



ACADEMIA ROMÂNĂ
INSTITUTUL DE CHIMIE „CORIOLAN DRĂGULESCU”
Bd. Mihai Viteazu, nr. 24, RO-300223,
Timișoara, România
tel: 0256-491818; fax: 0256-491824



Dezvoltarea unei metode sustenabile de obținere a flavonolilor glicozilați folosind biocatalizatori imobilizați pe suporturi regenerabile

Contract nr. 87PED/2025; Etapa 1 – Perioada 05.05.2025 – 31.12.2025

LIVRABILE - Sumar de progres

Livrabile estimate Etapa 1 - 2025	Livrabile realizate Etapa 1 - 2025
- Obținerea UGTs cu potențială activitate pentru glucozilarea DHM	- S-au optimizat metodele de proiectare “in silico” a UDP-glucoziltransferazelor cu specificitatea de substrat dorită. - UDP-glucoziltransferazele au fost obținute prin expresie recombinantă și purificare în fracția solubilă, rezultând probe adecvate pentru determinarea activității enzimatice.
- Selectarea și caracterizarea preliminară a suporturilor lignocelulozice	- Au fost identificate, selectate și caracterizate, prin diverse metode, suporturi lignocelulozice obținute din deșeuri agroindustriale, precum cojile de orez și cojile de arahide.
- Protocoale de analiză	- A fost standardizată metoda de detecție și cuantificare a reactanților și produșilor de reacție - S-au elaborat protocoale pentru analiza HPLC și MS pentru separarea, identificarea și confirmarea structurii substraturilor și produșilor glicozilați.
- Realizare pagina web a proiectului	https://acad-icht.tm.edu.ro/wp/?page_id=345
- Raport tehnico-științific Etapa 1	S-a elaborat raportul tehnico-științific corespunzător Etapei 1 - 2025
- Diseminare	- 1 lucrare - prezentare orală la “31st International Symposium on Analytical and Environmental Problems”, 13-14 octombrie 2025, Szeged, Ungaria; - 1 lucrare prezentată sub forma de poster la conferința “New Trends in Chemistry Research,” 24-26 septembrie 2025, Timisoara, Romania. - Diseminare la evenimente: <i>Noaptea Cercetatorilor Europeni</i> , 26 Septembrie 2025, Campus Nokia, Timișoara.

Toate rezumatele au multumiri la proiect astfel: “This work was supported by a grant of the Ministry of Research, Innovation and Digitization, CCCDI - UEFISCDI, project number PN-IV-P7-7.1-PED-2024-2513, within PNCDI IV.”

Rezumat executiv al activităților realizate în perioada de implementare

Scopul proiectului este de a dezvolta un nou process sustenabil de obținere a flavonolilor glicozilați prin folosirea UDP-glucoziltransferazelor (UGT-uri) imobilizate pe suporturi lignocelulozice regenerabile rezultate din deșeuri agro-industriale. Impactul economic și de mediu al tehnologiei dezvoltate va fi demonstrat prin scalarea procesului de glicozilare. Originalitatea și elementele inovatoare ale proiectului consta în: (i) imobilizarea UGT-urilor pe un suporturi regenerabile rezultate din agricultură; (ii) procesul de sinteză cu impact redus asupra mediului și eficient din punct de vedere al costurilor; (iii) ingineria procesului care implică utilizarea UGT-urilor imobilizate pe materiale reziduale.

Etapă 1 - Identificarea enzimelor și selectarea suporturilor lignocelulozice pentru imobilizare. Această etapă cuprinde 4 activități principale:

A 1.1. - Predicția DHM glucoziltransferazelor

A 1.2. - Expresia și purificarea enzimelor. Partea I

A 1.3. - Selecția și caracterizarea suporturilor biodegradabile lignocelulozice. Partea I

A 1.4. - Selectarea UGTs cu activitate îmbunătățită pentru reacția de glucozilare a DHM. Partea I

Concluzii:

- Analiza de secvență a evidențiat conservarea regiunilor catalitice ale UGT-urilor și variabilitatea zonelor implicate în specificitatea de substrat.
- Studiile de modelare și andocare au evidențiat determinanții moleculari ai legării miricetinei, oferind o bază rațională pentru proiectarea de mutații destinate optimizării activității enzimatic.
- UGT92G4, CsUGT72AM1 și UGT72Z2 au fost clonate și exprimate recombinant în *E. coli* utilizând sistemul de fuziune MBP.
- Dintre cele trei enzime, expresie satisfăcătoare a fost obținută pentru CsUGT72AM1 și UGT72Z2.
- Rezultatele au indicat necesitatea optimizării condițiilor de exprimare, în special a temperaturii de inducție, pentru creșterea solubilității proteinelor.
- S-au elaborat protocoale pentru analiza HPLC și MS pentru separarea, identificarea și confirmarea structurii substraturilor și produșilor glicozilați.
- S-au selectat și caracterizat două suporturi lignocelulozice rezultate din deșeuri agro-industriale, cojile de orez și cojile de arahide.
- Compoziția chimică a celor doua materiale a fost determinată prin procedee chimice.
- Materialele testate au fost analizate prin SEM și FTIR
- Rezultatele obținute indica faptul că materialele testate au potențiale aplicații pentru imobilizarea glucoziltransferazelor.

În concluzie, toate activitățile Etapei 1 au fost realizate integral.

Director de proiect

Deveseleanu-Corici Livia Nicoleta