

# ***Immobilized PET-degrading enzymes for microplastic control (detection and removal)-EnzImPet***

## **WP1. Recombinant production of various PET hydrolyzing enzymes (M1-M6)**

### **Rezumatul executiv al activităților realizate în etapa 1 (iulie-decembrie 2025)**

1. Au fost proiectate și obținute în formă pură patru enzime mutante ale LCC
2. Studiul profilului de stabilitate termică a enzimelor e evidențiat stabilitatea diminuată a enzimelor mutante comparativ cu cea nativă, ceea ce indică un alt mod de împachetare, ca rezultat al mutațiilor efectuate
3. Au fost dezvoltate două metode exacte și sensibile de monitorizare a procesului de hidroliză enzimatică a PET, prin spectroscopie UV-VIS (la 235 nm) și HPLC (cu standard intern)

Metoda HPLC a fost îmbunătățită prin utilizarea unui standard intern (cafeina) care a permis monitorizarea distribuției molare și a conținutului relativ al produșilor reacției de hidroliză a PET pe un interval larg de concentrații cu o limită de detecție de 400 de ori mai mică decât activitatea de degradare a PET-ului raportată de cele mai performante PET-hidrolaze: LCC și FAST-PETase. Metoda bazată pe spectrometrie UV-Vis a fost optimizată și utilizată pentru validarea încrucișată a valorilor obținute cu metoda HPLC îmbunătățită. Valorile activităților specifice furnizate de cele două metode au fost similare.

4. S-a realizat diseminarea rezultatelor parțiale prin participarea la o conferință internațională (RomCat 2025)
5. Enzimele obținute au fost testate în procesul de hidroliză; două dintre ele (una cu activitate similară și alta cu activitate mult mai mare decât enzima nativă) au fost selectate în vederea realizării imobilizării acestora pentru a dezvolta procese de eliminare în flux continuu a microPET
6. Pentru imobilizare au fost studiate nanomaterialele: nanotuburi de carbon monostrat și nanoparticule magnetice acoperite cu aminosilani, funcționalizate cu catene cu hidrofobicitate variabilă (rest de glicerol-doglicidil eter sau ciclohexil-glicidileter), care ar putea favoriza interacția PET cu enzima asigurând astfel degradarea mai rapidă a polimerului
7. Nanomaterialele utilizate ca suport și biocatalizatorul obținut prin imobilizarea enzimei native au fost studiate prin analiză termogravimetrică