

(19)



URZĄD  
PATENTOWY  
RZECZYPOSPOLITEJ  
POLSKIEJ

(10) **PL 242589 B1**

(12)

## Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **435613**

(22) Data zgłoszenia: **2020.10.07**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.04.11 BUP 15/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.03.13 WUP 11/2023**

(51) MKP:

**C08B 15/05** (2006.01)

**C08L 1/28** (2006.01)

**C08K 3/20** (2006.01)

**C08J 3/20** (2006.01)

**C12Q 1/00** (2006.01)

**B01J 20/06** (2006.01)

**B01J 20/26** (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**POLITECHNIKA POZNAŃSKA, Poznań, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**JAKUB ZDARTA, Tarnowo Podgórne, PL**

**KAROLINA BACHOSZ, Gostyń, PL**

**TEOFIL JESIONOWSKI, Poznań, PL**

(74) Pełnomocnik:

**Marcin Walkowiak, Dobra, PL**

(54) Tytuł:

**Materiał hybrydowy przeznaczony korzystnie do immobilizacji enzymów  
oraz sposób jego wytworzenia**

**PL 242589 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest multifunkcyjny materiał hybrydowy przeznaczony korzystnie do immobilizacji enzymów oraz sposób jego wytworzenia.

Karboksymetyloceluloza (CMC, łac. *Carboxymethylcellulosum*) jest polimerem, półsyntetyczną pochodną celulozy, która otrzymywana jest zazwyczaj w reakcji przyłączenia grupy karboksymetylowej (-CH<sub>2</sub>-COOH) do jednej z reszt glukopiranozowych łańcucha celulozy w reakcji z chloroetanem sodu, stąd często spotykana i używana jest jako sól sodowa [L. Jiang, Y. Li, X. Wang, L. Zhang, J. Wen, M. Gong, *Preparation and properties of nano-hydroxyapatite/chitosan/carboxymethyl cellulose composite scaffold*, Carbohydrate Polymers, 74 (2008) 680–684]. Karboksymetyloceluloza jest białym lub lekko żółtym, bezwonny proszkiem, dobrze rozpuszczalnym w wodzie, który jest także zdolny do adsorpcji światła. Ze względu na swoje pochodzenie CMC jest także biokompatybilna i nie stanowi zagrożenia dla organizmów żywych oraz komórek, zarówno roślinnych, jak i zwierzęcych. Istotną cechą tej substancji są także jej bardzo dobrze rozwinięte właściwości stabilizujące, wiążące oraz błonotwórcze. Stąd bardzo powszechne wykorzystanie karboksymetylocelulozy w przemyśle spożywczym, kosmetycznym, a także farmaceutycznym, gdzie stanowi istotny składnik zagęszczający w produktach spożywczych, kosmetykach, a nawet lekach [J.-F. Su, Z. Huang, X.-Y. Yuan, X.-Y. Wang, M. Li, *Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions*, Carbohydrate Polymers, 79 (2010) 145–153]. Karboksymetyloceluloza jako powszechnie dostępny, łatwy do otrzymania półsyntetyczny polimer, a także ze względu na szereg cennych i unikatowych właściwości może znaleźć zastosowanie także w innych dziedzinach nauki i gałęziach przemysłu. Obecnie, celem realizowanych badań naukowych jest wskazanie potencjalnych, nowych kierunków wykorzystania karboksymetylocelulozy, oraz substancji powstałych w oparciu o nią.

W celu rozpowszechnienia użycia CMC podejmuje się próby łączenia tego związku z substancjami nieorganicznymi, jak np. tlenki metali. Jednym z takich tlenków jest tlenek irydu(IV), najtrwalszy i najlepiej poznany tlenek irydu, który występuje pod postacią niebiesko-czarnego ciała stałego. Ze względu na swoje właściwości wykorzystuje się go głównie do produkcji elektrod, do analiz płynów fizjologicznych oraz w elektrolizie przemysłowej do powlekania elektrod anodowych [S.F. Cogan, *Neural stimulation and recording electrodes*, Annual Review of Biomedical Engineering, 10 (2008) 275–309]. Zrealizowane dotąd prace dotyczące właściwości tlenku irydu(IV) wskazują także, że istotnymi czynnikami, na etapie syntezy tlenku, warunkującymi powstanie odpowiednio aktywnego elektrochemicznie IrO<sub>2</sub>, jest początkowe stężenie chlorkowych soli irydu (IrCl<sub>3</sub>), jak i szybkość utleniania jonów Ir<sup>3+</sup> do Ir<sup>4+</sup> [Yu.E. Roginskaya, T.V. Varlamova, M.D. Goldstein, I.D. Belova, B.Sh. Galyamov, R.R. Shifrina, V.A. Shepelin, V.N. Rateev, *Formation, structure and electrochemical properties of IrO<sub>2</sub>-RuO<sub>2</sub> oxide electrodes*, Materials Chemistry and Physics, 30 (1991) 101–113]. Ponadto IrO<sub>2</sub> charakteryzuje się wysoką stabilnością termiczną oraz odpornością mechaniczną, co czyni go interesującym pod kątem wykorzystania do syntezy materiałów hybrydowych.

Termin materiały hybrydowe został zdefiniowany przez Międzynarodową Unię Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC) i jest rozumiany jako materiały składające się z jednorodnej mieszaniny składników organicznych i nieorganicznych lub obu typów tych substancji. Dodatkowo warto odnotować, że fazy te zazwyczaj przenikają się wzajemnie w skali mniejszej niż 1 μm [R. Jones, *Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC recommendations 2007)*, Pure and Applied Chemistry, 79 (2007) 1801–1829]. Najważniejszą zaletą materiałów hybrydowych jest możliwość tworzenia układów o właściwościach, które nie są charakterystyczne dla związków organicznych ani nieorganicznych występujących samodzielnie. Możliwe jest na przykład uzyskanie materiału elastycznego, równocześnie posiadającego dobre wytrzymałości mechaniczne. W oparciu o tę wiedzę można produkować szeroką gamę nowych funkcjonalizowanych materiałów o ściśle zdefiniowanych właściwościach [Y. Chujo, *Organic-inorganic nano-hybrid materials*, Kona: Powder and Particle Journal, 25 (2007) 255–260]. Materiały hybrydowe nie są jednak wyłącznie alternatywą do syntezy nowych związków, ponieważ ich technologia pozwala także na rozwój innowacyjnych i nietypowych zastosowań przemysłowych. W oparciu o te doniesienia można zatem stwierdzić, że jest to nowa generacja materiałów, która może znacząco wpłynąć na rozwój wielu dziedzin nauki oraz przemysłu, np. optyki, elektroniki, mechaniki, biologii czy medycyny. Potencjalnie najszersze zastosowanie układy hybrydowe mogą znaleźć jako membrany i urządzenia separujące, funkcjonalne powłoki, paliwa, ogniwa słoneczne, czy nośniki dla enzymów. Potencjał komercyjny

wykazują przede wszystkim materiały charakteryzujące się aktywnością optyczną, fotostabilnością oraz szybką odpowiedzią fotochromową, jak również bioaktywne hybrydy, znajdujące zastosowanie w biotechnologii, w produkcji biosensorów, bioreaktorów czy przede wszystkim biokatalizatorów [C. Sanchez, B. Julian-Lopez, P. Belleville, M. Popall, *Application of hybrid organic–inorganic nanocomposites*, *Journal of Materials Chemistry*, 15 (2005) 3559–3592].

Brak jest w literaturze doniesień na temat syntezy materiału hybrydowego tlenek irydu(IV)-karboksymetyloceluloza, chociaż istnieją doniesienia literaturowe na temat wykorzystania  $\text{IrO}_2$  lub CMC, niezależnie od siebie, do wytwarzania różnego rodzaju materiałów kompozytowych i hybrydowych. Jakkolwiek dostępne są dane literaturowe na temat syntezy materiałów hybrydowych, w których jednym z komponentów jest tlenek irydu(IV) albo karboksymetyloceluloza, brak jednak informacji na temat syntezy materiałów zawierających oba komponenty łącznie. Tym samym układ materiału hybrydowego tlenek irydu(IV)-karboksymetyloceluloza, cechuje się unikalnością jako materiał o wysokiej stabilności chemicznej i termicznej, odporności mechanicznej, a także zawierający w swojej strukturze wiele reaktywnych grup funkcyjnych.

Właściwości fizykochemiczne obu prekursorów wskazują na możliwość połączenia obu materiałów, jednak zrealizowane prace wykazały znaczne trudności w efektywnej syntezie materiału hybrydowego. Co więcej wytworzenie materiału o pożądanym właściwościach, korzystnie do zastosowania w immobilizacji enzymów, jest procesem czasochłonnym i wymagającym szeregu czynności eksperymentalnych.

Istotą wynalazku są multifunkcjonalne materiały hybrydowe tlenek irydu(IV)-karboksymetyloceluloza o zmiennym stosunku wagowym obu prekursorów w całej kompozycji, w zakresie od 1:5 do 5:1, korzystnie 1:1.

Istotą wynalazku jest także sposób wytworzenia materiału hybrydowego przeznaczonego korzystnie do immobilizacji enzymów, w którym prekursor w postaci tlenku irydu(IV) oraz karboksymetylocelulozy o zmienny stosunku wagowym tlenku irydu(IV) do karboksymetylocelulozy od 1:5 do 5:1, korzystnie 1:1, poddaje się mechanicznemu rozcieraniu z jednoczesnym mieszaniem, w korzystnym czasie 12 h. Następnie zaś suszeniu w temperaturze  $105^\circ\text{C}$  w czasie od 20 h do 26 h, korzystnie 24 h.

Dzięki zastosowaniu rozwiązania według wynalazku uzyskano następujące efekty techniczno-użytkowe:

- otrzymane materiały hybrydowe charakteryzują się zdefiniowanymi właściwościami dyspersyjno-morfologicznymi,
- otrzymane materiały hybrydowe odznaczające się zmiennym stosunkiem wagowym tlenku irydu(IV) do karboksymetylocelulozy oraz zawierają w swojej strukturze i na swojej powierzchni zmienne ilości grup funkcyjnych (grupy hydroksylowe i grupy karbonylowe),
- polepszenie stabilności termicznej i chemicznej w szerokim zakresie pH i temperatury oraz odporności mechanicznej, w porównaniu do wyjściowych materiałów,
- uzyskanie jednorodnych układów, które odznaczają się zarówno wysokim powinowactwem do enzymów (obecność karboksymetyloceluloza), jak i dobrymi właściwościami elektrochemicznymi (obecność tlenku irydu(IV)),
- zastosowanie powstałego materiału hybrydowego w procesie immobilizacji lakazy z *Trametes versicolor* pozwala na znaczne zwiększenie wydajności procesu unieruchamiania tego enzymu, o około 25–30%, w porównaniu do wykorzystania prekursorów osobno, co znacznie podnosi sprawność procesu oraz ogranicza straty enzymu związane z nieefektywną immobilizacją,
- wytworzenie stabilnego systemu biokatalitycznego z unieruchomionym enzymem, który charakteryzuje się zachowaniem aktywności katalitycznej na poziomie ponad 80% w trakcie następujących po sobie cykli reakcyjnych.

Wynalazek ilustrują poniższe przykłady:

#### Przykład I

W celu połączenia tlenku irydu(IV) z karboksymetylocelulozą zaproponowano proces mechanicznego rozcierania prekursorów z jednoczesnym ich wymieszaniem stosując młyn kulowy. Do 1 g karboksymetylocelulozy dodano 200 mg tlenku irydu(IV) (stosunek wagowy prekursorów 5:1), a następnie tak przygotowany układ umieszczono w młynie kulowym. W celu uzyskania odpowiedniej jednorodności finalnego materiału hybrydowego rozcieranie prowadzono przez 12 h, a po zakończonym

procesie rozcierania z jednoczesnym wymieszaniem, układ suszono w suszarce stacjonarnej w temperaturze 105°C przez ok. 24 h.

Na fig. 1a przedstawiono zdjęcie ze skaningowego mikroskopu elektronowego materiału hybrydowego tlenku irydu(IV) z karboksymetylocelulozą 5:1, a na fig. 1b przedstawiono widmo otrzymane dzięki zastosowaniu spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera dla wspomnianego materiału. Na widmie FTIR widoczne są wyraźne sygnały generowane przez oba prekursorzy, co wskazuje na efektywność połączenia obu materiałów, a także wskazuje na możliwość wykorzystania otrzymanego układu jako nowatorskiego nośnika w procesie immobilizacji enzymów.

#### Przykład II

W celu połączenia tlenku irydu(IV) z karboksymetylocelulozą zaproponowano proces mechanicznego rozcierania prekursorów z jednoczesnym ich wymieszaniem stosując młyn kulowy. Do 200 mg karboksymetylocelulozy dodano 1 g tlenku irydu(IV) (stosunek wagowy prekursorów 1:5), a następnie tak przygotowany układ umieszczono w młynie kulowym. W celu uzyskania odpowiedniej jednorodności finalnego materiału hybrydowego rozcieranie prowadzono przez 12 h, a po zakończonym procesie rozcierania z jednoczesnym wymieszaniem, układ suszono w suszarce stacjonarnej w temperaturze 105°C przez ok. 24 h.

Na fig. 2a przedstawiono zdjęcie ze skaningowego mikroskopu elektronowego materiału hybrydowego tlenku irydu(IV) z karboksymetylocelulozą 1:5, a na fig. 2b przedstawiono widmo otrzymane dzięki zastosowaniu spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera dla wspomnianego materiału. Na widmie FTIR widoczne są wyraźne sygnały generowane przez oba prekursorzy, co wskazuje na efektywność połączenia obu materiałów, a także wskazuje na możliwość wykorzystania otrzymanego układu jako nowatorskiego nośnika w procesie immobilizacji enzymów.

#### Przykład III

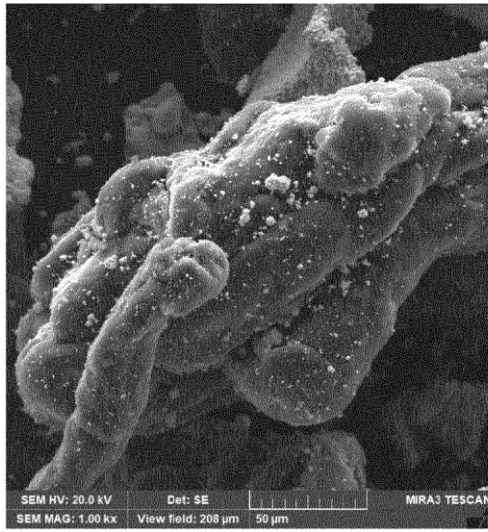
W celu połączenia tlenku irydu(IV) z karboksymetylocelulozą zaproponowano proces mechanicznego rozcierania prekursorów z jednoczesnym ich wymieszaniem stosując młyn kulowy. Do 0,5 g karboksymetylocelulozy dodano 0,5 g tlenku irydu(IV) (stosunek wagowy prekursorów 1:1), a następnie tak przygotowany układ umieszczono w młynie kulowym. W celu uzyskania odpowiedniej jednorodności finalnego materiału hybrydowego rozcieranie prowadzono przez 12 h, a po zakończonym procesie rozcierania z jednoczesnym wymieszaniem, układ suszono w suszarce stacjonarnej w temperaturze 105°C przez ok. 24 h.

Na fig. 3a przedstawiono zdjęcie ze skaningowego mikroskopu elektronowego materiału hybrydowego tlenku irydu(IV) z karboksymetylocelulozą 1:1, a na fig. 3b przedstawiono widmo otrzymane dzięki zastosowaniu spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera dla wspomnianego materiału. Na widmie FTIR widoczne są wyraźne sygnały generowane przez oba prekursorzy, co wskazuje na efektywność połączenia obu materiałów, a także wskazuje na możliwość wykorzystania otrzymanego układu jako nowatorskiego nośnika w procesie immobilizacji enzymów.

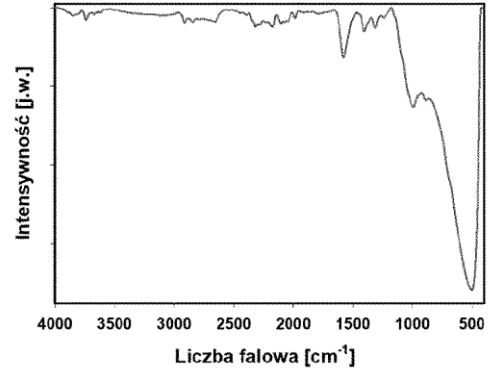
### Zastrzeżenia patentowe

1. Materiał hybrydowy przeznaczony korzystnie do immobilizacji enzymów, **znamienny tym**, że stanowi go układ tlenek irydu(IV)-karboksymetyloceluloza, w którym zmienny jest stosunek wagowy tlenku irydu(IV) do karboksymetylocelulozy od 1:5 do 5:1, korzystnie 1:1.
2. Sposób wytworzenia materiału hybrydowego przeznaczony korzystnie do immobilizacji enzymów, **znamienny tym**, że prekursorzy w postaci tlenku irydu(IV) oraz karboksymetylocelulozy o zmiennym stosunku wagowym tlenku irydu(IV) do karboksymetylocelulozy od 1:5 do 5:1, korzystnie 1:1, poddaje się mechanicznemu rozcieraniu z jednoczesnym mieszaniem, w korzystnym czasie 12 h, a następnie suszeniu w temperaturze 105°C w czasie od 20 h do 26 h, korzystnie 24 h.

Rysunki

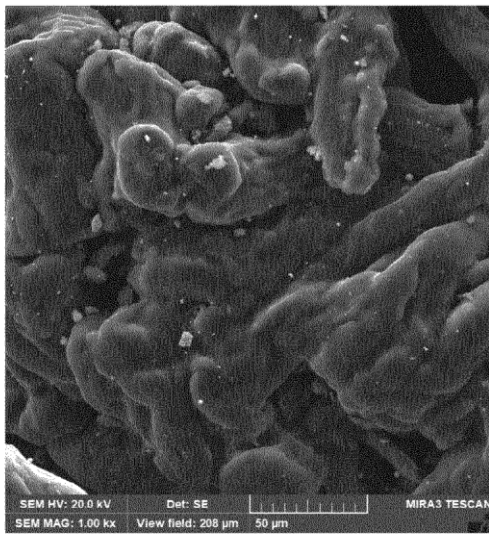


a)

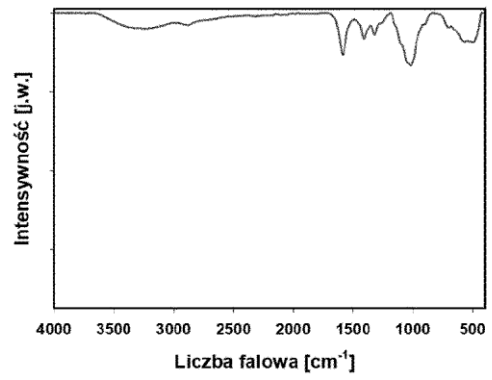


b)

fig. 1



a)

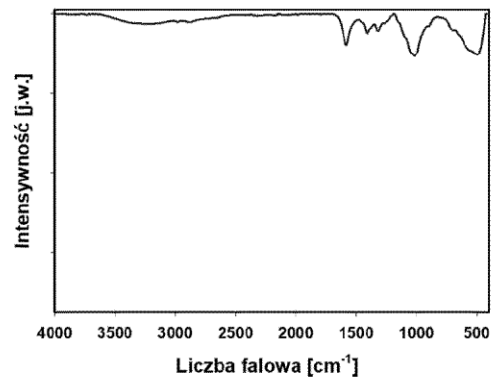


b)

fig. 2



a)



b)

fig. 3