

CĂI DE SINTEZĂ VERZI PENTRU OLIGOESTERI ȘI OLIGOESTERAMIDE INOVATIVE ȘI BIODEGRADABILE

Teză de doctorat – Rezumat

pentru obținerea titlului științific de doctor la

Universitatea Politehnică Timișoara

în domeniul de doctorat Inginerie Chimică

autor ing. Ioana-Cristina Benea

conducător științific Prof.univ.dr.ing. Francisc PÉTER

luna 07 anul 2024

Rezumat

Orientarea tot mai accentuată, la nivel global, asupra sustenabilității și protecției mediului a condus la o creștere semnificativă a interesului pentru sintetizarea polimerilor și oligomerilor utilizând resurse naturale regenerabile pe bază de biomasă și căi biocatalitice inovative pentru procesul de sinteză. Dintre aceste substanțe, poliesterii și poliesteramidele se remarcă ca fiind deosebit de importante. Poliesteramidele, în mod special, sunt extrem de atractive datorită proprietăților lor unice de biodegradabilitate și biocompatibilitate, tipice poliestерilor, alături de robustețea mecanică și proprietățile termice îmbunătățite ale poliesteramidelor. Oligoesteramidele sunt privite drept compuși de mare valoare, având aplicații diverse în industrii, inclusiv în domeniul biomedical, ceea ce le mărește importanța.

Cele două obiective principale ale tezei sunt sinteza enzimatică *in vitro* și caracterizarea detaliată a unor co-oligoesteri noi, proveniți din ϵ -caprolactonă și hidroxi acizi, respectiv aminoacizi obținuți din surse regenerabile, precum și dezvoltarea și optimizarea unor rute sintetice biocatalitice pentru oligoesteri și oligoesteramide inovatoare, fie alifaticе, fie aromatice, pe bază de ϵ -caprolactonă sau ϵ -caprolactamă. Prin abordarea unei rute ecologice de sinteză, s-au obținut 14 compuși noi, iar caracterizarea acestora a fost efectuată cu ajutorul unor tehnici avansate, precum spectrometria de masă MALDI TOF-MS, cromatografie de excluziune sterică (SEC), spectroscopia RMN (^1H , ^{13}C și 2D), spectroscopia FT-IR și analizele termice prin TG și DSC. Toți compușii sintetizați au demonstrat proprietăți de biodegradabilitate în prezența unui inocul din râul Bega din Timișoara, România.

Teza de doctorat abordează tema oligoesterilor și oligoesteramidelor provenite în patru secțiuni distincte:

1. Studiu de literatură: Această secțiune prezintă peisajul actual al cercetărilor în domeniul sintezei oligomerilor din biomasă, utilizând enzime ca și catalizatori. Standardul european EN 16575 definește materialele pe bază de resurse naturale regenerabile ca fiind cele derivate din biomasă, în timp ce polimerii biodegradabili se caracterizează prin abilitățile lor de a se descompune sub acțiunea microbiană în medii naturale; de asemenea, termenul „biopolimer” cuprinde atât polimeri biodegradabili, cât și non-biodegradabili proveniți din surse biologice, subliniind importanța lor în promovarea sustenabilității mediului (Figura 1) [1]. Tranziția la monomeri pe bază de resurse naturale regenerabile pentru sinteza polimerilor și oligomerilor nu doar că ajută la minimizarea dependenței de combustibilii fosili, ci și facilitează practicile de producție ecologice care aduc beneficii semnificative mediului [2], [3], [4].

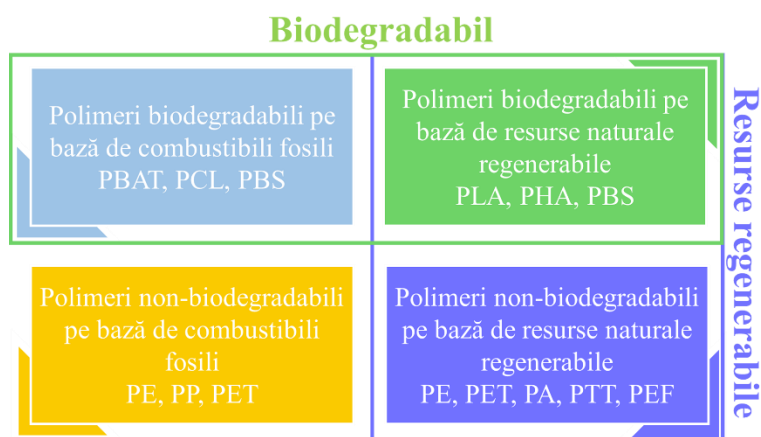


Figura 1. Clasificarea materialelor plastice polimerice pe baza originii materiilor prime și a proprietății lor de biodegradabilitate. Figură adaptată din raportul *Synopsis report on the consultation on the policy framework on biobased, bio-degradable and compostable plastic* emis de către Comisia Europeană [1].

În plus, utilizarea biocatalizei enzimatică, ca și alternativă ecologică, îmbunătățește procesul de sinteză, facilitând obținerea polimerilor sau oligomerilor cu structură precisă din resurse naturale regenerabile, deschizând noi orizonturi ale aplicațiilor, în special în domeniul biomedical, unde soluțiile inovatoare, cum ar fi sistemele de eliberare prelungită a medicamentelor, sunt din ce în ce mai căutate [2], [5], [6], [7]. Sinteza polimerilor din resurse naturale regenerabile prin căi biocatalitice reprezintă o metodă durabilă și ecologică care folosește enzime versatile precum lipazele pentru a produce structuri polimerice bine definite [8]. Poliesterii alifatici ce pot fi obținuți din biomasă se dovedesc a fi esențiali pentru domeniul polimerilor, datorită capacității lor de biodegradabilitate și disponibilității la scară largă a monomerilor alifatici din resurse regenerabile [9], [10]. În plus, poliesteramidele au atât legături esterice, cât și amidice, ceea ce conduce la o combinație unică de proprietăți, conferindu-le un avantaj competitiv în aplicații industriale [11]. Legăturile esterice facilitează biodegradabilitatea și biocompatibilitatea, în timp ce legăturile amidice îmbunătățesc proprietățile termice și mecanice, comune poliamidelor [12]. Dacă sinteza acestora se realizează prin biocataliză, nu doar se crește eficiența procesului, ci și acesta se aliniază perfect cu tendințele actuale de promovare a chimiei verzi și a proceselor de fabricație ecologice.

2. Contribuții originale: Această parte prezintă rezultatele cercetării, începând cu obiectivele tezei. Accentul se pune pe dezvoltarea și evaluarea sistemelor biocatalitice pentru producerea de oligoesteri sau oligoesteramide din materii prime regenerabile. Subliniind principiile chimiei ecologice și avantajele catalizatorilor enzimatici, secțiunea experimentală a tezei explorează noi căi de sinteză pentru obținerea de materiale noi din materii prime regenerabile cu diverse aplicații. Această abordare se aliniază cu criteriile de sustenabilitate care conduc progresul actual al bioeconomiei.

2.1. Abordare biocatalitică pentru noi oligoesteri funcționali ai ϵ -caprolactonei și acidului malic

Obiectivul acestui capitol a fost de a sintetiza enzimatic oligoesteri funcționali inovatori folosind ϵ -caprolactona (ϵ -CL) și acidul D,L/L-malic (D,L-MA/L-MA) ca blocuri de construcție primare. Producții finali ai acestei reacții au constat în co-oligomeri liniari și ciclici care au încorporat unități de ϵ -CL și MA. În special, integrarea unității de acid malic, caracterizată prin grupări carboxil libere, în structura oligomerică de policaprolactonă extinde

în mod semnificativ potențiale aplicații ale acestor materiale în diferite domenii.

Pentru a realiza acest lucru, procesul catalitic a folosit lipaza B din *Candida antarctica*, care a fost imobilizată pe rășină acrilică (cunoscută în mod uzual ca Novozyme 435) sau rășină schimbătoare de ioni microporoasă (denumită GF-CalB-IM). Reacțiile au fost realizate la o temperatură de 80 °C, o alegere concepută pentru a menține activitatea biocatalizatorului pe perioade lungi de reacție, permițând mai multe cicluri eficiente de reciclare a enzimei.

Analiza structurală a oligoesterilor sintetizați a fost efectuată utilizând spectrometria MALDI-TOF MS și spectroscopia în infraroșu (IR). În plus, caracteristicile termice ale produșilor au fost investigate prin analiză termogravimetrică (TG) și calorimetrie cu scanare diferențială (DSC). Parametrii cheie care influențează formarea produsului au fost, de asemenea, studiați în mod sistematic, concentrându-se în special pe efectul raportului molar ϵ -caprolactonei la acid malic (MA), alături de impactul solvenților organici asupra procesului de sinteză.

Formarea cu succes a co-oligoesterilor a fost confirmată de analiza MALDI-TOF MS (Figura 2), care permite identificarea produșilor de reacție ciclici și liniari, facilitând în același timp determinarea lungimii lanțului oligomeric și al dispersității acestuia. A fost analizat efectul variației raportului molar dintre ϵ -CL și MA asupra formării și compoziției produșilor oligomerici. La utilizarea ϵ -CL în exces, conversiile și conținutul relativ de co-oligomeri au crescut. Stabilitatea operațională a biocatalizatorilor, și anume Novozyme 435 și GF-CalB-IM, a fost evaluată în continuare prin mai multe cicluri de reacție, demonstrând în mod constant o stabilitate remarcabilă pe tot parcursul procesului.

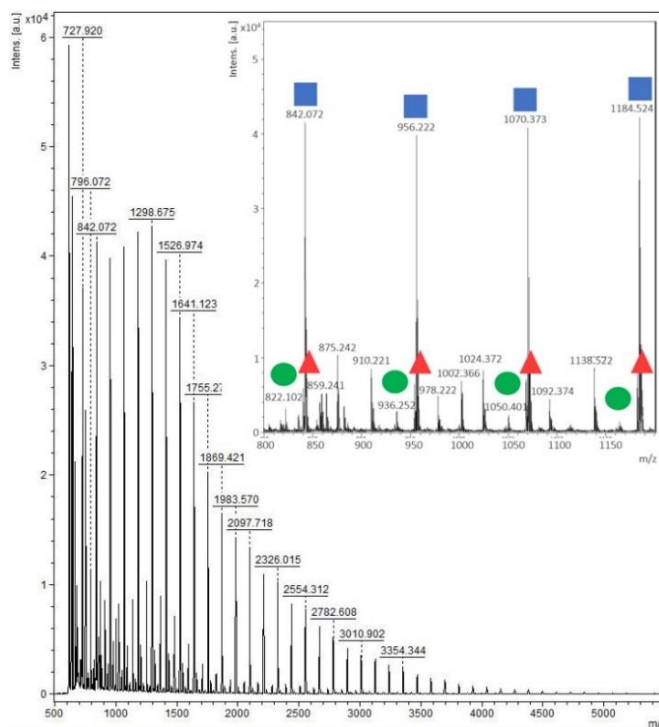


Figura 2. Spectrul de MALDI TOF-MS al produșilor de reacție sintetizați plecând de la ϵ -caprolactonă (ϵ -CL) și acid L-malic (L-MA) la raport molar 2:1 folosind GF-CalB-IM ca biocatalizator în sistem fără solvent la 80 °C. Inset: Vedere detaliată a intervalului m/z 800-1200, evidențiind oligomerii de interes (■ sunt oligoestere liniari cu 1 unitate de MA, ● sunt oligoestere ciclici cu 1 unitate de MA și ▲ sunt oligoestere liniari cu 2 unități de MA).

Pentru a analiza influența solvenților organici asupra sintezei enzimaticе, studiul a inclus solvenți precum acetonitril, toluen și solventul ecologic 2-metil-tetrahidrofuran (MeTHF) în procesul de reacție. Rezultatele au indicat că cel mai mare conținut relativ de co-

oligomeri a fost atins în sistemul fără solvent, urmat îndeaproape de Me-THF ca mediu de reacție. Studiul co-oligomerizării ϵ -caprolactonei cu acid malic în timp a indicat o conversie maximă a acidului malic ce a avut loc la aproximativ 24 de ore de timp de reacție.

Caracterizarea ulterioară a oligoesterilor sintetizați s-a efectuat prin spectroscopie MALDI-TOF MS și FTIR, confirmând caracteristicile structurale care susțin formarea oligoesterilor. Evaluările stabilității termice a oligoesterilor derivați din acid malic și ϵ -CL au fost efectuate prin analize TG și DSC, indicând faptul că oligomerul a prezentat o stabilitate termică diminuată în comparație cu homo-oligomerul policaprolactonă (PCL). Rezultatele DSC au evidențiat, de asemenea, că acest co-oligomer a fost clasificat drept semicristalin, ceea ce ar putea influența potențialele sale aplicații.

În concluzie, a fost realizată sinteza de noi oligoesteri funcționali folosind un proces ecologic și durabil, demonstrând o stabilitate operațională excelentă a biocatalizatorilor pe parcursul mai multor cicluri de reacție. Proprietățile termice și caracteristicile structurale ale produșilor de reacție au fost investigate amănunțit, elucidând atributele care fac ca aceste materiale să fie adecvate pentru o varietate de aplicații. În general, cunoștințele obținute din acest studiu contribuie în mod semnificativ la domeniul sintezei enzimatică a oligoesterilor, subliniind impactul parametrilor de reacție selectați atât asupra formării, cât și asupra proprietăților produșilor rezultați. Acest studiu prezintă căi potențiale pentru inovații ulterioare în dezvoltarea materialelor polimerice durabile.

2.2. Sinteza biocatalitică de noi oligoesteramide plecând de la ϵ -caprolactamă și hidroxi acizi

Acest capitol se concentrează pe sinteza ecologică de noi structuri oligomerice utilizând biocataliza *in vitro* și materii prime regenerabile. Mai exact, studiul investighează producția de oligoesteramide inovatoare (OEA) sintetizate din ϵ -caprolactamă și patru hidroxi acizi diferiți: acid L-malic, acid 3-hidroxibutiric, acid 16-hidroxihexadecanoic și acid 12-hidroxistearic. Utilizarea unei game de hidroxi acizi introduce o varietate structurală semnificativă în produșii oligomerice, care este de așteptat să influențeze atât procesul de polimerizare, cât și proprietățile materialelor rezultate.

Pentru a sintetiza acești compuși, a fost selectat ca biocatalizator lipaza B din *Candida antarctica* (CalB), imobilizată prin adsorbție. Această alegere s-a bazat din studiile de screening care au identificat-o drept o enzimă extrem de eficientă pentru astfel de transformări organice, corelând rezultatele anterioare privind sinteza oligomerilor pe bază de ϵ -caprolactonă. Reacțiile au fost realizate la o temperatură de 80 °C, o condiție menită să asigure activitatea biocatalizatorului pentru perioade prelungite, facilitând multiple oportunități de reciclare. În special, această abordare permite, de asemenea, o comparație fiabilă între sistemele fără solvenți și sistemele pe bază de solvenți organici.

Obiectivul principal al acestei cercetări nu a fost acela de a atinge mase moleculare specifice pentru oligoesteramidele sintetizate, ci mai degrabă de a demonstra viabilitatea utilizării metodelor biocatalitice pentru sinteza acestora și de a evalua proprietățile oligomerilor rezultați. În consecință, capitolul analizează, de asemenea, influența parametrilor cheie de reacție, cum ar fi rapoartele molare ale ϵ -caprolactamei și hidroxi acizilor, efectul solvenților organici asupra sintezei și durată reacției.

Prezența atât a funcționalităților esterice, cât și a amidice în structurile oligomerice a fost confirmată prin mai multe tehnici, inclusiv MALDI-TOF MS, FT-IR și spectroscopie RMN. Cromatografia de excluziune sterică (SEC) a jucat un rol crucial în evaluarea maselor moleculare medii și a gradelor de conversie a monomerilor, în timp ce analizele termogravimetrice (TG) și calorimetrie cu scanare diferențială (DSC) au fost efectuate pentru a evalua proprietățile termice ale oligoesteramidelor sintetizate.

În fazele preliminare ale studiului a fost efectuat un proces de screening pentru a

determina cel mai potrivit biocatalizator pentru sinteza oligoesteramidelor. Deoarece aceste reacții au fost efectuate pentru prima dată, a fost imperativ să se identifice un biocatalizator eficient. Reacțiile enzimatice au fost examinate în diferite condiții pentru a stabili formarea co-oligomerilor liniari și ciclici. Caracterizarea produșilor de reacție a fost realizată folosind analiza MALDI-TOF MS, care a furnizat informații esențiale cu privire la speciile moleculare formate în timpul polimerizării. De exemplu, spectrul MALDI-TOF MS al produșilor de reacție obținuți din polimerizarea ϵ -caprolactamei și acidului 16-hidroxihexadecanoic într-un raport molar de 1:1, într-un mediu fără solvent la 80 °C timp de 24 de ore, a indicat prezența unor produși ciclici care conțin mai multe unități de ϵ -caprolactamă, împreună cu co-oligomeri liniari.

Pe măsură ce sinteza oligomerului a progresat, evaluarea maselor moleculare și a gradelor de polimerizare a devenit din ce în ce mai relevantă. Cromatografia de excluziune sterică (SEC) a fost folosită pentru a cuantifica acești parametri. Mai mulți parametri cheie de reacție au fost evaluați sistematic pentru a stabili influența lor asupra sintezei oligoesteramidelor. Au fost testate diferite rapoarte molare de ϵ -caprolactamă și hidroxiacizi, examinând în mod specific rapoartele de 2:1, 1:1 și 1:2 atât în medii fără solvenți cât și în medii cu solvenți organici. Rezultatele care examinează un sistem fără solvent sunt prezente în Figura 3, indicând că, atunci când reacția enzimatică a fost testată fără solvent, masele moleculare medii au fost relativ stabile pentru toate rapoartele molare.

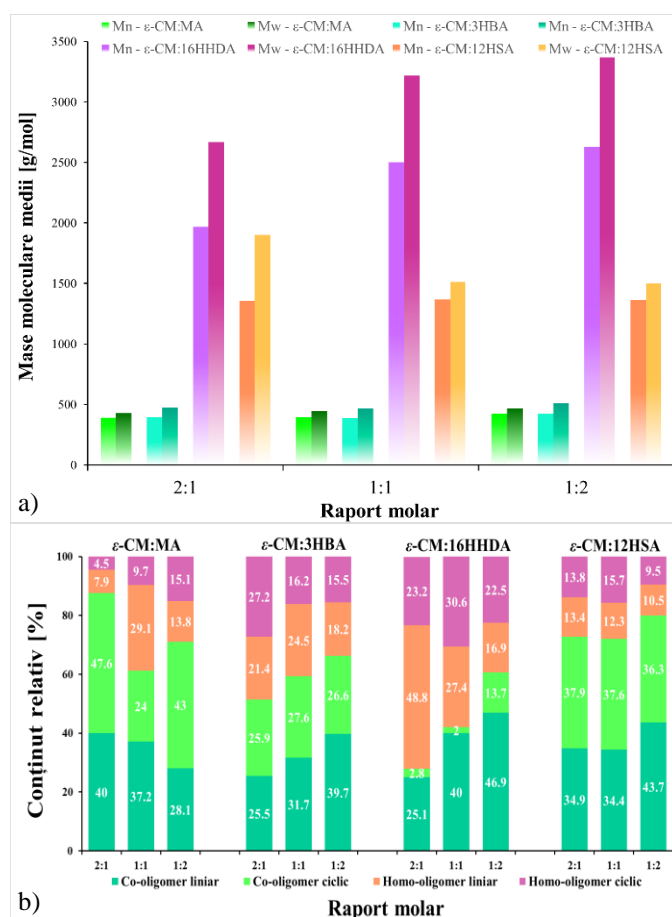


Figura 3. Influența raportului molar asupra maselor moleculare medii ale co-oligomerilor (a) și asupra conținutului relativ al produșilor de reacție obținute în reacția de polimerizare a ϵ -caprolactamei (ϵ -CM) cu acidul L-malic (MA), acidul 3-hidroxi butiric (3HBA), acidul 16-hidroxihexadecanoic (16HHDA), respectiv acidul 12-hidroxi stearic (12HSA), la 80 °C, 24 ore, în condiții fără solvent, în prezența Novozyme 435 drept catalizator (b).

Cu toate acestea, pentru sistemele care încorporează hidroxi acizii (MA și 3HBA), s-a observat o ușoară creștere a maselor moleculare medii atunci când acidul hidroxi a fost utilizat în exces, influențând structura co-oligomerică. Acest fenomen poate fi atribuit maselor moleculare mai mari a monomerilor în comparație cu ϵ -caprolactama. În schimb, când s-a folosit acid 12-hidroxistearic ca și co-monomer, reactivitatea ϵ -caprolactamei a determinat ca masele moleculare medii să fie mai mari atunci când ϵ -caprolactama a fost prezentă în exces. Acest lucru subliniază o tendință prin care caracteristicile structurale specifice ale hidroxi acizilor dictează dinamica lor de polimerizare. Compoziția relativă a produșilor de reacție a demonstrat variații semnificative în funcție de hidroxi acidul specific utilizat. În special, acidul L-malic a dat cel mai mare conținut de co-oligomeri datorită reactivității sale mai scăzute și a lanțului scurt de carbon, în timp ce alți hidroxi acizi au dus la conținuturi de co-oligomeri cuprinse între 60% și 80% atunci când sunt utilizați în exces.

Stabilitatea operațională a Novozyme 435 a fost un punct focal al studiului. Rezultatele au indicat că biocatalizatorul și-a păstrat eficacitatea pe mai multe cicluri de reacție. Observațiile indică faptul că biocatalizatorul menține performanțe comparabile chiar și după ce a fost supus la 8 cicluri de reacție consecutive (Figura 4). Această analiză a oferit perspective asupra eficienței operaționale a biocatalizatorului, sugerând că Novozyme 435 poate susține activitatea pe numeroase cicluri fără a altera semnificativ performanța, deținând astfel perspective optime pentru sinteza enzimatică a oligoesteramidelor la o scară mai mare.

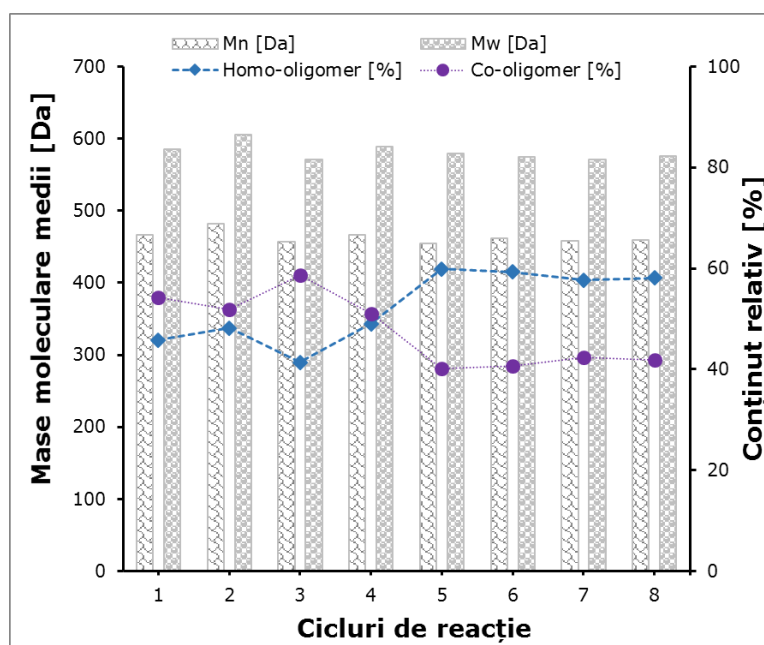


Figura 4. Stabilitatea operațională a biocatalizatorului Novozyme 435 după 8 cicluri succesive de reacție pentru sinteza oligoesteramidelor pe bază de ϵ -caprolactamă (ϵ -CM) și acid 3-hidroxi butiric (3HBA) obținute la 80°C, 24h, într-un sistem fără solvenți, la un raport molar ϵ -CM:3HBA de 1:1.

Caracterizarea oligoesteramidelor sintetizate a folosit diverse tehnici, inclusiv analiza MALDI-TOF MS, FT-IR și RMN, dezvăluind o mulțime de informații structurale. Spectrele MALDI-TOF MS au permis identificarea diferitelor structuri oligomerice, confirmând prezența co-oligomerilor liniari și ciclici, precum și a oligomerilor proveniți exclusiv din materiile prime hidroxi acide. Spectroscopia FT-IR a confirmat în continuare arhitectura chimică a oligoesteramidelor, cu schimbări observate în benzile fundamentale de absorbție confirmând formarea legăturilor esterice și amidice în timpul sintezei. De exemplu, în spectrul oligomerului

derivat din ϵ -caprolactamă și acid 16-hidroxihexadecanoic, benzile caracteristice reprezentând grupările C=O s-au deplasat semnificativ, indicând interacțiuni de succes între co-monomeri. Analiza RMN a demonstrat formarea cu succes atât a legăturilor amidice, cât și esterice. Schimbările chimice distincte observate pentru oligomeri s-au aliniat perfect cu cele anticipate pentru funcționalitățile așteptate de ester și amidă.

Pentru a evalua proprietățile termice ale oligoesteramidelor sintetizate, au fost efectuate atât analize termogravimetrice (TG) cât și calorimetrie cu scanare diferențială (DSC) într-o atmosferă de azot controlată. Această investigație a evidențiat diferite profiluri de degradare între diferiți co-oligomeri, cu ϵ -CM și acidul 16-hidroxihexadecanoic prezentând o stabilitate termică superioară în comparație cu cei cu hidroxi acizi cu lanț mai scurt. Caracteristicile de degradare termică au fost strâns legate de masa moleculară a produșilor sintetizați, materialele cu o masă mai mare prezentând în general o stabilitate termică îmbunătățită. O observație interesantă a fost etapele de degradare crescute observate în materialele care cuprind acizi grași hidroxi, indicând o complexitate în răspunsurile termice atribuită prezenței atât a grupărilor esterice, cât și de amidice care influențează stabilitatea.

Acest capitol abordează sinteza enzimatică cu succes a noilor oligoesteramide derivate din ϵ -caprolactamă și diverși hidroxi acizi folosind o strategie biocatalitică ecologică. Constatările studiului evidențiază importanța parametrilor de reacție, cum ar fi raporturile molare și mediile de solvenți, în influențarea proprietăților și comportamentului materialelor sintetizate. Novozyme 435 a fost selectat drept catalizator, demonstrând un potențial semnificativ pentru extinderea industrială datorită stabilității și eficienței sale. Oligoesteramidele sintetizate prin această metodă durabilă au prezentat o stabilitate termică și caracteristici structurale promițătoare, deschizând căi de explorare ulterioară în aplicații în domeniul precum nanomaterialele și cosmeticele. În general, această sinteză și optimizarea procesului nu numai că extinde domeniul de aplicare al polimerizării enzimaticе, dar subliniază și potențialul de creștere al sintezei biocatalitice drept o cale viabilă către dezvoltarea materialelor inovatoare și durabile.

2.3. Sinteza enzimatică și optimizarea oligoesteramidelor aromatice pornind de la ϵ -caprolactamă și acid 5-hidroxi-furancarboxilic

Acest capitol prezintă sinteza oligoesteramidelor aromatice sintetizate printr-o cale enzimatică care utilizează ϵ -caprolactama (ϵ -CM) și acidul 5-hidroximetil-2-furancarboxilic (5HMFCFA) ca monomeri. Reacțiile de polimerizare au fost efectuate utilizând o serie de biocatalizatori, inclusiv forme imobilizate disponibile comercial de lipază B din *Candida antarctica*, cum ar fi Novozyme 435 și GF-CalB-IM, precum și enzime native imobilizate în laborator prin metode de entrapare în sol-gel. Abordarea experimentală a fost concepută pentru a avea loc într-un sistem fără solvenți în condiții care au inclus un raport echimolar de ϵ -CM la 5HMFCFA, un timp de reacție fix de 24 de ore și o temperatură menținută la 80°C, reflectând condițiile optime stabilite anterior pentru sinteze similare de oligoesteramide.

Analiza MALDI-TOF MS a confirmat încorporarea cu succes atât a legăturilor esterice, cât și a amidice în lanțurile oligomerice rezultate din procesul de polimerizare. În urma testării biocatalizatorilor s-a evidențiat eficiența utilizării metodelor de imobilizare prin entrapare în sol-gel pentru stabilizarea lipazelor, contribuind la randamente mai mari de oligoesteramide aromatice cu un conținut relativ de co-oligomeri observat între 45% și 58% și mase moleculare medii cuprinse între 380 Da și 530 Da (Tabelul 1). Atât lipazele disponibile comercial, cât și cele imobilizate în laborator au demonstrat capacitatea de a conduce la produși oligomerici (Tabelul 2).

Table 1. Masele moleculare medii și conversia monomerilor în cazul produșilor de reacție ai ϵ -caprolactamei cu 5HMFCFA, sintetizat la 80 °C, timp de reacție 24 h într-un sistem fără solvent, în prezența diferitelor lipaze ca catalizatori, determinate de SEC.

| Biocatalist imobilizat | Raport molar ϵ -CM : HA | M _n [Da] | M _w [Da] | Đ ^a | ϵ -CM Conv. [%] | 5HMFCFA Conv. [%] |
|---|----------------------------------|---------------------|---------------------|----------------|--------------------------|-------------------|
| <i>Candida antartica</i> lipaza B (Novozyme 435) | 1:1 | 420 | 430 | 1.02 | 14.6 | 18.1 |
| <i>Candida antartica</i> lipaza B (GF-CalB-IM) | 1:1 | 490 | 530 | 1.08 | 13.4 | 19.6 |
| <i>Candida antartica</i> lipaza B (entrapare în sol-gel) | 1:1 | 380 | 390 | 1.03 | 15.5 | 17.8 |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> lipaza (entrapare în sol-gel) | 1:1 | 460 | 470 | 1.02 | 14.4 | 19.0 |

^aĐ-Dispersitate.

Table 2. Compoziția relativă a produșilor de reacție ai ϵ -caprolactamei cu 5HMFCFA, sintetizată la 80 °C, timp de reacție 24 h într-un sistem fără solvent, în prezența diferitelor lipaze ca catalizatori, determinată prin MALDI-TOF MS.

| Biocatalist imobilizat | Raport molar ϵ -CM : HA | Conținutul relativ al produșilor de reacție [%] | | | | DP Max ^f |
|---|----------------------------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|---------------------|
| | | LC ^b | CC ^c | LH ^d | CH ^e | |
| <i>Candida antartica</i> lipaza B (Novozyme 435) | 1:1 | 36 | 22 | 16 | 26 | 6 |
| <i>Candida antartica</i> lipaza B (GF-CalB-IM) | 1:1 | 32 | 24 | 21 | 23 | 7 |
| <i>Candida antartica</i> lipaza B (entrapare în sol-gel) | 1:1 | 48 | - | 52 | - | 4 |
| <i>Pseudomonas stutzeri</i> lipaza (entrapare în sol-gel) | 1:1 | 22 | 23 | 23 | 32 | 5 |

^bLC-co-oligomer liniar; ^cCC-co-oligomer ciclic; ^dLH-homo-oligomer liniar; ^eCH-homo-oligomer ciclic; ^fDP Max_n-Gradul maxim de polimerizare al co-oligomerului.

Cercetările ulterioare s-au concentrat pe efectul raportului molar al monomerilor și al mediului de reacție asupra structurii și compoziției rezultate a oligoesteramidelor. Au fost evaluați parametri distincți care influențează polimerizarea cu deschidere de ciclu pe cale enzimatică; acestea au inclus atât sisteme organice (toluen) cât și fără solvenți. Mase moleculare medii comparabile s-au obținut atât în toluen, cât și în sistem fără solvenți, masele moleculare variind de la 360 Da la 530 Da. Accentul a fost pus pe conținutul total de co-oligomeri, care diferă semnificativ între cele două medii. Cel mai mare conținut relativ de oligoesteramide a atins 61% în condiții fără solvenți, sugerând un mediu de reacție favorabil pentru polimerizarea enzimatică atunci când nu se utilizează solvenți.

Analiza detaliată a diferitelor rapoarte molare a indicat că utilizarea unui exces de 5HMFCFA a favorizat formarea de co-oligomeri, în timp ce un exces molar de ϵ -CM a promovat co-oligomerizarea în mediul fără solvent. La examinarea raportului echimolar, conținutul de co-oligomer rezultat a fost poziționat în intervalul intermediar observat în ambele condiții de mediu de reacție.

Într-un efort de a optimiza în continuare procesul de sinteză, a fost aplicată metodologia Design of Experiments (DoE), folosind Novozyme 435 ca biocatalist. Folosind proiectarea Box-Behnken prin intermediul software-ului Unscrambler, trei parametri cheie au fost variați

sistematic: temperatura, proporția biocatalizatorului în raport cu masa totală a monomerilor și raportul molar al monomerilor. Gama de experimente necesare a cuprins 15 încercări, fiecare efectuat pe o durată de 24 de ore la 1200 rpm, cu scopul de a elucidă modul în care acești factori au influențat masele moleculare medii și compozițiile relative ale produselor sintetizate.

Rezultatele optimizării sunt reprezentate grafic în Figura 5, prezentând impactul combinat al diferiților factori asupra conținutului de co-oligomeri liniari și a masei moleculare medii a produsului final. În special, în timp ce impactul general al cantității de biocatalizator a fost determinat a fi neglijabil. Au fost stabilite condițiile optime, indicând faptul că cel mai mare conținut de co-oligomeri liniari a fost atins la aproximativ 72°C cu o cantitate de biocatalizator de 22% față de monomeri. Mai mult, datele au sugerat că au fost atinse mase moleculare medii ridicate cu un raport molar de aproximativ 3,5:1 (ϵ -CM:5HMFCA) la temperaturi care depășesc 70°C.

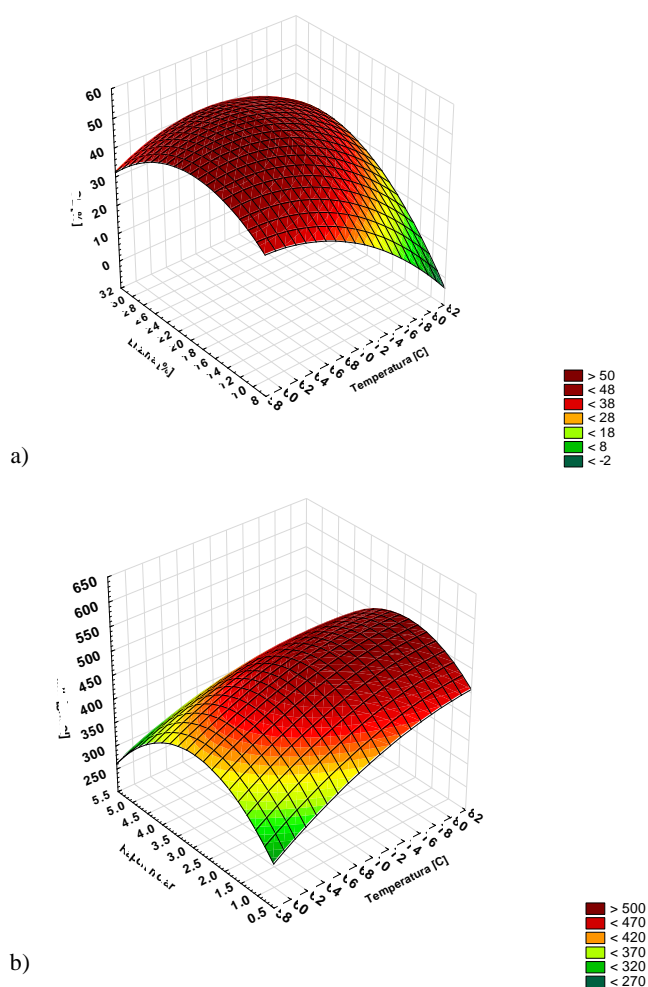


Figura 5. Efectele combinate ale parametrilor de reacție asupra compoziției și masei moleculare a oligoesteramidei sintetizate enzimatic; (a) efectul combinat al cantității de enzimă și al temperaturii asupra conținutului de co-oligomer liniar (CL), %; (b) efectul combinat al raportului molar ϵ -CM:5HMFCA și al temperaturii asupra masei moleculare medii în greutate (M_w) .

În concluzie, capitoul oferă perspective cuprinzătoare asupra sintezei enzimatică a oligoesteramidelor aromatice utilizând tehnici analitice moderne precum MALDI-TOF MS și SEC pentru caracterizarea produselor de copolimerizare. Screening-ul biocatalizatorilor, cu accent pe parametrii care influențează sinteza, inclusiv raportul molar al monomerilor și vâscozitatea mediului de reacție, a demonstrat un efect minim asupra reacției generale de

polimerizare. Eficacitatea aplicării metodei statistice DoE în optimizarea procesului de sinteză a oligomerilor aromatici pe bază de ϵ -CM facilitează rezultate superioare în generarea de structuri de oligoesteramide bine definite.

2.4. Sinteza enzimatică de oligoesteri și oligoesteramide pornind de la ϵ -caprolactonă și aminoacizi

În acest capitol a fost investigată sinteza oligomerilor prin reacția ϵ -caprolactonei cu aminoacizii care conțin grupări amino în lanțurile lor laterale. În mod specific, accentul este pus pe sinteza enzimatică și chimică a oligoesteramidelor folosind ϵ -caprolactonă (ϵ -CL) în combinație cu aminoacizii lizină (Lys) și arginină (Arg). În plus, serina (Ser) este folosită ca co-oligoester pentru a încorpora unități de aminoacizi în structurile oligomerice. Producții de reacție posibile care rezultă includ diverși co-oligomeri liniari și ciclici, alături de homo-oligomeri liniari și ciclici derivați atât din aminoacizi, cât și din ϵ -CL, ca produși secundari.

Metodologia de sinteză a utilizat două tipuri de catalizatori: enzima hidrolitică alcalază și catalizatorul chimic octoat stănos ($\text{Sn}(\text{Oct})_2$). Analiza MALDI-TOF MS a confirmat încorporarea unităților de aminoacizi în lanțurile oligomerice de ϵ -caprolactonă, cu prezența atât a funcționalităților de ester, cât și de amidă. Pentru a analiza probele de co-oligomeri, au fost efectuate teste de solubilitate în solvenți standard pentru oligomeri precum tetrahidrofuran (THF), metanol și dimetilsulfoxid (DMSO). Rezultatele au arătat că anumiți co-oligomeri, în special ϵ -CL-Ser, ϵ -CL-Lys și ϵ -CL-Arg, au prezentat solubilitate în acești solvenți, în funcție de catalizatorul utilizat. Singurii produși de reacție solubili au fost:

- ϵ -CL-Ser sintetizat în prezența alcalazei.
- ϵ -CL-Lys sintetizat în prezența $\text{Sn}(\text{Oct})_2$.
- ϵ -CL-Arg sintetizat în prezența fie a alcalazei, fie a $\text{Sn}(\text{Oct})_2$.

Compoziția și structura produșilor de reacție au fost stabilite prin analiza MALDI-TOF MS, care a permis identificarea aductilor de potasiu (K^+) corespunzători oligomerilor sintetizați. De exemplu, peak-urile identificate în spectrele de masă au corespuns co-oligomerilor care conțin diferite unități de unități ϵ -CL legate de aminoacizi, demonstrând formarea cu succes a structurilor oligomerice. Producții de reacție au fost caracterizați prin spectroscopie FT-IR în comparație cu unitățile monomerice utilizate în reacția de polimerizare. Prezența benzilor vibraționale asociate cu grupa N-H și funcționalitățile carbonil a indicat sinteza reușită a oligoesteramidelor care conțin arginină. În plus, spectrele FT-IR corespunzătoare produșilor derivați din serină și lizină au prezentat deplasări similare ale benzilor de valență, indicând lungimile de undă caracteristice ale grupelor funcționale care corespund formării legăturilor esterice și amidice.

Stabilitatea termică a produșilor sintetizați a fost evaluată utilizând analiza termogravimetrică (TGA) și calorimetria de scanare diferențială (DSC). Rezultatul a indicat că oligoesteramidele nou formate au prezentat o stabilitate redusă în comparație cu homo-oligomerii poli(ϵ -caprolactonă) (PCL). Curbele DSC au ilustrat proprietățile termice ale produșilor sintetizați, oligoesteramidele prezentând o temperatură de topire situată între punctele de topire corespunzătoare monomerilor.

Valorile maselor moleculare medii și conținutul relativ al produșilor de reacție solubili sunt prezentate în Tabelul 3. În mod deosebit, încorporarea serinei în oligoesteramide a dus la produse cu masă moleculară relativ mare, cu aproximativ 90% din produs constând din homo-oligomeri. În schimb, produșii sintetizați din lizină au prezentat mase moleculare medii mai mici, împreună cu un conținut mai mare de homo-oligomeri, în timp ce arginina a condus la conținuturi mult mai mari de oligoesteramide, în ciuda maselor moleculare medii similare. În schimb, atunci când arginina a fost utilizată ca și co-monomer, conținutul de co-oligomer a fost crescut, până la 77%. Compararea metodelor enzimatică cu catalizatorii chimici tradiționali, cum ar fi $\text{Sn}(\text{Oct})_2$, a demonstrat că, în timp ce conținutul de co-oligomeri a fost comparabil,

catalizatorul chimic a dus la mase moleculare medii mai mari și conținuturi crescute de oligomeri ciclici în comparație cu cele obținute prin cataliza cu alcalază.

Tabelul 3. Masele moleculare medii și conținut relativ al produselor de polimerizare pe bază de ϵ -CL și aminoacizi calculate din spectrele MALDI TOF-MS.

| Co-substrat | Catalist | M_n [Da] | M_w [Da] | \bar{D}_M^a | Conținutul relativ al produșilor de reacție [%] | | | |
|----------------------|----------------------|---------------|---------------|---------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | | | | LC ^b | CC ^c | LH ^d | CH ^e |
| ϵ -CL – Ser | Alcalază | 1590 | 1780 | 1.12 | 10 | - | 88 | 2 |
| ϵ -CL – Lys | Sn(Oct) ₂ | 780 | 960 | 1.23 | 10 | 7 | 80 | 3 |
| ϵ -CL – Arg | Alcalază | 800 | 820 | 1.03 | 59 | 18 | 20 | 3 |
| ϵ -CL - Arg | Sn(Oct) ₂ | 1360 | 1410 | 1.04 | 46 | 31 | 19 | 4 |

^aD-Dispersitate, ^bLC-co-oligomer liniar; ^cCC-co-oligomer ciclic; ^dLH-homo-oligomer liniar; ^eCH-homo-oligomer ciclic; ^fDP Max_n-Gradul maxim de polimerizare al co-oligomerului

Pe scurt, această investigație demonstrează eficiența posibilității sintetizării oligoesterilor și oligoesteramidelor derivate din ϵ -caprolactonă și diferiți aminoacizi (arginina, serină și lizină) atât prin abordări enzimatică, cât și chimice. Utilizarea analizei MALDI-TOF MS a confirmat formarea produșilor oligomerici cu una sau mai multe unități de aminoacizi integrate în structură. Caracterizarea produșilor prin spectroscopie FT-IR și analize termice a evidențiat rezultatele sintezei.

2.5. Biotransformarea eficientă a materiilor prime pe bază de resurse regenerabile în poliesteri/poliesteramide noi; studiu comparativ al sintezei enzimatică a copolimerilor bloc și aleatorii și a terpolimerilor

Prezentul capitol a studiat sinteza enzimatică a produșilor inovativi de polimerizare, în mare parte derivate din monomeri regenerabili, cum ar fi ϵ -caprolactonă (ϵ -CL), dimetil itaconat (DMI), dimetil adipat (DMA), 1,8-octandiol (ODO) și 1,8-octandiamină (ODA). Obiectivul a fost de a evalua și dezvolta noi căi sintetice în cadrul polimerizării enzimatică, inclusiv tehnici precum copolimerizarea directă, care produce copolimeri cu structură aleatorie, și un proces de copolimerizare în bloc mai complex, în două etape. Scopul general al cercetării a fost acela de a genera co-poliesteri și co-poliesteramide din diferite combinații ale acestor monomeri, diversificând astfel funcția materialelor pe bază de resurse regenerabile disponibile. Metodologiile de sinteză nu au prezentat doar o analiză comparativă între copolimerizarea aleatorie și bloc, ci și polimerizarea cu deschidere a inelului combinată în mod inovator cu tehnici de policondensare. Această abordare duală reprezintă un progres semnificativ în domeniu, sugerând că pentru a produce noi arhitecturi polimerice prin practici durabile.

Un obiectiv major al investigației a fost impactul diferitelor rapoarte moleculare dintre monomeri asupra sintezei terpolimerului aleatoriu ϵ -CL:DMI:ODO. Studiul a evaluat diferite rapoarte molare ale ϵ -CL, DMI și ODO în timpul procesului de polimerizare. Rezultatele au demonstrat cu certitudine că raportul molar a influențat semnificativ ratele de conversie ale monomerilor constituenți. În timp ce ratele de conversie pentru DMI au fost constant ridicate la 99% și ϵ -CL a depășit 95%, reactivitatea ODO a variat considerabil cu rapoartele sale molare. Această variabilitate subliniază specificitatea acțiunii enzimatică în regularea structurii polimerului prin aspecte ale raportului molecular și subliniază importanța unui proiect

experimental atent în optimizarea proceselor de polimerizare.

A fost examinată sinteza produșilor de homopolimerizare și copolimerizare necesare pentru structurile bloc. Etapele inițiale au implicat polimerizarea enzimatică cu deschidere de ciclu a ϵ -caprolactonei. Studiul a evaluat diferiți inițiatori, inclusiv apă și mai mulți alcooli, pentru eficacitatea lor în catalizarea polimerizării. Rezultatele au evidențiat variații substanțiale ale maselor moleculare în funcție de tipul de inițiator utilizat, apa distilată fiind cel mai eficient inițiator, ceea ce duce la creșteri semnificative atât ale maselor moleculare medii numerice (M_n) cât și ale maselor moleculare medii gravimetrice (M_w). În urma optimizării reacției de homopolimerizare, a fost investigată copolimerizarea DMI și DMA cu ODO și ODA, subliniind modul în care selecția co-monomerilor a influențat direct proprietățile produșilor de copolimerizare formați.

Sinteza copolimerilor bloc și aleatorii nu a fost doar o procedură experimentală, ci și un proces de inginerie care utilizează combinații specifice de monomeri în rapoarte echimolare. Acest lucru a permis producerea de diverse structuri polimerice, caracterizate în condiții optimizate de polimerizare enzimatică la 85°C timp de 48 de ore. Au apărut diferențe în proprietățile de solubilitate între produșii sintetizate, care au permis caracterizarea ulterioară prin metode precum cromatografia de exclusiune sterică (SEC), spectrometria de masă MALDI-TOF-MS și rezonanța magnetică nucleară (RMN). Evaluarea cuprinzătoare a maselor moleculare și a compozițiilor produșilor de reacție a subliniat diferențele complexe dintre copolimerii aleatorii și bloc. Caracterizarea structurală a fost efectuată prin analiză MALDI-TOF MS și RMN pentru a fundamenta formarea de legături esterice și amidice în polimeri. De exemplu, rezultatele caracterizării MALDI TOF-MS prezentate în Figura 6, indică faptul că valorile maselor moleculare se încadrează în intervalul de la 3860 la 5170 Da pentru sistemul ϵ -CL:DMI:ODO.

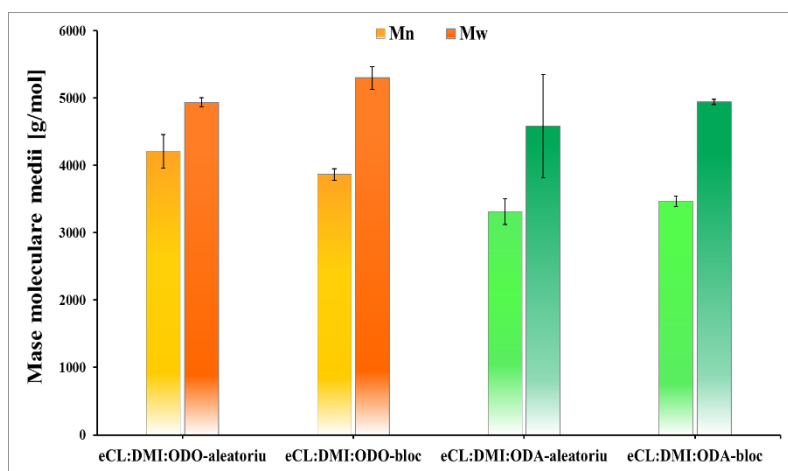


Figura 6. Masele moleculare medii pentru copolimerii aleatorii și bloc de ϵ -caprolactonă, dimetil itaconat și 1,8-octandiol și copolimeri aleatorii și bloc de ϵ -caprolactonă, dimetil itaconat și, respectiv, 1,8-octandiamină, obținuți cu Novozyme 435 într-un sistem fără solvent, la 85 °C timp de 48 de ore.

Evaluările stabilității termice efectuate prin analiza termogravimetrică (TGA) au oferit informații suplimentare asupra performanței termice a polimerilor sintetizați, dezvăluind variații ale profilurilor de degradare și stabilității termice asociate cu monomerii și structurile obținute, majoritatea compușilor fiind stabili termic până la 300 °C.

În concluzie, această investigație amplă evidențiază potențialul sintezei enzimatică de a genera poliesteri și poliesteramide noi și funcționale din resurse regenerabile. Rezultatele implică faptul că selecția țintită a monomerilor, în special atunci când sunt combinate într-o abordare sistematică, poate modifica caracteristicile produșilor finali de polimerizare, în special

în ceea ce privește stabilitatea termică și biodegradabilitatea. Configurațiile aleatoare ale terpolimerilor au prezentat, în general, proprietăți superioare în comparație cu omologii lor în bloc, subliniind modul în care conformația structurală pot îmbunătăți substanțial performanța materialului.

2.6. Evaluarea biodegradabilității microbiene a oligomerilor pe bază de resurse naturale regenerabile

Materialele sintetizate au fost investigate pentru potențialul lor de a suferi depolimerizare microbiană, un proces facilitat în principal de scindarea legăturilor esterice care sunt prezente în mod inerent în structurile lor. Aceste legături esterice prezintă susceptibilitate la hidroliză enzimatică, procesul prin care microorganismele descompun substanțele complexe în metaboliți mai simpli, făcând aceste materiale pe bază de resurse regenerabile candidați potriviți pentru biodegradare [13]. Un parametru critic în evaluarea biodegradabilității acestor polimeri este cererea biochimică de oxigen (BOD), care cuantifică oxigenul consumat de microorganismele în timpul degradării [14]. Pentru a evalua biodegradabilitatea oligoesterilor și oligoesteramidelor sintetizați enzimatic, măsurătorile BOD au fost efectuate folosind sistemele OxiTop® control S6, special concepute pentru monitorizarea biodegradării aerobe. Aceste sisteme permit urmărirea continuă a consumului de oxigen la intervale de 24 de ore, oferind perspective asupra eficienței cu care oligomerii derivați din surse regenerabile pot fi descompusi prin acțiunea microbiană.

Pentru co-oligomerii creați din ϵ -caprolactonă și acid L-malic și homo-oligomerii ϵ -caprolactonei. Rezultatele au demonstrat că ambele tipuri de produți au prezentat o biodegradabilitate ridicată, după corelarea cu valorile BOD. În special, încorporarea acidului malic în structura ϵ -caprolactonei a condus la o creștere a cererii de oxigen pentru oxidarea completă. În plus, investigațiile ulterioare asupra comportamentelor de biodegradare ale oligoesteramidelor sintetizate din ϵ -caprolactamă și diverși hidroxi acizi au relevat o tendință similară. Interacțiunile metabolice cu microorganismele prezente în apa râului au reflectat un grad ridicat de biodegradabilitate, inserția în lanțul oligomeric a diferiților hidroxi acizi influențând valorile BOD înregistrate. Mai exact, oligoesteramidele pe bază de ϵ -caprolactamă și acid 5-hidroximetil-2-furancarboxilic au prezentat cele mai mari valori BOD, confirmând și mai mult potențialul lor de biodegradare.

În cazul terpolimerilor sintetizați din ϵ -caprolactonă, atât copolimerii bloc cât și copolimerii aleatorii au fost evaluați pentru biodegradabilitatea lor. Rezultatele prezentate în Figura 7 au indicat valorile mai ridicate pentru BOD măsurate pentru copolimerii bloc obținuți din ϵ -caprolactonă și adipat de dimetil cu 1,8-octandiol sau 1,8-octandiamină.

Această constatare este semnificativă deoarece corelează copolimerii care integrează o fracțiune substanțială a segmentelor de policaprolactonă cu o mai mare susceptibilitate la degradarea microbiană, similar comportamentului de biodegradare observat al homo-oligomerului. În ceea ce privește condițiile de reacție care afectează biodegradabilitatea, copolimerii aleatorii pe bază de ϵ -caprolactonă și dimetil itaconat au demonstrat cele mai favorabile performanțe, atingând procente mari de biodegradare. Această observație subliniază rolul monomerilor specifici, în acest caz, dimetil itaconatul, în facilitarea biodegradării.

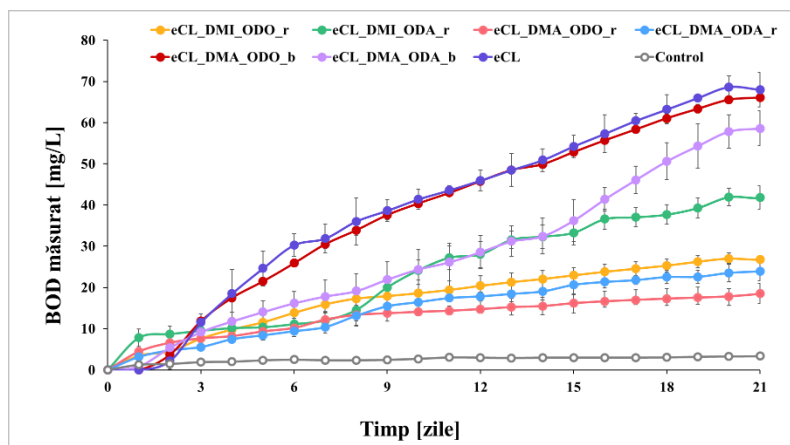


Figura 7. Consumul biochimic de oxigen (BOD) monitorizat utilizând sistemele OxiTop pe o perioadă de 30 de zile pentru a monitoriza degradarea microbiologică a produșilor aleatorii ai ϵ -caprolactonei co-polimerizate cu itaconat de dimetil și fie 1,8-octandiol (portocaliu) fie 1,8-octanediamne (verde), produșii aleatorii ai ϵ -caprolactonei copolimerizate cu adipat de dimetil și fie 1,8-octandiol (roz), fie 1,8-octandiamne (albastru deschis), produșii bloc ai ϵ -caprolactonei copolimerizate cu adipat de dimetil și fie 1,8-octandiol (roșu), fie 1,8-octandiamne (albastru închis), și homo-oligomerul ϵ -caprolactonei în comparație cu proba martor (gri).

Gradul de biodegradabilitate (D_t), calculat după 21 de zile de incubație, a ilustrat faptul că produșii de polimerizare enzimatică obținuți folosind monomeri pe bază de resurse regenerabile demonstrează o biodegradabilitate substanțială. De exemplu, copolimerii bloc care conțin adipat de dimetil și 1,8-octandiol au obținut o degradare completă, confirmând eficacitatea lor ca materiale biodegradabile. Acest lucru indică un potențial semnificativ pentru acești polimeri de a fi folosiți în aplicații cu impact redus asupra mediului, cum ar fi materialele de ambalare sau matricele destinate încapsulării compușilor bioactivi.

2.8. Evaluarea noilor oligoesteramide pentru nanoparticulele încapsulate cu compuși bioactivi

Potențiala utilizare a oligomerilor sintetizați în acest studiu pentru obținerea de nanoparticule încapsulate cu compuși bioactivi a fost evaluată la Institutul de Chimie a Materialelor și Mediului, Centrul de Cercetare pentru Științe Naturale din Budapesta, Ungaria. Experimentele privind prepararea nanoparticulelor, încapsularea unui compus medicamentos și eliberarea controlată a acestuia au fost efectuate pentru produsul ϵ -CM:16HHDA din clasa oligoesteramidelor, care se caracterizează prin proprietăți structurale favorabile și lipsa de solubilitate în apă. Testele au fost incluse într-o teză de doctorat susținută la Universitatea Pannonia din Veszprém (Ungaria).

3. Secțiunea experimentală: Această secțiune enumeră toate metodologiile și materialele utilizate pentru teza de doctorat într-o manieră cuprinzătoare.

4. Concluzii finale: Această secțiune rezumă cele mai importante rezultate ale acestui studiu, și anume:

1. Prezentarea generală a literaturii, menționată la începutul tezei de doctorat, a subliniat relevanța biocatalizei în producția industrială de poliesteri/oligoesteri și poliesteramide/oligoesteramide în dezvoltarea unui proces de producție durabil în contextul unei bioeconomii emergente.

2. Au fost obținuți oligoesteri liniari și ciclici noi prin cataliza enzimatică utilizând ϵ -caprolactonă (ϵ -CL) și acid D,L/L-malic (D,L-MA/L-MA).

3. Oligoesteramide noi (OEAs) derivate din ϵ -caprolactamă și patru acizi hidroxilici

distinți (acid L-malic - MA, acid 3-hidroxi-butiric - 3HBA, acid 16-hidroxi-hexadecanoic - 16HHDA și acid 12-hidroxi-stearic - 12HSA) au fost sintetizate explorând diverse condiții de reacție.

4. Potențialul de sinteză enzimatică a oligoesteramidelor aromatice folosind ϵ -caprolactam (ϵ -CM) și 5-hidroxi-metil-2-furancarboxilic (5HMFCA) ca monomeri a fost explorat.

5. Sinteza enzimatică și chimică a produșilor care încorporează ϵ -caprolactona (ϵ -CL) și aminoacizi (serină, lizină, arginină) cu rezultate incluzând oligomeri liniari sau ciclici a fost realizată cu succes.

6. Sinteza enzimatică a terpolimerilor aleatorii și bloc din unități derivate din resurse naturale regenerabile sau potențial derivate din resurse naturale regenerabile, respectiv ϵ -caprolactonă (ϵ -CL) cu dimetil itaconat (DMI) sau dimetil adipat (DMA) și 1,8-octanediol (ODO) sau 1,8-octanediamină (ODA) a fost realizată cu succes.

7. Biodegradabilitatea microbiană a 14 oligomeri și terpolimeri a fost evaluată pe o perioadă de 21 de zile utilizând un inocul din râul Bega, România, toți produșii de reacție prezentând biodegradabilitate, până la degradare completă.

8. Produsul din clasa oligoesteramidelor ϵ -CM:16HHDA prezintă o potențială aplicații farmaceutice, deservind ca matrice inovatoare pentru încapsularea medicamentelor, rezultatele fiind testate de o echipă de cercetare parteneră.

Contribuții originale:

1. Utilizând materii prime provenite din resurse regenerabile precum ϵ -caprolactonă, ϵ -caprolactamă, acid D,L/L-malic, 3-hidroxi-butiric, 16-hidroxi-hexadecanoic, 12-hidroxi-stearic și 5-hidroxi-metil-2-furancarboxilic, dimetil adipat și dimetil itaconat, sinteza enzimatică a 14 co-oligomeri noi și terpolimeri aleatorii/bloc a fost realizată, produșii fiind raportați pentru prima dată în literatură, realizând-se și sinteza enzimatică a 6 homo-oligoesterei.
2. Sinteza enzimatică a oligoesteramidelor derivate din ϵ -caprolactamă a fost realizată pentru prima dată.
3. Evaluarea a 15 formulări enzimatică, disponibile comercial sau stabilizate în laborator, pentru sinteza oligoesteramidelor derivate din ϵ -caprolactamă cu acizi hidroxilici.
4. Demonstrarea selectivității lipazelor (lipaza B *Candida antarctica* și lipaza din *Pseudomonas stutzeri*) pentru sinteza speciilor de oligoesteramide, lipaza din *Pseudomonas stutzeri* imobilizată fiind folosită pentru prima dată în sinteza oligoesteramidelor.
5. Primul studiu comparativ al sintezei polimerice enzimatică prin strategii de co-polimerizare random și bloc, și o abordare inovatoare de combinare a polimerizării cu deschidere de ciclu cu policondensarea.
6. Optimizarea polimerizării enzimatică cu deschidere de ciclu a ϵ -caprolactonei a fost realizată, identificând adăugarea a 10% apă ca fiind cel mai eficient inițiator.
7. Confirmarea structurală a produșilor oligomerici/polimerici sintetizate a fost realizată prin metode avansate cum ar fi spectrometria de masă MALDI-TOF-MS și cromatografia de excluziune sterică.
8. Prezența atât a legăturilor esterice, cât și amidice în arhitectura chimică a poliesterilor/oligoesterilor și poliesteramidelor/oligoesteramidelor a fost evaluată utilizând spectroscopia ^1H , ^{13}C și 2D NMR.
9. Reactivitatea chimică în reacția de polimerizare enzimatică a grupării vinil din structura dimetil itaconatului (DMI) a fost clarificată, observând că această grupă funcțională este prezervată când este DMI est co-polimerizat cu dioli și reactivă când este co-polimerizat cu diamine, formând structuri pirolidonice.
10. Stabilitatea operațională a lipazei *Candida antarctica* B imobilizată pe rășină acrilică în

sinteza oligoesterilor și oligoesteramidelor a fost demonstrată pentru 8 până la 13 cicluri de reacție.

11. Parametrii care influențează sinteza oligoesterilor/poliesterilor și oligoesteramidelor/poliesteramidelor au fost evaluați și optimizați pentru a crește eficiența procesului, utilizând tehnici analitice moderne, inclusiv metode statistice precum Designul Experimentelor (DoE).
12. Proprietățile termice ale co-oligomerilor și terpolimerilor noi sintetizate au fost analizate, demonstrând o stabilitate termică de până la 360 °C pentru structurile în bloc.
13. 14 dintre produșii oligomerici și terpolimerici sintetizați enzimatic prezintă proprietăți promițătoare de biodegradabilitate, după 21 de zile evaluare pentru descompunerea microbiană.
14. Cel mai eficient sistem de oligoesteramide derivat din ϵ -caprolactamă, anume ϵ -CM:16HHDA, demonstrează, de asemenea, un bun potențial pentru a fi utilizat în aplicații farmaceutice ca o matrice inovatoare pentru încapsularea medicamentelor, în urma unei testări efectuată de o echipă de cercetare colaboratoare.

Rezultatele obținute în această teză au fost publicate în trei articole științifice (două ca prim autor) în reviste internaționale de înaltă relevanță (Processes, Reactive and Functional Polymers, International Journal of Biological Macromolecules) și au fost prezentate la 6 conferințe internaționale în domeniul biocatalizei și biotehnologiei industriale, așa cum este menționat în lista de publicații.

Bibliografie

[1] European Commission. Directorate General for Environment. and NORION Consult., “Synopsis report on the consultation on the policy framework on biobased, bio-degradable and compostable plastic.” Publications Office, LU, 2022. Accesat: Mai 11, 2024. [Online]. Disponibil: <https://data.europa.eu/doi/10.2779/126536>

[2] A. Pellis, M. Malinconico, A. Guarneri, and L. Gardossi, “Renewable polymers and plastics: Performance beyond the green,” *New Biotechnology*, vol. 60, pp. 146–158, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.nbt.2020.10.003.

[3] C. Dourado Fernandes, B. Francisco Oechsler, C. Sayer, D. De Oliveira, and P. H. Hermes De Araújo, “Recent advances and challenges on enzymatic synthesis of biobased polyesters via polycondensation,” *European Polymer Journal*, vol. 169, p. 111132, 2022, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111132.

[4] N. Kasmi, C. Pinel, D. Da Silva Perez, R. Dieden, and Y. Habibi, “Synthesis and characterization of fully biobased polyesters with tunable branched architectures,” *Polym. Chem.*, vol. 12, no. 7, pp. 991–1001, 2021, doi: 10.1039/D0PY01512A.

[5] M. Nikulin and V. Švedas, “Prospects of Using Biocatalysis for the Synthesis and Modification of Polymers,” *Molecules*, vol. 26, no. 9, p. 2750, 2021, doi: 10.3390/molecules26092750.

[6] J.-G. Rosenboom, R. Langer, and G. Traverso, “Bioplastics for a circular economy,” *Nature Reviews Materials*, vol. 7, no. 2, pp. 117–137, 2022, doi: 10.1038/s41578-021-00407-8.

[7] R. A. Sheldon and D. Brady, “Green Chemistry, Biocatalysis, and the Chemical Industry of the Future,” *ChemSusChem*, vol. 15, no. e202102628, 2022, doi: doi.org/10.1002/cssc.202102628.

[8] J. Kadokawa and S. Kobayashi, “Polymer synthesis by enzymatic catalysis,” *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 14, no. 2, pp. 145–153, 2010, doi: 10.1016/j.cbpa.2009.11.020.

- [9] C. I. Gkountela and S. N. Vouyiouka, “Enzymatic Polymerization as a Green Approach to Synthesizing Bio-Based Polyesters,” *Macromol*, vol. 2, pp. 30–57, 2022, doi: 10.3390/macromol2010003.
- [10] Q. Zhang, M. Song, Y. Xu, W. Wang, Z. Wang, and L. Zhang, “Bio-based polyesters: Recent progress and future prospects,” *Progress in Polymer Science*, vol. 120, p. 101430, 2021, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2021.101430.
- [11] A. Todea, D. M. Dreavă, I. C. Benea, I. Bitcan, F. Peter, and C. G. Boeriu, “Achievements and Trends in Biocatalytic Synthesis of Specialty Polymers from Biomass-Derived Monomers Using Lipases,” *Processes*, vol. 9, no. 4, p. 646, 2021, doi: 10.3390/pr9040646.
- [12] M. Winnacker *et al.*, “Sustainable Polyesteramides and Copolyamides: Insights into the Copolymerization Behavior of Terpene-Based Lactams,” *Macromolecular Chemistry and Physics*, vol. 221, no. 12, p. 2000110, 2020, doi: 10.1002/macp.202000110.
- [13] N. Lucas, C. Bienaime, C. Belloy, M. Queneudec, F. Silvestre, and J.-E. Nava-Saucedo, “Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – A review,” *Chemosphere*, vol. 73, no. 4, pp. 429–442, 2008, doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.064.
- [14] F. Zappaterra *et al.*, “Understanding Marine Biodegradation of Bio-Based Oligoesters and Plasticizers,” *Polymers*, vol. 15, no. 6, p. 1536, 2023, doi: 10.3390/polym15061536.