

Katarzyna Sokołowska

Streszczenie pracy doktorskiej pt.

**FUNKCJONALNE NOŚNIKI POLIMEROWE
DLA BIOKATALIZATORÓW DO ENZYMATYCZNEJ
HYDROLIZY CELULOZY**

Bez wątplenia najdoskonalszym, niedoścignionym laboratorium chemicznym jest przyroda. Bez wielkich reaktorów i przyrządów pomiarowych wytwarza produkty, do których człowiek na drodze syntezy chemicznej nawet się nie zbliżył. W przyrodzie reakcje chemiczne katalizowane są przez enzymy obecne w komórkach i płynach ustrojowych żywych organizmów. Te doskonale biokatalizatory działające efektywnie w warunkach fizjologicznych, o aktywności i selektywności nieosiągalnej dla żadnego z katalizatorów chemicznych, stosowane były w procesach fermentacji cukrów na długo zanim poznano ich budowę i mechanizm działania. W latach 50-tych ostatniego stulecia, w wyniku intensywnego rozwoju badań podstawowych nad mechanizmami reakcji biologicznych, powstała nowa dyscyplina nauk technicznych – biotechnologia, mająca na celu wdrożenie procesów biologicznych do praktyki przemysłowej. Jednym z podstawowych wymogów jakie praktyka przemysłowa stawia preparatom enzymatycznym jest wysoka stabilność i aktywność w warunkach procesowych, którą może zapewnić immobilizacja enzymu na stałym nośniku. Opracowano szereg metod immobilizacji enzymów, jednakże z uwagi na fakt, że zarówno nośnik jak i sposób immobilizacji dla każdego enzymu opracowuje się w oparciu o wyniki z badań doświadczalnych, intensywne prace w tym zakresie prowadzone są w wielu ośrodkach naukowych dostarczając nowych rozwiązań. Immobilizacja aktualnie dostępnych i stosowanych w przemyśle enzymów hydrolizujących celulozy, skrobię i hemicelulozy na syntetycznych polimerowych nośnikach opartych na hydrofilowych monomerach funkcjonalnych to stosunkowo prosty i tani sposób uzyskania biokompozytowych katalizatorów enzymatycznych o właściwościach korzystniejszych niż wolne enzymy. Zastosowanie biokompozytów enzym-nośnik posiadających w zależności od potrzeb procesowych różne właściwości, w znacznym stopniu usprawni i obniży koszty hydrolizy polisacharydów. Układy katalityczne enzym-nośnik mogą znaleźć szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym oraz tym zajmującym się przeróbką celulozy i hemiceluloz w kierunku otrzymywania biopaliw.

W badaniach, przeprowadzonych w ramach przedstawionej rozprawy doktorskiej, otrzymano funkcjonalne nośniki polimerowe na bazie sieciowanego *N*-winyloformamidu (NVF). W wyniku kopolimeryzacji NVF w odwróconej suspensji z trzema różnymi monomerami sieciującymi: *N,N'*-metylenobisakrylamidem (NMBA), dimetakrylanem etylenoglikolu (EGDMA) i diwinylobenzenem (DVB), otrzymano szereg nośników, z których na podstawie badań fizykochemicznych (analiza wielkości i kształtu cząstek, analiza elementarna, stopień pęcznienia, spektroskopia FT-IR oraz Ramana), tylko wybrane zakwalifikowano do dalszych badań.

W kolejnym etapie, nośniki o najkorzystniejszych właściwościach fizykochemicznych wykorzystano do unieruchomienia trzech różnych, handlowo dostępnych kompleksów enzymów celulolitycznych:

- celulaz z *Aspergillus* sp. – wodny roztwór celulaz otrzymanych przez fermentację genetycznie zmodyfikowanych organizmów *Aspergillus*;
- Novozym 476® – wodny roztwór endo-1,4-glukanaz wytwarzanych przez grzyby z gatunku *Aspergillus*;
- Viscozyme® L – multienzymatyczny kompleks karbohydraz (m.in. celulaz, β -glukanaz, hemicelulaz, ksylanaz).

Aktywność tak otrzymanych biokatalizatorów zbadano w reakcjach hydrolizy enzymatycznej celuloz: mikrokryształicznej, długołańcuchowej i α -celulozy oraz w reakcjach hydrolizy surowców celulozopochodnych tj. ścieru drzewnego i papieru celulozowego, jako procesów o znaczeniu aplikacyjnym.

Dla biokatalizatorów w postaci enzymów unieruchomionych na wytypowanym nośniku określono kinetykę enzymatycznej hydrolizy poprzez wyznaczenie stałych szybkości reakcji. Sprawdzone ich aktywność oraz stabilność połączenia enzym-nośnik w kilku cyklach hydrolizy enzymatycznej. Wyznaczono również stałe Michaelisa K_M – określające powinowactwo enzymu do substratu (szybkość powstawania kompleksu enzym-substrat), a także stabilność tego kompleksu.

Uzyskane wyniki badań, nad funkcjonalnymi nośnikami polimerowymi dla biokatalizatorów do enzymatycznej hydrolizy celulozy, pozwoliły na postawienie następujących wniosków:

- otrzymane usieciowane kopolimery *N*-winyloformamidu doskonale sprawdzają się w roli nośników do immobilizacji enzymów celulołitycznych;
- heterofazowe biokatalizatory w postaci enzymów celulołitycznych unieruchomionych na ziarnach polimerowych, efektywnie hydrolizują surowce celulozowe i celulozopochodne, zachowując satysfakcjonującą wydajność katalityczną nawet w trzech kolejnych cyklach reakcji i łatwo mogą być wydzielone z mieszaniny reakcyjnej i używane wielokrotnie;
- unieruchomienie enzymów celulołitycznych na badanych polimerowych nośnikach, w większości przypadków, wywiera korzystny wpływ na aktywność oraz stabilność immobilizowanych enzymów i pozwala na poprawę wydajności reakcji hydrolizy oraz na realne obniżenie jej kosztów.

Przeprowadzone prace badawcze wskazały, iż zaproponowana metoda immobilizacji enzymów celulołitycznych na polimerowych nośnikach opartych na *N*-winyloformamidzie prowadząca do uzyskania kompozytowych biokatalizatorów enzym-nośnik, stanowi obiecującą metodę stabilizacji enzymów dla potrzeb procesowych i może znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach przemysłu, także do produkcji biopaliw z surowców celulozowych, wpisując się tym samym w próby rozwiązania problemu energetyczno-klimatycznego.