

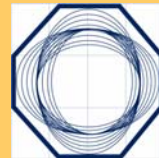
STUDIUL COMPARATIV AL IMOBILIZARII UNOR OXIDOREDUCTAZE PE SUPORTURI SUB FORMA DE FILME, MICRO- SI NANOPARTICULE



Gabriela PAUN¹, Elena NEAGU¹, Veronica MOROEANU¹,
Viorica PARVULESCU²

¹Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Științe Biologice - Centrul de Bioanaliză
Splaiul Independenței nr. 296, București, România, Tel/Fax: + 40-21-223.90.70; + 40-21-220.09.00;

² Institutul de Chimie Fizică "Ilie MURGULESCU", Spl. Independentei, Nr. 202, 060021 Bucharest, Romania



REZUMAT

Biomaterialele polimerice sintetice – simple sau compozite – constituie un subiect foarte actual și cu o dinamică deosebită, data fiind diversitatea necesităților din domeniul medical și farmaceutic.

Lucrarea prezintă studiul comparativ a imobilizării lacazei și peroxidazei (oxidoreductaze) pe suporturi polimerice sub forma de *filme*, *microparticule* și *nanoparticule* pe baza de silice (SBA15 și SBA15NH₂).

În cadrul acestei lucrări s-au obținut *două tipuri* de suporturi polimerice biocompatibile:

✓ *filme* de alginat/chitosan cu nanoparticule magnetice. Metoda de lucru adoptată pentru obținerea suporturilor sub formă de *filme* a fost inversia de fază, tehnica de evaporare controlată

✓ *microparticule* - s-au utilizat ca polimeri chitosanul și/sau alginatul de sodiu.

S-au utilizat în paralel și suporturi pe baza de silice simple și funcționalizate (SBA15 și SBA15NH₂).

Suporturile sub forma de *microparticule de alginat/chitosan* cât și suporturile pe baza de silice au fost utilizate pentru imobilizarea *peroxidazei și a lacazei* prin adsorbție pe suprafața prin: *imersarea directă* și după *activarea suporturilor* cu soluție de glutaraldehidă 25%.

S-au calculat randamentele de imobilizare ale celor două enzime *pe diferitele tipuri de suporturi*, cele mai mari randamente obținându-se în cazul *peroxidazei*, în special pe suporturile organice.

PARTE EXPERIMENTALA

Obținerea de filme și microparticule

- *Filmele polimerice* din alginat/chitosan și nanoparticule magnetice au fost obținute dintr-o soluție de chitosan 1% preparată în acid acetic 1%, la care s-a adăugat PEG 1% pentru creșterea vâscozității, agitare 2 ore până la dizolvare. În această soluție s-au adăugat nanoparticule magnetice în raport masic 2:1 (chitosan:nanoparticule), amestecul a fost sonicat timp de mai multe ore până la omogenizare.
- *Nanoparticulele magnetice* au fost obținute în prealabil prin coprecipitarea ionilor ferici și ferosi cu NH₄OH, în condiții hidrotermale și ulterior au fost funcționalizate cu aminopropilsilan – APTS.
- *Microparticulele* din chitosan, alginat, respectiv chitosan+alginat au fost obținute printr-o metodă de coacervare în mediu apos (soluție de NaOH 5% pentru obținerea microparticulelor de chitosan, respectiv soluție de CaCl₂ 0,2M pentru obținerea microparticulelor de alginat și alginat/chitosan)
- În paralel s-a lucrat și pe suporturi anorganice pe baza de silice simple și funcționalizate (SBA15 și SBA15NH₂)

Materiale necesare:

- ✓ Polimeri utilizați : chitosanul și alginatul de sodiu (ALDRICH)
- ✓ Aditiv: polietilenglicolul (PEG 20000)
- ✓ Porogen: glicerolul
- ✓ Soluții de precipitare: hidroxid de sodiu (5%), clorură de calciu 0,2 M
- ✓ Fe²⁺ și Fe³⁺
- ✓ NH₄OH
- ✓ aminopropilsilan APTS
- ✓ Peroxidase, type VI-A from horseradish (Sigma)
- ✓ Laccase from Trametes versicolor (Fluka)

Imobilizarea peroxidazei și lacazei pe suporturi

Peroxidaza și lacaza au fost imobilizate în *două moduri* diferite:

- a) pe suprafața activă a suporturilor, după activarea acestora cu glutaraldehidă 25%
- b) prin imersarea directă a suporturilor în soluția enzimatică.

Tabel 1 Randamentul de imobilizare a peroxidazei pe suporturi

Nr crt	Tip suport	Tip de activare	Masa suport, mg	A.E. UI/ suport	A.E. UI/ mg suport	Randament de imobilizare %
1	SBA15	Imersare directă	21	11,07	0,527	87,22
2	SBA15	Glutaraldehidă 2,5%	27	10,81	0,400	85,14
3	SBA-15-NH ₂	Imersare directă	30	10,87	0,362	85,6
4	microparticule de chitosan	Glutaraldehidă	37	12,09	0,326	95,2
5	microparticule de alginat /chitosan	Glutaraldehidă	38,8	11,9	0,306	93,7
6	microparticule de alginat	Glutaraldehidă	25	9,85	0,394	77,56

Tabel 2 Randamentul de imobilizare a lacazei pe suporturi

Nr crt	Tip suport	Masa suport, mg	A.E. UI/ suport	A.E. UI/ mg suport	Randament de imobilizare %
1	SBA-15	57	12,2	0,21	82,9
2	SBA-15-NH ₂	45	2	0,04	13,6
3	microparticule de chitosan	160	12,87	0,08	87,5
4	microparticule de chitosan reticulat cu glutaraldehidă	58	12,04	0,20	81,9

CONCLUZII

- S-au realizat suporturi polimerice, biocompatibile - sub forma de *microparticule* de chitosan/alginat de sodiu și *filme* pe bază de alginat/chitosan + nanoparticule magnetice pe care s-au imobilizat două oxidoreductaze – peroxidaza și lacaza.
- în cazul *peroxidazei* s-au obținut randamente de imobilizare cuprinse între 77,56% și 95,2%.
- *lacaza* s-a imobilizat pe același tip de suporturi cu randamente semnificativ mai mici decât *peroxidaza*. În plus, se observă că dacă pe suportul SNH₂ peroxidaza s-a imobilizat cu un randament de peste 90%, pe același suport lacaza practic nu se imobilizează (randament de imobilizare de 0,8%).
- Proprietățile polimerilor utilizați și structura lor determină posibilitatea folosirii acestora ca materii prime pentru obținerea de suporturi biocompatibile în vederea imobilizării unor substanțe cu activitate biologică (enzime, medicamente).