

UNIVERSITATEA „POLITEHNICA” DIN BUCUREȘTI
Școala Doctorală de „Chimie Aplicată și Știința Materialelor”



Domeniul fundamental de doctorat *Științe Inginerești*
Domeniul de doctorat *Inginerie Chimică*

TEZĂ DE DOCTORAT

Studii privind optimizarea unor reactoare enzimatiche industriale cu sisteme enzimatiche complexe (sisteme multi-enzimatiche)

(Studies on industrial reactor optimization involving complex multi-enzymatic systems)

Autor: Ing. Mara CRIȘAN

Conducător de doctorat: McAR Prof. Dr. Ing. Gheorghe MARIA

COMISIA DE DOCTORAT

Președinte	Prof. dr. ing. Mircea TEODORESCU		Universitatea Politehnica din București
Conducător de doctorat	Prof. dr. ing. Gheorghe MARIA	de la	Universitatea Politehnica din București
Referent	Prof. dr. ing. Peter FRANCISC	de la	Universitatea Politehnica din Timișoara
Referent	Prof. dr. ing. Dan CAȘCAVAL	de la	Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași
Referent	Prof. dr. ing. Anicuța STOICA GUZUN	de la	Universitatea Politehnica din București

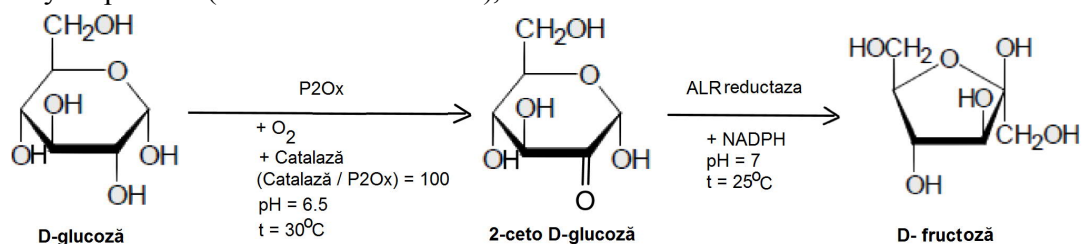
BUCUREȘTI 2019

CUPRINS

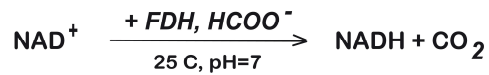
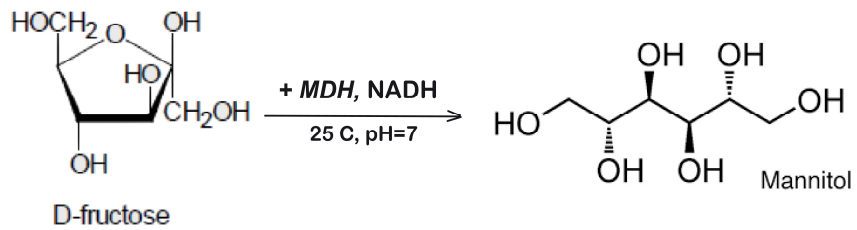
1. Oportunitatea temei și principalele obiective ale tezei de doctorat
 - 1.1. Oportunitatea temei și importanța operării optimale a reactoarelor enzimaticice
 - 1.2. Principalele obiective ale tezei
2. Enzimele și folosirea lor drept catalizatori în biosinteze industriale
 - 2.1. Enzimele și activitatea lor catalitică în biosinteze industriale
 - 2.2. Avantajele și dezavantajele utilizării biocatalizatorilor de tip enzime
 - 2.3. Imobilizarea biocatalizatorului
 - 2.4. Cinetica proceselor enzimaticice. Modele cinetice enzimaticice.
 - 2.5. Principalele tipuri de reactoare enzimaticice
3. Folosirea sistemelor multienzimaticice
 - 3.1. Platforma de simulare-selecție-optimizare a reactoarelor multienzimaticice și metodologia de calcul aferentă
 - 3.2. Obiective și tehnici de optimizare a reactoarelor multienzimaticice industriale
4. Studiu de caz: optimizarea reactorului multienzimatic folosit la obținerea fructozei prin procedeul Cetus
 - 4.1. Producția industrială de fructoză
 - 4.2. Mecanismul și modelul cinetic al procesului de oxidare a D-glucozei la Ceto-D-glucoză în prezență de piranozoxidază și catalază
 - 4.3. Modelele matematice ale reactoarelor enzimaticice testate și condițiile nominale de operare pentru oxidarea D-glucozei la 2-ceto-D-glucoză
 - 4.4. Formularea problemei de optimizare pentru fiecare tip de reactor enzimatic în parte
 - 4.5. Rezultatele optimizării reactoarelor enzimaticice testate pentru oxidarea D-glucozei la 2-ceto-D-glucoză și interpretarea lor
5. Optimizarea reactorului MACR de oxidare a D-glucozei la 2-ceto-D-glucoză folosind tehnica frontului Pareto
6. Studiu de caz: optimizarea reactorului multienzimatic folosit la obținerea manitolului prin reducerea fructozei în prezență de manitol-dehidrogenază (MDH) cu regenerarea continuă in-situ a cofactorului NAD prin degradarea enzimatică a acidului formic în prezență de format-dehidrogenază (FDH)
7. Concluzii generale
8. Contribuții originale ale tezei
9. Bibliografie

Abstract

Enzymes are life-specific biochemical catalysts that provide the metabolic processes (catabolism and anabolism) at the cellular level, and maintain their catalytic potential after extraction from the living organism - this feature being exploited for various economic purposes (industry, medicine, environment, agriculture). Industrial enzymatic processes compete in terms of efficiency with complex chemical synthesis, resulting in high selectivity and specificity, producing fewer byproducts, reducing energy consumption and generating less environmental pollution. However, enzymes still have a limited application due to high isolation, stabilization costs, high sensitivity to operating conditions, low bioprocess reproducibility, difficult controllability, and a high substrate specificity. Many of these inconveniences can be removed by an effective immobilization of the enzymes on suitable supports, and / or by optimizing the operating conditions and the operating policy of the selected enzymatic reactor. In addition, the use of multi-enzyme systems offers new optimization possibilities for biosynthesis processes, providing the alternative of in-situ regeneration of the cofactor, as well as the possibility of increasing productivity by diminishing the deactivation of the enzyme from the main reaction by enzymatic inactivation of inhibitory intermediates, etc. In this way, multi-enzymatic reactions become valuable alternatives for obtaining a wide range of food and pharmaceutical products, being used equally in various applications such as medical tests or biological sensors. In this context, the thesis makes a remarkable contribution by developing an analysis methodology based on the use of mathematical / kinetic models of the enzymatic process and of the usual enzymatic reactors in order to determine how to optimize the reactors' operation when conducting multi-enzymatic complex processes. Examples address two case studies in the sugar industry, that is: 1) a new process for obtaining fructose of high purity by applying a novel two-step enzyme process (also known as 'Cetus'),



and 2) mannitol production by „enzymatic reduction of fructose with in-situ enzymatic regeneration of the NAD cofactor”, as below shown.



The used numerical optimization techniques are of high complexity, by using either nonlinear optimization in the presence of multiple constraints, or the Pareto front technique when several objective functions are formulated, some being contrary ones. In this way, the thesis is characterized by a high degree of originality and novelty, with wide applicability in the biosynthesis industry.