



---

## POLITECHNIKA POZNAŃSKA

---

dr inż. Agnieszka Kołodziejczak-Radzimska  
Wydział Technologii Chemicznej  
Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań  
tel.: +48 61 665 3626  
e-mail: [Agnieszka.Kolodziejczak-Radzimska@put.poznan.pl](mailto:Agnieszka.Kolodziejczak-Radzimska@put.poznan.pl)

dr inż. Agnieszka Kołodziejczak-Radzimska

## Załącznik 2

### Autoreferat

# **Nieorganiczne matryce i ich modyfikowane formy jako komponenty układów biokatalitycznych zawierających enzymy**

Poznań 2023

## Spis treści

1	Informacje o kandydacie.....	3
2	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.....	3
3	Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych .....	3
4	Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 (ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 poz. 478 z późn. zm.).....	4
4.1	Monotematyczny cykl publikacji .....	4
4.2	Wprowadzenie do tematyki immobilizacji enzymów i stosowanych w niej nośników.....	5
4.3	Zastosowanie niemodyfikowanych i modyfikowanych materiałów nieorganicznych jako nośników enzymów z grupy hydrolaz oraz oksydoreduktaz .....	10
4.4	Zastosowanie układów biokatalitycznych zawierających lakazę osadzoną na nieorganicznych nośnikach w procesie degradacji barwników organicznych .....	28
4.5	Podsumowanie .....	38
4.6	Literatura .....	40
5	Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.....	44
6	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę. ....	48
7	Pozostałe informacje dotyczące kariery naukowej .....	50

## 1 Informacje o kandydacie

Imię i nazwisko: **Agnieszka Kołodziejczak-Radzimska**

e-mail: [agnieszka.kolodziejczak-radzimska@put.poznan.pl](mailto:agnieszka.kolodziejczak-radzimska@put.poznan.pl)

## 2 Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

### Wykształcenie:

**Listopad 2011r.**      **Stopień naukowy doktora nauk chemicznych w zakresie technologii chemicznej**, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska  
Tytuł rozprawy doktorskiej: **Aktywowany tlenek cynku – otrzymywanie, charakterystyka i zastosowanie.**  
Promotor: prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski

**Lipiec 2007r.**      **tytuł zawodowy magistra inżyniera w zakresie technologii chemicznej**, Wydział Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej  
Tytuł pracy magisterskiej: **Badania adsorpcji preparatów farmaceutycznych na powierzchni bieli tytanowej.**  
promotor pracy: prof. dr hab. Andrzej Krysztafkiewicz

## 3 Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

### Zatrudnienie:

**01.10.2020 r. - obecnie**      **Adiunkt** – Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej

**01.10.2011 r. – 30.09.2020 r.**      **Asystent** – Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej

### Staż:

**12.06.2022 r. – 10.09.2022 r**      **APC Applied Process Chemistry, Dublin, Irlandia**  
Opiekun: dr Sharon Davin

**01.07.2009 r. – 14.08.2009 r.**      **Luvena SA, Dział Badań i Rozwoju, Luboń**  
Opiekun: mgr inż. Roman Grycza

#### 4 Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 (ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 poz. 478 z późn. zm.)

##### 4.1 Monotematyczny cykl publikacji

Osiągnięcia naukowe w zakresie wytwarzania, charakterystyki oraz zastosowania nowych układów biokatalitycznych zaprezentowano w monotematycznym cyklu 12 publikacji nt. „Nieorganiczne matryce i ich modyfikowane formy jako komponenty biokatalizatorów zawierających enzymy do zastosowań katalitycznych”. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) prac będących podstawą wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego wynosi **47,883** (z roku opublikowania pracy) oraz **52,046** (IF 5-letni), a łączna wartość punktów MEiN to 1050. Prace opublikowano w latach 2017–2023, a ich zestawienie przedstawiono w tabeli poniżej. Oświadczenia współautorów, opisujące indywidualny wkład każdego z nich w powstanie wymienionych prac stanowią załącznik nr 5 (zał. 5), natomiast kopie prac **H1–H12** stanowią załącznik nr 6 (zał. 6).

##### Monotematyczny cykl publikacji

Nr	Dane bibliograficzne	IF <sup>a)</sup>	IF <sup>b)</sup>	Punkty MEiN <sup>c)</sup>
H1	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Zdarta J., Jesionowski T., Physicochemical and catalytic properties of Acylase I from <i>Aspergillus melleus</i> immobilized on amino- and carbonyl-grafted Stöber silica. <i>Biotechnology Progress</i> 34 (2018) 767–777	2,406	3,000	70
H2	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Ciesielczyk F., Jesionowski T., A novel biocatalytic system obtained via immobilization of aminoacylase onto sol-gel derived ZrO <sub>2</sub> -SiO <sub>2</sub> binary oxide material: physicochemical characteristic and catalytic activity study. <i>Adsorption</i> 25 (2019) 855–864	1,949	2,836	70
H3	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Jesionowski T., Characterization of amino-, epoxy- and carbonyl-functionalized halloysite and its application in the immobilization of aminoacylase from <i>Aspergillus melleus</i> . <i>Physicochemical Problems of Mineral Processing</i> 55 (2019) 128–139	1,256	1,363	70
H4	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Functionalized Stöber silica as a support in immobilization process of lipase from <i>Candida rugosa</i> . <i>Physicochemical Problems of Mineral Processing</i> 53 (2017) 878–892	1,200	1,363	70
H5	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.</b> , Zdarta J., Ciesielczyk F., Jesionowski T., An organofunctionalized MgO-SiO <sub>2</sub> hybrid support and its performance in the immobilization of	2,476	2,558	70

	lipase from <i>Candida rugosa</i> . <i>Korean Journal of Chemical Engineering</i> 35 (2018) 2220–2231			
H6	Dopierała K.*, <b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Prochaska K., Jesionowski T., Immobilization of lipase in Langmuir-Blogett film od cubic silsequioxane on the surface of zirconium dioxide. <i>Applied Surface Science</i> 573 (2022) 151184–151197	7,392	6,569	140
H7	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Bielejewski M., Biadasz A., Jesionowski T., Evaluation of $M_xO_y$ /fucoidan hybrid system and their application in lipase immobilization process, <i>Scientific Reports</i> 12 (2022) 7218–7231	4,997	5,516	140
H8	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Budna A., Ciesielczyk F., Moszyński D., Jesionowski T., Laccase from <i>Trametes versicolor</i> supported onto mesoporous $Al_2O_3$ : stability tests and evaluations of catalytic activity. <i>Process Biochemistry</i> 95 (2020) 71–80	3,757	4,430	70
H9	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.</b> , Nghiem L.D., Jesionowski T., Functionalized materials as a versatile platform for enzyme immobilization in wastewater treatment. <i>Current Pollution Reports</i> 7 (2021) 263–276	8,097	9,656	70
H10	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Jesionowski T., A novel cysteine-functionalized $M_xO_y$ material as support for laccase immobilization and a potential application in decolorization of Alizarin Red S. <i>Processes</i> 8 (2020) 885–902	2,847	3,338	70
H11	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Zembruska J., Siwińska-Ciesielczyk K., Jesionowski T., Catalytic and physicochemical evaluation of a $TiO_2/ZnO$ /laccase biocatalytic system: application in decolorization of azo and anthraquinone dyes. <i>Materials</i> 14 (2021) 6030–6047	3,748	4,042	140
H12	<b>Kołodziejczak-Radzimska A.*</b> , Bielejewski M., Zembruska J., Ciesielczyk F., Jesionowski T., Nghiem L.D., Exploring the functionality of an active ZrF-laccase biocatalyst towards tartrazine decolorization, <i>Environmental Technology &amp; Innovation</i> 31 (2023) 103201–103213	7,758	7,375	70
<b>Sumarycznie</b>		<b>47,883</b>	<b>52,046</b>	<b>1050</b>

<sup>a)</sup> Impact Factor z roku opublikowania pracy <sup>b)</sup> 5-letni Impact Factor (2021) <sup>c)</sup> Punkty MEiN (2020/2021) \*autor korespondencyjny

#### 4.2 Wprowadzenie do tematyki immobilizacji enzymów i stosowanych w niej nośników

Publikacje stanowiące podstawę wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego to unikalne rozwiązanie problemu naukowego o multidyscyplinarnym charakterze poznawczym. Prace te wpisują się w zakres nauk chemicznych i dotyczą szeroko rozumianego procesu immobilizacji enzymów na materiałach nieorganicznych. W prezentowanych pracach wykorzystano różnorodne matryce nieorganiczne (zarówno modyfikowane jak i niemodyfikowane), charakteryzujące się zdefiniowanymi właściwościami,

jako nośniki takich enzymów jak: lipazy i acylazy z grupy hydrolaz oraz lakazy z grupy oksydoreduktaz. Warty podkreślenia jest fakt, że matryce stosowane w badaniach były projektowane, syntezowane i szczegółowo charakteryzowane w celu określenia ich właściwości. Formowanie materiałów prowadzono metodą zol-żel, a w jednym przypadku metodą miękkiego odwzorowania, natomiast ich modyfikację realizowano metodami *ex situ* oraz *in situ*. Kluczowym elementem tych prac było określenie aktywności oraz stabilności uzyskanych układów biokatalitycznych, które determinują ich praktyczne zastosowanie. W celu określenia tych parametrów, oprócz standardowych metod określających aktywność białek, zaproponowano również wykorzystanie różnorodnych analiz fizykochemicznych w celu potwierdzenia skuteczności procesu immobilizacji. Istotne było również zaproponowanie mechanizmów unieruchomienia enzymów na proponowanych materiałach. W toku realizacji badań podjęto także zagadnienia związane z zastosowaniem immobilizowanej lakazy w procesie usuwania zanieczyszczeń organicznych z układów wodnych. Na tym etapie przedstawiono również potencjalne ścieżki rozkładu usuwanych zanieczyszczeń oraz charakter powstałych produktów degradacji. Prezentowane kwestie są istotne oraz stanowią podstawowy problem badawczy artykułów naukowych prezentowanych w monotematycznym cyklu prac. Należy podkreślić, że podjęte i opisane zagadnienia wpisują się w aktualne trendy badawcze, wskazujące na konieczność poszukiwania wydajnych układów biokatalitycznych do szerokiej gamy procesów katalitycznych (technologie przyjazne środowisku) [1,**Błąd! Nie można odnaleźć źródła odwołania.**2].

Enzymy są to cząsteczki, które najczęściej występują jako katalizatory różnych reakcji zachodzących w organizmach żywych. Te biokatalizatory są wykorzystywane do syntezy wielu związków organicznych. Ponieważ enzymy najlepiej działają w swoim naturalnym środowisku (np. w organizmach żywych, czyli w wąskim zakresie pH oraz temperatury), ich zastosowanie w katalizie przemysłowej jest ograniczone. Dodatkowo naturalne enzymy występują w postaci jednorodnej i rozpuszczają się w środowisku reakcji, co rodzi problem z oddzieleniem ich od innych substratów [3]. Celem przezwyciężenia wad natywnych enzymów stosuje się ich immobilizację, która polega na związaniu enzymu z odpowiednią matrycą. Immobilizacja enzymu na nośniku nie wpływa na jego aktywność katalityczną, ale poprawia stabilność białka, pomaga w jego oddzieleniu od środowiska reakcji i umożliwia ponowne użycie. Zastosowanie immobilizowanych enzymów w przemyśle znacznie obniża koszty i zwiększa wydajność procesu katalitycznego [4].

Immobilizację enzymów na różnego rodzaju nośnikach można przeprowadzić przy użyciu szerokiej gamy metod chemicznych i fizycznych (Rys. 1). Najpopularniejszą metodą immobilizacji biokatalizatorów jest adsorpcja, która wykorzystuje fizyczne oddziaływania między enzymem a nośnikiem [5,6]. Metoda adsorpcyjna jest prostsza niż inne techniki immobilizacji i umożliwia większą ruchliwość enzymu, co w wielu przypadkach skutkuje znaczną jego aktywnością. Jednak zaadsorbowany enzym może ulec desorpcji, w wyniku której zostaje „oderwany” od powierzchni nośnika – szczególnie w warunkach przemysłowych, gdzie występują wysokie stężenia reagentów i produktów. Wynika to ze słabych oddziaływań fizycznych między enzymem a nośnikiem, takich jak: siły van der Waalsa, oddziaływanie elektrostatyczne. Bardziej trwałą metodą przyłączenia jest unieruchomienie kowalencyjne. Ważne jest tutaj, aby łańcuchy aminokwasowe nie tworzyły wiązań kowalencyjnych z nośnikiem, gdyż może to obniżyć wysoką aktywność katalityczną enzymu. Ten warunek jest dość trudny do osiągnięcia; stąd ta forma immobilizacji jest stosowana w przemyśle głównie w przypadkach, gdy przenikanie enzymu do środowiska reakcji może zakłócić cały proces technologiczny [7,8].



**Rys. 1.** Metody immobilizacji, na podstawie [9]

Ważną rolę w procesie unieruchamiania enzymów odgrywają zastosowane nośniki. Wybór matrycy nośnej jest kluczowym wyzwaniem, ze względu na duży wpływ, jaki ten materiał może mieć na uzyskane przez układ biokatalityczny właściwości. Istnieje szeroka i zróżnicowana gama materiałów, które mogą być stosowane jako nośniki w procesach unieruchamiania. Obejmują one zarówno materiały organiczne, jak i nieorganiczne, które różnią się pod względem morfologii, struktury i właściwości chemicznych. Najważniejsze

właściwości, jakie powinny oferować materiały stosowane w immobilizacji enzymów, przedstawiono na rysunku 2.



**Rys. 2.** Rodzaje nośników oraz ich najważniejsze właściwości, na podstawie [9]

Należy jednak pamiętać, że odpowiedni dobór matrycy zależny jest od rodzaju enzymu oraz procesu, w którym układ biokatalityczny ma być zastosowany. Generalnie poszukuje się materiałów, które oferują wysoką stabilność, dostępność, relatywnie niską cenę i wysokie powinowactwo do związanych enzymów [10,11]. Jednym z ważniejszych parametrów decydujących o zastosowaniu danego nośnika w procesie immobilizacji jest jego budowa chemiczna. Materiał powinien charakteryzować się wysoką zawartością reaktywnych grup funkcyjnych (np. aminowych, hydroksylowych, epoksydowych, tiolowych oraz karboksylowych), które wykazują duże powinowactwo do grup chemicznych zawartych w strukturze białka, a tym samym zapewniają skuteczne przyłączenie enzymu [12]. Jeżeli bezpośrednie wiązanie enzymu nie jest możliwe, skład chemiczny nośnika powinien być taki, aby można go było łatwo modyfikować w celu wprowadzenia grup chemicznych wymaganych do wytworzenia interakcji między enzymem a nośnikiem. Ważnymi parametrami determinującymi potencjalne zastosowanie materiału jako nośnika jest jego morfologia i struktura porowata – wielkość i kształt cząstek, wielkość i objętość porów materiału oraz jego powierzchnia właściwa [13]. Wybór nośnika jest jedną z najważniejszych kwestii w rozwoju procesu immobilizacji i ma bezpośredni wpływ na właściwości powstającego układu



biokatalitycznego. Przy wyborze odpowiedniego nośnika należy pamiętać, że pomimo dostępności wielu substancji, na których można immobilizować enzym, ostateczny wybór jest kwestią wysoce indywidualną. Zależy to w dużym stopniu zarówno od właściwości biokatalizatora, jak i warunków technologicznych katalizowanego procesu [14].

Projektowanie układu biokatalitycznego wymaga szczegółowej analizy obejmującej zarówno dobór odpowiedniego nośnika do immobilizacji wybranego enzymu oraz metody jego unieruchomienia. Analiza literatury przedmiotu wskazuje, że badania w tej tematyce są ciągle rozwijane w celu uzyskania układu biokatalitycznego o dużej aktywności enzymatycznej [15]. Opierając się na dostępnych źródłach oraz zgromadzonych w nich informacjach, można powiedzieć, że dobór metody immobilizacji oraz rodzaj nośnika, zależy w głównej mierze od właściwości unieruchamianego enzymu, jak i warunków procesu, w którym otrzymany układ ma działać [16]. Stąd też istotne znaczenie ma charakterystyka zaproponowanego układu biokatalitycznego oraz sprawdzenie efektywności jego działania w różnych procesach technologicznych oraz reakcjach chemicznych.

W ostatnich latach istotny aspekt stanowi minimalizacja zanieczyszczeń występujących w środowisku, realizowanych poprzez różnorodne technologie do wykrywania i degradacji zanieczyszczeń [17–19]. Powszechnie stosowane metody, czyli adsorpcja na materiałach aktywnych, utlenianie chemiczne, ozonowanie, ultrafiltracja, nanofiltracja i wymiana jonowa wymagają znacznego zużycia energii, a ponadto są one mniej wydajne i charakteryzują się wysokimi kosztami oraz powstawaniem szkodliwych produktów ubocznych. Alternatywą do tego typu metod są procesy biologiczne, a zwłaszcza te wykorzystujące enzymy z grupy oksydoreduktaz, które konwertują zanieczyszczenia do prostszych związków, zwykle o mniejszej toksyczności niż związki wyjściowe. Wykorzystanie rodzimych enzymów do rozkładu zanieczyszczeń podlega pewnym ograniczeniom, takim jak niska stabilność i trudność w odzyskiwaniu, co utrudnia ich ponowne wykorzystanie [18,19]. Z tego powodu immobilizowane enzymy są często wykorzystywane do degradacji zanieczyszczeń. Podczas immobilizacji otrzymujemy system biokatalityczny o lepszej stabilności termicznej i chemicznej niż wolny enzym. Istotne jest również to, że proces z jego udziałem jest realizowany w układzie heterogenicznym, co umożliwia łatwą separację biokatalizatora i jego wielokrotne użycie [20], a to jest kluczowe zwłaszcza w zastosowaniach przemysłowych.

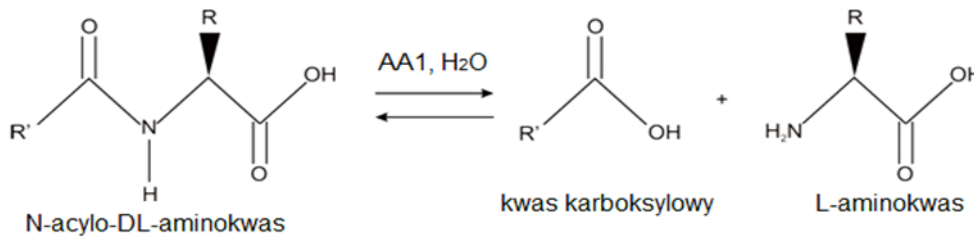
Monotematyczny cykl publikacji zawiera zagadnienia dotyczące wykorzystania szerokiej gamy materiałów nieorganicznych (zarówno modyfikowanych oraz niemodyfikowanych) jako

nośników w procesie immobilizacji enzymów z grupy hydrolaz oraz oksydoreduktaz. Matryce stosowane w badaniach były projektowane, syntezowane (metodą zol-żel, w jednym przypadku metodą miękkiego odwzorowania), modyfikowane (metodami *ex situ* i *in situ*) i szczegółowo charakteryzowane w celu określenia ich właściwości. Istotnym elementem prezentowanych prac jest wszechstronna charakterystyka wytworzonych układów biokatalitycznych oraz określenie mechanizmów oddziaływań pomiędzy enzymem a nośnikiem, co może mieć bezpośrednie przełożenie na wzrost ich praktycznego zastosowania. Ponadto, zastosowanie immobilizowanych enzymów jako katalizatorów w procesach syntezy związków organicznych oraz degradacji niebezpiecznych związków z układów wodnych może prowadzić do zmniejszenia kosztów procesów oraz prowadzenia ich w sposób bardziej przyjazny dla środowiska. **Warto nadmienić, że podjęty w ramach osiągnięcia habilitacyjnego problem obejmuje niezagospodarowany do tej pory obszar badawczy w zakresie zastosowania modyfikowanych materiałów nieorganicznych w procesie immobilizacji enzymów.**

#### **4.3 Zastosowanie niemodyfikowanych i modyfikowanych materiałów nieorganicznych jako nośników enzymów z grupy hydrolaz oraz oksydoreduktaz**

Enzymy to biokatalizatory często wykorzystywane w syntezie chemicznej. Ważnym aspektem jest ich selektywność względem substratów, co pozwala otrzymać ściśle określone produkty o wysokiej czystości [21]. Jedną z ważnych grup enzymów wykorzystywanych na szeroką skalę przemysłową są hydrolazy, które należą do trzeciej klasy enzymów, katalizujących reakcję hydrolizy – reakcję, w trakcie której z jednej cząsteczki substratu, w obecności wody powstają dwie składowe. Różnorodność enzymów w klasie hydrolaz wynika z szerokiej gamy substratów, na które działają [22]. Jednym z ważniejszych enzymów należących do hydrolaz jest aminoacylaza (EC 3.5.1.14), która działa na wiązanie węgiel–azot inne niż wiązanie peptydowe, szczególnie w liniowych amidach. Systematyczna nazwa tej klasy enzymów to amidohydrolaza *N*-acylo–*L*-aminokwasowa. Enzym ten występuje u zwierząt i bierze udział w hydrolizie *N*-acylowanych lub *N*-acetylowanych aminokwasów. Jest jednym z najważniejszych enzymów stosowanych w preparatywnej chemii organicznej [23]. Wyróżnia się dwie odmiany enancjomeryczne aminoacylasy: *L*- i *D*-aminoacylaza. Pierwsza odmiana – *L*-aminoacylaza (inaczej aminohydrolaza *N*-acetyloaminokwasowa lub acylaza), hydrolizuje

wiązania peptydowe pomiędzy *N*-acetylo-L-aminokwasami powodując powstanie kwasów karboksylowych i L-aminokwasów. L-aminoacylazy wyizolowane z pleśni z gatunku *Aspergillus* są szeroko wykorzystywane do przemysłowej produkcji naturalnych aminokwasów (np. L-alaniny, L-metioniny, L-waliny), jak i nienaturalnych (kwas-L- $\alpha$ -aminomasłowy, L-norwalina, L-norleucyna) [24]. Na rys. 3 przedstawiono reakcję hydrolizy *N*-acetylo-DL-aminokwasów katalizowaną przez aminoacylazę.

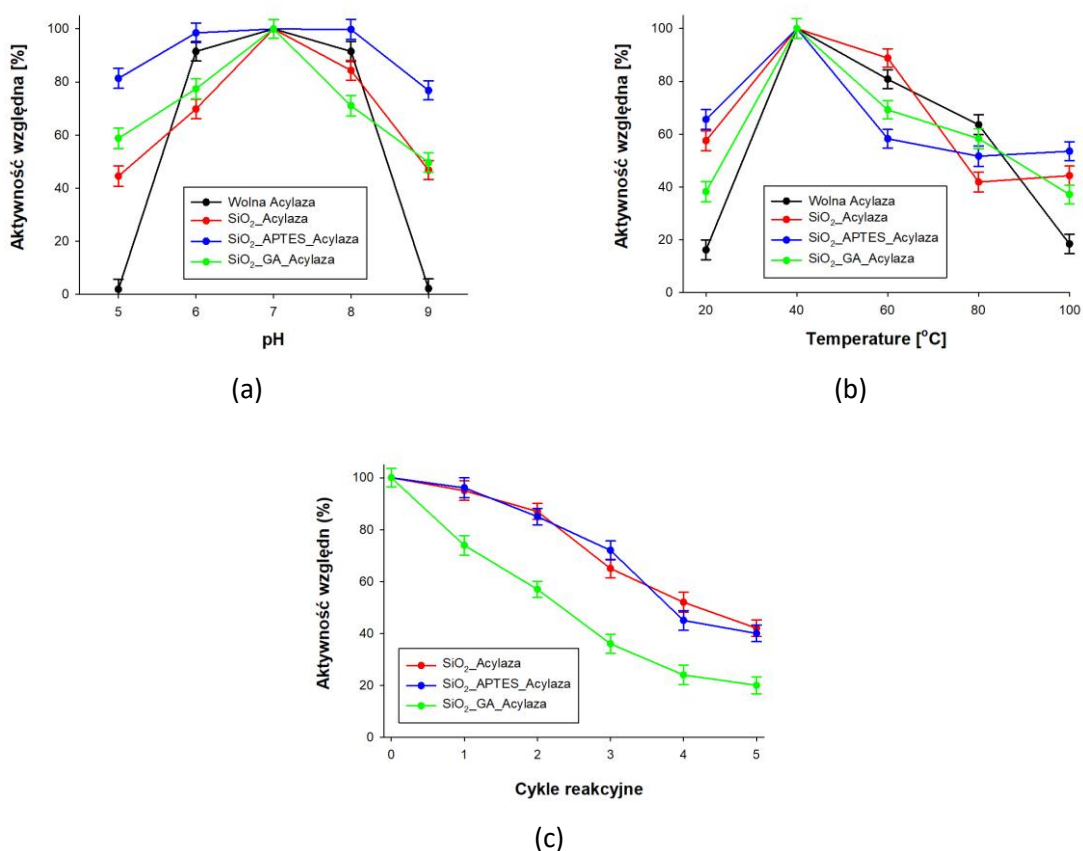


**Rys. 3.** Reakcja hydrolizy *N*-acylo-DL-aminokwasów z udziałem L-aminoacylazy

Od wielu lat, do otrzymywania L-metioniny w skali przemysłowej stosowana jest immobilizowana aminoacylaza. Związane to jest z tym, że proces immobilizacji zwiększa możliwości wykorzystania enzymu. Układy po immobilizacji mogą być stosowane w szerokim zakresie pH oraz temperatury, a co najważniejsze mają formę heterogeniczną, co pozwala na ich kilkukrotne wykorzystanie w procesach katalitycznych. **Dlatego też poszukiwanie nowej grupy materiałów, oraz metod ich modyfikacji w celu zwiększenia powinowactwa do białek i wykorzystania w immobilizacji m.in. aminoacylazy stanowi użyteczny aspekt prac badawczych.**

W publikacjach **H1-H3** zaprezentowano badania dotyczące immobilizacji acylazy z *Aspergillus melleus* na modyfikowanych materiałach nieorganicznych, niestosowanych wcześniej w literaturze w tym procesie. Materiały nieorganiczne charakteryzują się wysoką stabilnością chemiczną, termiczną i mechaniczną, odpornością mikrobiologiczną, a także niskim kosztem wytwarzania. Jednym z istotnych parametrów charakteryzujących tego typu materiały jest hydrofilowy charakter powierzchni, ze względu na obecność grup hydroksylowych. Dzięki temu możliwa jest ich modyfikacja [4]. W tym celu wybrano materiały tlenkowe ( $\text{SiO}_2$  oraz  $\text{ZrO}_2 \cdot \text{SiO}_2$ ), które dodatkowo poddano modyfikacji wybranymi grupami funkcyjnymi. Krzemionka charakteryzuje się zdefiniowaną morfologią i strukturą, biokompatybilnością, stabilnością termiczną i mechaniczną oraz brakiem toksyczności. Jednym

z istotnych parametrów charakteryzujących ten materiał jest łatwa do kontrolowania i funkcjonalizowania powierzchnia [25,26]. W związku z tym w publikacji **H1** wykorzystano krzemionkę otrzymaną zmodyfikowaną metodą Stöbera, którą dodatkowo poddano funkcjonalizacji za pomocą aminopropylotrietoksyilanu (APTES) oraz aldehydu glutarowego (GA), aby ustalić, w jaki sposób obecność dodatkowych grup funkcyjnych na powierzchni krzemionki wpływa na proces unieruchomienia acylazy. Przesunięcia charakterystycznych pasm (C=O oraz C–O) oraz zmiany ich intensywności na widmach FTIR (spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera) i  $^{13}\text{C}$  CP MAS (spektroskopia węglowa magnetycznego rezonansu jądrowego) pośrednio potwierdzają skuteczność procesu immobilizacji. Na podstawie tych analiz zaproponowano, że acylaza została unieruchomiona głównie przy udziale słabych wiązań wodorowych. Obecność takich interakcji potwierdzono również testami aktywności katalitycznej, która jak stwierdzono, uległa znacznemu obniżeniu po pięciu cyklach reakcyjnych, prawdopodobnie w wyniku częściowej desorpcji enzymu (Rys. 4c).



**Rys. 4.** Wpływ (a) pH, (b) temperatury oraz (c) ilości cykli reakcyjnych na aktywność immobilizowanej acylazy na modyfikowanej i niemodyfikowanej krzemionce Stöbera, na podstawie H1

**Tabela 1.** Parametry struktury porowatej oraz zawartość procentowa azotu, węgla i wodoru wolnej acylazy, nośników oraz układów biokatalitycznych, na podstawie H1

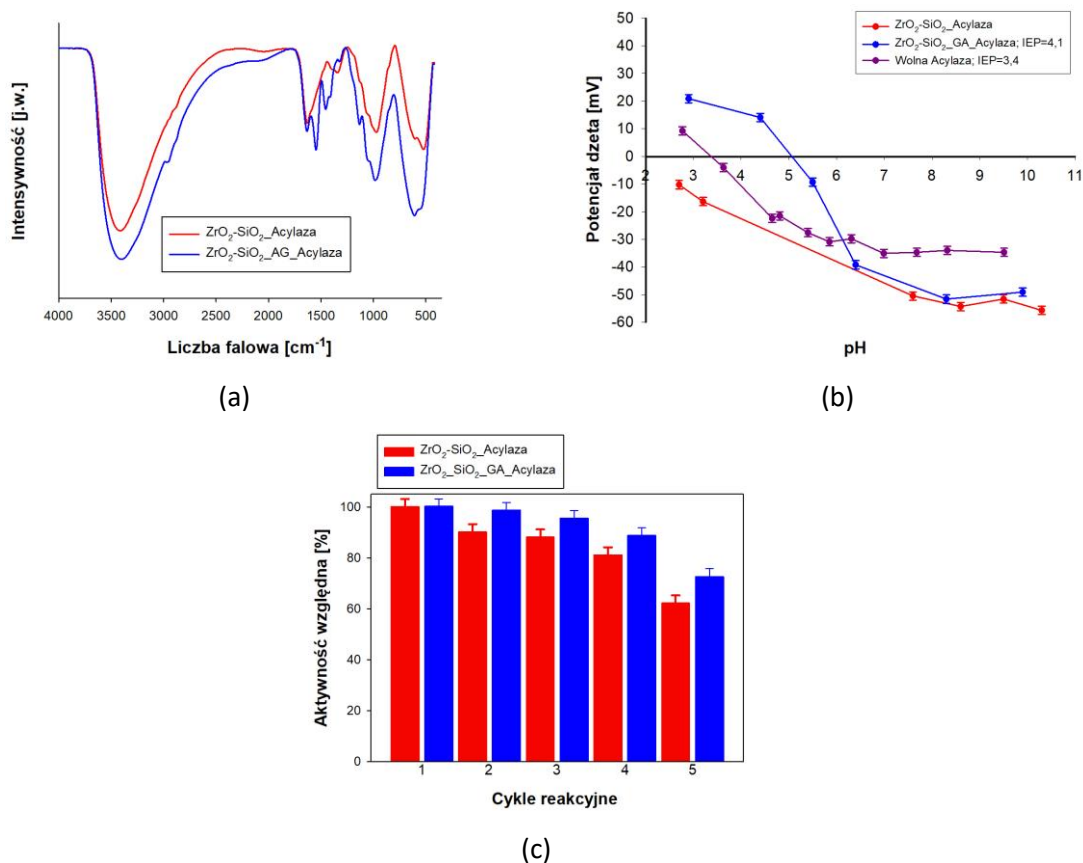
Próbka	A <sub>BET</sub> [m <sup>2</sup> /g]	V <sub>p</sub> [cm <sup>3</sup> /g]	S <sub>p</sub> [nm]	N [%]	C [%]	H [%]
Wolna Acylaza	-	-	-	5,05	32,57	6,05
SiO <sub>2</sub>	8,9	0,007	4,25	0,01	0,01	0,27
SiO <sub>2</sub> _Acylaza	6,6	0,002	1,38	0,07	0,10	1,29
SiO <sub>2</sub> _APTES	8,3	0,016	7,63	0,07	1,00	1,24
SiO <sub>2</sub> _APTES_Acylaza	4,9	0,003	2,89	0,41	2,37	1,37
SiO <sub>2</sub> _GA	8,5	0,017	9,17	0,03	0,28	1,06
SiO <sub>2</sub> _GA_Acylaza	6,9	0,010	3,75	0,47	3,26	1,68

A<sub>BET</sub> – powierzchnia właściwa; V<sub>p</sub> – objętość porów; S<sub>p</sub> – średnica porów; N, C i H – zawartość procentowa odpowiednio azotu, węgla i wodoru

Niemniej jednak obecności oddziaływań kowalencyjnych nie można wykluczyć ze względu na obecność reaktywnych grup aminowych i karbonylowych wprowadzonych podczas modyfikacji krzemionki. Zmniejszenie pola powierzchni, objętości i średnicy porów oraz wzrost zawartości azotu (na podstawie wyników analizy elementarnej) również potwierdza skuteczność procesu immobilizacji (Tabela 1). Interpretacja wyników uzyskanych na podstawie reakcji deacetylacji *N*-acetylo-L-metioniny potwierdziła, że acylaza unieruchomiona na krzemionce modyfikowanej APTES wykazywała najlepsze właściwości katalityczne spośród analizowanych układów biokatalitycznych, osiągając aktywność względną równą 61,6%. Dodatkowo unieruchomiona acylaza z *A. melleus* była mniej wrażliwa na zmiany temperatury i pH niż wolny enzym (Rys. 4a,b).

Kontynuując badania związane z immobilizacją acylazy z *A. melleus*, w publikacji **H2** wykorzystano układ hybrydowy ZrO<sub>2</sub>·SiO<sub>2</sub>, który łączy właściwości krzemionki i tlenku cyrkonu(IV) takie jak: stabilność termiczna, odporność na pękanie, odporność na ścieranie, twardość i odporność chemiczna [27,28]. Co istotne charakteryzuje się on znacznie większą powierzchnią właściwą, stąd oczekiwanym była poprawa zdolności adsorpcyjnych. Układ hybrydowy ZrO<sub>2</sub>·SiO<sub>2</sub> również otrzymano metodą zol-żel, która umożliwia uzyskanie produktów jednorodnych pod względem składu chemicznego, charakteryzujących się wysoką czystością i kontrolowanymi parametrami fizykochemicznymi [29]. Do immobilizacji aminoacylazy wykorzystano niemodyfikowany układ ZrO<sub>2</sub>·SiO<sub>2</sub> oraz układ usieciowany

aldehydem glutarowym ( $ZrO_2 \cdot SiO_2\_GA$ ). Wyniki analizy spektroskopowej FTIR (Rys. 5a) oraz potencjału dzeta (Rys. 5b) wskazują na efektywność unieruchomienia acylazy. Zmiany potencjału dzeta po unieruchomieniu enzymu prawdopodobnie wynikają z różnic w ładunkach dyspersji materiałów, a także interakcji między enzymem a nośnikiem [30]. Zjawiska te mogą być związane z oddziaływaniami elektrostatycznymi pomiędzy jonami  $NH_4^+$  pochodzącymi od białka a jonami  $COO^-$  i  $O^-$  występującymi na powierzchni nośnika. Duże znaczenie mają również wiązania kowalencyjne utworzone pomiędzy grupami obecnymi w enzymie ( $-NH_2$ ) oraz w zmodyfikowanym nośniku ( $-C=O$ ), czego potwierdzeniem są widma FTIR, na których obecne są drgania wiązań amidowych I, II i III rzędu występujące w zakresie długości fali  $1700-1400\text{ cm}^{-1}$ . Natomiast unieruchomienie enzymu na niemodyfikowanym układzie tlenkowym  $ZrO_2 \cdot SiO_2$  nieco mocniej przesuwają płaszczyznę poślizgu i potencjał dzeta jest bardziej ujemny, czego skutkiem mogą być oddziaływania elektrostatyczne występujące między nośnikiem a enzymem [31]. Dodatkowo, zmniejszeniu uległa również powierzchnia właściwa enzymu zimmobilizowanego zarówno na niemodyfikowanym jak i modyfikowanym układzie, co również potwierdza unieruchomienie acylazy. Powstałe układy biokatalityczne zostały następnie wykorzystane jako katalizatory w hydrolizie różnych *N*-acetylo-DL-aminokwasów, prowadzącej do otrzymania L-metioniny, L-cysteiny, L-seryny i L-tryptofanu. Największą aktywność katalityczną zaproponowane układy ( $ZrO_2 \cdot SiO_2\_Acylaza$  oraz  $ZrO_2 \cdot SiO_2\_GA\_Acylaza$ ) wykazują w przypadku otrzymywania L-metioniny (ok. 50%), nieco mniejszą aktywność przy otrzymywaniu L-tryptofanu i L-cysteiny (ok. 40%), natomiast najmniejszą w reakcji syntezy L-seryny (ok. 15%). Proces immobilizacji umożliwia również przejście na układ heterogeniczny umożliwiający wydzielenie katalizatora z roztworu, a także jego wykorzystanie w kilku cyklach reakcyjnych. Acylaza zimmobilizowana na modyfikowanym układzie tlenkowym zachowała ok. 75% swojej początkowej aktywności po 5 cyklach reakcyjnych. Natomiast aktywność katalityczna układu  $ZrO_2 \cdot SiO_2\_Acylaza$  spadła o ok. 40% po 5 cyklach (Rys. 5c). Wynika to przede wszystkim z charakteru oddziaływań wytworzonych między enzymem a nośnikiem, ponieważ immobilizacja acylazy na modyfikowanym  $ZrO_2 \cdot SiO_2$  miała bardziej charakter kowalencyjny, natomiast na czystym  $ZrO_2 \cdot SiO_2$  – adsorpcyjny, co można zaobserwować na podstawie zachowanej aktywności po 5 cyklach reakcyjnych. Uzyskane na tym etapie badań wyniki dowodzą, że zaproponowane układy biokatalityczne uzyskane z połączenia  $ZrO_2 \cdot SiO_2$  i acylazy, mogą być z powodzeniem stosowane w reakcji hydrolizy różnych aminokwasów.



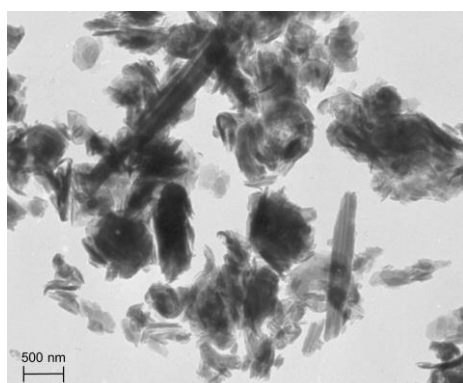
**Rys. 5.** (a) Widma FTIR, (b) potencjał dzeta w funkcji pH oraz (c) aktywność względna po kilku cyklach reakcyjnych acylazy immobilizowanej na modyfikowanym i niemodyfikowanym układzie tlenkowym ZrO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub>, na podstawie H2

Ciekawą grupę nośników nieorganicznych stanowią minerały, które występują w dużych ilościach w przyrodzie, są łatwo dostępne, charakteryzują się wysoką biogodnością i mogą być stosowane w takiej postaci, w jakiej są pozyskiwane bez dalszej zaawansowanej obróbki i oczyszczania, co czyni je relatywnie tanimi. Ponadto obecność wielu grup funkcyjnych, takich jak -OH, COOH, C=O, -SH, -NH<sub>2</sub>, na powierzchni minerałów umożliwia tworzenie wiązań kowalencyjnych między enzymem a nośnikiem oraz ułatwia ich modyfikację. Po wprowadzeniu dodatkowych grup funkcyjnych reaktywność i hydrofobowość nośnika ulega zmianie, a zawady przestrzenne mogą zostać zmniejszone [4]. Wśród minerałów na szczególną uwagę zasługuje haloizyt, który zastosowano jako nośnik acylazy z *A. melleus* (AAM) i opisano w publikacji H3. Haloizyt (Al<sub>2</sub>Si<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(OH)<sub>4</sub>·nH<sub>2</sub>O) należy do krzemianów warstwowych i jest polimorficzną odmianą kaolinitu z dodatkową cząsteczką wody pomiędzy warstwami tlenku glinu i krzemionki. Zawiera on dwa rodzaje grup hydroksylowych, wewnętrzną i zewnętrzną, które znajdują się odpowiednio pomiędzy warstwami i na powierzchni materiału [32]. Ze względu

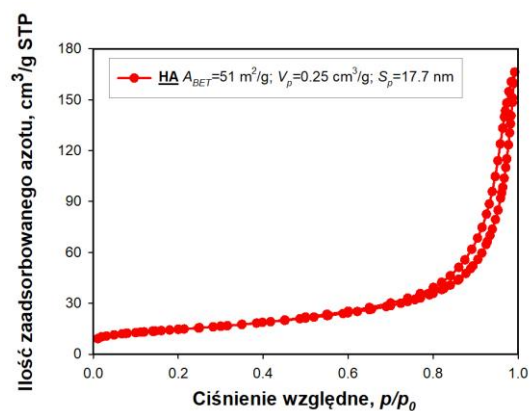
na wielowarstwową budowę większość grup hydroksylowych to grupy wewnętrzne, tylko nieliczne znajdują się na powierzchni haloizytu. To sprawia, że minerał ten jest względnie hydrofobowy, co umożliwia jego łatwą dyspersję w niepolarnych polimerach, podczas gdy inne grupy hydroksylowe obecne na powierzchni zapewniają miejsca aktywne dla chemicznej funkcjonalizacji [33]. Haloizyt to naturalny materiał charakteryzujący się wytrzymałością mechaniczną i dostępnością. Ponadto udowodniono, że haloizyt jest materiałem biokompatybilnym i przyjaznym dla środowiska, czego dowodem są rezultaty badań *in vitro* i *in vivo* [34]. W badaniach wykorzystano haloizyt zawierający zarówno cząstki o wielkości nano- i mikrometrycznej (Rys. 6a). Dodatkowo dobrze rozwinięta struktura porowata ( $A_{\text{BET}}=51 \text{ m}^2/\text{g}$ ,  $S_p=17,7 \text{ nm}$  i  $V_p=0,25 \text{ cm}^3/\text{g}$ , Rys. 6b)) oraz obecność na powierzchni haloizytu charakterystycznych grup funkcyjnych ( $-\text{OH}$ ,  $\text{Al}-\text{OH}$  i  $\text{Si}-\text{O}$ ) umożliwiły jego modyfikację grupami aminowymi ( $-\text{NH}$ ), epoksydowymi ( $-\text{C}(\text{O})\text{C}-$ ) i karbonylowymi ( $-\text{C}=\text{O}$ ). Skuteczność procesu modyfikacji została potwierdzona na podstawie wyników analizy spektroskopowej, struktury porowatej oraz elementarnej. Widma FTIR zmodyfikowanych układów zawierają pasma pochodzące zarówno od czystego haloizytu, jak i od charakterystycznych grup występujących w strukturze modyfikatorów ( $-\text{C}-\text{H}$ ,  $-\text{C}-\text{N}$ ,  $-\text{C}=\text{O}$  i  $\text{C}(\text{O})\text{C}$ ). O powodzeniu modyfikacji świadczą również mniejsze wartości powierzchni właściwej ( $15-17 \text{ m}^2/\text{g}$ ), średnicy porów ( $2,9-3,0 \text{ nm}$ ) i ich objętości ( $0,01 \text{ cm}^3/\text{g}$ ). Ponadto, zmodyfikowane układy zawierają większe ilości węgla i wodoru, a w próbce HA\_A\_AAM (acylaza na haloizycie funkcjonalizowanym grupą aminową) zaobserwowano również azot. Wszystkie proponowane podłoża wykazują dobrą stabilność termiczną w wysokich temperaturach. Według danych potwierdzających skuteczność procesu immobilizacji, ilość immobilizowanej aminoacylazy wynosi  $176-178 \text{ mg}$  na gram nośnika, niezależnie od rodzaju grup funkcyjnych obecnych na powierzchni haloizytu. Obecność pasm odpowiadających grupom amidowym na widmach FTIR i Ramana (Rys. 6c) immobilizowanych układów pośrednio potwierdza skuteczność immobilizacji. Ponadto, otrzymane układy biokatalityczne wykazują również większą stabilność chemiczną i termiczną niż enzym natywny, co zostało potwierdzone na przykładzie modelowej reakcji hydrolizy *N*-acetylo-L-metioniny. Na podstawie uzyskanych wyników, dowiedziono, że najwyższą aktywność, powyżej 70% w całym analizowanym zakresie pH 4–9 i powyżej 60% w zakresie temperatur 30–70°C, zarejestrowano dla acylazy immobilizowanej na haloizycie modyfikowanym grupami aminowymi. Haloizyt modyfikowany grupami aminowymi (HA-A) wydaje się być lepszym nośnikiem dla acylazy niż ten modyfikowany



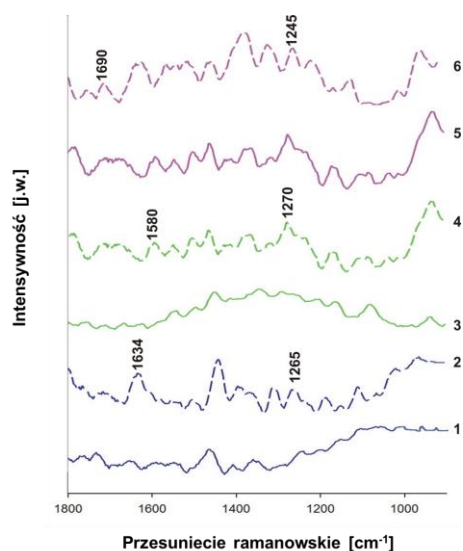
grupami karbonylowymi (HA\_E i HA\_GA). Potwierdzeniem tego jest zachowanie przez układ HA\_A\_AAM ok. 50% początkowej aktywności po 5 cyklach reakcyjnych (Rys. 6d).



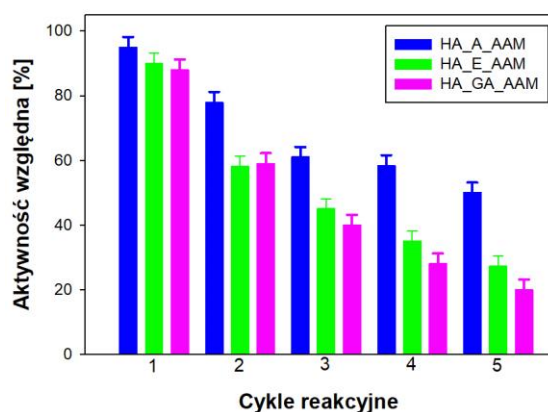
(a)



(b)



(c)



(d)

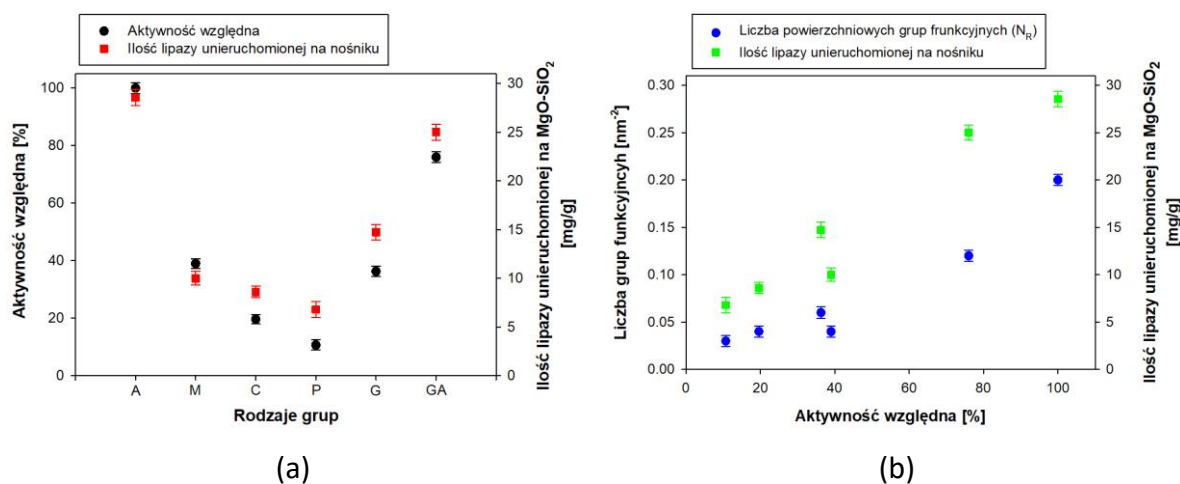
**Rys. 6.** (a) Zdjęcie TEM oraz (b) izoterma adsorpcji/desorpcji azotu czystego halozytu; (c) widma Ramana wolnych nośników oraz układów po procesie immobilizacji; (d) aktywność względna po kilku cyklach reakcyjnych acylazy immobilizowanej na haloizycie, na podstawie H3

Na podstawie przeprowadzonych prac eksperymentalnych przedstawionych w publikacjach **H1–H3**, dowiedziono, że modyfikowane materiały nieorganiczne z powodzeniem mogą być stosowane w procesie immobilizacji enzymów. Uzyskane zależności stały się inspiracją do dalszych badań, opisanych w pracach **H4–H7**, w których wykorzystano tego typu materiały do immobilizacji lipazy. Enzym ten, tak jak acylaza, również należy do hydrolaz. Lipaza (acylohydrolaza triacyloglicerolu, EC 3.1.1.3) jest szeroko rozpowszechniona

i dobrze znana ze swojej aktywności hydrolitycznej wobec tłuszczów i olejów w środowisku wodnym [35]. Jednak w środowisku wodno-organicznym (przy małej zawartości wody) jej aktywność hydrolityczna może być przekształcona w aktywność syntetyczną: estryfikacyjną, transestryfikacyjną lub interestryfikacyjną [36]. Zmiany warunków reakcji sprawiają, że niektóre lipazy mogą przenosić grupy acylowe złożonych estrów na inne nukleofile, takie jak aminy, oksymy i tiole. Ostatnio wykazano, że lipaza może katalizować wystarczająco szeroki zakres zupełnie różnych reakcji – tworzenie wiązań węgiel–węgiel, węgiel–heteroatom, heteroatom–heteroatom, z których wiele jest zgodnych z koncepcją zielonej chemii [37]. Ta różnorodność zachowania katalitycznego umożliwia szerokie wykorzystanie lipaz w różnych procesach przemysłowych. Tym samym lipazy stały się jednymi z najbardziej obiecujących enzymów o szerokim zastosowaniu praktycznym w szlakach organicznych, zwłaszcza w syntezie aktywnych składników farmaceutycznych, przemyśle rolniczym, produkcji środków ochrony zdrowia i przetwórstwie żywności (np. produkcja ekwiwalentów mleka czy żywności funkcjonalnej). Ogólne wymagania dotyczące enzymów przemysłowych to: użycie skutecznych reagentów, maksymalizacja kinetyki reakcji oraz długa żywotność [38,39]. Tak jak większość enzymów również lipazy wykazują swoją aktywność katalityczną w wąskim zakresie pH oraz temperatury. Dodatkowo, rozpuszczają się w środowisku reakcji, a co za tym idzie trudno oddzielić je z roztworu. Tak więc, aby poprawić aspekt ekonomiczny i zachować wysoką aktywność, na ogół wymagane jest unieruchomienie enzymu na stałym nośniku. W publikacji **H4** wykorzystano krzemionkę Stöbera modyfikowaną silanem z grupami epoksydowymi oraz usieciowaną aldehydem glutarowym. Na tak usieciowanej krzemionce unieruchomiono lipazę z *Candida rugosa*. Proces immobilizacji przeprowadzono z wydajnością 90%, o czym świadczą wyniki uzyskane metodą Bradforda. Analiza wyników spektroskopowych potwierdziła również skuteczność procesu immobilizacji. Dowodem na to jest głównie obecność sygnałów pochodzących od wiązań amidowych I-III, co najprawdopodobniej wynika z charakteru oddziaływań występujących pomiędzy lipazą a krzemionką. Dodatkowo interpretacja wyników uzyskanych analizy termogravimetrycznej dowiodła, że immobilizowana lipaza charakteryzuje się lepszą stabilnością termiczną w porównaniu z jej postacią natywną. Ponadto, parametry struktury porowatej uległy znacznemu obniżeniu po procesie unieruchamiania, co wynikało z obciążenia enzymami zarówno powierzchni nośnika, jak i jego porów. Skuteczność immobilizacji potwierdza również rosnąca zawartość N i C w otrzymanym układzie biokatalitycznym. Wszystkie zsyntetyzowane biokatalizatory wykazują wysoką

aktywność katalityczną i mogą być stosowane w różnych reakcjach katalitycznych. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że dodatkowe sieciowanie modyfikowanej krzemionki (wykonywane za pomocą aldehydu glutarowego) zwiększa aktywność katalityczną lipazy sięgającą nawet do 2270 U/g.

Z kolei w pracy **H5** opisano badania dotyczące immobilizacji lipazy z *Candida rugosa* na układzie tlenkowym MgO·SiO<sub>2</sub>. W tym przypadku materiał tlenkowy poddano modyfikacji szeroką gamą związków zawierających różne ugrupowania. W tym celu zastosowano silany zawierające takie grupy funkcyjne jak: aminowa (A), tiolowa (M), cyjanowa (C), fenylowa (P), epoksydowa (G) oraz aldehyd glutarowy dostarczający grupy karbonylowe (GA). W pracy tej pokazano jak rodzaj grupy, a także ich liczba na powierzchni modyfikowanego materiału wpływa na efektywność immobilizacji, a co za tym idzie na aktywność katalityczną uzyskanego biokatalizatora. W tym celu, w pierwszym etapie określono stopień pokrycia układu tlenkowego MgO·SiO<sub>2</sub> odpowiednimi grupami funkcyjnymi (P, μmol/m<sup>2</sup>) oraz liczbę tych grup (N<sub>R</sub>, nm<sup>-2</sup>), która odzwierciedla gęstość modyfikatora szczepionego z powierzchnią MgO·SiO<sub>2</sub>. Jak pokazano na rys. 7, zarówno liczba jak i rodzaj grup istotnie wpływają na ilość unieruchomionej lipazy, a co za tym idzie na aktywność uzyskanego układu biokatalitycznego.

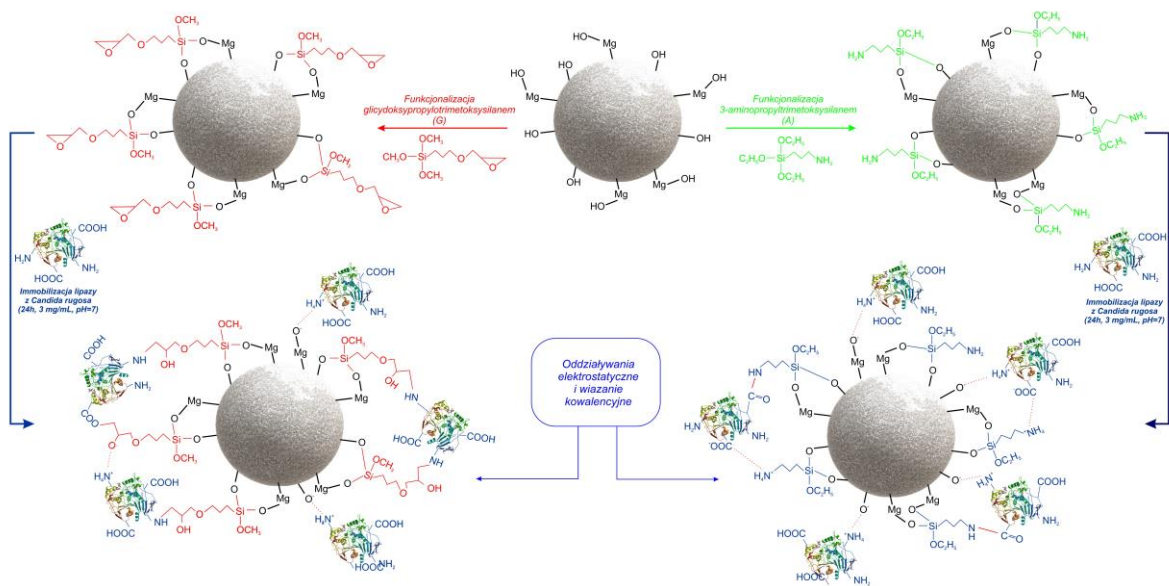


**Rys. 7.** (a) Względna aktywność oraz ilość lipazy immobilizowanej na MgO·SiO<sub>2</sub> modyfikowanym różnymi grupami; (b) wpływ ilości grup funkcyjnych na aktywność oraz ilość zimmobilizowanej lipazy, na podstawie H5

Na podstawie reakcji modelowej hydrolizy palmitynianu *p*-nitrofenylu do *p*-nitrofenolu określono aktywność katalityczną zaproponowanych układów biokatalitycznych składających się z modyfikowanego MgO·SiO<sub>2</sub> i lipazy. Najwyższą aktywność katalityczną odnotowano dla

lipazy immobilizowanej na  $\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2$  modyfikowanym grupami aminowymi i karbonyłowymi. Najprawdopodobniej związane jest to z faktem, że są to układy, na których unieruchomiono największe ilości enzymu (28,5 mg/g dla  $\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2\_A$  i 25 mg/g dla  $\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2\_GA$ ) (Rys. 7a). Stwierdzono również, że te same układy ( $\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2\_A$  i  $\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2\_GA$ ) mają największą liczbę powierzchniowych grup funkcyjnych (odpowiednio 0,20 i 0,12  $\text{nm}^{-2}$ ) (rys. 7b). Nieco mniejsze wartości uzyskano dla układów modyfikowanych grupami tiolowymi (M) oraz epoksydowymi (G), natomiast najmniejsze wartości otrzymano w przypadku materiałów modyfikowanych grupami cyjanowymi (C) oraz fenylowymi (P). Potwierdzeniem wyników tych badań są doniesienia literaturowe, które stanowią, że grupy aminowe oraz karbonyłowe wykazują wysokie powinowactwo w stosunku do białek [40]. Na podstawie wyników analizy FTIR oraz NMR zaproponowano również prawdopodobny mechanizm zachodzący podczas immobilizacji. Mechanizm opiera się głównie na oddziaływaniach elektrostatycznych (pomiędzy grupami  $\text{NH}_4^+$  z enzymu a grupami  $\text{COO}^-$  i  $\text{O}^-$  z nośnika), ale duże znaczenie mają również wiązania kowalencyjne powstające pomiędzy enzymem ( $-\text{NH}_2$  i  $-\text{COOH}$ ) a grupami funkcyjnymi ( $-\text{NH}$  i  $-\text{COC}$ ), które zostały potwierdzone wynikami analizy FTIR i  $^{13}\text{C}$  NMR. Niezależnie od rodzaju modyfikatora udział tych wiązań jest związany z ilością i rodzajem silanowych grup funkcyjnych obecnych na powierzchni  $\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2$  (Rys. 8). Dodatkowo, na podstawie reakcji hydrolizy palmitynianu *p*-nitrofenylu do *p*-nitrofenolu określono, jak na aktywność katalityczną otrzymanych biokatalizatorów wpływa pH, temperatura, czas przechowywania oraz ilość cykli reakcyjnych. Wszystkie układy biokatalityczne wykazują aktywność względną na poziomie 40% w całym analizowanym zakresie pH (4–10) oraz temperatury (30–70 °C). Analiza wyników uzyskanych zależności dowodzi również, że zaproponowane układy biokatalityczne zachowują ok. 50-70% swojej początkowej aktywności po 10 cyklach reakcyjnych. Z uzyskanych danych wywnioskowano, że lipaza immobilizowana na modyfikowanym  $\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2$  może być z powodzeniem stosowana jako biokatalizator w reakcjach katalitycznych, a rodzaj grup funkcyjnych wprowadzonych razem z modyfikatorem ma istotny wpływ na ilość immobilizowanego enzymu oraz na aktywność i stabilność otrzymanego biokatalizatora. Dodatkowo stosunkowo łatwa modyfikacja powierzchni układu tlenkowego  $\text{MgO}\cdot\text{SiO}_2$ , wysoka skuteczność immobilizacji oraz zachowanie dobrych właściwości katalitycznych przez immobilizowany enzym sprawiają, że zaproponowany materiał nośny może być z łatwością wykorzystany do immobilizacji innych enzymów, czego efektem może być produkcja układów biokatalitycznych do różnorodnych zastosowań.

Interpretacja uzyskanych danych eksperymentalnych, zaprezentowanych w publikacjach H1–H5, dowiodła, że modyfikacja materiałów nieorganicznych różnymi grupami funkcyjnymi zwiększa ich powinowactwo do enzymu, konsekwencją czego jest możliwość uzyskania układów biokatalitycznych o istotnej aktywności enzymatycznej. Zależności te stanowią platformę do dalszych badań nad wykorzystaniem zaawansowanych i nowatorskich modyfikatorów dla nośników enzymów, oraz projektowaniem aktywnych układów biokatalitycznych do specyficznych zastosowań.

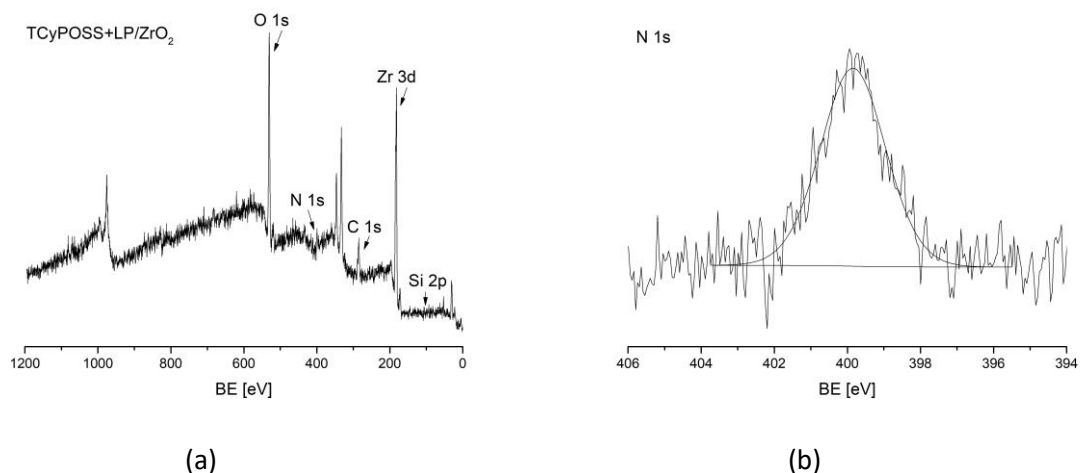


**Rys. 8.** Prawdopodobny mechanizm immobilizacji lipazy na MgO-SiO<sub>2</sub> modyfikowanym grupami epoksydowymi oraz aminowymi, na podstawie H5

Wysokie koszty produkcji enzymów, dyskwalifikujące je w zastosowaniach przemysłowych, można przezwyciężyć stosując nowatorskie metody immobilizacji, takie jak unieruchomienie w ultracienkich filmach. Technika Langmuira-Blodgetta (LB) to jedna ze skutecznych metod immobilizacji enzymów w zorganizowanych filmach, stosowana przez naukowców na całym świecie [41,42]. Zaletą techniki LB jest kontrola struktury molekularnej, prostota i możliwość zastosowania w zminiaturyzowanych urządzeniach. Wykazano, że zmiany w konformacji enzymów, zarówno na granicy faz powietrze-woda, jak i osadzonych na podłożu stałym, jak np. w podejściu Langmuira-Blodgetta, mogą pozytywnie wpływać na jego skuteczność katalityczną. Kluczową koncepcją stosowaną w tej metodzie jest to, że cząsteczka enzymu ulega zmianie konformacyjnej po adsorpcji na granicy faz lipid-woda. Choć istnieją

doniesienia o tworzeniu filmów LB przez same enzymy, istnieje pewne ryzyko denaturacji i utraty ich aktywności w filmie międzyfazowym. Dlatego potrzebna jest nierozpuszczalna cząsteczka amfifilowa, która umożliwi tworzenie filmu międzyfazowego i służy jako matryca ochronna dla enzymu [43]. Interpretacja doniesień literaturowych potwierdza, że filmy LB zbudowane z enzymów zmieszanych z lipidami (jako cząsteczką amfifilową) nadal wykazują aktywność katalityczną porównywalną z wolnym enzymem. W badaniach tych jako podłoże modelowe stosowane są najczęściej takie materiały, jak mika, szkło lub kwarc [44,45]. W publikacji **H6** zaprezentowano badania dotyczące immobilizacji lipazy z *Rhizopus oryzae* (LP) w warstwie międzyfazowej osadzonej na tlenku cyrkonu. Ponadto, zamiast powszechnie stosowanych lipidów, zaproponowano wykorzystanie wielościennego oligomerycznego silseskwioksanu (TCyPOSS – trisilanocykloheksylo-POSS) jako amfifilowej matrycy dla lipazy i osadzenie filmu LB zbudowanego z POSS i lipazy na powierzchni  $ZrO_2$ . Właściwości chemiczne wielościenne oligomerycznych silseskwioksanów pozwalają na zastosowanie tej grupy związków m.in. w biomedycynie, elektrochemii i badaniach kosmicznych [46]. Ponadto, materiały te odgrywają także ważną rolę w katalizie, ponieważ POSS może służyć jako platforma stabilizująca dla nanocząstek metali, ligandów metali, nośników dla soli organicznych i molekularnych bloków budulcowych do projektowania polimerów jonowych [47]. Niektóre związki z klasy POSS są amfifilowe i mogą tworzyć warstwy międzyfazowe na granicy faz powietrze/woda [48,49]. Wytwarzanie enzymatycznych struktur molekularnych nie jest szablonowe, dlatego też wymagane jest pełne zrozumienie składu i stabilności każdego układu. W pracy **H6** przedstawiono nową strategię otrzymywania układu biokatalitycznego: od syntezy materiału nieorganicznego, oceny interakcji między lipazą a TCyPOSS na granicy faz powietrze-bufor, następnie unieruchomienia otrzymanego filmu LB na  $ZrO_2$  i scharakteryzowaniu produktu końcowego. Filmy LB składające się z TCyPOSS oraz lipazy opisano na granicy faz powietrze-ciecz, stosując izotermę pola powierzchniowego, krzywe relaksacji i reologię dylatacyjną. Natomiast, do scharakteryzowania monowarstw osadzonych na  $ZrO_2$  wykorzystano mikroskopię sił atomowych (AFM), rentgenowską spektroskopię fotoelektronów wzbudzonych promieniowaniem X (XPS), spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) oraz niskotemperaturową analizę sorpcji  $N_2$ . Wyniki omówiono pod kątem tworzenia, stabilności i aktywności enzymatycznej błony międzyfazowej zawierającej lipazę oraz silseskwioksan w zależności od stężenia enzymu, właściwości tlenku cyrkonu(IV) i czasu przechowywania. Z przeprowadzonych badań można wywnioskować, że

lipaza adsorbuje się na granicy faz powietrze-woda i tworzy dwuskładnikowy film z TCyPOSS. Stężenie lipazy wydaje się być kluczowym czynnikiem w tworzeniu filmu międzyfazowego o określonej strukturze. Penetracja monowarstwy przez cząsteczki enzymu jest możliwa tylko przy odpowiednio wysokich stężeniach lipazy. Po włączeniu lipazy, monowarstwa staje się mniej elastyczna i efekt ten jest wyraźnie związany z ilością enzymu. TCyPOSS działa jako matryca dla enzymu, natomiast lipaza oddziałuje na monowarstwę dwoma różnymi mechanizmami: adsorbując się na granicy faz i oddziałując z polarnymi grupami głównymi lub penetrując monowarstwę i rozpraszając się w hydrofobowych obszarach monowarstwy jako oddzielne, przypominające wyspy, struktury. Uzyskane wyniki wyraźnie pokazują, że film LB składający się z TCyPOSS oraz lipazy można z powodzeniem osadzać na modelowym stałym podłożu. W badaniach wykorzystano dwa rodzaje podłoża: czysty  $ZrO_2$  oraz  $ZrO_2$  modyfikowany grupami aminowymi, które przygotowano w postaci pastylki. Obecność filmu LB na powierzchni  $ZrO_2$  potwierdzono na podstawie analizy spektroskopowej FTIR oraz XPS. Obserwowano pojawienie się pasma przy liczbie falowej ok.  $1100\text{ cm}^{-1}$ , które odpowiada drganiom zginającym C–O, pochodzącym od filmu LB. Natomiast obecność azotu wykryta techniką XPS, jest całkowicie związana z obecnością enzymu w próbce, a dokładniej z występowaniem aminokwasów wchodzących w skład jego struktury (Rys. 9a). Analiza linii N1s wykazuje obecność pików symetrycznego, którego energia wiązania wynosi  $400,1\text{ eV}$  i jest charakterystyczna dla aminokwasów i białek (Rys. 9b) [50]. Zaprezentowane wyniki sugerują, że technika Langmuir-Blodgett może być przydatna do skutecznego unieruchamiania lipazy z amfifilowym TCyPOSS jako matrycą ochronną na tlenku cyrkonu. **Strategię przedstawioną w pracy H6 należy uznać za niezwykle interesujące i innowacyjne rozwiązanie w projektowaniu nowatorskich układów biokatalitycznych przeznaczonych do różnorodnych zastosowań, w tym także w charakterze membran biokatalitycznych. Zaproponowana immobilizacja enzymów jest z pewnością alternatywą dla powszechnie stosowanych metod i może stanowić platformę do dalszych prac nad poprawą skuteczności wiązania enzymów z materiałami nośnymi, a tym samym do zwiększenia ich stabilności i aktywności w środowisku reakcji.**

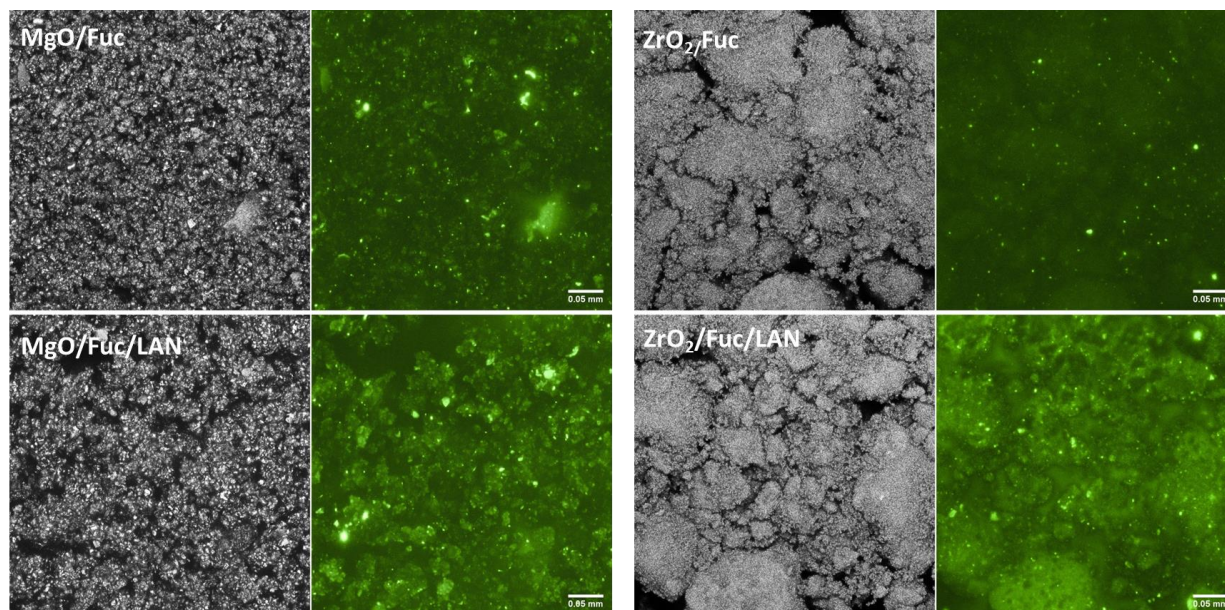


**Rys. 9.** (a) Widmo pomiarowe oraz (b) widmo N1 s dla układu ZrO<sub>2</sub> z filmem LB, na podstawie H6

W ostatnich dziesięcioleciach rozwój niedrogich, biodegradowalnych i łatwo dostępnych materiałów naturalnych o różnych zastosowaniach wzbudza coraz większe zainteresowanie. Jest wysoce korzystne, aby matryca nośnikowa, która wiąże enzym, mogła być wytwarzana w sposób powtarzalny i nie zakłócała aktywności enzymu, ponieważ ma to ogromne znaczenie dla wydajności technologicznej i sukcesu komercyjnego [51]. Biopolimery, ze względu na swoje wszechstronne właściwości, w tym nietoksyczność, biogodność, biodegradowalność, elastyczność i odnawialność, są obiecującymi nośnikami w immobilizacji enzymów. W ich strukturze chemicznej obecne są liczne reaktywne grupy funkcyjne (np. aminowe, karboksylowe, tlenkowe itp.), które umożliwiają unieruchomienie enzymu. Oczywiście materiały te mają również wady (mała wytrzymałość mechaniczna i ograniczona stabilność termiczna), które można poprawić stosując odpowiedni proces ich modyfikacji [4]. W zawiązku z tym w ostatnim czasie powszechne stało się wykorzystanie hybrydowych układów typu biopolimer-materiał nieorganiczny, które charakteryzują się lepszą termostabilnością, a jednocześnie wprowadzają do materiału nieorganicznego odpowiednie grupy funkcyjne zwiększające jego powinowactwo do enzymu. Najbardziej popularne biopolimery stosowane w procesie immobilizacji enzymów to różnego rodzaju naturalne polisacharydy, takie jak celuloza, chityna, chitozan, alginian, agarozę i karagen [52,53]. Analizując dotychczasowe doniesienia literaturowe oraz biorąc pod uwagę wyniki prac eksperymentalnych (H1–H6), w publikacji **H7** postanowiono opisać nowy nośnik enzymów – układ hybrydowy biopolimer-tlenek nieorganiczny, w którym jako biopolimer zastosowano fukoidynę z *Fucus vesiculosus* (Fuc). Fukoidyna to naturalny polisacharyd siarczanowy



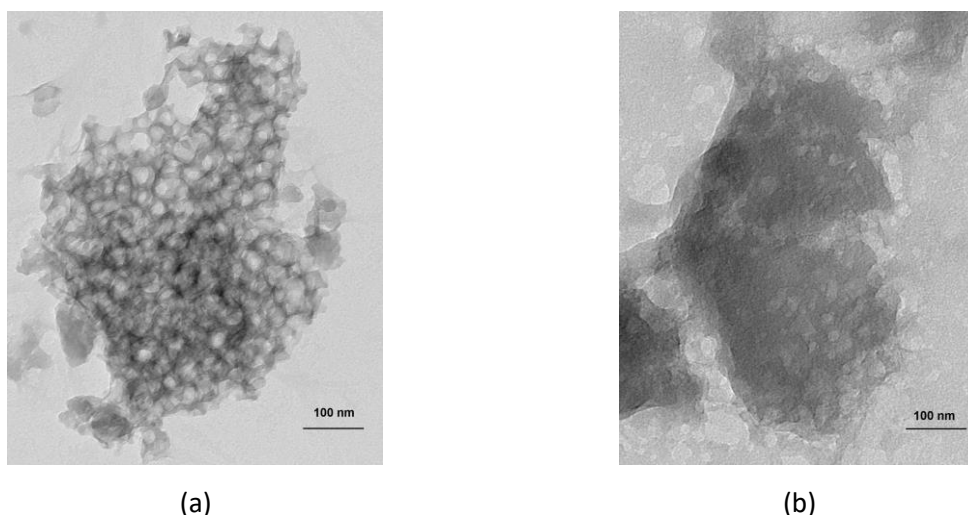
ekstrahowany z brunatnych alg morskich. Charakteryzuje się właściwościami antybakteryjnymi, antyoksydacyjnymi oraz antynowotworowymi, poza tym jest biokompatybilna, biodegradowalna oraz nietoksyczna [54–57]. **Do tej pory, materiały nieorganiczne modyfikowane fukoidyną nie zostały opisane w literaturze naukowej jako potencjalne nośniki w immobilizacji enzymów.** Dlatego też w pracy *H7* zaprojektowano dwa układy hybrydowe  $M_xO_y$ /Fuc gdzie  $M_xO_y$ :  $ZrO_2$  oraz  $MgO$ . Kluczowym celem tych badań było potwierdzenie modyfikacji  $M_xO_y$  fukoidyną do czego wykorzystano różne analizy spektroskopowe — spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR), spektroskopię węglowego magnetycznego rezonansu jądrowego ( $^{13}C$  NMR) i rentgenowską spektroskopię fotoelektronów (XPS). Na podstawie wyników analiz spektroskopowych stwierdzono, że funkcjonalizacja materiałów tlenkowych cząsteczkami fukoidyny zakończyła się sukcesem. Analiza wyników uzyskanych z widma  $^{13}C$  NMR dowiodła, że fukoidyna przyłącza się bezpośrednio do powierzchni  $MgO$  tworząc wiązania wodorowe, podczas gdy wiązania wodorowe między fukoidyną a  $ZrO_2$  są generowane przez cząsteczki wody. Ponadto, widma FTIR i XPS, potwierdzają skuteczną modyfikację fukoidyną, na których obserwuje się charakterystyczne pasma, pochodzące zarówno od fukoidyny jak i tlenków. Kolejnym etapem badań było zastosowanie otrzymanych układów  $M_xO_y$ /Fuc w procesie immobilizacji lipazy z *Apsergillus niger* (LAN). Podczas tego etapu badań, określono ilość unieruchomionej lipazy, aktywność katalityczną oraz wykonano obrazy z mikroskopu konfokalnego, aby potwierdzić efektywność immobilizacji. Na podstawie uzyskanych wyników, potwierdzono, że otrzymane układy biokatalityczne ( $M_xO_y$ /Fuc/LAN), charakteryzują się wysoką aktywnością enzymatyczną (ok. 140 U/g<sub>katalizatora</sub>), zachowując ok 40% swojej początkowej aktywności po 12 cyklach reakcyjnych. Dodatkowo, zmiana wartości parametrów kinetycznych po immobilizacji wskazuje, że unieruchomiona lipaza może katalizować reakcję enzymatyczną szybciej niż jej wolna postać. Ponadto stwierdzono, że układy  $MgO$ /Fuc i  $ZrO_2$ /Fuc wykazują zwiększoną intensywność fluorescencji po unieruchomieniu lipazy, co pośrednio potwierdza obecność biomolekuł enzymatycznych na powierzchni proponowanych materiałów hybrydowych (Rys. 10). **Analiza zależności eksperymentalnych zaprezentowana w publikacji *H7*, wskazuje na interesujące właściwości fukoidyny jako czynniki sprzęgającego w procesie immobilizacji lipazy, co otwiera nowe możliwości wykorzystania szerokiej gamy białek w projektowaniu aktywnych układów biokatalitycznych.**



**Rys. 10.** Obrazy mikroskopii konfokalnej w trybie odbicia i fluorescencji dla materiału hybrydowego  $M_xO_y$ /fukoidyna przed i po immobilizacji lipazy, na podstawie H7

Kierując się informacjami zawartymi w publikacjach **H1–H7**, w kolejnym etapie prac wykorzystano nieorganiczny materiał tlenkowy do unieruchomienia enzymu z grupy oksydoreduktaz. Oksydoreduktazy to enzymy, które katalizują reakcje utleniania i redukcji. Jednym z najbardziej obiecujących enzymów z tej grupy, jest lakaza, która służy do degradacji układów zanieczyszczonych związkami fenolowymi. Lakaza (EC 1.10.3.2) zawiera różne formy jonów miedzi, dzięki czemu może katalizować utlenianie różnorodnych związków organicznych [11]. Natywna forma lakazy jest bardzo wrażliwa na zmiany warunków temperatury i pH, co w konsekwencji może eliminować ją jako katalizator w zastosowaniach przemysłowych. Immobilizacja na stałym nośniku poprawia stabilność lakazy i zwiększa możliwość jej użycia [58]. W publikacji **H8** zastosowano mezoporowaty tlenek glinu jako nośnik dla lakazy z *Trametes versicolor* (LAC).  $Al_2O_3$  jest tlenkiem metalu, który charakteryzuje się dobrze rozwiniętą strukturą porowatą, wysoką krystalicznością, stabilnością termiczną i mechaniczną [59]. Dzięki tym parametrom porowaty tlenek glinu jest ważnym materiałem inżynierskim stosowanym w różnych procesach chemicznych [60]. Tlenek glinu może osiągać dużą powierzchnię (nawet do  $700 \text{ m}^2/\text{g}$ ), dzięki czemu może być stosowany jako skuteczny nośnik w procesie immobilizacji enzymów. Oczywiście parametry te zależą od metod syntezy i obróbki powierzchniowej  $Al_2O_3$ . Tlenek glinu użyty w badaniach zaprezentowanych w pracy **H8**, został zsyntetyzowany metodą miękkiego odwzorowania. Dzięki temu otrzymano materiał

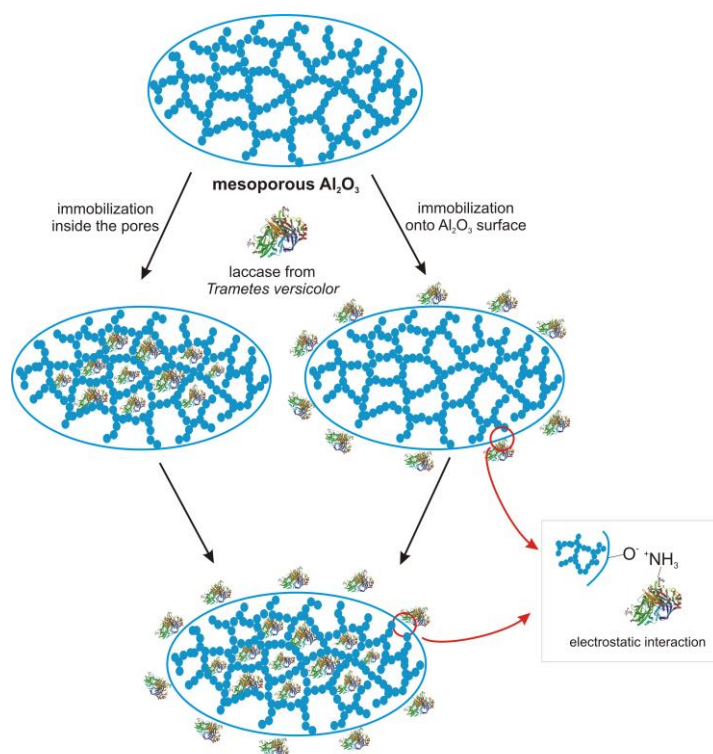
charakteryzujący się dobrze rozwiniętymi parametrami struktury porowatej oraz stabilnością termiczną. Właściwości te potwierdzono wynikami niskotemperaturowej sorpcji azotu, analizy potencjału dzeta i analizy termogravimetrycznej. Zsyntetyzowany  $\text{Al}_2\text{O}_3$  charakteryzuje się powierzchnią właściwością rzędu  $159 \text{ m}^2/\text{g}$  oraz porami o średnicy  $14,1 \text{ nm}$ . Dodatkowo, w celu zbadania morfologii i mikrostruktury tlenku glinu, wykonano pomiary transmisyjnym mikroskopem elektronowym (Rys. 11a). Na podstawie tej analizy potwierdzono mezoporowatą strukturę  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , ponieważ obserwuje się pory poniżej  $20 \text{ nm}$ . Obrazy TEM  $\text{Al}_2\text{O}_3$  z unieruchomioną lakazą przedstawiono na rys. 11b. Pory są mniej widoczne, co sugeruje, że cząsteczki lakazy osadzają się na powierzchni lub wewnątrz porów. Zostało to również zauważone analizując parametry struktury porowatej, czyli zmniejszenie powierzchni właściwej oraz wielkości porów. Mezoporowata struktura  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ( $S_p=14,1 \text{ nm}$ ) zapewnia odpowiednie mikrośrodowisko dla lakazy.



**Rys. 11.** Zdjęcia TEM (a) czystego tlenku glinu oraz (b) tlenku glinu z zimmobilizowaną lakazą, na podstawie H8

Szereg parametrów fizykochemicznych takich jak: porowatość, stabilność elektrokinetyczna i termiczna, a także obecność charakterystycznych grup funkcyjnych pośrednio potwierdza, że najwyższą skuteczność immobilizacji i aktywność katalityczną układów biokatalitycznych uzyskano prowadząc proces immobilizacji w  $\text{pH}=4$ . Wyniki analiz fizykochemicznych wskazują, że immobilizacja zachodzi zarówno wewnątrz porów, jak i na powierzchni  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (poprzez niespecyficzne oddziaływania typu van der Waalsa oraz oddziaływania elektrostatyczne) (Rys. 12). Na podstawie reakcji utleniania ABTS (sól diamoniowa kwasu sulfonowego) określono

wpływ pH i temperatury na aktywność enzymatyczną otrzymanego układu biokatalitycznego  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-LAC}$ , a także jego trwałość podczas przechowywania i przydatność do ponownego wykorzystania. Lakaza immobilizowana na  $\text{Al}_2\text{O}_3$  była mniej wrażliwa na zmiany temperatury i pH niż wolny enzym i zachowała ok. 60% swojej początkowej aktywności po dziesięciu cyklach utleniania i 30 dniach przechowywania. Zaprezentowane w pracy **H8** wyniki, dowodzą że mezoporowaty tlenek glinu może stanowić odpowiednie podłoże do immobilizacji enzymu, a co za tym idzie do uzyskania stabilnego układu biokatalitycznego.



**Rys. 12.** Prawdopodobny mechanizm zachodzący podczas immobilizacji lakazy na tlenku glinu, na podstawie H8

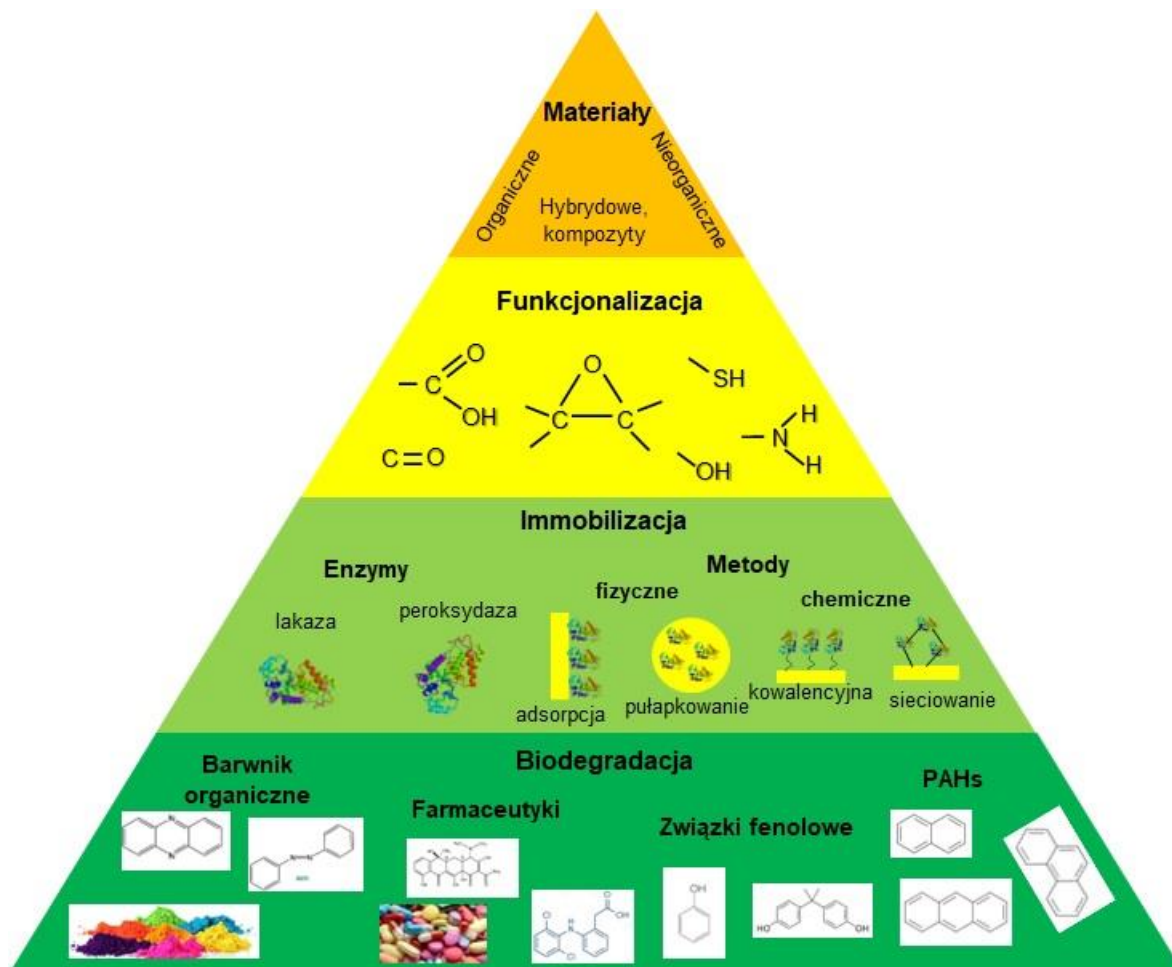
#### 4.4 Zastosowanie układów biokatalitycznych zawierających lakazę osadzoną na nieorganicznych nośnikach w procesie degradacji barwników organicznych

Uwalnianie do środowiska zanieczyszczonych ścieków może znacząco i negatywnie wpływać na jego stan. Gwałtowna industrializacja i rozwój gospodarczy bezpośrednio przyczyniają się do zanieczyszczenia gruntów i wód w wyniku stosowania wielu chemikaliów, takich jak barwniki organiczne, farmaceutyki i odczynniki przemysłowe. Usunięcie tych zanieczyszczeń przed odprowadzeniem ścieków ma kluczowe znaczenie dla ochrony

środowiska. Metody oczyszczania ścieków można zasadniczo podzielić na trzy grupy: (i) chemiczne (np. chemiczne utlenianie i ozonowanie), (ii) fizyczne (np. adsorpcja, separacja membranowa i wymiana jonowa) oraz (iii) procesy biologiczne [61,62]. Oczyszczanie biologiczne jest najczęściej stosowaną metodą ze względu na walory ekonomiczne i ekologiczne. W szczególności zastosowanie immobilizowanych enzymów stało się ostatnio bardziej atrakcyjne w wyniku postępu naukowego w zaawansowanej syntezy materiałów [63]. Ważną rolę w przygotowaniu takich układów biologicznie czynnych odgrywa dobór odpowiedniego nośnika.

Dokonano przeglądu aktualnego stanu wiedzy, który stanowi publikacja **H9**, mającego na celu zdefiniowanie znaczenia funkcjonalizowanych materiałów w przygotowaniu systemów biokatalitycznych i rozważenia ich zastosowania w usuwaniu zanieczyszczeń z wody. Pracę tą przygotowano we współpracy z Profesorem Long N. Nghiem z Uniwersytetu Technologicznego w Sydney, który jest cenionym ekspertem w procesie usuwania zanieczyszczeń środowiskowych. Przegląd ten identyfikuje i omawia różne systemy biokatalityczne stosowane w enzymatycznej degradacji zanieczyszczeń z roztworów wodnych. Funkcjonalizowane materiały, dzięki określonym grupom funkcyjnym, mogą służyć jako dobre podłoże do immobilizacji enzymów, zapewniając chemiczną i termiczną stabilność wspierającą reakcje katalityczne. Biokataliza enzymatyczna przekształca zanieczyszczenia w prostsze produkty, które są zwykle mniej toksyczne niż ich wyjściowe formy. Ze względu na unieruchomienie, enzym można stosować w wielu cyklach, co znacznie obniża koszty oczyszczania ścieków. Przyszłe badania w tej dziedzinie powinny koncentrować się na opracowaniu nowych platform immobilizacji enzymów w celu poprawy wydajności degradacji. Publikacja **H9** zawiera informacje dotyczące immobilizacji oksydoreduktaz na funkcjonalizowanych materiałach (modyfikowanych związkach nieorganicznych, organicznych oraz hybrydach lub kompozytach) i późniejszym zastosowaniu takich układów w procesach oczyszczania wody (zwłaszcza w usuwaniu barwników organicznych, farmaceutyków, związków fenolowych, i wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych tzw. PAH), co zostało schematycznie zaprezentowane na Rys. 13. Modyfikację materiałów stosuje się w celu poprawy ich właściwości dla konkretnego zastosowania. Jednym z kluczowych aspektów funkcjonalizacji jest wprowadzenie na powierzchnię materiałów lub w ich strukturę określonych grup funkcyjnych, które pozwalają zmienić charakter ich powierzchni. Szeroka gama materiałów, począwszy od tlenków metali (również układów tlenkowych), polimerów (w tym

biopolimerów), aż po hybrydy i kompozyty, modyfikowana jest związkami zawierającymi grupy aminowe, karboksylowe, epoksydowe, tiolowe i itp., w celu zwiększenia ich powinowactwa do enzymów. Funkcjonalizacja umożliwia tworzenie stabilnych wiązań kowalencyjnych między grupami funkcyjnymi znajdującymi się w enzymie a grupami funkcyjnymi na powierzchni materiału nośnego. Ogólnie rzecz biorąc, przy użyciu modyfikowanych materiałów immobilizowane enzymy wykazują wysoką skuteczność w degradacji zanieczyszczeń.



**Rys. 13.** Schemat przygotowania układów biokatalitycznych oraz ich zastosowanie w degradacji zanieczyszczeń, na podstawie H9

Najczęściej immobilizowanymi enzymami są oksydoreduktazy, takie jak lakaza i peroksydaza. W przeglądzie tym wykazano również, że immobilizowane enzymy skutecznie przyczyniają się do usuwania zanieczyszczeń z roztworów wodnych (głównie substancji organicznych, barwników, farmaceutyków i związków fenolowych). **Przegląd zaprezentowany w pracy H9 może okazać się niezbędny do doskonalenia metod otrzymywania nowych materiałów jako**

## nośników enzymów, a w konsekwencji projektowania układów biokatalitycznych o zwiększonej stabilności i skuteczności w degradacji zanieczyszczeń.

Przedstawione informacje stanowiły inspirację do dalszych prac badawczych mających na celu wytworzenie efektywnych układów immobilizowanych enzymów do usuwania barwników organicznych. Kluczowym zagadnieniem było dobranie nośnika do immobilizacji celem poprawy stabilności enzymu i osiągnięcia wysokich efektywności usuwania wybranych zanieczyszczeń z ugrupowaniami fenolowymi, w tym przede wszystkim barwników organicznych, przez lakazę z grupy oksydoreduktaz. Atrakcyjne zatem wydaje się być wykorzystanie modyfikowanych materiałów o zdefiniowanych właściwościach, różnego pochodzenia i wytworzonych różnymi technikami, co zostało przedstawione w pracach **H10–H12**.

Jednym z poważnych i trudnych problemów środowiskowych są zanieczyszczenia barwnikami organicznymi, które są toksyczne i trwałe. Zabarwiają również zbiorniki wodne, nadając im nieprzyjemny wygląd. Pomimo niskiej zawartości barwników w ściekach, kolor jest charakterystycznym wskaźnikiem ich obecności [64]. Barwniki to organiczne, barwne związki zdolne do barwienia włókien zwierzęcych (wełna, jedwab), roślinnych (bawełna, len) oraz skóry. Barwa barwników organicznych zależy od obecności w ich cząsteczce chromoforów (odpowiedzialnych za powstawanie barwy) oraz auksochromów (donorów elektronów, które również podwyższają barwę poprzez poprawę rozpuszczalności i adhezji barwnika do włókna). Barwniki organiczne dzielą się na chemiczne (np. nitrowe, antrachinonowe, indygooidowe) i techniczne (np. kwasowe, zasadowe, kadziowe, reaktywne) [65,66]. Barwniki organiczne należą do najbardziej znaczących zanieczyszczeń ścieków, ze względu na ich szerokie zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu [67]. Odbarwienie i degradację tej grupy związków można skutecznie osiągnąć za pomocą immobilizowanych enzymów.

W publikacji **H10** wykorzystano immobilizowaną lakazę z *Trametes versicolor* do dekoloryzacji Alizaryny Red S. Jako nośniki zaproponowano dwa materiały tlenkowe: SiO<sub>2</sub> i ZrO<sub>2</sub> modyfikowane cysteiną oraz aldehydem glutarowym. Modyfikacja cysteiną odbyła się *in-situ*, którą wykonano metodą zol-żel. Uzyskane układy dodatkowo sfunkcjonalizowano aldehydem glutarowym. Następnie immobilizowano lakkazę z *Trametes versicolor* (Lac) na sfunkcjonalizowanym cysteiną materiale tlenkowym. Badania obejmowały ocenę właściwości fizykochemicznych zarówno układów przed jak i po procesie immobilizacji, stosując analizę FTIR, termograwimetryczną, struktury porowatej, potencjału dzeta oraz elementarną.

Natomiast zaproponowany układ zbadano pod kątem jego parametrów kinetycznych oraz aktywności katalitycznej w różnych warunkach pH, temperatury, czasu przechowywania i po kilkukrotnym użyciu.

Aktywność względną określono na podstawie reakcji modelowej utleniania ABTS. Analiza wyników przeprowadzonych badań wykazała, że poprawione zostały właściwości katalityczne enzymu w różnym pH, temperaturze, czasie przechowywania, a także po kilkukrotnym użyciu. Nośnik stabilizuje i usztywnia strukturę enzymu, co w konsekwencji chroni enzym przed denaturacją w ekstremalnych warunkach pH i temperatury. Ponadto nośnik odsłania miejsca aktywne katalizatora w celu łatwego przyłączenia cząsteczek substratu i zmniejszania oporu dyfuzyjnego substratów i produktów. Najlepsze właściwości katalityczne uzyskano, gdy lakazę unieruchomiono na  $ZrO_2$  modyfikowanym cysteiną ( $ZrO_2\_Cys$ ), w tym przypadku układ biokatalityczny wykazał aż 77,2% aktywności względnej (Tabela 2).

**Tabela 2.** Katalityczne i kinetyczne parametry opisujące układy biokatalityczne składające się z lakazy, materiału tlenkowego modyfikowanego cysteiną i aldehydem glutarowym, na podstawie H10

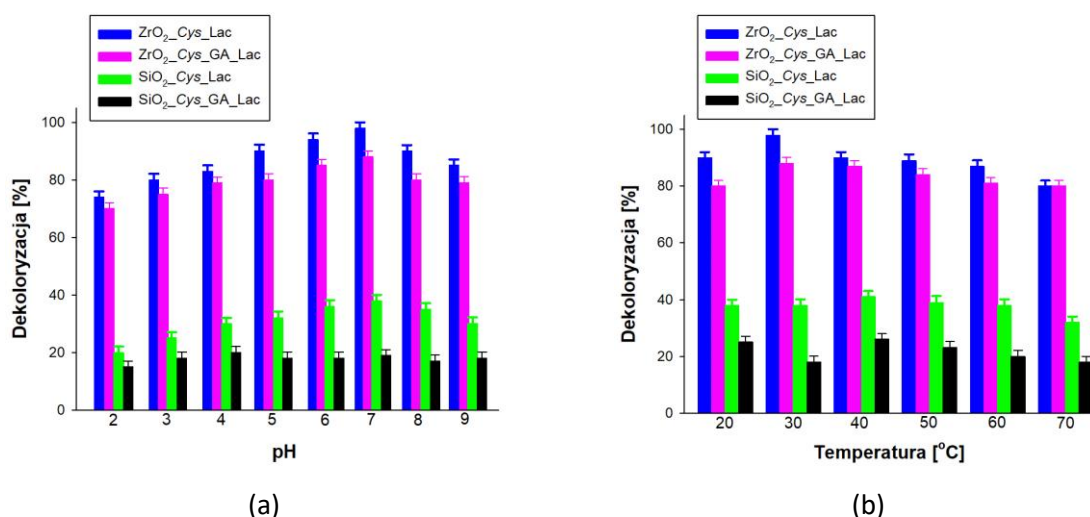
Próbka	$P$ [mg/g]	$IY$ [%]	$A_s$ [U/mg]	$A_R$ [%]	$K_M$ [mM]	$V_{max}$ [mM/s]
Wolna Lac	-	-	25±1,6	-	0,18±0,03	0,027±0,012
$ZrO_2\_Cys\_Lac$	250±5,6	99,9±0,7	19,3±1,5	77,2±2,8	0,11±0,02	0,095±0,011
$ZrO_2\_Cys\_GA\_Lac$	225±5,4	97,5±0,7	13,5±1,4	53,8±2,5	0,14±0,02	0,031±0,013
$SiO_2\_Cys\_Lac$	216±5,3	95,6±0,6	0,6±0,3	2,6±0,8	0,17±0,03	0,028±0,010
$SiO_2\_Cys\_GA\_Lac$	212±5,3	94,5±0,6	7,1±1,1	28,5±1,9	0,18±0,02	0,029±0,011

$P$  – ilość immobilizowanego enzymu;  $IY$  – wydajność immobilizacji;  $A_s$  – aktywność rzeczywista;  $A_R$  – aktywność względna;  $K_M$  – stała Michaela-Mentes;  $V_{max}$  – maksymalna szybkość reakcji enzymatycznej

Można to wiązać z właściwościami tych materiałów, zwłaszcza z dobrze rozwiniętą strukturą porowatą. Ponadto, interpretacja danych z analizy elementarnej wykazała, znaczne zwiększenie zawartości siarki w modyfikowanym materiale (2,18%) w porównaniu z jego niemodyfikowaną formą (0,15%), co potwierdza wprowadzenie cysteiny na powierzchnię materiału tlenkowego. Natomiast dodatkowa aktywacja aldehydem glutarowym powoduje obniżenie aktywności katalitycznej ( $A_s=53,8\%$ ). Może to być związane z obecnością wiązań kowalencyjnych, które mogą blokować miejsce aktywne enzymu i w konsekwencji redukować aktywność enzymatyczną. Gorsze wyniki uzyskano stosując krzemionkę jako nośnik. Z danych uzyskanych z analizy elementarnej wynika, że nie udało się wprowadzić cysteiny w strukturę



SiO<sub>2</sub>. Poza tym krzemionka charakteryzuje się małą powierzchnią właściwą, wykazując słabe zdolności adsorpcyjne. Przekłada się to na aktywność uzyskanego układu katalitycznego, który wykazuje tylko 2,6% aktywności względnej w odniesieniu do wolnej formy lakazy. Ponadto spadek wartości K<sub>M</sub> prowadzi do wzrostu powinowactwa enzymu do substratu. Dzieje się tak prawdopodobnie wtedy, gdy ładunki elektryczne na podłożu i substracie mają różny znak. Kluczowym aspektem badań opublikowanych w pracy **H10** było zastosowanie zaprojektowanych układów biokatalitycznych (M<sub>x</sub>O<sub>y</sub>/Cys/Lac) w procesie dekoloryzacji Alizaryny Red S (ARS). Barwnik ten należy do grupy barwników antrachinonowych i jest najtrwalszym barwnikiem w ściekach tekstylnych. Alizaryna Red S powoduje uszkodzenia oksydacyjne w organizmach, a także powoduje cytotoksyczność, genotoksyczność i pękanie nici DNA [68,69]. Proces dekoloryzacji ARS przeprowadzono w różnych warunkach pH i temperatury (Rys. 14a,b). Lakaza unieruchomiona na ZrO<sub>2</sub> modyfikowanym cysteiną i aldehydem glutarowym uzyskała wysoką skuteczność odbarwienia (powyżej 70%) w całym analizowanym zakresie pH i temperatury. Immobilizacja lakazy na modyfikowanym SiO<sub>2</sub> skutkowała znacznie niższą skutecznością odbarwienia barwnika ARS, sięgającą najwyżej 40%, czego przyczyną może być również niższa aktywność katalityczna tych układów. Analiza uzyskanych wyników wskazuje, że zaproponowane w niniejszej pracy układy biokatalityczne (zwłaszcza ZrO<sub>2</sub>\_Cys\_Lac i ZrO<sub>2</sub>\_Cys\_Ga\_Lac) mogą być platformą do dalszych prac związanych z degradacją zanieczyszczeń.

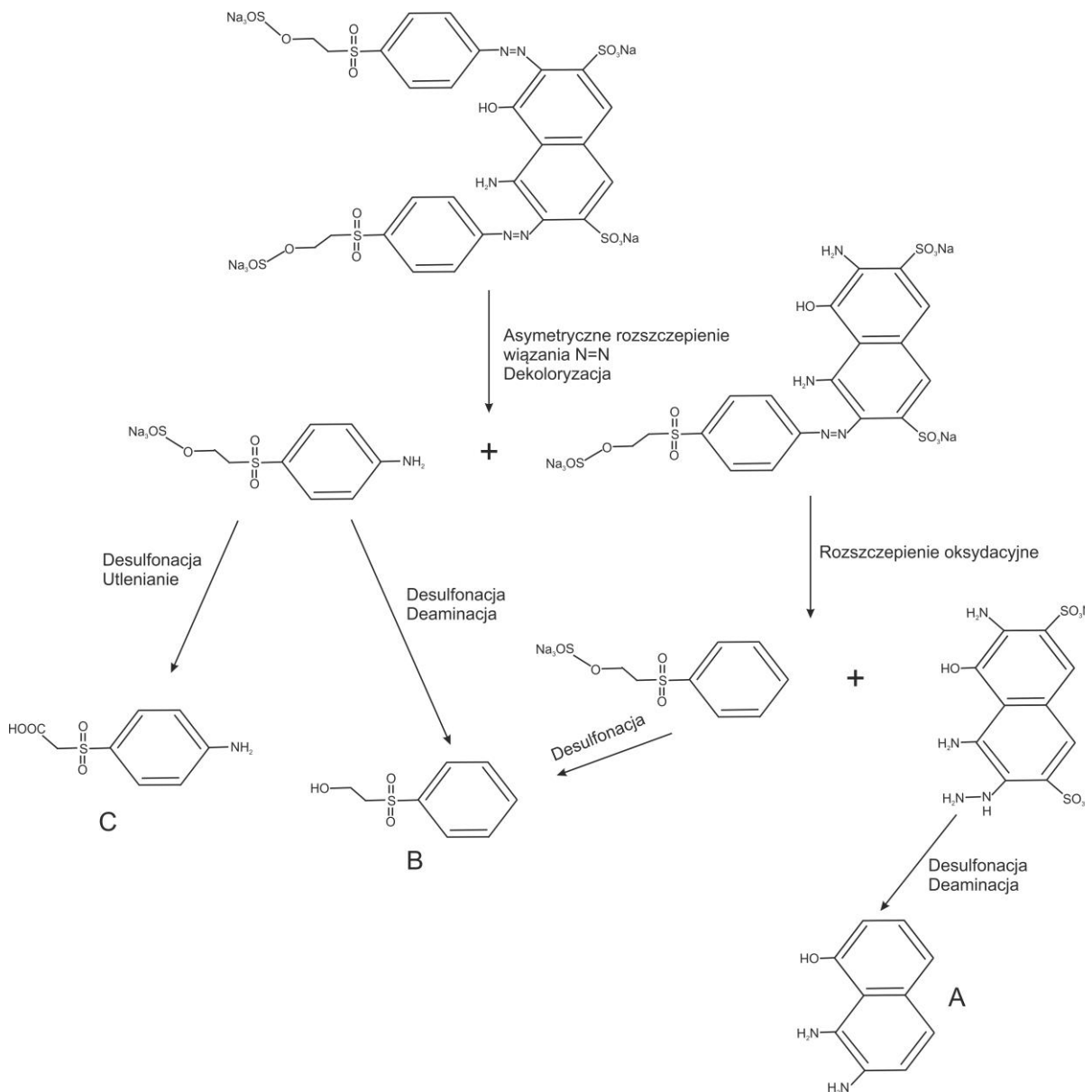


**Rys. 14.** Wpływ (a) pH i (b) temperatury na efektywność dekoloryzacji Alizaryny Red S,

na podstawie H10

W ramach publikacji **H11** kontynuowano badania dotyczące dekoloryzacji/degradacji barwników za pomocą lakazy z *Trametes versicolor* (LTV) immobilizowanej na układzie tlenkowym ZnO/TiO<sub>2</sub>. W tym przypadku degradacji poddano azowe i antrachinonowe barwniki, takie jak: Reactive Black 5 (RB5) oraz Acid Green 25 (AG25). W pierwszym etapie badań skuteczność immobilizacji oceniono na podstawie właściwości katalitycznych (wyznaczonych na podstawie wyników uzyskanych z metody Bradford oraz reakcji utleniania kwasu 2,2-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego)) oraz fizykochemicznych (analiza spektroskopowa FTIR, struktury porowatej, potencjału dzeta). Proces immobilizacji przeprowadzono z wysoką wydajnością wynoszącą blisko 99,4%. Unieruchomiona lakaza zachowała około 40% swojej aktywności w całym analizowanym zakresie temperatur i po 10 cyklach reakcyjnych. Skuteczność immobilizacji została również pośrednio potwierdzona obecnością charakterystycznych grup funkcyjnych (–C–H i –C–O), azotu oraz węgla w układzie biokatalitycznym TiO<sub>2</sub>/ZnO/LTV, określonych na podstawie wyników uzyskanych z analiz spektroskopowych (FTIR i XPS). W kolejnym etapie przeprowadzono dekoloryzację wybranych barwników określając wpływ czasu, pH i temperatury na wydajność tego procesu. Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, że wydajność odbarwiania barwnika RB5 jest wyższa niż barwnika AG25. Wydajność odbarwiania RB5 jest najwyższa po 24 h, osiągając prawie 100%. Dodatkowo zmiany pH i temperatury procesu nie mają znaczącego wpływu na odbarwienie RB5. W całym analizowanym zakresie pH (2–9) i temperatury (20–70 °C) skuteczność odbarwiania wynosi około 99%. Nieco gorsze wyniki uzyskano przy usuwaniu barwnika AG25. W tym przypadku wydajność dekoloryzacji wynosiła ok. 60% po 24 h. Nie zaobserwowano również znaczącego wpływu zmian temperatury na efektywność jego dekoloryzacji. Inaczej sytuacja przedstawia się dla zmian pH. Zauważalny jest trend, że im mniejsza wartość pH tym gorsza skuteczność dekoloryzacji, co może być związane z tym, że w pH poniżej 5 struktura barwnika ulega zmianie (Rys. 14). Ważnym etapem tych badań było określenie możliwych produktów degradacji, na podstawie wyników uzyskanych techniką spektrometrii mas (MS). Struktury, o których mowa zdefiniowano na podstawie widm masowych i uzyskanych wartości m/z. Wyniki analizy MS sugerują, że odbarwienie RB5 przebiega przez rozszczepienie wiązań azowych (N=N), w wyniku czego powstają produkty: A (m/z = 174), B (m/z = 187) i C (m/z = 185) (Rys. 15). Opierając się na tym wniosku zaproponowano prawdopodobny mechanizm degradacji barwnika na przykładzie barwnika RB5 (Rys. 16). Dostępne dane literaturowe potwierdzają, że degradacja barwnika azowego

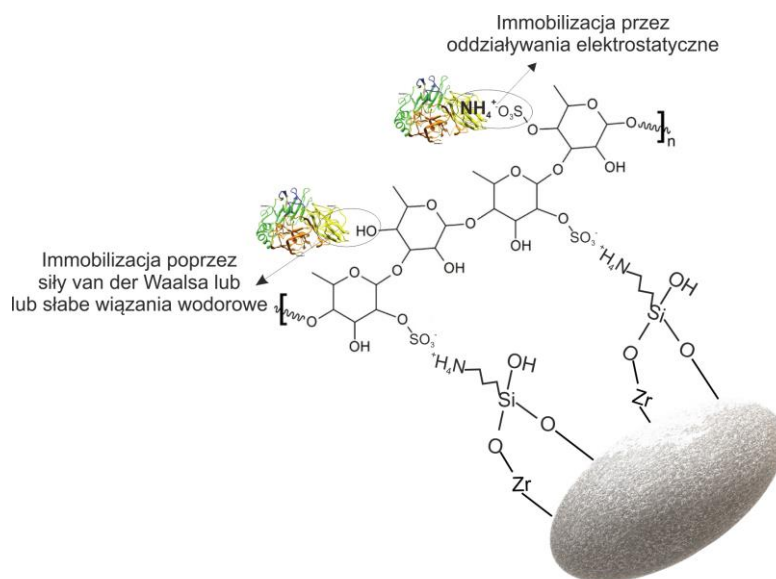
(RB5) przez lakkazę rozpoczyna się od asymetrycznego rozerwania wiązania azowego, po czym następuje rozszczepienie oksydacyjne, desulfonacja i deaminacja. Natomiast podczas degradacji barwnika antrachinonowego chromofor AG25 może zostać rozbity przez rozszczepienie wiązania C–N, tworząc mniejsze cząsteczki. Następnie zachodzi deaminacja i utlenianie [70–72].



**Rys. 15.** Prawdopodobny mechanizm degradacji barwnika Reactive Black 5 za pomocą lakkazy immobilizowanej na ZnO/TiO<sub>2</sub>, na podstawie H11

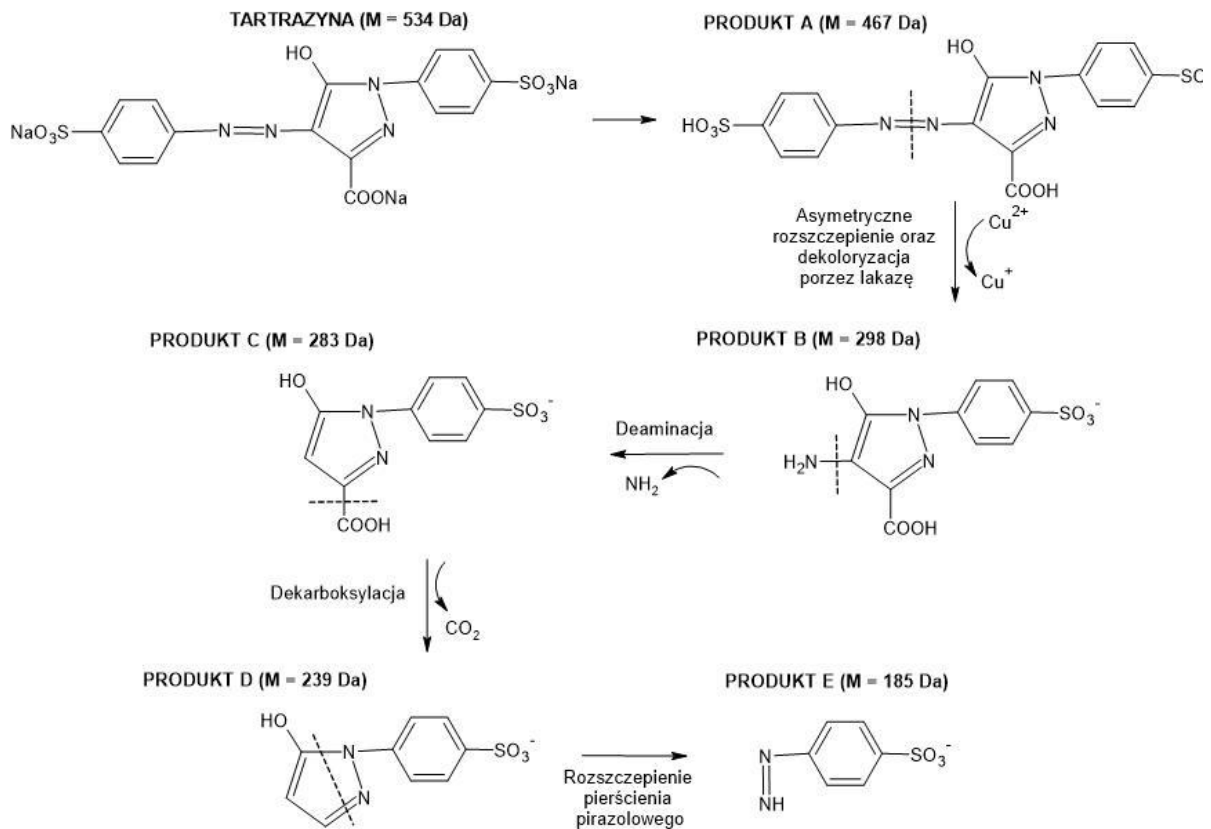
Innym przykładem barwnika azowego jest tartrazyna (TT), która stosowana jest w przemyśle spożywczym (np. w wyrobach cukierniczych), kosmetycznym (preparaty

nawilżające) oraz farmaceutycznym. Wysokie stężenie tartrazyny może powodować niepokój, nadpobudliwość, depresję i astmę. Może ona również powodować uszkodzenie DNA i zakłócenie jego syntezy. Poza tym, niektóre badania wykazały, że nadmierna ilość TT może również wywoływać efekty rakotwórcze, powodujące mięsaka tkanek miękkich, raka wątroby i jelit [73,74]. Z tego względu, w publikacji **H12**, zaprezentowano badania dotyczące usuwania tego barwnika przy użyciu immobilizowanej lakazy. Etapy prac eksperymentalnych obejmowały: (i) przygotowanie układu biokatalitycznego z tlenku cyrkonu funkcjonalizowanego fukoidyną i lakazy; (ii) precyzyjna charakterystyka fizykochemiczna otrzymanych materiałów oraz (iii) zastosowanie enzymatycznego systemu biokatalitycznego w usuwaniu tartrazyny. Aktywny nośnik hybrydowy z udziałem tlenku cyrkonu i fukoidyny wytworzono zmodyfikowaną metodą zol-żel, a następnie scharakteryzowano wykorzystując szerokie spektrum metod, w tym spektroskopia FTIR i NMR, termogravimetria (TG/DTG), niskotemperaturowa sorpcja azotu, analiza elementarna i elektrokinetyczna. Obecność grup funkcyjnych O–H, S–O w hybrydzie ZrF, jej dobra stabilność termiczna, znaczna powierzchnia właściwa ( $366 \text{ m}^2/\text{g}$ ) i objętość porów ( $0,33 \text{ cm}^3/\text{g}$ ) kwalifikują ją jako dobry nośnik dla enzymu. Zmiana parametrów strukturalnych układu biokatalitycznego ZrF-lakaza (zmniejszenie powierzchni właściwej do  $108 \text{ m}^2/\text{g}$  i objętości porów do  $0,18 \text{ cm}^3/\text{g}$ ) oraz parametrów elektrokinetycznych (spadek wartości punktu izoelektrycznego do 4,0), a także pojawienie się charakterystycznych dla enzymu grup funkcyjnych na widmie FTIR układu biokatalitycznego (C–H, amidowe I i II rzędu oraz C–O) potwierdzają skuteczność immobilizacji. Dodatkowo sugerują, że w wiązaniu enzymu z powierzchnią nośnika hybrydowego ZrF biorą udział oddziaływania elektrostatyczne, siły van der Waalsa oraz słabe wiązania wodorowe (Rys. 16).



**Rys. 16.** Prawdopodobna struktura układu biokatalitycznego ZrF-lakaza, na podstawie H12

Utylitarnym elementem badań były testy weryfikacyjne wytworzonego biokatalizatora w degradacji tartrazyny. Uzyskano ponad 95%-ową wydajność odbarwienia tartrazyny w ciągu 60 min. Niezależnie od warunków procesu (pH i temperatury), na które miało wpływ stężenie barwnika, uzyskano wysokie odbarwienie tartrazyny (poniżej 80%). Na podstawie wyników uzyskanych techniką spektrometrii mas zdefiniowano prawdopodobną ścieżkę degradacji tartrazyny (Rys. 17). W pierwszym etapie lakaza powoduje asymetryczne rozerwanie wiązania azowego, a w kolejnych krokach zachodzi deaminacja, dekraboksylacja oraz rozszczepienie pierścienia pirazolowego. **Ostatecznie można stwierdzić, że zaproponowany w niniejszych badaniach układ biokatalityczny ZrF-lakkaza jest obiecującym biokatalizatorem, a przedstawione wyniki badań stanowią platformę do dalszych prac dotyczących usuwania zanieczyszczeń z roztworów wodnych. Co ważniejsze opisana w pracy H12 metoda *in-situ* wykorzystania do funkcjonalizacji materiału nośnego stanowi komplementarne uzupełnienie prac eksperymentalnych zaprezentowanych w artykule H7, wskazując na liczne możliwości syntezy materiałów nośnych o istotnym powinowactwie do enzymu.**



**Rys. 17.** Prawdopodobna ścieżka i mechanizm degradacji tartrazyny z wykorzystaniem układu biokatalitycznego ZrF-lakkaza, na podstawie H12

#### 4.5 Podsumowanie

Zaprezentowany monotematyczny cykl artykułów naukowych traktuje o możliwości wykorzystania materiałów nieorganicznych, zarówno niemodyfikowanych jak i modyfikowanych, jako nośników w procesie immobilizacji wybranych enzymów z grupy hydrolaz oraz oksydoreduktaz. Zaproponowano nośniki o zdefiniowanych funkcjach, wytwarzając je wg własnych opracowanych technologii, które poddano modyfikacji powierzchniowej celem zwiększenia powinowactwa chemicznego. Istotnym aspektem osiągnięcia naukowego jest zastosowanie wytworzonych w ten sposób układów biokatalitycznych do usuwania wybranych barwników organicznych z roztworów wodnych. Kluczowy aspekt stanowią grupy funkcyjne wprowadzane podczas modyfikacji, które pozwalają na wytworzenie stabilnych wiązań między enzymem a nośnikiem. Istota podjętych badań skoncentrowana została w głównej mierze na potwierdzeniu skuteczności unieruchomienia enzymu, wykorzystując w tym celu zarówno standardowe metody oceny

efektywności immobilizacji (metoda Bradford, aktywność katalityczna, parametry kinetyczne), jak i szeroką gamę analiz fizykochemicznych (spektroskopowych, struktury porowatej, elementarnej, termogravimetrycznej, elektrokinetycznej). Dodatkowo dowiedziono, że zaproponowane układy biokatalityczne mogą być wykorzystane w procesie usuwania azowych i antrachinonowych barwników z roztworów wodnych.

Do głównych osiągnięć badawczych zaprezentowanych w monotematycznym cyklu publikacji należy zaliczyć:

- przeprowadzenie funkcjonalizacji materiałów tlenkowych zmodyfikowaną metodą zol-żel (*in situ*) lub w procesie *ex-situ* oraz zastosowanie ich w procesie immobilizacji enzymów z grupy hydrolaz oraz oksydoreduktaz;
- wykorzystanie fukoidyny w projektowaniu materiałów hybrydowych typu  $M_xO_y$ /fukoidyna oraz ich testy weryfikacyjne w immobilizacji enzymów;
- zdefiniowanie rodzaju i charakteru oddziaływań enzym–nośnik, jak i ocena wpływu tych oddziaływań na właściwości i aktywność immobilizowanego enzymu;
- innowacyjne podejście do wykorzystania techniki Langmuira-Blodgetta (LB) jako metody immobilizacji lipazy na nośniku tlenkowym  $ZrO_2$ ;
- ocenę możliwości wykorzystania immobilizowanej lakazy w procesach usuwania azowych i antrachinonowych barwników z modelowych roztworów wodnych;
- zdefiniowanie produktów degradacji barwników azowych i antrachinonowych oraz podjęcie próby scharakteryzowania możliwego szlaku rozkładu wspomnianych związków.

Reasumując, można stwierdzić, że funkcjonalizowane tlenki metali oraz układy tlenkowe stanowią ważną grupę materiałów stosowanych w procesie immobilizacji enzymów. Dobór odpowiedniego modyfikatora umożliwi utworzenie stabilnego układu biokatalitycznego o wysokiej aktywności enzymatycznej. Dodatkowo, zaproponowane funkcjonalizowane materiały mogą stanowić cenne źródło nośników dla innych grup enzymów, również pełniących ważną funkcję w zastosowaniach przemysłowych. Stąd też niezwykle istotne wydaje się dalsze prowadzenie procesu immobilizacji enzymów w celu wytworzenia systemów biokatalitycznych do różnorodnych zastosowań. Należy podkreślić, że opracowane systemy mogą stanowić alternatywę dla opisanych układów w literaturze przedmiotu.

Warto podkreślić, że przedstawiony monotematyczny cykl publikacji stanowi oryginalny wkład w rozwój technologii innowacyjnych układów biokatalitycznych projektowanych z

udziałem enzymów oraz materiałów nieorganicznych, które charakteryzują się optymalną aktywnością katalityczną i wielokierunkowym zastosowaniem. **Zrealizowane w ramach rozprawy habilitacyjnej badania podstawowe oraz testy użytkowe stanowią znaczące uzupełnienie istniejącego stanu wiedzy w zakresie projektowania nowatorskich układów biokatalitycznych o zdefiniowanych właściwościach i aktywności, przeznaczonych do zastosowania w szerokiej gamie procesów katalitycznych.**

#### 4.6 Literatura

1. Liu S., Bilal M., Rizwan K., Gul I., Rasheed T., Iqbal H.M.N., Smart chemistry of enzyme immobilization using various support matrices – a review. *Int. J. Biol. Macromol.* 190 (2021) 396–408.
2. de Souza, W.F.C., Almeida, F.L.C., de Melo, A.M. et al. Immobilization Techniques on Bioprocesses: Current Applications Regarding Enzymes, Microorganisms, and Essential Oils. *Food Bioprocess Technol.* 15 (2022) 1449–1476.
3. Tao Z., Dong B., Teng Z., Zhao Y., The classification of enzymes by deep learnin. *IEEE Access* 8 (2020) 89802–89811.
4. Zdarta J., Meyer A. S., Jesionowski T. Pinelo M., A general overview of support materials for enzyme immobilization: characteristics, properties, practical utility. *Catalysts* 8 (2018) 92–119.
5. Boudrant J., Woodley JM, Fernandez-Lafuente R., Parameters necessary to define an immobilized enzyme preparation. *Process Biochem.* 90 (2020) 66–80.
6. Jesionowski T., Zdarta J., Krajewska B., Enzyme immobilization by adsorption. *Adsorption* 20 (2014) 801–821.
7. Brena B.M., Batista-Viera F., Immobilization of enzymes. In: Guisan JM (ed) *Methods in biotechnology: immobilization of enzymes and cells*. Humana Press Inc., Totowa, New York, USA, 2006.
8. Zhang D., Hegab H.E., Lvov Y., Snow L.D. Palmer J., Immobilization of cellulase on a silica gel substrate modified using a 3-APTES self-assembled monolayer. *Springerplus* 5 (2016) 48–68.
9. Kołodziejczak-Radzimska A., Jesionowski T., *Zinc oxide as a support for enzymes: general information on zinc oxide and enzyme immobilization, Zinc oxide: production, properties and applications*. Nova Science Publisher, New York, USA, 2020.
10. Cao L., *Carrier-bound immobilized enzymes*. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2002.
11. Zdarta J., Meyer A.S, Jesionowski T., Pinelo M., Developments in support materials for immobilization of oxidoreductases: a comprehensive review. *Adv. Colloid Interface Sci.* 258 (2018) 1–20.
12. Yadav R., Baskaran T., Kaiprathu A., Ahmed M., Bhosale S.V., Joseph S., et al., Recent advances in the preparation and applications of organofunctionalized porous materials. *Chem. Asian J.* 15 (2020) 2588–621.
13. Zucca P., Sanjust E., Inorganic materials as supports for covalent enzyme immobilization: methods and mechanisms. *Molecules* 19 (2014) 14139–94.
14. Bilal M., Iqbal H.M.N., Naturally-derived biopolymers: potential platforms for enzyme immobilization. *Inter. J. Biol. Macromol.* 130 (2019) 462–482.
15. Basso A., Serban S., Industrial applications of immobilized enzymes - a review. *Mol. Catal.* 479 (2019) 1–17.
16. Mohamad N.R., Marzuki N.H.C, Buang N.A., Huyop F., Wahab R.A., An overview of technologies for immobilization of enzymes and surface analysis techniques for immobilized enzymes. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2 (2015) 1–11.



17. Morsi R., Bilal M., Iqbal H.M.N., Ashraf S.S., Laccases and peroxidases: The smart, greener and futuristic biocatalytic tools to mitigate recalcitrant emerging pollutants. *Sci. Total Environ.* 714 (2020) 136572.
18. Zdarta J., Jankowska K., Bachosz K., Degórska O., Kaźmierczak K., Nguyen L.N., et al., Enhanced wastewater treatment by immobilized enzymes. *Curr. Pollution Rep.* 7 (2021) 167–179.
19. Sai Preethi P., Hariharan N.M., Vickram S., Rameshpathy M., Manikandan S., Subbaiya R., et al., Advances in bioremediation of emerging contaminants from industrial wastewater by oxidoreductase enzymes. *Bioresour. Technol.* 359 (2022) 127444.
20. Zdarta J., Jesionowski T., Pinelo M., Meyer A.S., Iqbal H.M.N., Bilal M., et al., Free and immobilized biocatalysts for removing micropollutants from water and wastewater: Recent progress and challenges. *Bioresour. Technol.* 344 (2022) 126201.
21. Rodrigues R.C., Ortiz C., Berenguer-Murcia A., Torres R., Fernández-Lafuente R., *Modifying enzyme activity and selectivity by immobilization.* *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 6290–6307.
22. Voet D., Voet J.G., Pratt C.W., *Biochemistry*, John Wiley, New York 2002.
23. Sommer A., Christensen E., Schwenger S., Seul R., Haas D., Olbrich H., et al., The molecular basis of aminoacylase 1 deficiency. *Biochim. Biophys. Acta* 1812 (2011) 685–690.
24. Vaidya B.K., Kuwar S.S., Golegaonkar S.B., Nene S.N., Preparation of cross-linked enzyme aggregates of L-aminoacylase via co-aggregation with polyethyleneimine. *J. Mol. Catal. B: Enzymatic* 74 (2012) 184–191.
25. Jesionowski T., Tepper B., Krysztafkiewicz A., Novel silica fillers - preparation and physicochemical evaluation. *Compos. Interf.* 17 (2010) 437–452.
26. Bonacchi S., Genovese D., Juris R., Montalti M., Prodi L., Rampazzo E., Zaccheroni N., Luminescent silica nanoparticles: extending the frontiers of brightness. *Angew Chem. Int. Edit.* 50 (2011) 4056–4066.
27. Del Angel-Lopez D., Torres-Huerta A.M., Dominguez-Crespo M.A., Onofre-Bustamante E., Effect of ZrO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> dispersion on the thermal stability, mechanical properties and corrosion behavior of hybrid coatings deposited on carbon steel. *J. Alloys Compd.* 615 (2015) S423–S432.
28. Jesionowski T., Krysztafkiewicz A., Influence of silane coupling agents on surface properties of precipitated silicas. *Appl. Surf. Sci.* 172 (2001) 18–32.
29. Klapiszewski L., Królak M., Jesionowski T., Silica synthesis by the sol-gel method and its use in the preparation of multifunctional biocomposites. *Cent. Eur. J. Chem.* 12 (2014) 173–184.
30. Coutinho T.C., Rojas M.J., Tardioli P.W., Paris E.C., Farinas C.S., Nanoimmobilization of β-glucosidase onto hydroxyapatite. *Int. J. Biol. Macromol.* 119 (2018) 1042–1051.
31. Szewczuk-Karpisz K., Wiśniewska M. Lysozyme as a flocculant-inducing agent improving the silica removal from aqueous solutions - a turbidimetric study. *J. Environ. Manage.* 226 (2018) 187–193.
32. Du M., Guo B., Jia D., Newly emerging applications of halloysite nanotubes: a review. *Polym. Int.* 59 (2010) 574–582.
33. Massaro M., Lazzara G., Milioto S., Notoa R., Riela S., Covalently modified halloysite clay nanotubes: synthesis, properties, biological and medical applications. *J. Mater. Chem. B* 5 (2017) 2867–2882.
34. Abdul Rahman M.B., Tajudin S.M., Hussein M.Z., Abdul Rahman R.N.Z.R., Salleh A.B., Basri M., Application of natural kaolin as support for the immobilization of lipase from *Candida rugosa* as biocatalyst for effective esterification. *Appl. Clay Sci.* 29 (2005) 111–116.
35. Zaitsev S.Y., Savina A.A., Zaitsev I.S., Biochemical aspects of lipase immobilization at polysaccharides for biotechnology. *Adv. Colloid Interface Sci.* 272 (2019) 102016.

36. Abd-elhakeem, M.A., Elsayed, A.M., Alkhulaqi, T.A., New colorimetric method for lipases activity assay in microbial media. *American J. Anal. Chem.* 4 (2013) 442–444.
37. Baldessari A., Iglesias L.E., Lipases in green chemistry: acylation and alcoholysis on steroids and nucleosides. *Methods Mol. Biol.* 861 (2012) 457–469.
38. Guerrand D., Lipases industrial applications: focus on food and agroindustries, *OCL* 24 (2017) D403.
39. Sarmah N., Revathi D., Sheelu G., Yamuna Rani K., Sridhar S., Mehtab V., Sumana C., Recent advances on sources and industrial applications of lipases. *Biotechnol. Progress* 34 (2018) 5-28.
40. Bilal M., Nguyen T.A., Iqbal H.M., Multifunctional carbon nanotubes and their derived nano-constructs for enzyme immobilization – a paradigm shift in biocatalyst design. *Coord. Chem Rev.* 422 (2020) 213475.
41. Caseli L., Perinotto A.C., Viitala T., Zucolotto V., Oliveira O.N., Immobilization of alcohol dehydrogenase in phospholipid langmuir - Blodgett films to detect ethanol. *Langmuir* 25 (2009) 3057–3061.
42. Schmidt T.F., Caseli L., Viitala T., Oliveira O.N., Enhanced activity of horseradish peroxidase in Langmuir-Blodgett films of phospholipids. *Biochim. Biophys. Acta -Biomembr.* 1778 (2008) 2291–2297.
43. de Souza Furtado F.A, Caseli L., Enzyme activity preservation for galactose oxidase immobilized in stearic acid Langmuir-Blodgett films. *Thin Solid Films* 709 (2020) 138253.
44. Possarle L.H.R.R., Siqueira Junior J.R., Caseli L., Insertion of carbon nanotubes in Langmuir-Blodgett films of stearic acid and asparaginase enhancing the catalytic performance. *Colloids Surf. B.* 192 (2020) 111032.
45. Rodrigues R.T., Nordi C.F.S., Junior J.R.S., Caseli L., Effect of interfering agents for urease immobilized in Langmuir-Blodgett films of controlled molecular architecture. *Thin Solid Films* 704 (2020) 138043.
46. Zhou H., Ye Q., Xu J., Polyhedral oligomeric silsesquioxane-based hybrid materials and their applications. *Mater. Chem. Front.* 1 (2017) 212–230.
47. Wysokowski M., Materna K., Walter J., Petrenko I., Stelling A.L., Bazhenov V.V., et al., Solvothermal synthesis of hydrophobic chitin–polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS) nanocomposites. *Int. J. Biol. Macromol.* 78 (2015) 224–229.
48. Dopierala K., Wamke A., Dutkiewicz M., Maciejewski H., Prochaska K., Interfacial properties of fully condensed functional silsesquioxane: a Langmuir monolayer study. *J. Phys. Chem. C.* 118 (2014) 24548–24555.
49. Paczesny J., Binkiewicz I., Janczuk M., Wybrańska K., Richter Ł., Hołyst R., Langmuir and Langmuir-Blodgett films of unsymmetrical and fully condensed polyhedral oligomeric silsesquioxanes (POSS). *J. Phys. Chem. C.* 119 (2015) 27007–27017.
50. Stevens J.S., De Luca A.C., Pelendritis M., Terenghi G., Downes S., Schroeder S.L.M., Quantitative analysis of complex amino acids and RGD peptides by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). *Surf. Interface Anal.* 45 (2013) 1238–1246.
51. Bilal M., Iqbal, H.M.N., Naturally-derived biopolymers: Potential platforms for enzyme immobilization. *Int. J. Biol. Macromol.* 130 (2019) 462–482.
52. Ricardi N.C., de Menezes E.W., Benvenuti E.V., da Natividade Schöffner J., Hackenhaar C.R., Hertz P.F., et al., Highly stable novel silica/chitosan support for  $\beta$ -galactosidase immobilization for application in dairy technology. *Food Chem.* 246 (2018) 343–350.

53. Alnadari F., Xue Y., Zhou L., Hamed Y.S., Taha M., Foda M.F., Immobilization of  $\beta$ -glucosidase from *Thermatoga maritime* on chitin-functionalized magnetic nanoparticle via a novel thermostable chitin-binding domain. *Sci. Rep.* 10 (2020) 1663.
54. Tutor Ale M., Mikkelse J.D., Meyer A.S., Important determinants for fucoidan bioactivity: a critical review of structure function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Mar. Drugs* 9 (2011) 2106–2130.
55. Moorthy M.S., Subramanian B., Panchanathan M., Mondal S., Kim H., Lee K.D., Oh J., Fucoidan-coated core-shell magnetic mesoporous silica nanoparticles for chemotherapy and magnetic hyperthermia-based thermal therapy applications. *New J. Chem.* 41 (2017) 15334.
56. Jang B., Moorthy M.S., Manivasagan P., Xu L., Song K., Lee K.D., Kwak M., Oh J., Jin J.O., Fucoidan-coated CuS nanoparticles for chemo-and photothermal therapy against cancer. *Oncotarget* 9 (2018) 12649–12661.
57. Matusiak J., Maciołek U., Kosinska-Pezda M., Sternik D., Orzeł J., Grządka E., Textural and thermal properties of the novel fucoidan/nano-oxides hybrid materials with cosmetic, pharmaceutical and environmental potential. *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022) 805.
58. Asgher M., Wahab A., Bilal M., Iqbal H.M.N., Delignification of lignocellulose biomasses by alginate-chitosan immobilized laccase produced from *Trametes versicolor* IBL-04. *Waste Biomass Valor.* 9 (2018) 2071–2079.
59. Marquez-Alvarez C., Zilkova N., Perez-Pariente J.P., Cejka J., Catalytic applications of organized mesoporous aluminas. *J. Catal. Rev.* 50 (2008) 222–286.
60. Morris S.M., Fulvio P.F., Jaroniec M., Ordered mesoporous alumina-supported metal oxides. *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 15210–15216.
61. Jun L.Y., Yon L.S., Mubarak N.M., Bing C.H., Pan S., Danquah M.K., et al., *An overview of immobilized enzyme technologies for dye and phenolic removal from wastewater.* *J. Environ. Chem. Eng.* 7 (2019) 102961–5.
62. Rasheed T., Bilal M., Nabeel F., Adeel M., Iqbal H.M.N., Environmentally-related contaminants of high concern: potential sources and analytical modalities for detection, quantification, and treatment. *Environ Int.* 122 (2019) 52–66.
63. Deska M., Konczak B., Immobilized fungal laccase as “green catalyst” for the decolourization process – state of the art. *Process Biochem.* 84 (2019) 112–23.
64. Hasanpour M., Hatamib M., Photocatalytic performance of aerogels for organic dyes removal from wastewaters: Review study. *J. Mol. Liq.* 309 (2020) 113094.
65. Gupta V.K., Application of low-cost adsorbents for dye removal—a review. *J. Environ. Manag.* 90 (2009) 2313–2342.
66. Pereira L., Alves M., *Dyes—environmental impact and remediation. In environmental protection strategies or sustainable development;* Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2012.
67. Salata R., Siwinska-Stefanska K., Sokołowska J., Comparative degradation of C. I. Acid Green 25 and C. I. Basic Blue 9 by electrochemical, photoelectrochemical and photocatalytic oxidation methods. *Int. J. Electrochem. Sci.* 14 (2019) 792–814.
68. Hu S., Yuan D., Liu Y., Lining Z., Guo H., Niu Q., et al., The toxic effects of alizarin red S on catalase at the molecular level. *RSC Adv.* 9 (2019) 33368–33377.
69. Yang Z.S., Zhang D.P., Long H.Y., Zhao G.C., Voltammetric behavior of the Alizarin Red S interaction with DNA and damage to DNA. *Electroanalysis* 19 (2007) 2577–2582.

70. Si J., Peng F., Cui B., Purification, biochemical characterization and dye decolorization capacity of an alkali-resistant and metal-tolerant laccase from *Trametes pubescens*. *Bioresour. Technol.* 128 (2013) 49–57.
71. Davila-Jimenez M.M., Elizalde-Gonzalez M.P., Garcia-Diaz E., Marin-Cevada V., Zequineli-Perez J. Photodegradation of the anthraquinonic dye AcidGreen25 by TiO<sub>2</sub> immobilized on carbonized avocado kernels: Intermediates and toxicity. *Appl. Catal. B* 166–167 (2015) 241–250.
72. Mohanty S.S., Kumar A., Enhanced degradation of anthraquinone dyes by microbial monoculture and developed consortium through the production of specific enzymes. *Sci. Rep.* 11 (2021) 7678.
73. Bhattacharjee M., Assessment of cytotoxic potential of tartrazine (E102) on meristematic cells of vicia faba. *Pollut. Res.* 39 (2020) 1162-1167.
74. Kaya S.I., Cetinkaya A., Ozkan S.A., Latest advances on the nanomaterials-based electrochemical analysis of azo toxic dyes Sunset Yellow and Tartrazine in food samples. *Food Chem. Toxicol.* 156 (2021) 112524.

## **5 Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej**

W 2022 roku odbyłam 3 miesięczny staż w instytucie badawczym Applied Process Chemistry (APC Ltd.) w Dublinie w ramach projektu ORBIS (Open Research Biopharmaceutical Internships Support – Wsparcie staży biofarmaceutycznych w ramach otwartych badań naukowych) finansowanego ze środków Unii Europejskiej (Maria Skłodowska-Curie Actions of Horizon 2020 Framework Programme, H2020-MSCA-RISE-2017). Projekt stanowi konsorcjum trzynastu instytucji naukowych i przedsiębiorstw z ośmiu różnych krajów. APC opracowuje metody badawcze i związane z nimi materiały informacyjne, które pomagają firmom przyspieszyć opracowywanie i wprowadzanie na rynek ich leków. Ponadto APC pomaga firmom farmaceutycznym skrócić czas opracowywania leków, dostarczając przełomowe rozwiązania naukowe polegające na błyskawicznym tempie opracowywania procesów.

W trakcie stażu prowadziłam działania innowacyjno-badawcze, które koncentrowały się głównie na rozwoju nowych technologii analitycznych procesu (PAT), ze szczególnym uwzględnieniem ich wykorzystania w identyfikacji procesów technologicznych. Podczas stażu odbyłam również szereg szkoleń, które pozwoliły pogłębić moją wiedzę w zakresie Technologii Analizy Procesu (PAT, z ang. *Process Analytical Technology*). PAT są to technologie pozwalające analizować oraz sterować procesem produkcyjnym na podstawie wykonywanych w toku procesu pomiarów parametrów jakości, cech dotyczących wydajności i właściwości surowców oraz materiałów. Szkolenia te dotyczyły:

- 1) ogólnych szkoleń BHP dotyczących dokumentacji (dokumentacja danych, lab-book, oznaczanie próbek, iAchieve – platforma cyfrowa dotycząca notatek laboratoryjnych) oraz pracy w laboratorium;
- 2) teoretycznych oraz praktycznych informacji dotyczących:
  - użytkowania reaktorów Easymax oraz Optimax;
  - stosowania analizatorów wielkości cząstek (EasyViewer oraz ParticleTrack) *in-situ* i w czasie rzeczywistym;
  - obsługi programu Dynochem (narzędzia pozwalającego na zrozumienie procesu i szybkie opracowanie procesu technologicznego przy ograniczeniu liczby eksperymentów i ulepszonej współpracy).

Wiedza zdobyta podczas stażu została zaprezentowana na konferencji BioOrg (*abstrakt pt. „Zastosowanie technologii analizy procesu (PAT) w procesach biologicznych i chemicznych”*) oraz Nocy Naukowców (poster pt. *„Dogonić Leprechauna, czyli jak przyspieszyć syntezę leków”*). Podczas tego stażu podniosłam swoje umiejętności pracy zespołowej i współpracy oraz zostałam zapoznana z umiejętnościami i kompetencjami, które mogą znaleźć zastosowanie zarówno w sektorze akademickim, jak i współpracy przemysłowej. **Co istotne, doświadczenie zdobyte podczas stażu, w zakresie wykorzystania technologii PAT, przełoży się i pozwoli na lepsze zrozumienie i podejście do metod syntezy i modyfikacji materiałów nieorganicznych – potencjalnych nośników enzymów. Ma to kluczowe znaczenie w projektowaniu układów biokatalitycznych będących głównym przedmiotem badań opisanych w monotematycznym cyklu publikacji. Ten wartościowy staż przyczyni się do wykorzystania wiedzy zdobytej w trakcie jego realizacji w dalszej działalności naukowej oraz dydaktycznej (kierunek studiów: inżynieria farmaceutyczna).**

W okresie studiów doktoranckich odbyłam ponadto miesięczny **staż przemysłowy we Firmie Luvena SA, w ramach projektu „Nauka dla przemysłu – przemysł z nauką”** (projekt współfinansowany przez Unie Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego). Doświadczenie zdobyte podczas tego stażu pozwoliło mi pogłębić wiedzę w zakresie technologii wytwarzania nawozów sztucznych, którą mogę przekazywać studentom podczas wykładów, laboratoriów oraz ćwiczeń z Technologii Chemicznej Nieorganicznej, które prowadzę na kierunku Technologia Chemiczna (zarówno w języku angielskim jak i polskim).

### Współpraca z innymi ośrodkami akademickimi

1. W latach 2011–2014 prowadziłam współpracę z prof. dr hab. inż. Marianem Zaborskim oraz dr hab. inż. Magdaleną Maciejewską, prof. uczelni, Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny, Instytut Technologii Polimerów i Barwników. Współpraca dotyczyła syntezy tlenku cynku oraz jego zastosowania jako aktywatora mieszanek gumowych. Owocem współpracy są publikacje naukowe opublikowane w czasopismach indeksowanych przez JCR Thomson Reuters:

- *Kołodziejczak-Radzimska A., Siwińska-Stefańska K., Jesionowski T., Maciejewska M., Zaborski M., Modyfikowany tlenek cynku. Aktywator mieszanek gumowych. Przemysł Chemiczny 91 (2012) 784*
- *Kołodziejczak-Radzimska A., Jesionowski T., Maciejewska M., Zaborski M., Modified and unmodified zinc oxide as coagent in elastomer compounds. Polish Journal of Chemical Technology 16 (2014) 63-68*

2. W latach 2009–2012 prowadziłam aktywną współpracę z zespołem kierowanym przez dr hab. inż. Jadwigę Sójkę-Ledakowicz, profesor IW, z Łukasiewicz – Łódzki Instytut Technologiczny. Współpraca, zainicjowana została realizacją wspólnego projektu „ENVIROTEX”, dotyczyła syntezy oraz modyfikacji nieorganicznych materiałów tlenkowych o właściwościach barierowych (pochłaniających szkodliwe promieniowanie UV). Owocem współpracy są publikacje naukowe opublikowane w czasopismach indeksowanych przez JCR Thomson Reuters:

- *Sójka-Ledakowicz J., Olczyk J., Walawska A., Laurentowska A., Kołodziejczak-Radzimska A., Jesionowski T., Modyfikacja wyrobów włókienniczych przy wykorzystaniu tlenku cynku o cząstkach nanometrycznych oraz kompozytu tlenkowego ZnO-SiO<sub>2</sub>. Przemysł Chemiczny 89 (2010) 1264*
- *Jesionowski T., Kołodziejczak-Radzimska A., Ciesielczyk F., Sójka-Ledakowicz J., Olczyk J., Sielski J., Synthesis of zinc oxide in emulsion system and deposition on PES nonwoven fabrics. Fibres Textile in Eastern Europe 19 (2011) 70*
- *Siwińska-Stefańska K., Ciesielczyk F., Kołodziejczak-Radzimska A., Paukszta D., Sójka-Ledakowicz J., Jesionowski T., TiO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> inorganic barrier composites – from synthesis to application. Pigment & Resin Technology 41 (2012) 139*

3. W okresie 2021–obecnie prowadzę współpracę z dr hab. inż. Maciejem Bielejewskim; Środowiskowe Laboratorium Badań Radiospektroskopowych, Instytut Fizyki Molekularnej

Polskiej Akademii Nauk. Współpraca dotyczy oceny skuteczności modyfikacji materiałów nieorganicznych oraz immobilizacji enzymów na podstawie analizy NMR. Owocem współpracy są publikacje naukowe opublikowane w renomowanych czasopismach indeksowanych przez JCR Thomson Reuters:

- *Kołodziejczak-Radzimska A., Bielejewski M., Biadasz A., Jesionowski T., Evaluation of  $M_xO_y$ /fucoidan hybrid system and their application in lipase immobilization process. Scientific Reports 12 (2022) 7218*
  - *Kołodziejczak-Radzimska A., Bielejewski M., Zembruska J., Ciesielczyk F., Jesionowski T., Nghiem L.D., Exploring the functionality of an active ZrF-laccase biocatalyst towards tartrazine decolorization. Environmental Technology & Innovation. 31 (2023) 103201*
4. W roku 2022 rozpoczęłam współpracę z zespołem kierowanym przez Profesora Dariusza Bielińskiego, Politechnika Łódzka, Wydział Chemiczny, Instytut Technologii Polimerów i Barwników. Współpraca dotyczy modyfikacji krzemionki hydrolizatami białkowymi oraz określenia efektywności tego rodzaju modyfikacji w odniesieniu do dyspersji i oddziaływania krzemionki w matrycy kauczuku.
1. Od 2021 roku współpracuję z Profesorem Long N. Nghiem, Environmental & Water Engineering, School of Civil and Environmental Engineering, University of Technology Sydney. Głównym obszarem współpracy jest aspekt środowiskowy związany z usuwaniem szerokiej gamy zanieczyszczeń stosując projektowane przeze mnie biokatalizatory. Biorąc pod uwagę fakt, że Profesor Long N. Nghiem jest niekwestionowanym autorytetem w tej dziedzinie jego wsparcie merytoryczne i doświadczenie naukowe jest nieocenione. Owocem współpracy są publikacje naukowe opublikowane w renomowanych czasopismach indeksowanych przez JCR Thomson Reuters:
- *Kołodziejczak-Radzimska A., Nghiem L.D., Jesionowski T., Functionalized materials as a versatile platform for enzyme immobilization in wastewater treatment. Current Pollution Reports 7 (2021) 263–276*
  - *Kołodziejczak-Radzimska A., Bielejewski M., Zembruska J., Ciesielczyk F., Jesionowski T., Nghiem L.D., Exploring the functionality of an active ZrF-laccase biocatalyst towards tartrazine decolorization, Environmental Technology & Innovation 31 (2023) 103201–103213*

## 6 Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

### Działalność dydaktyczna – prowadzone zajęcia od 2011 r.

Rodzaj zajęć dydaktycznych	Przedmiot	Kierunek Studiów	Studia
Wykład	Technologia nieorganiczna	Technologia Chemiczna	Niestacjonarne I stopnia
		Inżynieria Farmaceutyczna	Stacjonarne I stopnia
	Wybrane zagadnienia współczesnej wiedzy chemicznej	Technologia Chemiczna	Niestacjonarne II stopnia
	Materiały kompozytowe	Inżynieria Chemiczna i Procesowa, specjalność: Inżynieria Bioprocusów i Biomateriałów	Stacjonarne II stopnia
Ćwiczenia	Technologia nieorganiczna	Technologia Chemiczna	Stacjonarne i Niestacjonarne I stopnia
	Inorganic Technology	Chemical Technology	Stacjonarne I stopnia
Projekt	Technologia nieorganiczna	Technologia Chemiczna	Stacjonarne I stopnia
Laboratorium	Technologia nieorganiczna	Technologia Chemiczna	Stacjonarne i niestacjonarne I stopnia
		Inżynieria Chemiczna i Procesowa	Stacjonarne I stopnia
	Technologia chemiczna	Inżynieria Chemiczna i procesowa	Stacjonarne I stopnia
	Wybrane działy technologii	Inżynieria Chemiczna i procesowa	Stacjonarne I stopnia
	Hybrid Materials and Fillers	Technologia Chemiczna, specjalność: Composites and Nanomaterials	Stacjonarne II stopnia

### Działalność dydaktyczna – promotorstwo prac dyplomowych od 2011 r.

<b>Prace dyplomowe inżynierskie</b> studia stacjonarne I stopnia, kierunek studiów: Technologia Chemiczna, Inżynieria Chemiczna i Procesowa, Inżynieria Farmaceutyczna	<b>Prace dyplomowe inżynierskie</b> studia niestacjonarne I stopnia, kierunek studiów: Technologia Chemiczna	<b>Prace dyplomowe magisterskie</b> studia stacjonarne II stopnia, kierunek studiów: Technologia Chemiczna, specjalność: Technologia Chemiczna Organiczna; Inżynieria Chemiczna i Procesowa, specjalność:
--	--	--



		Inżynieria Chemiczna i Procesowa
25	2	11

W ramach działalności dydaktycznej realizowanej w Zakładzie Technologii Chemicznej, w Instytucie Technologii i Inżynierii Chemicznej Wydziału Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej od 2011 roku prowadziłam zajęcia ze studentami, na różnych kierunkach studiów, w ramach I i II stopnia kształcenia na studiach stacjonarnych i niestacjonarnych, co szczegółowo zaprezentowano w powyższej tabeli. Od 2011 r. byłam/jestem promotorem 27 prac dyplomowych inżynierskich oraz 11 prac dyplomowych magisterskich. Byłam również recenzentem licznych prac inżynierskich oraz magisterskich. Warte podkreślenia jest również to, że w 2018 roku zostałam zaproszona przez Studenckie Koło Naukowe Technologów Chemicznych ChemiTech, Koło Naukowe Studentów Biotechnologii Bio-Top oraz Koło Naukowe Kiwon działające na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej do wygłoszenia wykładu w roli prelegenta na Konferencji Technologii Chemicznej i Biotechnologii KonTech. Należy również dodać, że w ramach działalności dydaktycznej w 2020 r. brałam też udział w przygotowaniu zajęć dydaktycznych z Technologii Chemicznej dla anglojęzycznego kierunku studiów Chemical Technology realizowanego na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, w ramach programu POWER, które także prowadzę. Dodatkowo, od 2022 r. prowadzę zajęcia specjalistyczne w laboratorium dla uczniów szkół technicznych ponadpodstawowych, w ramach projektu „Czas zawodowców BIS-zawodowa Wielkopolska”.

#### **Działalność dydaktyczna – opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego**

<b>Imię i nazwisko doktoranta</b>	Jakub Zdarta
<b>Okres sprawowania opieki</b>	2012-2017
<b>Tytuł rozprawy doktorskiej</b>	Immobilizacja enzymów na wybranych nośnikach organicznych i nieorganicznych
<b>Data obrony</b>	11.04.2017 r.
<b>Jednostka organizacyjna</b>	Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej
<b>Charakter opieki</b>	<b>Promotor pomocniczy</b>

#### **Działalność organizacyjna i promocyjna**

<b>Lata</b>	<b>Rodzaj aktywności</b>
2017 - obecnie	Organizacja warsztatów „Poznaj chemiczne technologie przyszłości”

	podczas Nocy Naukowców organizowanej na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej
2022	Udział i promocja Politechniki Poznańskiej na Targach Edukacyjnych
2017 - 2019	Organizacja warsztatów podczas dni otwartych organizowanych na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej w ramach ogólnouczelnianych akcji „Drzwi otwarte” oraz „Dziewczyny na Politechnikę”

## 7 Pozostałe informacje dotyczące kariery naukowej

W czerwcu 2007 r. ukończyłam studia na Politechnice Poznańskiej uzyskując tytuł magistra inżyniera technologii chemicznej broniąc pracę magisterską pt. „Badania adsorpcji preparatów farmaceutycznych na powierzchni bieli tytanowej”, której promotorem był prof. dr hab. Andrzej Krysztafkiewicz. Kontynuację zainicjowanych badań stanowiły rozpoczęte w 2007 r. studia doktoranckie na Wydziale Technologii Chemicznej pod opieką prof. dr. hab. inż. Teofila Jesionowskiego, których tematyką była synteza, modyfikacja i zastosowanie aktywnego tlenku cynku w mieszkankach gumowych. Studia te zakończyły się uzyskaniem stopnia naukowego doktora nauk chemicznych w zakresie technologii chemicznej w grudniu 2011 r.

Od października 2011 roku jestem zatrudniona na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej, a moje prace skoncentrowane są na zastosowaniu materiałów tlenkowych w procesie immobilizacji enzymów różnych klas oraz dalsze potencjalne zastosowanie otrzymanych układów biokatalitycznych. Są to badania podstawowe w zakresie projektowania i charakterystyki fizykochemicznej wytwarzanych materiałów, a ich głównym elementem jest próba zdefiniowania stabilności i mechanizmu związania białka z nośnikiem. Utylitarnym aspektem tych prac są testy weryfikacyjne/aplikacyjne wytworzonych układów biokatalitycznych w szerokiej gamie procesów katalitycznych, ukierunkowane na określenie aktywności i mechanizmu działania immobilizowanych enzymów w środowisku reakcji. W związku z tym prace badawcze realizuję we współpracy z krajowymi oraz międzynarodowymi ośrodkami naukowymi takimi jak: Instytut Fizyki Molekularnej Polskiej Akademii Nauk (dr hab. Michał Bielejewski) oraz Wydziałem Technologii i Inżynierii Chemicznej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie (dr hab. inż. Dariusz

Moszyński) oraz z Environmental & Water Engineering, School of Civil and Environmental Engineering, University of Technology Sydney (Profesorem Long N. Nghiem). Oprócz tego prowadzę również współpracę z innymi instytutami oraz grupami badawczymi z macierzystej uczelni: grupa badawcza prof. dr. hab. Krystyny Prochaska, Instytut Chemii i Elektrochemii Stosowanej (dr hab. inż. Joanna Zembruska). Rozpoczęłam również współpracę z Instytutem Technologii Polimerów i Barwników na Politechnice Łódzkiej (prof. dr hab. inż. Dariusz Bieliński).

Obecnie prowadzę badania nad immobilizacją enzymów z grupy proteaz oraz ich potencjalnego zastosowania np. w przemyśle spożywczym. **Za swoją pracę naukową zostałam trzykrotnie uhonorowana nagrodami zespołowymi JM Rektora Politechniki Poznańskiej w latach 2013, 2018 i 2019.** W 2010 roku przyznano mi Stypendium w ramach projektu: „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia Wielkopolski”. **Ważnym podkreślenia jest fakt, że w 2022 roku znalazłam się na liście najbardziej wpływowych naukowców świata, w zestawieniu za rok 2021, przygotowanym przez Uniwersytet Stanforda we współpracy z wydawnictwem Elsevier i firmą SciTech Strategies, które publikowane jest na łamach magazynu „PLOS Biology” (Zał. 7).**

Poza pracami nad nowatorskimi systemami biokatalitycznymi do różnorodnych zastosowań, jednym z moich zainteresowań naukowych jest wykorzystanie termograwimetri oraz analizy elementarnej w ocenie efektywności realizowanych procesów adsorpcji, fotokatalizy, czy syntezy hybrydowych i kompozytowych materiałów pochodzenia nieorganicznego oraz organicznego. Efekty tej pracy przekładają się na publikacje naukowe, które nie wchodzą bezpośrednio w skład monotematycznego cyklu prac, jednak stanowią istotne uzupełnienie mojej działalności naukowej.

W trakcie kariery naukowej **kierowałam działaniem naukowym Miniatura finansowanym ze środków NCN pt. „Układy hybrydowe typu  $M_xO_y$ /fukoidyna jako aktywne nośniki enzymów: projektowanie, właściwości fizykochemiczne oraz testy katalityczne”, którego efektem są 3 publikacje (H7, H9 i H12).** Ponadto pełniłam także funkcję kierownika w projekcie wewnętrznym Politechniki Poznańskiej dla młodej kadry naukowej finansowanych ze środków statutowych (DS-MK). Byłam również wykonawcą w 3 projektach finansowanych ze środków NCN oraz MEiN, a także brałam czynny udział w 2 projektach europejskich finansowanych z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego. Obecnie jestem członkiem

międzywydziałowego zespołu realizującego grant rektorski Politechniki Poznańskiej pt. „*Nowa generacja materiałów spiekanych o osnowie metalicznej z udziałem wybranych fluorków, tlenków metali i nanorurek węglowych – właściwości, analiza mechanizmów oddziaływania synergicznego*” w ramach którego wykonuję charakterystykę fizykochemiczną wytworzonych materiałów. Szczegółowe informacje na temat wszystkich projektów i grantów zostały zawarte w Zał. 3. Dodatkowo, w latach 2014-2023 zrecenzowałam 41 prac w czasopismach naukowych, m.in. Chemical Reviews, ACS Sustainable Chemistry Engineering, Journal of Materials Science & Technology, Nanotechnology Reviews, Sustainable Environment Research i innych.

Mój dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora obejmuje 34 publikacje, w czasopismach znajdujących się aktualnie na liście filadelfijskiej, których łączny IF z roku opublikowania wynosi 97,607, a suma punktów MEiN dla tych publikacji wynosi 3020. Ponadto jestem współtwórcą jednego patentu przyznanego przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej. Według bazy Web of Science liczba cytowań wszystkich artykułów z moim udziałem to 1875 (bez autocytowań 1867) (dane z dnia 02.06.2023 r.), a indeks Hirscha wynosi 11. Wyniki prac zrealizowanych po uzyskaniu stopniu doktora prezentowałam na licznych konferencjach krajowych i międzynarodowych, czego efektem są liczne publikacje w materiałach konferencyjnych, wystąpienia ustne, jak i prezentacje posterów.