



**Politechnika
Śląska**

ROZPRAWA DOKTORSKA

„Monolity krzemionkowe jako nośniki enzymów wykorzystywanych
w wybranych procesach biotransformacji”

mgr inż. Daria ŚWIĘTOCHOWSKA

PROMOTORZY

dr hab. inż. Katarzyna Szymańska, prof. Pol. Śl.

dr hab. inż. Danuta Gillner, prof. Pol. Śl.

KATEDRA CHEMII ORGANICZNEJ, BIOORGANICZNEJ I BIOTECHNOLOGII

Wydział Chemiczny

GLIWICE 2022

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Monolity krzemionkowe jako nośniki enzymów w wybranych procesach biotransformacji

mgr inż. Daria ŚWIĘTOCHOWSKA

Promotorzy: dr hab. inż. Katarzyna Szymańska, prof. P. Ś.

dr hab. inż. Danuta Gillner, prof. P. Ś.

Głównym celem rozprawy doktorskiej było wykorzystanie modyfikowanych monolitów krzemionkowych, o hierarchicznej strukturze porów, jako nośników różnych enzymów oraz ocena ich użyteczności w wybranych procesach biotransformacji, w tym w procesach wieloenzymatycznych/kaskadowych.

W ramach pracy doktorskiej przeprowadzono badania dotyczące opracowania i zastosowania następujących immobilizowanych biokatalizatorów: kowalencyjnie i/lub adsorpcyjnie unieruchomionej lipazy CalB z *Candida antarctica*, kowalencyjnie unieruchomionej pirofosforylasy UDP-glukozy wyizolowanej z *Thermocrispum agreste* (*TaGalU*) oraz kowalencyjnie immobilizowanych/współimmobilizowanych enzymów wchodzących w skład kaskady enzymatycznej- oksydazy D-aminokwasowej wyizolowanej z *Rhodotorula gracilis* ($DAAO_{Rg}$), handlowo dostępnej katalazy oraz transketolazy wyizolowanej z *Geobacillus stearothermophilus* (TK_{gst}). Aktywność i stabilność tak otrzymanych biokatalizatorów określono następnie w wybranych reakcjach: hydrolizy octanu *p*-nitrofenylu oraz estryfikacji kwasu lewulinowego (w przypadku lipazy CalB), syntezy UDP-glukozy (*TaGalU*) i otrzymywania trehalozy (*TaGalU* jako element składowy kaskady), a także w syntezie L-erytrulozy (kaskada enzymatyczna: $DAAO_{Rg}$, katalaza, TK_{gst}).

W pracy wykazano, że wybór metody immobilizacji lipazy powinien być uzależniony od warunków procesu, w jakich enzym będzie stosowany. Zastosowanie obu metod immobilizacji (kowalencyjnej i adsorpcyjnej) umożliwiło uzyskanie biokatalizatorów o wysokiej aktywności. Zaś stabilność uzależniona była od typu procesów, w których biokatalizatory były stosowane. Lipaza immobilizowana kowalencyjnie wykazywała stabilność zarówno w procesie hydrolizy jak i estryfikacji, a osadzona adsorpcyjnie była stabilna tylko w procesie estryfikacji. Wykazano również, że kowalencyjna immobilizacja pirofosforylasy UDP-glukozy przyczyniła się do poszerzenia optimum pH i temperatury oraz poprawy stabilności termicznej enzymu (w porównaniu do natywnej formy enzymu). Ponadto enzym ten, unieruchomiony wewnątrz mikroreaktora wykazywał wysoką stabilność procesową, dzięki czemu mógł być użyty jako element kaskady enzymatycznej. W pracy zademonstrowano to na przykładzie kaskady z transferazą trehalozy, do syntezy trehalozy. Innym przykładem procesu kaskadowego było enzymatyczne otrzymywanie L-erytrulozy,

gdzie wykorzystywano trzy immobilizowane enzymy. Dowiedziono, że kowalencyjna immobilizacja oksydazy D-aminokwasowej, katalazy oraz transketolazy przyczyniła się do znacznej poprawy stabilności termicznej tych enzymów (w porównaniu do natywnej formy), a najlepszą wydajność L-etryulozy otrzymano w przypadku współimmobilizacji DAAO_{Rg} i katalazy oraz osobnej immobilizacji TK_{gst}

Reasumując, wykazano, że monolity krzemionkowe mogą być wykorzystywane jako efektywne nośniki katalizatorów (enzymów), zarówno w procesach okresowych jak i procesach ciągłych.

Warto również podkreślić, że przeprowadzone badania, w szczególności obejmujące procesy kaskadowe, mogą być punktem wyjścia do zastosowań prezentowanych układów enzymatycznych w produkcji innych cennych związków.