

Povzetek

Med produkti biotehnologije predstavljajo encimi zelo pomemben segment, saj jih uporabljamo tako v prehranski, farmacevtski, kemijski, papirni, tekstilni in kozmetični industriji, kot v medicini za terapevtske namene in diagnostiko. Razpoložljivost in cena encimov ter drugih bioproduktov pa sta v veliki meri odvisna od postopka izolacije, saj lahko zaključni procesi predstavljajo tudi do 90 % stroškov biotehnološkega procesa. Ekstrakcije z dvofaznimi vodnimi sistemi so zanimiva alternativa konvencionalnim metodam, predvsem zaradi manjšega obremenjevanja okolja v primerjavi z uporabo organskih topil, ohranjanja stabilnosti in aktivnosti biomolekul ter nizke porabe energije.

Namen pričujoče doktorske disertacije sta razvoj kontinuirne ekstrakcije z dvofaznimi vodnimi sistemi v mikrofluidnih napravah in nadaljnja integracija procesa izolacije z membranskimi procesi. V preliminarnih študijah, ki smo jih opravili s komercialnimi pripravki govejega serumskega albumina (BSA) ter encimov α -amilaze in lakaze, smo raziskali vpliv dejavnikov, kot so sestava dvofaznega vodnega sistema, pH in temperatura na učinkovitost ekstrakcije izbrane biomolekule. Poleg konvencionalnih dvofaznih vodnih sistemov s polietilen glikolom in različnimi solmi smo pripravili tudi dvofazni vodni sistem z ionsko kapljevino [Bmim][BF₄] in D-fruktozo, s čimer smo izrazito izboljšali učinkovitost ekstrakcije proteina BSA v mikrofluidni napravi. Testirali smo več različnih konfiguracij mikrofluidnih naprav z različnimi tokovnimi režimi. Pri ekstrakciji s paralelnim tokom smo ločili faze na izstopu iz Y- in ψ -oblikovanih vstopnih in izstopnih mikrokanalov. Pri segmentiranem tokovnem režimu, ki smo ga pridobili v mikrofluidnih napravah z X- ali T-stičiščem, smo za ločevanje faz izdelali mikrousedalnik.

Ekstrakcijo proteinov z dvofaznimi vodnimi sistemi v mikrofluidnih napravah smo matematično opisali in s pomočjo ustreznih numeričnih metod modelne enačbe tudi rešili. Matematični model smo validirali z eksperimentalnimi meritvami. Za natančno študijo transportnih pojavov v mikrofluidnih napravah pri paralelnem in segmentiranem toku smo razvili analizo metodo za *on-*

line spremljanje koncentracije komponent v mikrokanalih s termično lasersko spektrometrijo (TLS).

V zaključnem delu študije smo razvili integriran sistem začetnih stopenj izolacije lakaze iz filtrata submerzne kulture glive *Trametes versicolor* Tv6 z uporabo ekstrakcije z dvofaznim vodnim sistemom v mikrofluidni napravi s segmentiranim tokom, nadaljnjim ločevanjem faz na osnovi sedimentacije v mikrousedalniku in koncentriranjem encima na osnovi miniaturizirane ultrafiltracijske naprave.

Podoben način integriranja procesov v miniaturiziranih napravah smo razvili tudi za encimsko katalizirano kontinuirno proizvodnjo izoamil acetata. Pri reakciji, ki smo jo vodili v sistemu dveh kapljev ([(Bmpyr)]₂[dca]/*n*-heptan) z raztopljeno lipazo B iz kvasovke *Candida antarctica*, smo *in-situ* ekstrahirali produkt v organsko fazo, ki smo jo v nadaljevanju ločili v integriranem membranskem separatorju. S tem smo zagotovili odlično produktivnost in možnost ponovne uporabe ionske kapljevine z encimom in na ta način razvili trajnostno naravn način proizvodnje te široko uporabljane arome.

Ključne besede: dvofazni vodni sistem, ekstrakcija, mikrofluidna naprava, proteini, matematični model