



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 01196**

(22) Data de depozit: **26.11.2010**

(41) Data publicării cererii:
29.06.2012 BOPI nr. **6/2012**

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA POLITEHNICĂ DIN
TIMIȘOARA, STR. PIAȚA VICTORIEI NR.2,
TIMIȘOARA, TM, RO

(72) Inventatori:
• PETER FRANCISC, CALEA MARTIRILOR
NR. 33A, AP. 8, TIMIȘOARA, TM, RO;

• PAUL CRISTINA, STR. MARTIR ANDREI
ISTVAN NR.14, BL. 62, SC. A, AP. 11,
TIMIȘOARA, TM, RO;
• URȘOIU ANCA, STR. 1 DECEMBRIE
NR. 90/C, AP. 17, TIMIȘOARA, TM, RO

(54) **BIOCATALIZATOR OBTINUT PRIN METODA DE DUBLĂ
IMOBILIZARE CU UTILIZAREA UNUI LICHID IONIC CA
ADITIV**

(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la un procedeu de obținere a unui biocatalizator prin imobilizarea în condiții specifice a unor enzime din clasa hidrolazelor, încapsulate într-o matrice rezultată combinând adsorbția pe un suport poros cu procedeul sol-gel. Conform invenției, în faza inițială enzima este protejată cu ajutorul unui lichid ionic, ce are și rol de aditiv pentru formarea unei matrice adecvate pentru obținerea unei activități remanente ridicate după imobilizare. Structura sol-gel rezultă prin hidroliza în soluție apoasă a unor precursori

alchil- sau aril-trialcoxisilani în amestec cu un tetra-alcoxisilan în prezență de acid clorhidric, urmată de amestecarea cu suportul adsorbant după începerea gelifierii. Lichidul ionic este parțial încorporat în matricea solidă rezultată după maturare la temperatura camerei și uscare în vid. Biocatalizatorul obținut permite acilarea enantioselectivă a unor alcooli secundari alifatici cu exces enantiomeric mai mare de 95%.

Revendicări: 2



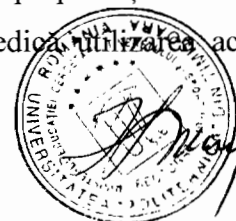
BIOCATALIZATOR OBTINUT PRIN METODA DE DUBLĂ IMOBILIZARE CU UTILIZAREA UNUI LICHID IONIC CA ADITIV

DESCRIEREA BREVETULUI

Prezenta invenție se referă la un procedeu pentru imobilizarea unei enzime din clasa hidrolazelor prin procedeul de încapsulare în sol-gel combinat cu adsorbție, în condițiile utilizării unui lichid ionic ca agent de protecție a enzimei și aditiv de imobilizare folosind un amestec binar sau ternar de precursori silanici de tip alcoxid, cât și la aplicațiile biocatalizatorilor sintetizați pentru obținere de esteri optic activi.

O serie de enzime au fost deja sau sunt pe cale de a fi utilizate industrial, fie pentru a înlocui catalizatorii clasici în condiții energetice mai favorabile sau de eficiență mai ridicată, fie pentru a obține noi produși, în special de sinteză fină. Lipazele prezintă o serie de avantaje în această direcție, datorită faptului că manifestă specificitate de substrat redusă, concomitent cu regio- și enantioselectivitate ridicată. Ele își mențin activitatea și în medii organice, fiind posibilă astfel extinderea domeniului lor de utilizare și pentru reacții de sinteză, mai ales de esterificare și transesterificare a unor substraturi hidrofobe. Principalul inconvenient legat de utilizarea industrială a biocatalizatorilor îl reprezintă stabilitatea operațională redusă, reflectată prin imposibilitatea reutilizării enzimei sau prin pierderea rapidă a activității la reutilizări repetate. Cea mai importantă soluție pentru a crește această stabilitate și a permite recuperarea ușoară a enzimei din mediul de reacție în vederea reutilizării sale s-a dovedit a fi imobilizarea, prin legare de un suport insolubil sau prin închidere (entrapare) într-o matrice poroasă. Un mare număr de publicații se referă la imobilizarea enzimelor și utilizarea enzimelor imobilizate (C. Mateo *et al.*, *Enzym. Microb. Technol.* 2007, 40, 1451-1463; L. Cao, *Carrier-bound Immobilized Enzymes. Principles, Applications, and Design*, Wiley-VCH, Weinheim, 2005).

Cea mai importantă problemă care poate apare în urma imobilizării este pierderea totală sau parțială a activității enzimatică. În cadrul metodelor de imobilizare, cele bazate pe închiderea enzimei, în general în interiorul structurii unui gel, prezintă avantajul că imobilizarea nu induce modificări la nivelul structurii terțiare a enzimei și activitatea enzimei nu ar trebui să fie afectată. Cu toate acestea, structura poroasă a matricii în care este imobilizată enzima poate genera limitări de natură difuzională în ce privește accesul substratului la centrul activ al enzimei. Un alt dezavantaj îl constituie proprietățile mecanice în general necorespunzătoare ale structurilor de tip gel, care împiedică utilizarea acestor



biocatalizatori în reactoare cu agitare. Dezvoltarea tehnicilor de imobilizare prin metoda sol-gel poate rezolva aceste neajunsuri prin posibilitatea obținerii unor matrici de silice de o anumită porozitate și cu rezistența mecanică a structurilor de tip sticlă poroasă. Există o foarte bogată literatură de specialitate care abordează imobilizarea biomoleculilor în structuri de tip sol-gel, bazată pe utilizarea unor precursori alcoxicici de tipul tetraalcoxisilanilor, în special tetrametoxisilan și tetraetoxisilan (I. Gill, *Chem. Mater.*, 2001, 13, 3404-3421; W. Jin, J.D. Brennan, *Anal. Chim. Acta*, 2002, 461, 1-36; R. Ciriminna, M. Pagliaro, *Org. Proc. Res. Dev.*, 2006, 10, 320-326). Brevetul SUA nr. 5,200,334/1993 descrie obținerea unor enzime și proteine încapsulate într-o sticlă poroasă transparentă obținută prin procesul sol-gel, cu retenția activității enzimatică. Această metodă utilizează ca precursori alcoxizi metalici și ultrasonare pentru omogenizare, însă nu face referire la imobilizare de lipaze sau alte enzime din clasa hidrolazelor.

Imobilizarea lipazelor prin metoda sol-gel prezintă particularitatea că utilizarea unor precursori cu grupări funcționale organice hidrofobe nepolarizabile determină creșterea însemnată a activității specifice (M.T. Reetz, A. Zonta, J. Simpelkamp, *Biotechnol. Bioeng.* 1996, 49, 527-534). Brevetul SUA nr. 6,080,402/2000 descrie imobilizarea lipazelor prin entrapare în sol-gel folosind o gamă variată de catalizatori și diferite tipuri de aditivi, care pot fi proteine, compuși polihidroxilici, polimeri organici insolubili și/sau compuși anorganici insolubili. Acest brevet nu face însă referire la utilizarea lichidelor ionice ca agenți de protecție a activității lipazei și nici ca aditivi pentru direcționarea structurală a matricii de sol-gel. Brevetul respectiv face referire la incorporarea ca aditivi a unor compuși insolubili de tipul materialelor oxidice bazate pe SiO_2 , însă nu menționează o dublă imobilizare ci doar o îmbunătățire a caracteristicilor preparatului obținut prin imobilizare sol-gel. Adăugarea acestor aditivi se realizează strict înainte începerii gelifierii. Enzimele imobilizate prin acest procedeu au fost investigate în reacții de esterificare și transesterificare în medii de reacție organice, dar nu se face referire la enantioselectivitatea lor și eventuala modificare a enantioselectivității în urma imobilizării.

Combinând entraparea în sol-gel cu depunerea pe un suport solid se obține o tehnică de imobilizare care permite utilizarea avantajelor ambelor metode. Suprafața specifică mare a suportului determină o repartiție uniformă, fără agregare, a enzimei entrapate în sol-gel, iar aceasta conferă stabilitate ridicată și proprietăți îmbunătățite preparatului enzimatic imobilizat obținut în final. Aceste caracteristici pot contribui și la stabilizarea enzimei împotriva inactivării termice datorate depliei proteinei (S. Y. Furukawa, K. Kawakami, *J. Ferment. Bioeng.*, 1998, 85, 240-242).



Lichidele ionice reprezintă compuși cu potențial de a înlocui solvenții organici volatili ca medii de reacție în procese biocatalitice. Există însă și posibilitatea de a utiliza lichidele ionice ca aditivi în procesul de imobilizare a lipazelor prin metoda sol-gel (S. H. Lee, T. T. N. Doan, S. H. Ha, Y. M. Koo, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2007, 45, 57-61). Aceasta se datorează stabilității lor termice ridicate, a nevolatilității și a posibilității de modelare a proprietăților prin simpla schimbare a anionului sau a cationului (H. Zhao, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 2010, 85, 891-907).

Procedul, conform invenției, realizează un preparat de hidrolază imobilizată îmbunătățind procedeele existente prin utilizarea unui lichid ionic, având rol dublu: protejarea enzimei de inactivare în timpul procesului de imobilizare și formarea unei rețele de sol-gel care să permită menținerea sau chiar creșterea activității catalitice totale a biocatalizatorului obținut. Practic, imobilizarea enzimei se face prin mecanism dublu: încapsulare în sol-gel și adsorbție, pelicula de sol-gel care se formează și care include enzima fiind distribuită pe toată suprafața materialului adsorbant, ceea ce evită eventuala agregare a moleculelor de enzimă și permite un transfer de masă mai bun în timpul reacției. Rolul lichidului ionic nu se termină la sfârșitul imobilizării, o parte din acesta rămânând încorporat în matricea solidă obținută și contribuind la crearea unui micromediu favorabil pentru acțiunea enzimei. Comparativ cu procedeele existente, procedeul de față se caracterizează și prin faptul că biocatalizatorul obținut are enantioselectivitate ridicată, permițând obținerea de esteri optic activi ai unor alcooli secundari alifatici cu exces enantiomeric de peste 95%.

Lichidul ionic utilizat trebuie să conțină un cation de tip 1-alchil-3-metil-imidazoliu, gruparea alchil fiind liniară cu un număr de atomi de carbon de la 2 la 16 și un anion de tip organic sau anorganic, de exemplu acetat, trifloroacetat, hexaflorofosfat, tetrafloroborat, sau sulfat. Lichidul ionic se utilizează într-un raport molar de cel puțin 0,1 și cel mult 0,5 față de cantitatea totală de silani precursori și un raport cuprins între 0,05-0,25 moli/g proteină enzimatică. El se adaugă în mod obligatoriu la soluția de enzimă și 2-propanol înainte de adăugarea silanilor și se menține sub agitare cel puțin 30 de minute, dar nu mai mult de 2 ore.

Lipaza imobilizată prin acest procedeu este de origine microbială sau din pancreas de porc, în mod tipic obținută din culturi de *Candida antarctica*. Enzima este în mod obligatoriu purificată prin dizolvare în soluție tampon de concentrație 0,1 M cu valoarea de pH între 6-8, prin agitare timp de 30-60 de minute și centrifugare la cel puțin 3.000g. Concentrația de proteină enzimatică introdusă la imobilizare este între 1-10 mg proteină/mmol silani totali, de preferință între 2-6 mg proteină/mmol silani totali. Înainte de amestecarea cu lichidul ionic, la



soluția de enzimă se adaugă 2-propanol, într-un raport molar de cel puțin 0,7 și cel mult 1,2 raportat la total silani.

Silanii precursori utilizați reprezintă un amestec în proporții variabile a unui tetraalcoxisilan cu (a) unul sau doi alchil-trialcoxisilani; (b) fenil-trialcoxisilan; (c) un alchil-trialcoxisilan și fenil-trialcoxisilan, conținutul molar al tetraalcoxisilanului în acest amestec fiind în toate cazurile (a-c) de cel puțin 10% și nu mai mult de 80%. Gruparea alcoxi din tetraalcoxisilani și trialcoxisilani poate fi metoxi sau etoxi, iar gruparea alchil din alchilsilani poate fi orice grupare alchil cu catenă liniară având între 2 și 16 atomi de carbon. Silanii precursori sunt hidrolizați parțial pentru a forma un prepolimer, prin adăugare de acid clorhidric, în raport molar cuprins între 0,01 și 0,05 față de silanii totali utilizați. Pentru etapa de gelifiere, se realizează schimbarea pH-ului din acid în bazic, prin adăugare de soluție de amoniac 25%, până la obținerea unui pH în intervalul 8-8,5. În mod tipic, gelifierea începe după un timp de 1-10 minute de la modificarea pH-ului.

Apa totală prezentă în sistem, provenită din apa utilizată la dizolvarea enzimei și apa introdusă la obținerea prepolimerului trebuie să fie într-un raport molar cuprins între 10 și 50 față de silanii totali.

Suportul adsorbant utilizat poate fi natură organică sau anorganică, de preferință un suport pe care se poate realiza imobilizarea lipazei prin adsorbție simplă, de exemplu Celite[®], carbonat de calciu, celuloză sau o rășină organică de tip stiren-divinilbenzen funcționalizată. Suportul se adaugă în raport de cel puțin 0,15 g/mmol silani totali și în mod obligatoriu după începerea gelifierii, în mod tipic după 10-30 secunde de la începerea gelifierii. Amestecarea componentelor se face mecanic, timp de 30 de secunde, după care se lasă la temperatura de 25°C pentru perfectarea și maturarea gelului.

Prelucrarea preparatului brut se realizează prin spălare, în această ordine, cu 2-propanol, apă distilată, din nou 2-propanol și în sfârșit hexan. După fiecare spălare se face filtrare. Volumul din fiecare solvent de spălare utilizat este de cel puțin 3 ori mai mare decât volumul total de apă care a fost introdus în sistem. După ultima spălare, preparatul se usucă timp de cel puțin 24 de ore la temperatura camerei și presiune atmosferică și apoi timp de cel puțin 8 ore în vid, la temperatura camerei.

Lipaza imobilizată prin acest procedeu manifestă o activitate catalitică ridicată, randamentul de regăsire a activității enzimaticice totale (exprimat prin raportul dintre unitățile totale regăsite după imobilizare și unitățile enzimaticice totale introduse la imobilizare cu lipaza nativă) fiind în mod tipic mai mare de 100%. Activitatea este calculată pentru reacția de acilare a unui alcool alifatic secundar, folosind un ester vinilic ca agent de acilare, în mod



tipic acetat de vinil. De asemenea, stabilitatea operațională a lipazei imobilizate în mai multe cicluri de refolosire este foarte ridicată, ea menținându-se la peste 80% din valoarea inițială după mai mult de 40 de asemenea cicluri. Enantioselectivitatea preparatului este și ea foarte bună, excesul enantiomeric obținut pentru reacția de acilare a alcoolilor secundari alifatici având între 6-9 atomi de carbon fiind de peste 95%.

Exemple

Exemplul 1. Imobilizarea lipazei din *Candida antarctica B* prin metoda combinată adsorbție/sol-gel, cu sistem binar de silani precursori

Într-o fiolă de sticlă de 8 ml s-a preparat un SOL prepolimer prin amestecarea timp de o oră pe un agitator magnetic a câte 1,5 mmoli tetrametoxisilan și octiltrimetoxisilan, 0,2 ml apă distilată și 30 μl acid clorhidric 0,04M. S-a preparat o soluție de lipază prin introducerea a 120 mg lipază din *Candida antarctica B* (C-Lecta, conținut de proteină 6,7 mg/ml) în 1 ml soluție tampon TRIS/HCl de pH 8,0 și agitare timp de 30 minute. Soluția rezultată a fost centrifugată la 5000g și 15°C, iar supernatantul a fost folosit pentru imobilizare. Într-o fiolă de sticlă de 4 ml s-au introdus 1 ml din acest supernatant, 200 μl tetraflorborat de 1-octil-3-metil-imidazoliu și 200 μl alcool izopropilic și s-a menținut 30 minute sub agitare magnetică. Amestecul rezultat s-a adăugat peste SOL-ul apos rezultat prin hidroliza parțială a silanilor precursori, apoi s-a adus pH-ul la 8,5 prin adăugare de soluție de amoniac 25%. Agitarea s-a menținut până când amestecul a început să gelificeze, iar la 30 de secunde de la începerea gelifierii s-au adăugat 0,5 g suport solid (Celite[®] 545, Celite[®] 521, Celite[®] C22, CaCO₃, Purolite[®] MN 200 sau Celuloză AVICEL[®]). S-a amestecat mecanic până la obținerea unui produs de consistență solidă, care a fost păstrat în fiola închisă, timp de 24 de ore la temperatura camerei, pentru definitivarea polimerizării. Gelul întărit a fost spălat cu 7 ml alcool izopropilic, 5 ml apă distilată, 5 ml alcool izopropilic și 5 ml n-hexan, după care s-a filtrat pe frită. Produsul obținut s-a uscat la temperatură și presiune ambiantă timp de 24 de ore și apoi în vid la temperatura camerei timp de alte 24 de ore.

Tipul suportului	Proteină imobilizată ^[a] (mg)	Preparat obținut (mg)	Randament imobilizare ^[b] (%)	Încărcare cu enzimă ^[c] (%)	Randament regăsire ^[d] (%)
Celite [®] 545	2,93	776,8	44	0,38	382
Celite [®] 521	4,48	808,5	67	0,55	330



Celite® C22	3,15	826,4	47	0,38	368
CaCO ₃	6,56	797,2	98	0,82	355
Purolite® MN200	2,93	592,6	44	0,49	273
Celuloză AVICEL®	5,91	806,4	88	0,73	164

^[a] (mg proteină inițială) – (mg proteină din filtratul de la spălare)

^[b] (mg proteină imobilizată)x100/(mg proteină inițială)

^[c] (mg proteină imobilizată)x100/(mg preparat enzimatic obținut)

^[d] (activitatea totală a preparatului imobilizat)x100/(activitatea totală a lipazei introduse la imobilizare) pentru acilarea 2-octanolului, în condițiile Exemplului 3

Exemplul 2. Imobilizarea lipazei din *Candida antarctica B* prin metoda combinată adsorbție/sol-gel, cu sistem ternar de silani precursori

S-a lucrat în condițiile Exemplului 1, cu deosebirea că s-au folosit trei silani precursori în următorul raport: 1,6 mmoli feniltrimetoxisilan, 0,4 mmoli metiltrimetoxisilan și 1 mmol tetrametoxisilan.

Tipul suportului	Proteină imobilizată ^[a] (mg)	Preparat obținut (mg)	Randament imobilizare ^[b] (%)	Încărcare cu enzimă ^[c] (%)	Randament regăsire ^[d] (%)
Celite® 545	4,37	728,0	65	0,60	338
Celite® 521	3,49	724,9	52	0,44	357
Celite® C22	4,82	743,4	72	0,65	331
CaCO ₃	5,20	822,5	77	0,63	366
Purolite® MN200	6,29	595,3	94	1,06	273
Celuloză AVICEL®	4,56	726,1	68	0,63	166

^[a] (mg proteină inițială) – (mg proteină din filtratul de la spălare)

^[b] (mg proteină imobilizată)x100/(mg proteină inițială)

^[c] (mg proteină imobilizată)x100/(mg preparat enzimatic obținut)

^[d] (activitatea totală a preparatului imobilizat)x100/(activitatea totală a lipazei introduse la imobilizare) pentru acilarea 2-octanolului, în condițiile Exemplului 3



Exemplul 3. Acilarea enantioselectivă a unui alcool secundar cu lipază din *Candida antarctica* B immobilizată prin metoda combinată adsorbție/sol-gel, cu sistem ternar de silani precursori

Într-o fiolă de sticlă de 4 ml s-au introdus sau dizolvat 0,5 mmoli 2-octanol și 1,5 mmoli acetat de vinil în 1 ml hexan și s-au introdus 25 mg preparat enzimatic obținut în condițiile Exemplului 2. Pentru a se compara performanțele enzimei immobilizate cu cea a enzimei comerciale native, s-a efectuat o sinteză în aceleași condiții în care s-au utilizat 5 mg din lipaza care a fost supusă imobilizării.

Fiola de sticlă conținând amestecul de reacție a fost plasată într-o incintă termostată la 40°C și supusă agitării la 300 rotații/min. Reacția a fost urmărită în timp, prin prelevare de probe la 24 de ore de reacție cu ajutorul unei micropipete. Probele au fost analizate gaz-cromatografic pe un cromatograf de gaze Varian 450-GC echipat cu detector de ionizare în flacără și coloană capilară chirală cu dimensiunile 30 m x 0,25 mm cu fază staționară Elite Cyclosil B de grosime 0,25 μm (Perkin Elmer). Pe baza analizelor efectuate, prin metoda standardului intern s-au calculat conversia alcoolului, activitatea preparatelor immobilizate și randamentul de regăsire a activității enzimaticice la 24 de ore de reacție. De asemenea, s-au calculat excesul enantiomeric al esterului obținut, (*R*)-acetatul de 2-octil și raportul enantiomeric E.

Tipul suportului	Conversia după 24 h (%)	Activitatea (μmol·h ⁻¹ ·mg ⁻¹)	Exces enantiomeric ^[a] (%)	Raport enantiomeric ^[b] E
- (enzima nativă)	20	0,842	89	21
Celite [®] 545	49	0,448	95	125
Celite [®] 521	51	0,433	95	201
Celite [®] C22	51	0,429	95	201
CaCO ₃	51	0,429	95	201
Purolite [®] MN200	51	0,441	96	380

^[a] Calculată pe baza ariilor peakurilor cromatografice ale celor doi esteri enantiomeri

$(A_{ie(R)\text{-ester}} - A_{ie(S)\text{-ester}}) \times 100 / \text{suma ariilor esterilor}$

^[b] $\ln[1 - \text{conversie}(1 + e.e. \text{ produs})] / \ln[1 - \text{conversie}(1 - e.e. \text{ produs})]$



Exemplul 4. Utilizarea repetată a enzimei imobilizate

S-a lucrat în condițiile Exemplului 3, cu deosebirea că s-au realizat mai multe cicluri de reacție cu aceeași enzimă imobilizată și cu enzima nativă, pentru comparație. După fiecare utilizare (24 de ore de reacție) amestecul de reacție a fost îndepărtat iar biocatalizatorul a fost spălat de mai multe ori cu 2 ml hexan și reintrodus într-un nou ciclu de reacție, în aceleași condiții.

Număr ciclu utilizare	Activitate ($\mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$)		Activitate totală relativă ^[a]		Exces enantiomeric (%)	
	Lipaza nativă	Lipaza imobilizată	Lipaza nativă	Lipaza imobilizată	Lipaza nativă	Lipaza imobilizată
0	0,819	0,443	1	1	90	95
1	0,719	0,436	0,88	0,98	89	95
2	0,679	0,421	0,83	0,95	88	95
3	0,596	0,419	0,73	0,95	87	95
4	0,615	0,400	0,75	0,94	87	95
5	0,531	0,397	0,65	0,94	85	95
6	0,535	0,403	0,65	0,91	85	95
7	0,093	0,420	0,40	0,95	84	95
8	0,094	0,402	0,11	0,91	83	95
9	-	0,395	-	0,89	-	95
10	-	0,396	-	0,89	-	95
11	-	0,417	-	0,94	-	95
12	-	0,395	-	0,89	-	95
13	-	0,373	-	0,90	-	95
14	-	0,414	-	0,94	-	95
15	-	0,327	-	0,9	-	95
16	-	0,343	-	0,85	-	95
17	-	0,391	-	0,88	-	95
18	-	0,355	-	0,87	-	95
19	-	0,349	-	0,87	-	95
20	-	0,390	-	0,88	-	95
21	-	0,385	-	0,87	-	95



22	-	0,388	-	0,88	-	95
23	-	0,388	-	0,88	-	95
24	-	0,378	-	0,85	-	95
25	-	0,381	-	0,86	-	95
26	-	0,385	-	0,87	-	95
27	-	0,397	-	0,90	-	95
28	-	0,383	-	0,86	-	95
29	-	0,385	-	0,87	-	95
30	-	0,381	-	0,86	-	95
31	-	0,392	-	0,82	-	95
32	-	0,354	-	0,80	-	95
33	-	0,356	-	0,80	-	95
34	-	0,355	-	0,80	-	95
35	-	0,353	-	0,80	-	95
36	-	0,371	-	0,84	-	95
37	-	0,359	-	0,81	-	95
38	-	0,322	-	0,73	-	95
39	-	0,379	-	0,86	-	95
40	-	0,327	-	0,74	-	95
41	-	0,349	-	0,79	-	95
42	-	0,348	-	0,79	-	95

^{a)}Raportată la activitatea din primul ciclu de reacție



BIOCATALIZATOR OBTINUT PRIN METODA DE DUBLĂ IMOBILIZARE CU UTILIZAREA UNUI LICHID IONIC CA ADITIV

REVENDICĂRI

1. Procedeu combinat de imobilizare a hidrolazelor care utilizează un lichid ionic cu cation de tip 1-alkil-3-metil-imidazoliu drept agent de protecție a enzimei și aditiv de direcționare a structurii de sol-gel rezultate prin hidroliza în prezență de acid clorhidric a unuia sau a doi precursori alchil- sau aril-trialcoxisilanici în amestec cu un tetraalcoxisilan, urmată de schimbarea pH-ului în domeniu bazic prin adăugare de amoniac și adsorbție pe un suport de natură anorganică după începerea gelifierii.

2. Procedeu de obținere a unor esteri optic activi cu exces enantiomeric mai mare de 95% prin acilarea cu un ester vinilic a alcoolilor secundari alifatici având între 6-9 atomi de carbon și folosind o lipază imobilizată în condițiile Revendicării 1.

