

MATERIALE BIOACTIVE PE BAZĂ DE ENZIME IMOBILIZATE COVALENT PE POLIMERI

REZUMAT

În prezenta teză de doctorat, sunt aduse contribuții originale privind obținerea și utilizarea compozitelor pe bază de enzime imobilizate covalent pe polimeri. Cercetarea întreprinsă a urmărit realizarea a trei obiective principale.

Primul obiectiv propus și realizat a constat în **sinteza de materiale suport pentru imobilizarea covalentă de enzime**. Folosirea polimerilor electroconductivi, precum polipirolul, în calitate de materiale suport pentru imobilizarea enzimelor este mai greu de realizat dar este preferabilă, în special pentru obținerea de biosenzori. Astfel, polipirolul a fost funcționalizat pentru de a fi utilizat în imobilizarea covalentă de enzime. A fost realizat un studiu parametric pentru a stabili efectul fiecărui parametru al reacției de funcționalizare a polipirolului asupra conversiei în această reacție. De asemenea, pentru a vedea efectul reacției de funcționalizare asupra proprietăților polipirolului au fost realizate teste prin tehnici moderne de caracterizare (FTIR, DMA, TGA, DSC). Alte două tipuri de materiale suport folosite pentru imobilizarea de enzime au fost hidrogelurile acrilice (preparate folosind acidul acrilic sau acidul metacrilic în calitate de monomeri) și membranele polimerice pe bază de acrilonitril. În cazul hidrogelurilor nu a fost necesară funcționalizarea acestora înainte de imobilizarea de enzime. Pentru membrane a fost realizată o reacție de funcționalizare înainte de imobilizare.

Pentru realizarea celui de-al doilea obiectiv - **sinteza de compozite enzimatică folosind polimerii sintetizați anterior și stabilirea efectului enzimei asupra proprietăților acestor polimeri**- au fost preparate compozite enzimatică prin imobilizarea covalentă a enzimei polifenol oxidază pe polipirol, a xilanazei și peroxidazei pe hidrogelurile acrilice și, respectiv, a tirozinazei pe membranele polimerice pe bază de acrilonitril. După sinteza compozitelor enzimatică, **a fost verificat efectul imobilizării de enzime asupra proprietăților polimerilor-suport** prin diferite tehnici moderne de caracterizare (FTIR, Spectrometrie Raman, TGA, DSC, SEM, AFM, XRD).

Al treilea obiectiv principal al tezei de doctorat a constat în **verificarea activității enzimatică a enzimei, înainte și după imobilizare**. A fost studiată activitatea enzimatică a Subtilizinei, înainte și după imobilizarea acesteia pe hidrogeluri acrilice. Scopul acestui studiu a fost de a dovedi că, și după imobilizare, enzima prezintă activitate.

BIOACTIVE MATERIALS BASED ON COVALENTLY IMMOBILIZED ENZYMES ON POLYMERS

ABSTRACT

In this doctoral thesis, original contributions concerning the obtaining and use of covalently immobilized enzymes on polymers are provided. The conducted research aimed at achieving three main objectives.

The first aimed and achieved objective consisted of the **synthesis of support materials for the covalent immobilization of enzymes**. The use of electro-conducting polymers, such as polypyrrole, as polymer supports for enzyme immobilization is more difficult to realize but preferable, especially for obtaining biosensors. Thus, polypyrrole was functionalized in order to be used for the enzyme covalent immobilization. A parametric study was conducted in order to determine the effect of each functionalization reaction parameter on the conversion in this reaction. Tests using modern characterization techniques were also performed in order to determine the effect of functionalization on the properties of polypyrrole (FTIR, DMA, TGA, DSC). Acrylic hydrogels (prepared using acrylic and methacrylic acid as monomers) and acrylonitrile-based polymer membranes represent two other types of support materials used for enzymes immobilization. Hydrogel functionalization was not needed before enzyme immobilization. For membranes, the functionalization was achieved before enzyme immobilization.

To achieve the second objective-**synthesis of enzymatic composites using the previously synthesized polymers and the determination of enzyme effect on polymers properties**- enzymatic composites were prepared by covalent immobilization of the polyphenol oxidase enzyme on polypyrrole, of xylanase and peroxidase on acrylic hydrogels and of tyrosinase, respectively, on acrylonitrile-based polymer membranes. After enzymatic composites synthesis, the effect of enzyme immobilization on the polymer properties was checked using various modern characterization techniques (**FTIR, Spectrometry Raman, TGA, DSC, SEM, AFM, XRD**).

The third objective consisted of **checking the enzymatic activity, before and after the covalent immobilization**. The enzymatic activity was studied, before and after Subtilisin immobilization, on acrylic hydrogels. The aim of this study was to prove that even after immobilization, the enzyme is still active.