu glicerolu $S_0 = 100 \text{ g dm}^{-3}$ w bioreaktorze, uzyskano stężenie dihydroksyacetonu $P = 96 \text{ g dm}^{-3}$ w ciągu 8 godzin. Stwierdzono także, że mutant M5AM/GDH wykazał zwiększoną tolerancję na wyższe stężenie dihydroksyacetonu w podłożu hodowlanym.

4.2.3. Immobilizacja komórek bakterii octowych

Immobilizacja polega na unieruchomieniu komórek drobnoustrojów, enzymów lub innych białek wewnątrz lub na powierzchni nośnika w sposób, który pozwala na zachowanie ich aktywności katalitycznej [Jack, Zajić 2006]. Głównymi zaletami immobilizacji są: łatwe oddzielanie materiału biologicznego z mieszaniny reakcyjnej zawierającej pożądany produkt [Wei i in. 2007b], przyspieszenie procesu wytwarzania pożądanych związków [Martynenko, Gracheva 2003], opłacalność reakcji (unieruchomiona biomasa może być ponownie zastosowana kilkakrotnie, bez konieczności ponownej jej proliferacji), zapewnienie większej stabilności enzymu w jego naturalnym środowisku [Wei i in. 2007a] oraz wzrost stężenia biokatalizatora i poprawa właściwości technologicznych [Raška i in. 2007]. Niezwykle istotny dla biosyntezy z udziałem unieruchomionych komórek jest dobór odpowiedniego nośnika, który zapewni stabilność i dużą wydajność reakcji. Wybór nośnika do unieruchomienia jest zależny od rodzaju materiału biologicznego i metody immobilizacji [Survase i in. 2010].

Badania dotyczące możliwości zastosowania unieruchomionych komórek bakterii octowych w procesie biotransformacji glicerolu do dihydroksyacetonu zaczęły się w latach 80. XX wieku [Nabe i in. 1979; Adlercreutz i in. 1985; Holst i in. 1985]. Nabe i wsp. [Nabe i in. 1979] unieruchomili komórki bakterii *Acetobacter xylinum* w żelu poliakrylamidowym. Uzyskali całkowitą konwersję glicerolu do dihydroksyacetonu z wydajnością równą 80% w ciągu 40 godzin hodowli. Stwierdzili jednak, że zastosowanie unieruchomionych komórek bakterii *Acetobacter xylinum* do ciągłej produkcji dihydroksyacetonu napotyka niedogodności, które polegają na inhibicji utleniania glicerolu, z powodu ograniczonej dyfuzji tlenu do żelowego nośnika, w podłożu o wysokim stężeniu substratu oraz niestabilności unieruchomionych komórek bakterii.

Wei i wsp. [2007a] unieruchomili komórki *Gluconobacter oxydans* w polialkoholu winylowym. Otrzymali końcowe stężenie dihydroksyacetonu $P_K = 57,3 \text{ g dm}^{-3}$ i stopień konwersji 95,8%, prowadząc hodowlę w podłożu hodowlanym o pH = 6,0, w bioreaktorze z mieszadłem, przy przepływie powietrza $A = 1,5 \text{ vvm}$ i szybkości obrotowej wału mieszadła $V_{rpm} = 200 \text{ obr. min}^{-1}$. Hekmat i wsp. [2007] unieruchomili komórki bakterii *Gluconobacter oxydans* w polipropylenowych pierścieniach pokrytych silikonem. W hodowli prowadzonej w bioreaktorze kolumnowym ze złożem fluidalnym uzyskali końcowe stężenie dihydroksyacetonu $P_K = 82,0 \text{ g dm}^{-3}$ i maksymalną prędkość objętościową biokonwersji glicerolu do dihydroksyacetonu $R_{p_{max}} = 5,9 \text{ g dm}^{-3}\text{h}^{-1}$. Użyty nośnik okazał się biokompatybilny, trwały, mechanicznie stabilny i chemicznie obojętny, a także zapewniał obszerną przestrzeń do osadzania się komórek bakterii, ochronę komórek bakterii przed ścieraniem oraz wystarczająco wysoką podaż tlenu rozpuszczonego.

Stasiak-Różańska i wsp. [2010] unieruchomili komórki bakterii *Gluconacetobacter xylinus* w alginianie wapnia i prowadzili okresową wglębną hodowlę w kolbach na wstrząsarce, w podłożu hodowlanym o początkowym stężeniu glicerolu $S_0 = 100 \text{ g dm}^{-3}$ i pH = 5,0. W procesie biotransformacji glicerolu uzyskali stężenie dihydroksyacetonu $P_K = 10,9 \text{ g dm}^{-3}$ po 36 godzinach hodowli. Immobilizacja komórek bakterii *Gluconacetobacter xylinus* ułatwia późniejsze odzyskiwanie wysokiej jakości produktu z mieszaniny poprodukcyjnej i umożliwia prowadzenie kilku cykli procesu produkcyjnego, bez potrzeby ponownej proliferacji biomasy.

Black i Nair [2013] unieruchomili komórki bakterii *Gluconacetobacter xylinus* w alginianie wapnia i w alginianie wapnia pokrytym chitozanem. Używając do konwersji glicerolu komórek unieruchomionych w alginianie, uzyskali końcowe stężenie dihydroksyacetonu $P_K = 12,7 \text{ g dm}^{-3}$ oraz szybkość objętościową biokonwersji glicerolu do dihydroksyacetonu $R_p = 0,09 \text{ g dm}^{-3}\text{h}^{-1}$, prowadząc hodowlę w bioreaktorze z mieszadłem przy przepływie powietrza $A = 0,3 \text{ vvm}$ i początkowym stężeniu glicerolu 2% (w/v). Końcowe stężenie dihydroksyacetonu i szybkość objętościowa biokonwersji glicerolu do dihydroksyacetonu dla komórek *Gluconacetobacter xylinus* unieruchomionych w alginianie wapnia pokrytych chitozanem wynosiły odpowiednio $P_K = 11,9 \text{ g dm}^{-3}$ i $R_p = 0,07 \text{ g dm}^{-3}\text{h}^{-1}$, przy przepływie powietrza $A = 0,3 \text{ vvm}$ oraz $P_K = 17,0 \text{ g dm}^{-3}$ i $R_p = 0,11 \text{ g dm}^{-3}\text{h}^{-1}$ przy przepływie powietrza $A = 1,0 \text{ vvm}$. Powłoka chitozanu zapewniała większą stabilność kuleczek alginianu wapnia przy zwiększonej szybkości napowietrzania w trakcie hodowli.

Pomimo wielu zalet stosowania unieruchomionego materiału biologicznego w procesach biotransformacji, procesy te mają pewne ograniczenia wynikające głównie z częściowej utraty aktywności unieruchomionych komórek, ługowaniu materiału z nośnika i zatykania porów nośnika, co pogarsza kontakt pomiędzy substratem i biokatalizatorem [De Muyenck i in. 2007].

4.2.4. Zastosowanie odpadowego glicerolu do otrzymywania dihydroksyacetonu z udziałem bakterii octowych

W związku z rosnącą produkcją biodiesla, która w 2017 r. w Unii Europejskiej osiągnęła poziom 12,3 mln ton [USDA 2017], pojawia się problem zagospodarowania produktu ubocznego tego procesu. Możliwości wykorzystania fazy glicerynowej w przemyśle kosmetycznym, farmaceutycznym, chemicznym oraz spożywczym są ograniczone [Kachel-Jakubowska i in. 2011]. Konieczne jest zatem poszukiwanie nowych kierunków wykorzystania odpadowego glicerolu, między innymi jako składnika podłoża hodowlanych w bioprocessach.

W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono zagospodarowaniu produktów odpadowych z produkcji biodiesla jako substratów w procesach biotechnologicznych. W badaniach Stasiak-Różańskiej i wsp., Dikshit i Moholkar, Liebmingera i wsp. oraz Liu i wsp. zastosowano odpadowy glicerol do produkcji dihydroksyacetonu.

Stasiak-Różańska i wsp. [2017] wytwarzali dihydroksyaceton w reakcji katalizowanej przez unieruchomiony ekstrakt komórek bakterii *Gluconobacter oxydans* ATTC 621. Podczas biokonwersji glicerolu z użyciem immobilizowanego ekstraktu komórkowego, prowadzonej w kolbach na wstrząsarce, uzyskali oni $6,9 \text{ g dm}^{-3}$ dihydroksyacetonu po 24 godzinach hodowli, przy początkowym stężeniu odpadowego glicerolu $S_0 = 30,0 \text{ g dm}^{-3}$.

Dikshit i Moholkar [2016] prowadzili badania nad optymalizacją produkcji dihydroksyacetonu z odpadowego glicerolu z udziałem immobilizowanych komórek bakterii *Gluconobacter oxydans* MTCC 904. Stosując początkowe stężenie odpadowego glicerolu równe 20 g dm^{-3} , otrzymali końcowe stężenie dihydroksyacetonu wynoszące $14,08 \text{ g dm}^{-3}$ i wydajność procesu na poziomie 70,4%.

Liebminger i wsp. [2014] we wglębnych hodowlach okresowych bakterii *Gluconobacter oxydans* w bioreaktorze otrzymali 26 g dm^{-3} dihydroksyacetonu w 38-godzinnej hodowli.

W badaniach Liu i wsp. [2013] wykorzystano nowo wyizolowany szczep bakterii octowych *Gluconobacter frateurii* CGMCC 5397 do produkcji dihydroksyacetonu z odpadowego glicerolu. We wglębnych hodowlach okresowych prowadzonych w kolbach na wstrząsarce uzyskano $73,1 \text{ g dm}^{-3}$ dihydroksyacetonu w 48-godzinnej hodowli, natomiast w zasilanych wglębnych hodowlach okresowych prowadzonych w bioreaktorze uzyskano $125,8 \text{ g dm}^{-3}$ dihydroksyacetonu w 48-godzinnej hodowli. Ten sam zespół prowadził badania nad optymalizacją produkcji dihydroksyacetonu w zasilanej wglębnej hodowli okresowej *Gluconobacter frateurii* CGMCC 5397 prowadzonej w 30-litrowym bioreaktorze, stosując współczynnik przenikania tlenu na poziomie $kLa = 82,14 \text{ h}^{-1}$, i otrzymał stężenie dihydroksyacetonu na poziomie $175,44 \text{ g dm}^{-3}$ oraz wydajność produkcji $Y_{p/S_w} = 89\%$ [Zheng i in. 2016].

5. Podsumowanie

Dihydroksyaceton jest cennym surowcem w wielu gałęziach przemysłu. Znajduje zastosowanie w przemyśle kosmetycznym jako samoopalacz, w medycynie w leczeniu nabytego bielactwa skóry, łuszczycy, zatruc cyjankami, w przemyśle farmaceutycznym jako środek przeciwgrzybiczy oraz związek pośredni do syntezy metotreksatu. Rośnie zainteresowanie jego zastosowaniem jako składnika budulcowego wielu rodzajów polimerów oraz jako substratu w przemyśle chemicznym ze względu na wysoką aktywność chemiczną. Dihydroksyaceton można być także używany w przemyśle spożywczym jako substancja słodząca i suplement diety, zwykle w połączeniu z pirogronianem wapnia, sodu lub potasu oraz jako emulgator i plastyfikator.

Badania nad otrzymywaniem dihydroksyacetonu na drodze biokonwersji przez bakterie octowe są prowadzone od końca XIX wieku. Obejmują zarówno skład podłoża hodowlanego, ustalenie optymalnych parametrów procesu, jak i zastosowanie immobilizowanych komórek bakterii oraz ich modyfikacje genetyczne. W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się wykorzystaniu w procesach biotechnologicznych produktów ubocznych i odpadowych, szczególnie glicerolu, którego duże ilości powstają w produkcji biopaliw. Z przeglądu literatury wynika, że zastosowanie odpadowego glicerolu do produkcji dihydroksyacetonu przez bakterie octowe jest zagadnieniem nowym i mało poznanym. Tylko cztery zespoły badawcze prowadziły badania nad wykorzystaniem odpadowego glicerolu jako substratu do produkcji dihydroksyacetonu na drodze biokonwersji przez bakterie octowe.

Literatura

- Adams A., Tehrani K.A., Keršienė M., De Kimpe N., 2004, *Detailed investigation of the production of the bread flavor component 6-acetyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine in proline/1,3-dihydroxyacetone model systems*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, no. 52, s. 5685–5693.
- Adlercreutz P., Holst O., Mattiasson B., 1985, *Characterization of Gluconobacter oxydans immobilized in calcium alginate*, Applied Microbiology and Biotechnology, no. 22, s. 1–7.
- Akhtar N., Blomberg N., Adler L., 1997, *Osmoregulation and protein expression in a pbs2A mutant of Saccharomyces cerevisiae during adaptation to hypersaline stress*, FEBS Letters, no. 403, s. 173–180.
- Antinozzi P.A., Ishihara H., Newgard C.B., Wollheim C.B., 2002, *Mitochondrial metabolism sets the maximal limit of fuel-stimulated insulin secretion in a model pancreatic beta cell*, The Journal of Biological Chemistry, no. 277, s. 11746–11755.
- Asawanonda P., Oberlender S., Taylor C., 1999, *The use of dihydroxyacetone for photoprotection in variegated porphyria*, International Journal of Dermatology, no. 38, s. 916–925.
- Bagheri S., Julkapli N.M., Yehye W.A., 2015, *Catalytic conversion of biodiesel derived raw glycerol to value added products*, Renewable and Sustainable Energy Review, no. 41, s. 113–127.

- Bakker B.M.M., Michels P.A.M., Opperdoes F.R., Westerhoff H.V., 1999, *What controls glycolysis in bloodstream form Trypanosoma brucei?*, The Journal of Biological Chemistry, no. 274, s. 14551–14559.
- Barchiesi F., Silvestri C., Arzeni D., Ganzetti G., Castelletti S., Simonetti O., Cirioni O., Kamysz W., Kamysz E., Spreghini E., Abruzzetti A., Riva A., Offidani A.M., Giacometti A., Scalise G., 2009, *In vitro susceptibility of dermatophytes to conventional and alternative antifungal agents*, Medical Mycology, vol. 47(3), s. 321–326.
- Bauer R., Katsikis N., Varga S., Hekmat D., 2005, *Study of the inhibitory effect of the product dihydroxyacetone on Gluconobacter oxydans in a semi-continuous two-stage repeated-fed-batch process*, Bioprocess and Biosystems Engineering, no. 5, s. 37–43.
- Bianchi C.L., Canton P., Dimitratos N., Porta F., Prati L., 2005, *Selective oxidation of glycerol with oxygen using mono and bimetallic catalysts based on Au, Pd and Pt metals*, Catalysis Today, no. 102–103, s. 203–212.
- Black C.S., Nair G.R., 2013, *Bioconversion of glycerol to dihydroxyacetone by immobilized Gluconacetobacter xylinus cells*, International Journal of Chemical Engineering and Applications, vol. 4(5), s. 310–314.
- Błażej S., 2013, *Bakterie kwasu octowego i kierunki ich wykorzystania w biotechnologii*, [w:] *Zastosowanie wybranych drobnoustrojów w biotechnologii żywności*, red. M. Gniewosz, E. Lipińska, Wydawnictwo SGGW, Warszawa, s. 209–235.
- Błażej S., Stasiak-Różańska L., Markowski K., Lipińska E., 2011, *Zwiększenie zdolności biosyntezy dihydroksyacetonu przez bakterie Gluconacetobacter xylinus za pomocą mutagenizacji promieniowaniem UV*, Acta Scientiarum Polonorum Biotechnologia, vol. 10(2), s. 17–24.
- Brandner A., Lehnert K., Bienholz A., Lucas M., Claus P., 2009, *Production of biomass-derived chemicals and energy: chemocatalytic conversions of glycerol*, Topics in Catalysis, no. 52, s. 278–287.
- Buttery R.G., Orts W.J., Takeoka G.R., Nam Y., 1999, *Volatile flavor components of rice cakes*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, no. 47, s. 4353–4356.
- Castells J., Geijo F., López-Calahorra F., 1980, *The formoin reaction. A promising entry to carbohydrates from formaldehyde*, Tetrahedron Letters, vol. 21(47), s. 4517–4520.
- Castells J., López-Calahorra F., Geijo F., 1983, *The formoin reaction*, Carbohydrate Research, no. 116, s. 197–207.
- Charmantray F., El Blidi L., Gefflaut T., Hecquet L., Bolte J., Lemaire M., 2004, *Improved straightforward chemical synthesis of dihydroxyacetone phosphate through enzymatic desymmetrization of 2,2-dimethoxypropane-1,3-diol.*, The Journal of Organic Chemistry, no. 69, s. 9310–9312.
- Choquenot B., Couteau C., Papis E., Coiffard L.J.M., 2009, *Foundations and self-tanning products: Do they provide any protection from the sun?*, Journal of Dermatology, no. 36, s. 587–591.
- Cichy M., 2012, *Nowe kierunki wykorzystania glicerolu w przemyśle chemicznym*, [w:] *Adsorbenty i katalizatory. Wybrane technologie a środowisko*, red. J. Ryzkowski, Uniwersytet Rzeszowski, Rzeszów, s. 309–322.
- Cieplak M., Ceborska M., Cmoch P., Jarosz S., 2012, *Synthesis of higher carbon sugars from dihydroxyacetone and D-arabinose: an organocatalytic approach*, Asymmetry, no. 23, s. 1213–1217.
- Ciriminna R., Palmisano G., Della Pina C., Rpsai M., Pagliaro M., 2006, *One-pot electrocatalytic oxidation of glycerol to DHA*, Tetrahedron Letters, no. 47, s. 6993–6995.
- Claus P., Demirel-Gülen S., Lucas M., Lehnert K., 2007, *Verfahren zur selektiven Herstellung von Dihydroxyaceton aus Glycerin sowie ein Verfahren zur Herstellung eines Metallkatalysators zur selektiven Oxidation von Glycerin*. Patent DE102005044913A1.
- Crotti C., Farnetti E., 2015, *Selective oxidation of glycerol catalyzed by iron complexes*, Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, no. 396, s. 353–359.
- Demirel S., Lehnert K., Lucas M., Claus P., 2007, *Use of renewables for the production of chemicals: glycerol oxidation over carbon supported gold catalysts*, Applied Catalysis B: Environmental, no. 70, s. 637–643.

- De Muynck C., Pereira C.S.S., Naessens M., Soetaert W., Vandamme E.J., 2007, *The genus Gluconobacter oxydans: comprehensive overview of biochemistry and biotechnological applications*, Critical Reviews in Biotechnology, no. 27, s. 147–171.
- Deppenmeier U., Hoffmeister M., Prust C., 2002, *Biochemistry and biotechnological applications of Gluconobacter strains*, Applied Microbiology and Biotechnology, no. 60, s. 233–242.
- Dikshit P.K., Moholkar V.S., 2016, *Optimization of 1,3-dihydroxyacetone production from crude glycerol by immobilized Gluconobacter oxydans MTCC 904*, Bioresource Technology, no. 216, s. 1058–1065.
- Dimitratos N., Messi C., Porta F., Prati L., Villa A., 2006, *Investigation on the behaviour of Pt(0)/carbon and Pt(0),Au(0)/carbon catalysts employed in the oxidation of glycerol with molecular oxygen in water*, Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, no. 256, s. 21–28.
- Draelos Z.D., 2002, *Self-tanning lotions are they a healthy way to achieve a tan?*, American Journal of Clinical Dermatology, vol. 3(5), s. 317–318.
- Enders D., Voith M., Lenzen A., 2005, *The dihydroxyacetone unit – a versatile C3 building block in organic synthesis*, Angewandte Chemie International Edition, no. 44, s. 1304–1325.
- Erni B., Siebold C., Christen S., Srinivas A., Oberholzer A., Baumann U., 2006, *Small substrate, big surprise: fold, function and phylogeny of dihydroxyacetone kinases*, Cellular and Molecular Life Sciences, no. 63, s. 890–900.
- Ethier S., Woisard K., Vaughan D., Wen Z., 2011, *Continuous culture of the microalgae Schizochytrium limacinum on biodiesel-derived crude glycerol for producing docosahexaenoic acid*, Bioresource Technology, vol. 102(1), s. 88–93.
- Ferroni E.L., DiTella V., Ghanayem N., Jeske R., Jodlowski C., O'Connell M., Styrsky J., Svoboda R., Venkataraman A., Winkler B.M., 1999, *A three-step preparation of dihydroxyacetone phosphate dimethyl acetal*, The Journal of Organic Chemistry, no. 64, s. 4943–4945.
- Fesq H., Brockow K., Strom K., Mempel M., Ring J., Abeck D., 2001, *Dihydroxyacetone in a new formulation – a powerful therapeutic option in vitiligo*, Dermatology, no. 203, s. 241–243.
- Garcia R., Besson M., Gazzelot P., 1995, *Chemoselective catalytic oxidation of glycerol with air on platinum metals*, Applied Catalysis A, no. 127, s. 165–176.
- Gätgens C., Degner U., Bringer-Meyer S., Herrmann U., 2007, *Biotransformation of glycerol to dihydroxyacetone by recombinant Gluconobacter oxydans DSM 2343*, Applied Microbiology and Biotechnology, no. 76, s. 553–559.
- Gehrer E., Harder W., Vogel H., Knuth B., Ebel K., Groenig C., 1995, *Preparation of dihydroxyacetone*. United States Patent No. 5410089.
- Green S.R., Whalen E.A., Molokie E., 1961, *Dihydroxyacetone: Production and uses*, Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, vol. 3(4), s. 351–355.
- Habe H., Fukoka T., Kitamoto D., Sakaki K., 2009, *Biotechnological production of D-glycerid acid and its application*, Applied Microbiology and Biotechnology, no. 84, s. 445–452.
- Habe H., Fukoka T., Morita T., Kitamoto D., Yakushi T., Matsushita K., Sakaki K., 2010, *Disruption of the membrane bound alcohol dehydrogenase – encoding gene improved glycerol use and dihydroxyacetone productivity in Gluconobacter oxydans*, Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, vol. 74(7), s. 1391–1395.
- Habe H., Shimada J., Yakushi T., Hattori H., Ano Y., Fukuoka T., Kitamoto D., Itagaki M., Watanabe K., Yanagishita H., Matsushita K., Sakaki K., 2009, *Microbial production of glyceric acid, an organic acid that can be mass produced from glycerol*, Applied and Environmental Microbiology, vol. 75(24), s. 7760–7766.
- Hekmat D., Bauer R., Fricke J., 2003, *Optimization of the microbial synthesis of dihydroxyacetone from glycerol with Gluconobacter oxydans*, Bioprocess. Biosystems Engineering, no. 26, s. 109–116.
- Hekmat D., Bauer R., Neff V., 2007, *Optimization of the microbial synthesis of dihydroxyacetone in a semi-continuous repeated-fed-batch process by in situ immobilization of Gluconobacter oxydans*, Process Biochemistry, no. 42, s. 71–76.

- Henderson P.W., Kadouch D.J.M., Singh S.P., Zawaneh P.N., Weiser J., Yazdi S., Weinstein A., Krottscheck U., Wechsler B., Putnam D., Spector J.A., 2010, *A rapidly resorbable hemostatic biomaterial based on dihydroxyacetone*, Journal of Biomedical Materials Research Part A, vol. 93(2), s. 776–782.
- Holst O., Lundbäck H., Mattiasson B., 1985, *Hydrogen peroxide as an oxygen source for immobilized Gluconobacter oxydans converting glycerol to dihydroxyacetone*, Applied Microbiology and Biotechnology, no. 22, s. 383–388.
- Hu W., Knight D., Lowry B., Varma A., 2010, *Selective oxidation of glycerol to dihydroxyacetone over Pt-Bi/C catalyst: optimization of catalyst and reaction conditions*, Industrial & Engineering Chemistry Research, no. 49, s. 10876–10882.
- Hu Z.C., Liu Z.Q., Xu J.M., Zheng Y.G., Shen Y.C., 2012, *Improvement of 1,3-dihydroxyacetone production from Gluconobacter oxydans by ion beam implantation*, Preparative Biochemistry and Biotechnology, vol. 42(1), s. 15–28.
- Hu Z.C., Liu Z.Q., Zheng Y.G., Shen Y.C., 2010, *Production of 1,3-dihydroxyacetone from glycerol by Gluconobacter oxydans ZJB09112*, Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 20(2), s. 340–345.
- Hu Z.C., Zheng Y.G., Shen Y.C., 2010, *Dissolved-oxygen-stat fed-batch fermentation of 1,3-dihydroxyacetone from glycerol by Gluconobacter oxydans ZJB09112*, Biotechnology and Bioprocess Engineering, no. 15, s. 651–656.
- Hu Z.C., Zheng Y.G., 2011, *Enhancement of 1,3-dihydroxyacetone production by a UV-induced mutant of Gluconobacter oxydans with DO control strategy*, Applied Biochemistry and Biotechnology, no. 165, s. 1152–1160.
- Hu Z.C., Zheng Y.G., Shen Y.C., 2011, *Use of glycerol for producing 1,3-dihydroxyacetone by Gluconobacter oxydans in an airlift bioreactor*, Bioresource Technology, no. 102, s. 7177–7182.
- Ivy J.L., 1998, *Effect of pyruvate and dihydroxyacetone on metabolism and aerobic endurance capacity*, Medicine & Science in Sports & Exercise, no. 30, s. 837–843.
- Jack T.R., Zajic J.E., 2006, *The immobilization of whole cells*, Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology, no. 5, s. 125–145.
- Kachel-Jakubowska M., Kraszkiewicz A., Szpryngiel M., Niedziółka I., 2011, *Możliwości wykorzystania odpadów poprodukcyjnych z rzepaku ozimego na cele energetyczne*, Inżynieria Rolnicza, nr 6(131), s. 61–68.
- Katryniok B., Kimura H., Skrzyńska E., Girardon J.S., Fongarland P., Capron M., Ducoulombier R., Mimura N., Paula S., Dumeignil F., 2011, *Selective catalytic oxidation of glycerol: perspectives for high value chemicals*, Green Chemistry, no. 13, s. 1960–1979.
- Kimura H., 1993, *Selective oxidation of glycerol on a platinum-bismuth catalyst by using a fixed bed reactor*, Applied Catalysis A, no. 105, s. 147–158.
- Koeller K.M., Wong C.H., 2001, *Enzymes for chemical synthesis*, Nature, no. 409, s. 232–240.
- Levy S.B., 2001, *Cosmetics that imitate a tan*, Dermatologic Therapy, no. 14, s. 215–219.
- Lewis R.J.Sr., 2007, *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*, 15th Edition, John Wiley & Sons, New York.
- Li M., Wu J., Lin J., Wei D., 2010, *Expression of vitreoscilla hemoglobin enhances cell growth and dihydroxyacetone production in Gluconobacter oxydans*, Current Microbiology, no. 61, s. 370–375.
- Li M., Wu J., Liu X., Lin J., Wei D., Chen H., 2010, *Enhanced production of dihydroxyacetone from glycerol by over expression of glycerol dehydrogenase in an alcohol-deficient mutant of Gluconobacter oxydans*, Bioresource Technology, no. 101, s. 8294–8299.
- Liebming S., Hofbauer R., Siebenhofer M., Nyanhongo G.S., Guebitz G.M., 2014, *Microbial conversion of crude glycerol to dihydroxyacetone*, Waste Biomass Valor, no. 5, s. 781–787.
- Liu Z., Hu Z., Zheng Y., Shen Y., 2008, *Optimization of cultivation conditions for the production of 1,3-dihydroxyacetone by Pichia membranifaciens using response surface methodology*, Biochemical Engineering Journal, no. 38, s. 285–291.

- Liu X., Jensen P.R., Workman M., 2012, *Bioconversion of crude glycerol feedstocks into ethanol by *Pachysolen tannophilus**, *Bioresource Technology*, no. 104, s. 579–586.
- Liu Y.P., Sun Y., Tan C., Li H., Zheng X.J., Jin K.Q., Wang G., 2013, *Efficient production of dihydroxyacetone from biodiesel-derived crude glycerol by newly isolated *Gluconobacter frateurii**, *Bioresource Technology*, no. 142, s. 384–389.
- Liu H.M., Zou D.P., Zhang F., Zhu W.G., Peng T., 2004, *Stereoselective synthesis of new higher carbon sugars from D-xylose*, *European Journal of Organic Chemistry*, no. 10, s. 2103–2106.
- Lu L., Wei L., Zhu K., Wei D., Hua Q., 2012, *Combining metabolic engineering and adaptive evolution to enhance the production of dihydroxyacetone from glycerol by *Gluconobacter oxydans* in a low-cost way*, *Bioresource Technology*, no. 117, s. 317–324.
- Lux S., Siebenhofer M., 2013, *Synthesis of lactic acid from dihydroxyacetone: use of alkaline-earth metal hydroxides*, *Catalysis Science & Technology*, no. 3, s. 1380–1385.
- Ma L., Lu W., Xia Z., Wen J., 2010, *Enhancement of dihydroxyacetone production by a mutant of *Gluconobacter oxydans**, *Biochemical Engineering Journal*, no. 49, s. 61–67.
- Martynenko N.N., Gracheva I.M., 2003, *Physiological and biochemical characteristics of immobilized champagne yeasts and their participation in champagnizing processes: A review*, *Applied Biochemistry and Microbiology*, vol. 39(5), s. 439–445.
- Mishra R., Jain S.R., Kumar A., 2008, *Microbial production of dihydroxyacetone*, *Biotechnology Advances*, no. 26, s. 293–303.
- Misterska M., Szulczyńska-Gabor J., Żaba R., 2009, *Etiopatogeneza, obraz kliniczny i leczenie bielactwa*, *Postępy w Dermatologii i Alergologii*, nr 4, s. 212–223.
- Nabe K., Izuo N., Yamada S., Chibata I., 1979, *Conversion of glycerol to dihydroxyacetone by immobilized whole cells of *Acetobacter xylinum**, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 38(6), s. 1056–1060.
- Navrátil M., Tkáč J., Švitel J., Danielsson B., Šturdik E., 2001, *Monitoring of the bioconversion of glycerol to dihydroxyacetone with immobilized *Gluconobacter oxydans* cell using thermometric flow injection analysis*, *Process Biochemistry*, no. 36, s. 1045–1052.
- Nguyen B.C., Kochevar I.E., 2003, *Factors influencing sunless tanning with dihydroxyacetone*, *British Journal of Dermatology*, no. 149, s. 332–340.
- Nguyen H.T.T., Nevoigt E., 2009, *Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for the production of dihydroxyacetone (DHA) from sugars: A proof of concept*, *Metabolic Engineering*, no. 11, s. 335–346.
- Niknahad H., Ghelichkhani E., 2002, *Antagonism of cyanide poisoning by dihydroxyacetone*, *Toxicology Letters*, no. 132, s. 95–100.
- Niknahad H., O'Brien P.J., 1996, *Antidotal effect of dihydroxyacetone against cyanide toxicity in vivo*, *Toxicology and Applied Pharmacology*, no. 138, s. 186–191.
- Obeid O.A., Bittar S.T., Hwalla N., Emery P.W., 2005, *Effect of diet supplementation with glutamine, dihydroxyacetone, and leucine on food intake, weight gain, and postprandial glycogen metabolism of rats*, *Nutrition*, no. 21, s. 224–229.
- Obeid O.A., Jamal Z.M., Hwalla N., Emery P.W., 2006, *The effect of glutamine and dihydroxyacetone supplementation on food intake, weight gain, and postprandial glycogen synthesis in female Zucker rats*, *Nutrition*, no. 22, s. 794–801.
- O'Neil M.J. (ed.), 2006, *The Merck Index – An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*, Merck and Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, s. 540.
- Padhi S.K., Panda A.K., Singh R.K., 2013, *Value added derivatives of glycerol obtained from biodiesel industry: a review*, *International Journal of Engineering Research and Technology*, no. 2, s. 1119–1169.
- Painter R.M., Pearson D.M., Waymouth R.M., 2010, *Selective catalytic oxidation of glycerol to dihydroxyacetone*, *Angewandte Chemie*, no. 122, s. 9646–9649.

- Pavlovic-Djuranovic S., Kun J.F.J., Schultz J.E., Beitz E., 2006, *Dihydroxyacetone and methylglyoxal as permeants of the Plasmodium aquaglyceropirin inhibit parasite proliferation*, *Biochimica et Biophysica Acta*, no. 1758, s. 1012–1017.
- Petersen A.B., Wulf H.C., Gniadecki R., Gajkowska B., 2004, *Dihydroxyacetone, the active brownening ingredient in sunless tanning lotions, induces DNA damage, cell-cycle block and apoptosis in cultured HaCaT keratinocytes*, *Mutation Research*, no. 560, s. 173–186.
- Piattoni C.V., Figueroa C.M., Diez M.D.A., Parcerisa I.L., Antuna S., Comelli R.A., Guerrero S.A., Beccaria A.H., Iglecias A.A., 2013, *Production and characterization of Escherichia coli glycerol dehydrogenase as a tool for glycerol recycling*, *Process Biochemistry*, no. 48, s. 406–412.
- Rajatanavin N., Suwanachote S., Kulkollakarn S., 2008, *Dihydroxyacetone: a safe camouflaging option in vitiligo*, *International Journal of Dermatology*, no. 47, s. 402–406.
- Raška J., Skopal F., Komers K., Machek J., 2007, *Kinetics of glycerol biotransformation to dihydroxyacetone by immobilized Gluconobacter oxydans and effect of reaction conditions*, *Czechoslovak Chemical Communications*, vol. 72(9), s. 1269–1283.
- Ro Y.M., Eom C.Y., Song T., Cho J.W., Kim Y.M., 1997, *Dihydroxyacetone synthase from a methanol-utilizing Carboxydobacterium, Acinetobacter sp. strain JCI DSM 3803*, *Journal of Bacteriology*, no. 179, s. 6041–6047.
- Rodrigues E.G., Pereira M.F.R., Delgado J.J., Chen X., Órfao J.J.M., 2011, *Enhancement of the selectivity to dihydroxyacetone in glycerol oxidation using gold nanoparticles supported on carbon nanotubes*, *Catalysis Communications*, vol. 16(1), s. 64–69.
- Rogers C.J., 2005, *Spray-on tanning*, *Aesthetic Surgery Journal*, vol. 25(4), s. 413–415.
- Rychlik M., Grosch W., 1996, *Identification and quantification of potent odorants formed by toasting of wheat bread*, *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, no. 29, s. 515–525.
- Saint-Amans S., Girbal L., Andrade J., Ahrens K., Soucaille P., 2001, *Regulation of carbon and electron flow in Clostridium butyricum VPI 3266 grown on glucose-glycerol mixtures*, *Journal of Bacteriology*, vol. 183(5), s. 1748–1754.
- Schieberle P., 1991, *Primary odorants in popcorn*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 39(6), s. 1141–1144.
- Schmid D., Belser E., Züllli F., 2007, *Self-tanning based on stimulation of melanin biosynthesis*, *Cosmetics & Toiletries*, vol. 122(7), s. 55–62.
- Shipar A.H., 2006, *Formation of the Heyns rearrangement products in dihydroxyacetone and glycine Maillard reaction: A computational study*, *Food Chemistry*, no. 97, s. 231–243.
- Stanko R.T., Arch J.E., 1996, *Inhibition of regain body weight and fat with addition of 3-carbon compounds to the diet with hyperenergetic refeeding after weight reduction*, *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorder*, vol. 20(10), s. 925–930.
- Stanko R.T., Tietze D.L., Arch J.E., 1992, *Body composition, energy utilization and nitrogen metabolism with a severely restricted diet supplemented with dihydroxyacetone and pyruvate*, *The American Journal of Clinical Nutrition*, no. 55, s. 771–776.
- Stasiak-Róžańska L., Błażej S., 2012, *Production of dihydroxyacetone from an aqueous solution of glycerol in the reaction catalyzed by an immobilized cell preparation of acetic acid bacteria Gluconobacter oxydans ATCC 621*, *European Food Research and Technology*, no. 235, s. 1125–1132.
- Stasiak-Róžańska L., Błażej S., Gientka I., Bzducha-Wróbel A., Lipińska E., 2017, *Utilization of a waste glycerol fraction using and reusing immobilized Gluconobacter oxydans ATCC 621 cell extract*, *Electronic Journal of Biotechnology*, no. 27, s. 44–48.
- Stasiak-Róžańska L., Błażej S., Miklaszewska A., 2011, *Application of immobilized cell preparation obtained from biomass of Gluconacetobacter xylinus bacteria in biotransformation of glycerol to dihydroxyacetone*, *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, vol. 10(1), s. 35–49.
- Stasiak-Róžańska L., Błażej S., Ratz A., 2010, *Investigations into the optimization of parameters of glycerol biotransformation to dihydroxyacetone with the use of immobilized cells of Gluconacetobacter xylinus*, *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, vol. 60(3), s. 273–280.

- Stewart M.Q., Esposito R.D., Gowani J., Goodman J.M., 2001, *Alcohol oxidase and dihydroxyacetone synthase, the abundant peroxisomal proteins of methylotrophic yeasts, assemble in different cellular compartments*, Journal of Cell Science, no. 114, s. 2863–2868.
- Stopiglia C.D.O., Vieira F.J., Mondadori A.G., Oppe T.P., Scroferneker M.L., 2011, *In vitro antifungal activity of dihydroxyacetone against causative agents of dermatomycosis*, Mycopathologia, no. 171, s. 267–271.
- Suga Y., Ikejima A., Matsuba S., Ogawa H., 2002, *Medical Pearl: DHA application for camouflaging segmental vitiligo and piebald lesions*, Journal of The American Academy of Dermatology, no. 47, s. 436–438.
- Survase S.A., Annapure U.S., Singhol R.S., 2010, *Gellan gum as an immobilization matrix for the production of cyclosporin a*, Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 20(7), s. 1086–1091.
- Ślepokura K., Lis T., 2004, *Crystal structures of dihydroxyacetone and its derivatives*, Carbohydrate Research, no. 339, s. 1995–2007.
- Ślepokura K., Lis T., 2006, *Fosforan dihydroksyacetonu w chemii i biochemii*, Wiadomości Chemiczne, vol. 60(1-2), s. 5–46.
- Švitel J., Šturdík E., 1994, *Product yield and by-product formation in glycerol conversion to dihydroxyacetone by Gluconobacter oxydans*, Journal of Fermentation and Bioengineering, no. 78, s. 351–355.
- Taconi K.A., Venkataramanan K.P., Johnson D.T., 2009, *Growth and solvent production by Clostridium pasteurianum ATCC 6013 utilizing biodiesel-derived crude glycerol as the sole carbon source*, Environmental Progress Sustainable Energy, vol. 28(1), s. 100–110.
- Taguchi T., Murase S., Miwa I., 2002, *Glyceraldehyde metabolism in human erythrocytes in comparison with that of glucose and dihydroxyacetone*, Cell Biochemistry and Function, vol. 20(3), s. 223–226.
- Takayama Y., Okamoto S., Sato F., 1997, *Stereoselective synthesis of optically active substituted piperidines and pyrrolidines from amino acid derivatives by titanium(II)-mediated intramolecular cyclization reaction*, Tetrahedron Letters, vol. 38, no. 48, s. 8351–8354.
- Taylor C.R., Kwangstuth C., Wimberly J., Kollias N., Anderson R.R., 1999, *Turbo-PUVA: dihydroxyacetone-enhanced photochemotherapy for Psoriasis – A pilot study*, Archives of Dermatology, vol. 135(5), s. 540–544.
- Tkáč J., Navrátil M., Šturdík E., Gemeiner P., 2001, *Monitoring of dihydroxyacetone production during oxidation of glycerol by immobilized Gluconobacter oxydans cells with an enzyme biosensor*, Enzyme and Microbial Technology, no. 28, s. 383–388.
- Tsuura Y., Ishida H., Okamoto Y., Kato S., Horie M., Ikeda H., Seino Y., 1994, *Reduced sensitivity of dihydroxyacetone on ATP-sensitive K⁺ channels of pancreatic beta cells in GK rats*, Diabetologia, vol. 37(11), s. 1082–1087.
- USDA Foreign Agricultural Service, 2017, *EU Biofuels Annual 2017*, https://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Biofuels%20Annual_The%20Hague_EU-28_6-19-2017.pdf (4.11.2018).
- Uzcátegui N., Carmona-Gutiérrez D., Denninger V., Schoenfeld C., Lang F., Figarella K., Duszenko M., 2007, *Antiproliferative effect of dihydroxyacetone on Trypanosoma brucei bloodstream forms: cell cycle progression, subcellular alterations, and cell death*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, vol. 51(11), s. 3960–3968.
- Volpato G., Rodrigues R.C., Heck J.X., Ayub M.A.Z., 2008, *Production of organic solvent tolerant lipase by Staphylococcus caseolyticus EX17 using raw glycerol as substrate*, Journal of Chemical Technology & Biotechnology, vol. 83(6), s. 821–828.
- Wang J., Zhang M., Zheng Z., Yu F., Ji J., 2013, *The indirect conversion of glycerol into 1,3-dihydroxyacetone over magnetic polystyrene nanosphere immobilized TEMPO catalyst*, Chemical Engineering Journal, no. 229, s. 234–238.

- Wei S., Song Q., Wei D., 2007a, *Repeated use of immobilized Gluconobacter oxydans cells for conversion of glycerol to dihydroxyacetone*, Preparative Biochemistry and Biotechnology, no. 37, s. 67–76.
- Wei S., Song Q., Wei D., 2007b, *Production of Gluconobacter oxydans cells from low-cost culture medium for conversion of glycerol to dihydroxyacetone*, Preparative Biochemistry and Biotechnology, no. 37, s. 113–121.
- Weiser J.R., Zawaneh P.N., Putnam D., 2011, *Poly(carbonate-ester)s of dihydroxyacetone and lactic acid as potential biomaterials*, Biomacromolecules, no. 12, s. 977–986.
- Wendisch F.V., Lindner S.N., Meiswinkel T.M., 2011, *Use of glycerol in biotechnological applications*, [w:] *Biodiesel – Quality, Emissions and By-Products*, eds. G. Montero, M. Stoytcheva, s. 305–340.
- Wethmar M., Deckwer D., 1999, *Semisynthetic culture medium for growth and dihydroxyacetone production by Gluconobacter oxydans*, Biotechnology Techniques, vol. 13(4), s. 283–287.
- Yourick J.J., Koenig M.L., Yourick D.L., Bronaugh R.L., 2004, *Fate of chemicals in skin after dermal application: does the in vitro skin reservoir affect the estimate of systemic absorption?*, Toxicology and Applied Pharmacology, no. 195, s. 309–320.
- Zawaneh P.N., Singh S.P., Padera R.F., Henderson P.W., Spector J.A., Putnam D., 2010, *Design of an injectable synthetic and biodegradable surgical biomaterial*, Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 107(24), s. 11014–11019.
- Zegarska B., Kaczmarek-Skamira E., Czajkowski R., Olszewska-Słonina D., 2008, *Możliwości kosmetyczne korekcji plam bielaczych*, Dermatologia Kliniczna, nr 10(1), s. 41–44.
- Zelikin A.N., Putnam D., 2005, *Poly(carbonate-acetal)s from the dimer form of dihydroxyacetone*, Macromolecules, no. 38, s. 5532–5537.
- Zelikin A.N., Zawaneh P.N., Putnam D., 2006, *A functionalizable biomaterial based on dihydroxyacetone, an intermediate of glucose metabolism*, Biomacromolecules, no. 7, s. 3239–3244.
- Zheng X., Jin K., Zhang L., Liu Y., 2016, *Effects of oxygen transfer coefficient on dihydroxyacetone production from crude glycerol*, Brazilian Journal of Microbiology, no. 47, s. 129–135.
- Zheng Z., Luo M., Yu J., Wang J., Ji J., 2012, *Novel process for 1,3-dihydroxyacetone production from glycerol. Technological feasibility study and process design*, Industrial and Engineering Chemistry Research, no. 51, s. 3715–3721.