

Orienta Tesi

*Cdl Chimica e
Scienze Chimiche*



chimica_unibas



CdL Chimica Unibas

"Scegli i tuoi
esperimenti"

Prof.ssa Rosanna Ciriello

Settore scientifico disciplinare: CHIM/01 Chimica Analitica

e-mail: rosanna.ciriello@unibas.it

Studio: 2DA302

LABORATORIO DI BIOANALITICA

Responsabile scientifico: Prof. Antonio Guerrieri

Responsabile tecnico: Sig. Domenico Montesano

ATTIVITÀ DI RICERCA

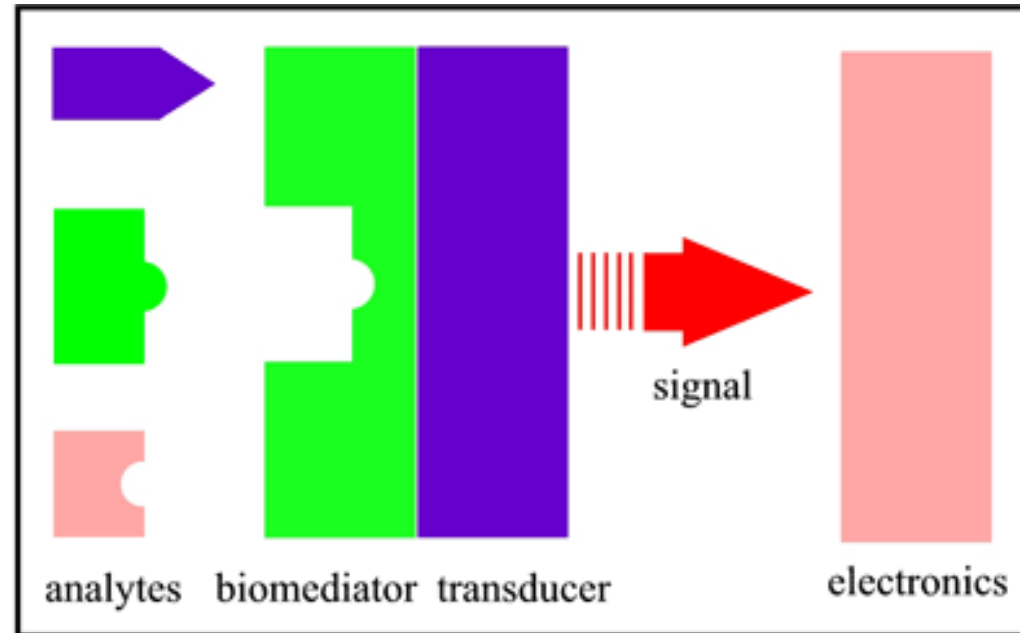


SVILUPPO DI SENSORI ELETTROCHIMICI A BASE DI ELETTRODI MODIFICATI PER LA RIVELAZIONE DI COMPOSTI DI INTERESSE IN CAMPO CLINICO E ALIMENTARE

- ❑ Realizzazione di **biosensori amperometrici ad enzima immobilizzato** e loro applicazione per la determinazione di analiti in matrici reali complesse quali alimenti e fluidi biologici

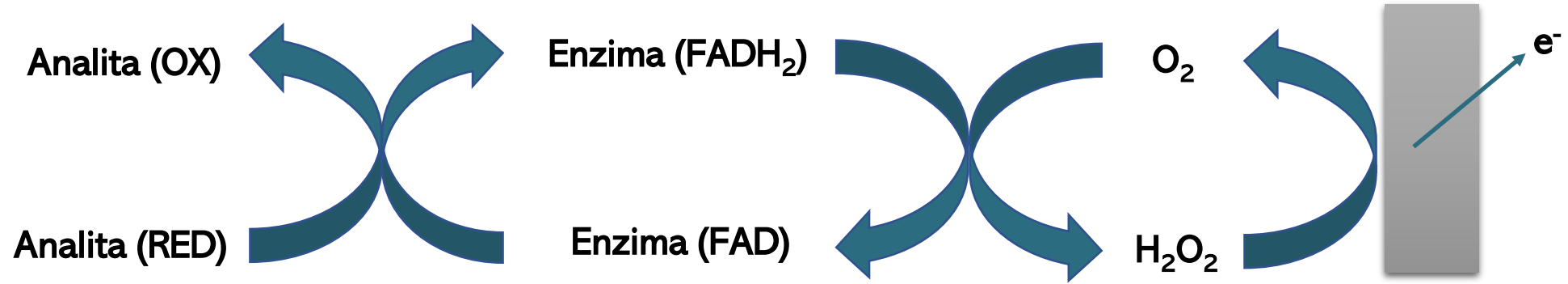


Che cosa è un biosensore?



Un **BIOSENSORE** è un dispositivo analitico costituito da un **sistema biologico** reattivo in intimo contatto con un **trasduttore di segnale**:
il mediatore biologico interagisce con l'analita causando la variazione di un parametro chimico e/o fisico trasformato dal trasduttore in un segnale quantificabile

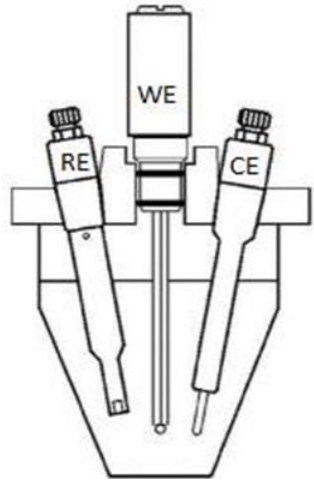
Come funziona un biosensore amperometrico?



APPLICAZIONE DEL BIOSENSORE ALL'ANALISI DI CAMPIONI REALI

- ✓ Risolvere le problematiche associate alla trasduzione amperometrica:
 - **interferenza faradica** ad opera di sostanze elettroattive al potenziale di rivelazione del perossido di idrogeno (es. acido ascorbico, acido urico)
 - **avvelenamento dell'elettrodo** causato dall'adsorbimento di sostanze ad alto peso molecolare
- ✓ Sviluppare una **metodica di immobilizzazione** enzimatica che ne preservi l'attività catalitica e la stabilità a lungo termine

Come si realizza un biosensore amperometrico?



Enzima



Polimero



Elettrodo

POLIMERO PERMSELETTIVO

Si elettrosintetizza sulla superficie elettrodica un film polimerico isolante a partire da una soluzione elettrolitica contenente un monomero organico facilmente ossidabile:

- spessore esiguo (~ 7 nm nel caso del polifenolo) con tempi di risposta brevi, dell'ordine di qualche secondo.
- compattezza tale da restringere l'accesso diretto all'elettrodo della maggior parte delle specie elettroattive, consentendo il passaggio dell'ossigeno e del perossido di idrogeno di modeste dimensioni.

ENZIMA

Immobilizzazione mediante co-crosslinking utilizzando glutaraldeide come agente legante e BSA come proteina inerte.

Esempi di biosensori amperometrici

ANALITA	ENZIMA	APPLICAZIONE
GLUCOSIO	GLUCOSIO OSSIDASI	Siero e urina (pazienti affetti da diabete)
COLINA	COLINA OSSIDASI	Siero e dializzato (pazienti con insufficienza renale sottoposti a dialisi)
LISINA	LISINA OSSIDASI	Prodotti farmaceutici, siero umano e formaggi (valutazione del grado di stagionatura)
LEVODOPA	TIROSINASI*	Plasma (pazienti affetti da Parkinson)

*La tirosinasi catalizza l'ossidazione della levodopa a dopachinone che viene rivelato all'elettrodo applicando un potenziale di riduzione



Table 2
Lysine concentration found in several cheese typologies.

Cheese	Lysine content ^a	
	mM ^b	μmol/g ^c
Mozzarella	n.d. ^d	n.d.
Certosa	n.d.	n.d.
Camembert	n.d.	n.d.
Taleggio	n.d.	n.d.
Gorgonzola	1.8 ± 0.2	18 ± 2
Fontina	0.76 ± 0.08	7.6 ± 0.8
Provolone	2.3 ± 0.3	23 ± 3
Pecorino Romano	3.2 ± 0.7	32 ± 7
Pecorino Sardo	2.0 ± 0.3	20 ± 3
Pecorino Filiano	2.7 ± 0.4	27 ± 4
Emmenthal	2.2 ± 0.4	22 ± 5
Gruyère	3.7 ± 0.6	37 ± 6
Parmigiano Reggiano	6.4 ± 0.3	64 ± 3
Grana Padano	6.5 ± 0.6	65 ± 6

^a mean ± Standard Deviation of four determinations.

^b concentrations have been corrected for the dilution factor (1:100).

^c μmol of lysine/g of cheese.

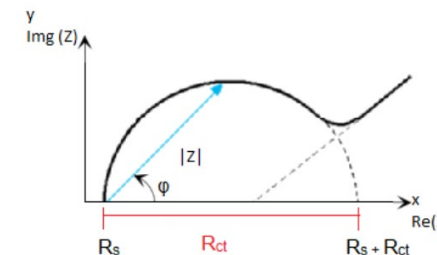
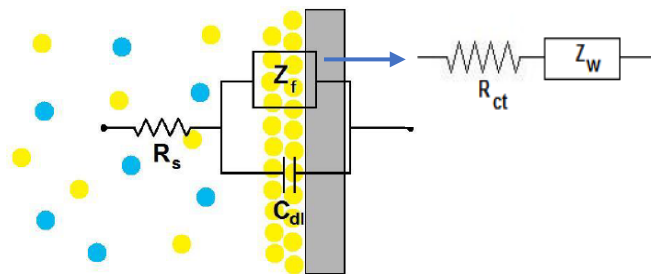
^d not detected.

Polimeri elettrosintetizzati

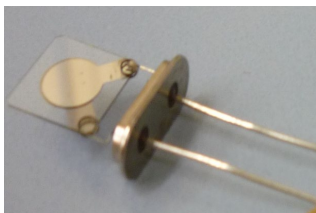
□ Elettrosintesi di **nuovi polimeri isolanti e conduttori** e loro **caratterizzazione** mediante:

✓ Tecniche elettrochimiche quali la Voltammetria Ciclica e la Spettroscopia di Impedenza Elettrochimica (EIS)

$$Z = \frac{E}{i} = \frac{E_0 \sin(\omega t)}{i_0 \sin(\omega t + \varphi)} = Z_0 \frac{\sin(\omega t)}{\sin(\omega t + \varphi)}$$



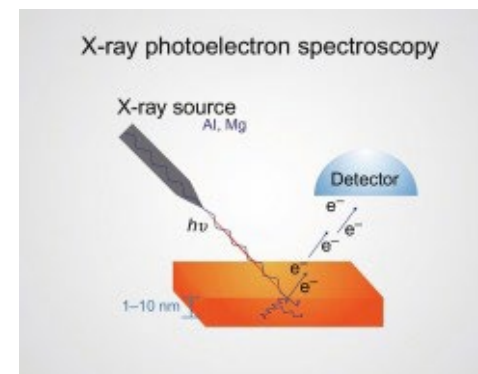
✓ Microbilancia Elettrochimica a cristallo di Quarzo (EQCM)



$$\Delta f = -2f_0^2 \Delta m / A(p_q \mu_q)^{1/2} = - (2f_0^2 / A(p_q \mu_q)^{1/2}) \Delta m$$

✓ Spettroscopia di Fotoelettroni a raggi X (XPS)

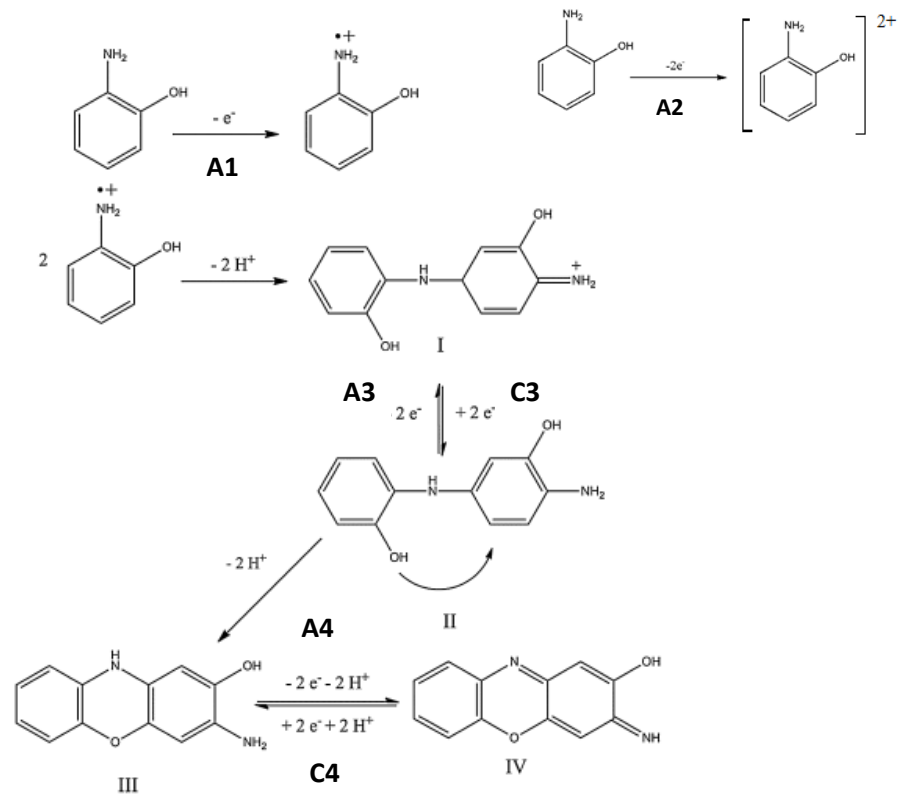
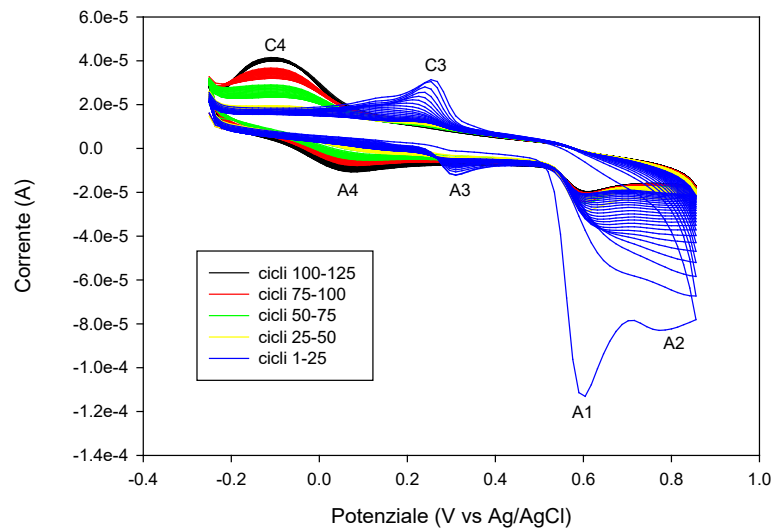
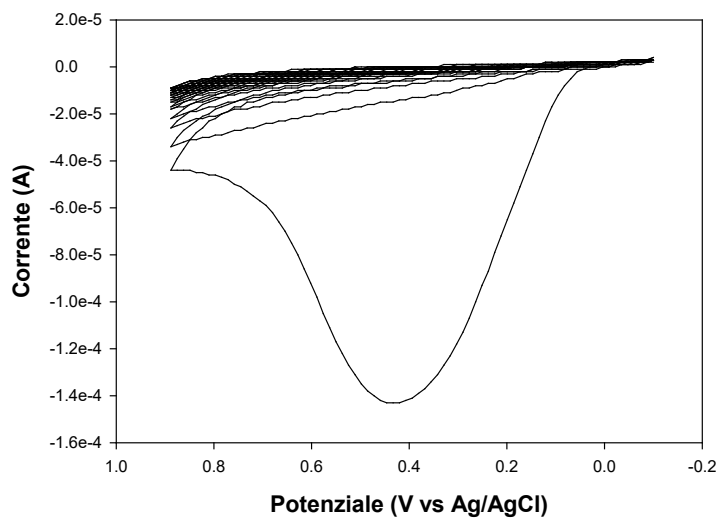
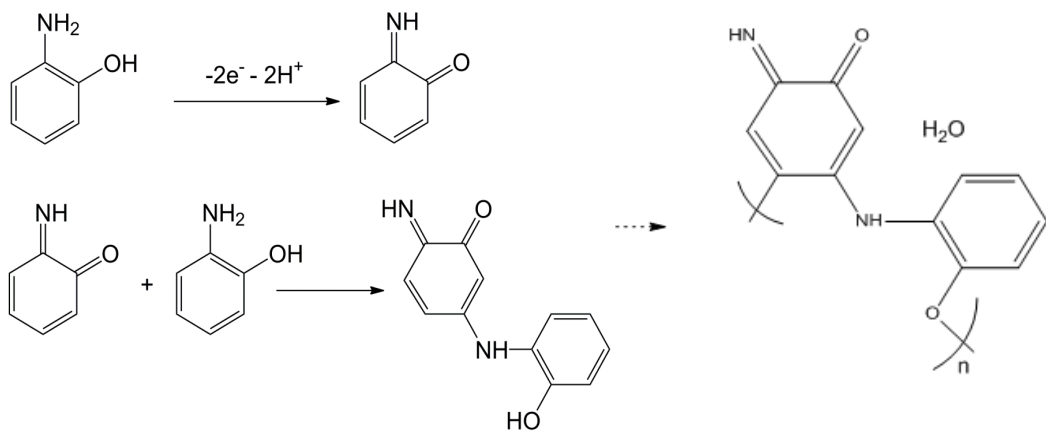
$$BE_F = h\nu - KE - W$$



Poli(o-amminofenolo) (PoAP)

- isolante se accresciuto in ambiente neutro

- conduttore se accresciuto in ambiente acido



Tecniche di caratterizzazione dei polimeri elettrosintetizzati: XPS

PoAP isolante

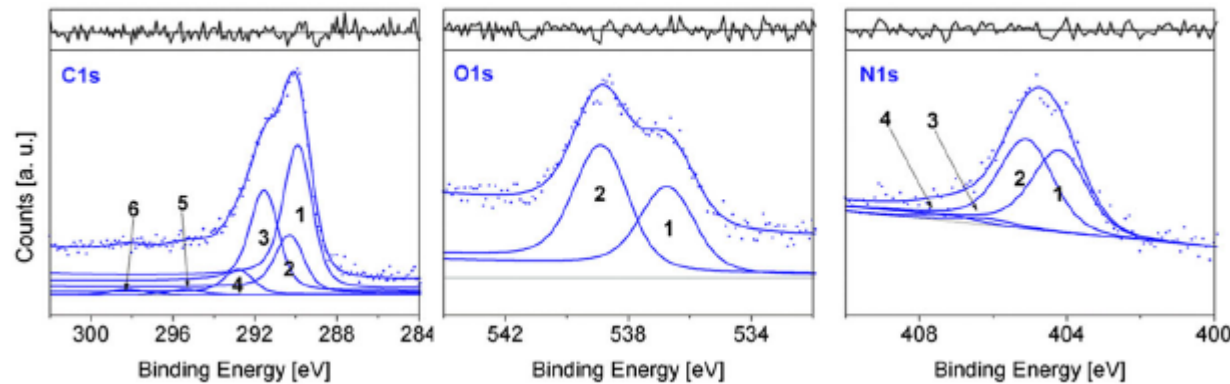
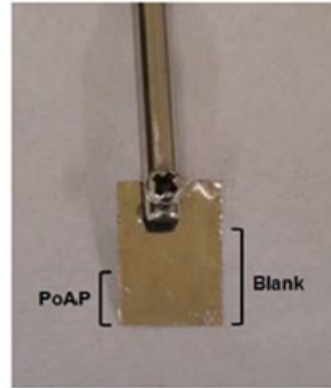
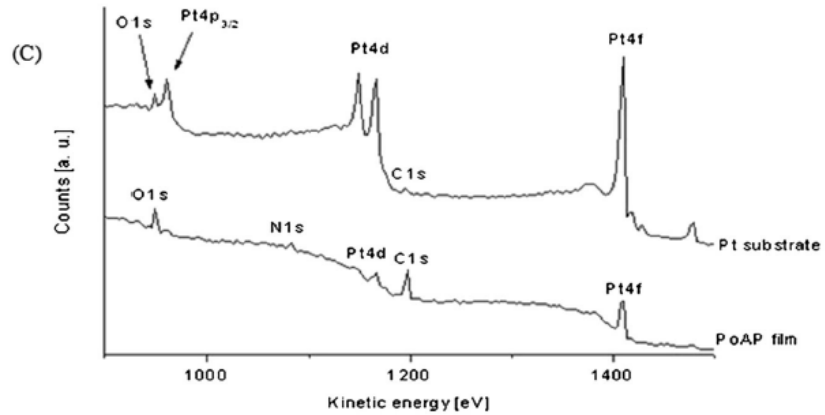


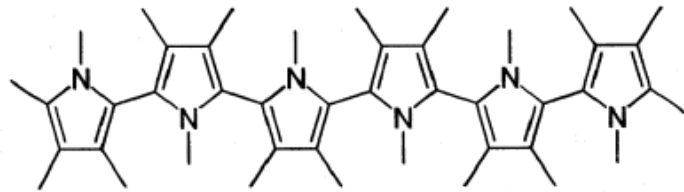
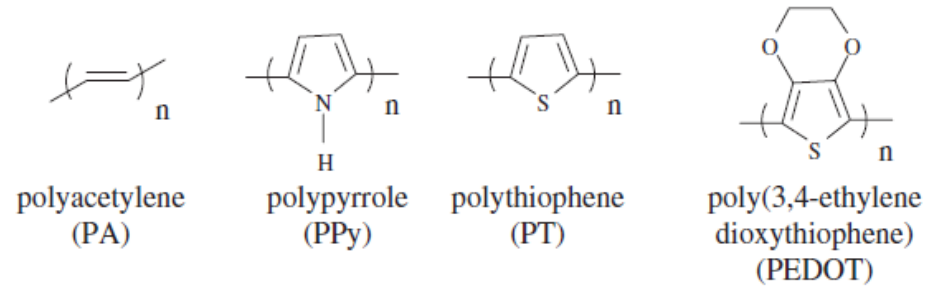
Table 1. Peak positions, FWHM and areas for PoAP at 0° and 50°						
Element	Peak number	Takeoff angle	BE correlation (eV)	FWHM (eV)	Corrected area (arbitrary units)	Assignment
C1s	0	50°	281.5	1.55	171.97	C _{cont} ^a
	1	0°	284.8	1.55	5311.12	C _{arom}
		50°	284.8	1.55	3897.12	
	2	0°	285.2	1.55	2124.44	C-N-C
		50°	285.2	1.55	1420.81	
	3	0°	286.4	1.55	3709.58	C-O-C, C=N
		50°	286.1	1.55	2915.01	C-N ⁺ -C
	4	0°	287.7	1.55	902.61	C=O, C=N ⁺
		50°	287.4	1.55	1216.29	
	5	0°	290.3	2.00	265.56	Shake up
		50°	290.0	2.00	194.86	
	6	0°	293.1	2.00	265.56	Shake up
50°		292.8	2.00	194.86		
O1s	1	0°	531.6	2.04	1254.13	C=O, Pt-OH
	2	50°	531.7	2.10	1163.41	
		0°	533.8	2.04	1829.83	C-O-C, H ₂ O
N1s	1	50°	533.8	2.10	1459.76	
		0°	399.1	1.65	897.12	C=N
	2	50°	399.3	1.65	680.84	
		0°	400.0	1.65	986.84	C-N-C
	3	50°	400.1	1.65	737.20	
		0°	401.1	1.65	66.13	C-N ⁺ -C
	4	50°	400.9	1.65	62.92	
		0°	402.2	1.65	69.60	C=N ⁺
	50°	402.1	1.65	62.92		

^aThe binding energy assigned to C_{cont} is not reliable as outer contaminants may be differently charged.^[11]

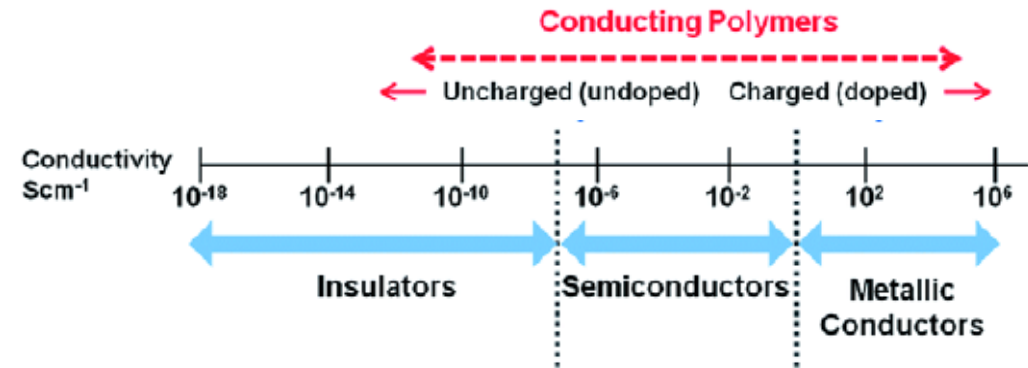
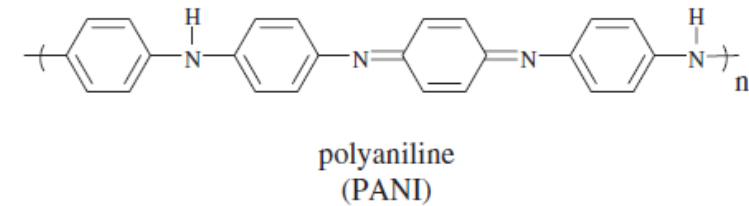
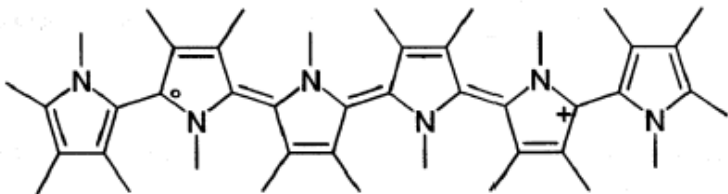
DETERMINAZIONE DELLO SPESSORE DEL POLIMERO (circa 10 nm)

Polimeri elettrosintetizzati conduttori

- Polimeri organici coniugati che combinano le proprietà elettriche dei metalli con le proprietà meccaniche dei materiali polimerici convenzionali
- «*Metalli sintetici*»: presentano elevata conducibilità se sottoposti a drogaggio redox



doping



PoAP conduttore

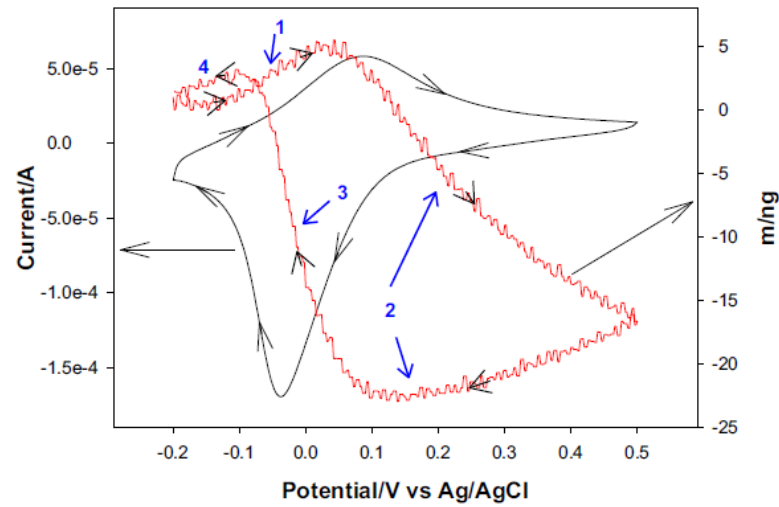
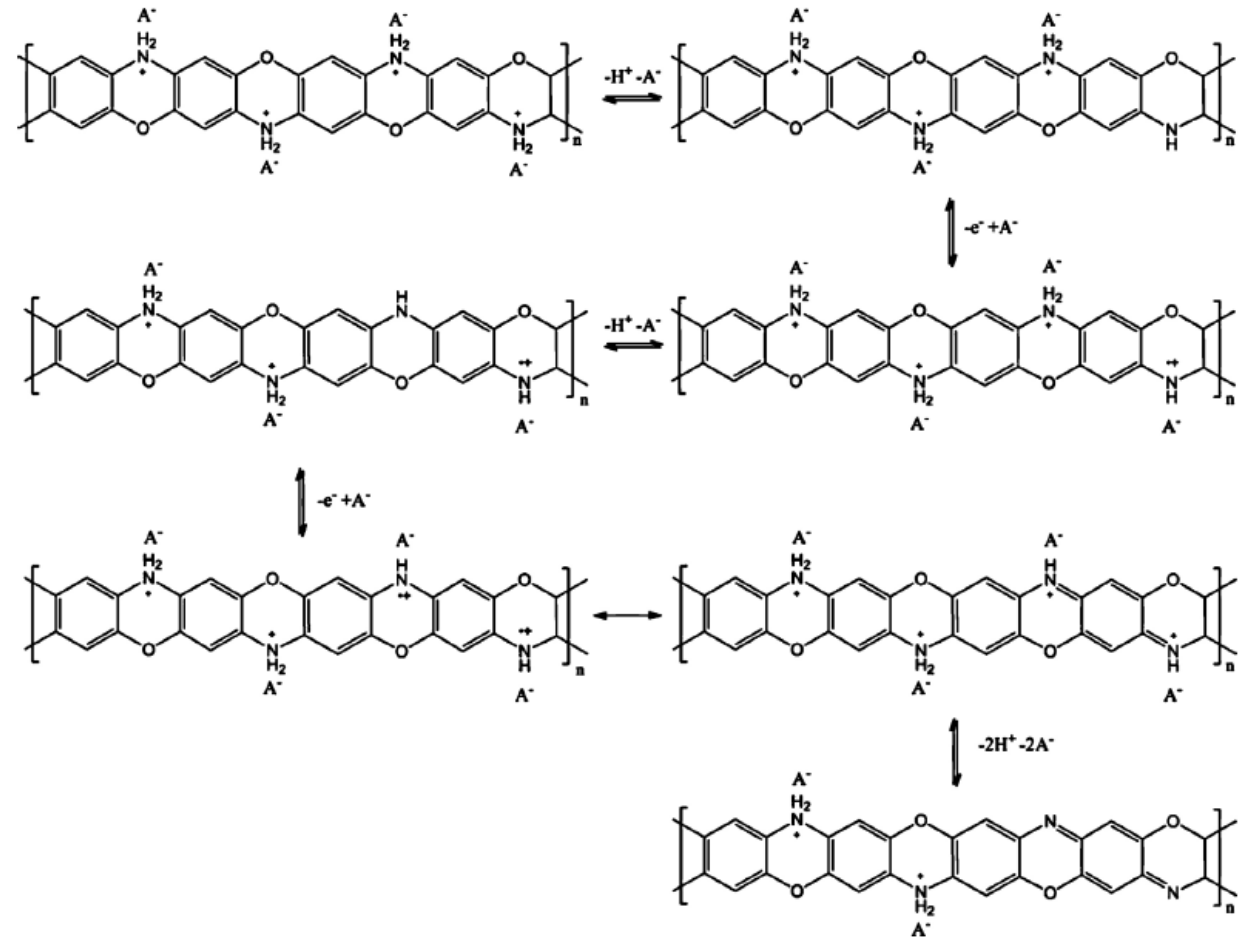
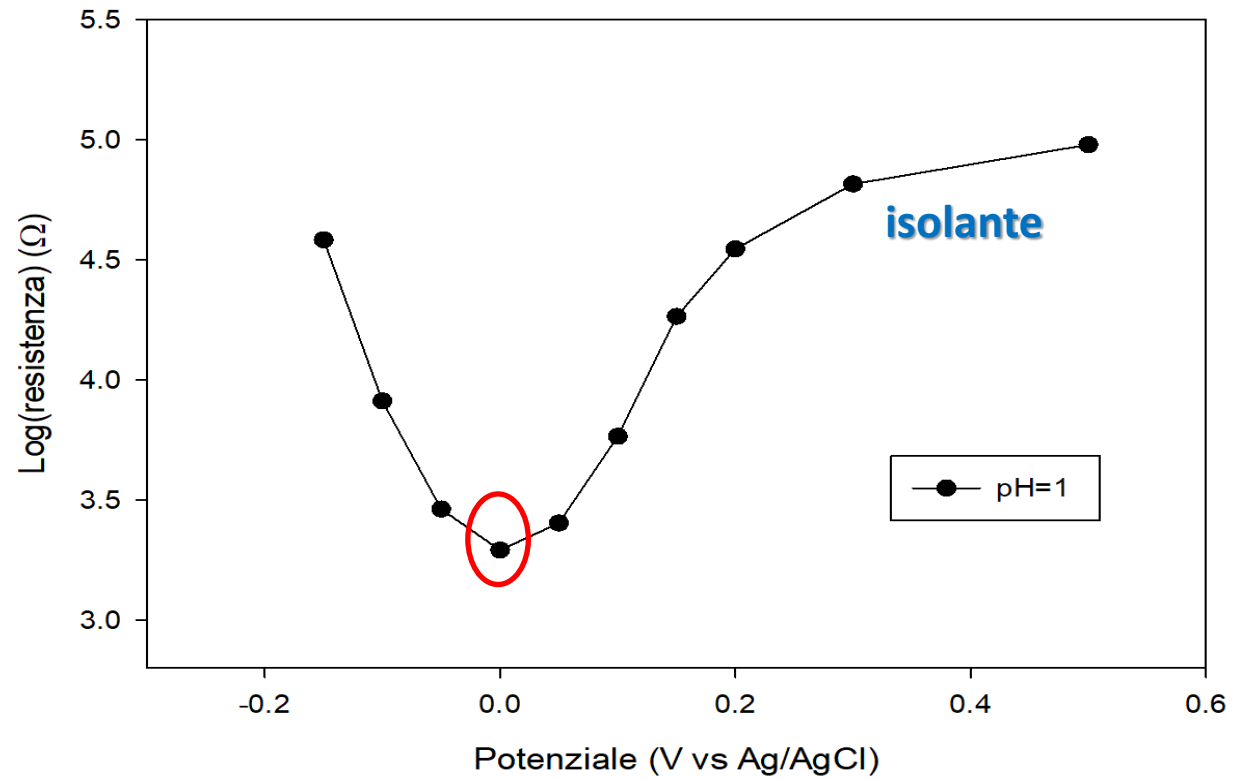


Fig. 1. Voltammetric and microgravimetric profiles of a Pt quartz crystal electrode modified by PoAP acquired in the supporting electrolyte ($\text{HClO}_4/\text{KClO}_4$ 0.1 mol dm^{-3} , pH 1.1) at a scan rate of 50 mV/s.

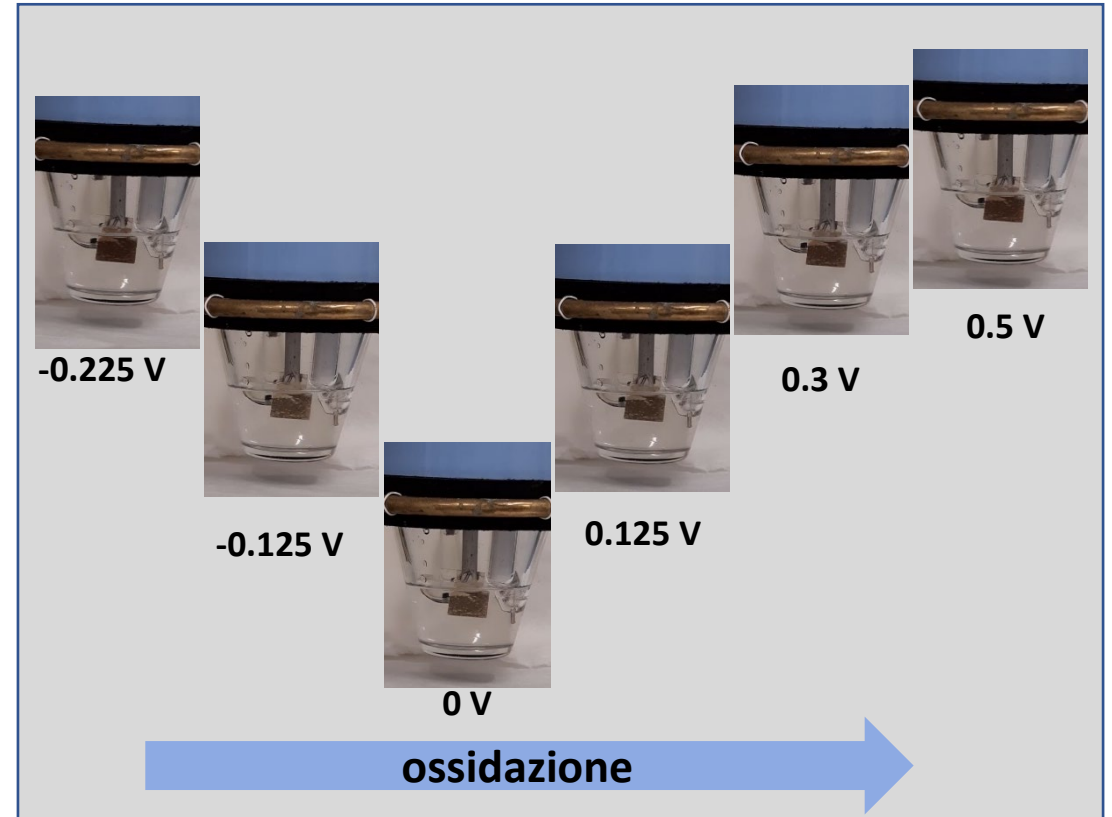


Scheme 2. Schematic representation of the mechanism underlying PoAP redox switching at acidic pH. A^- in the Scheme represents perchlorate ion.

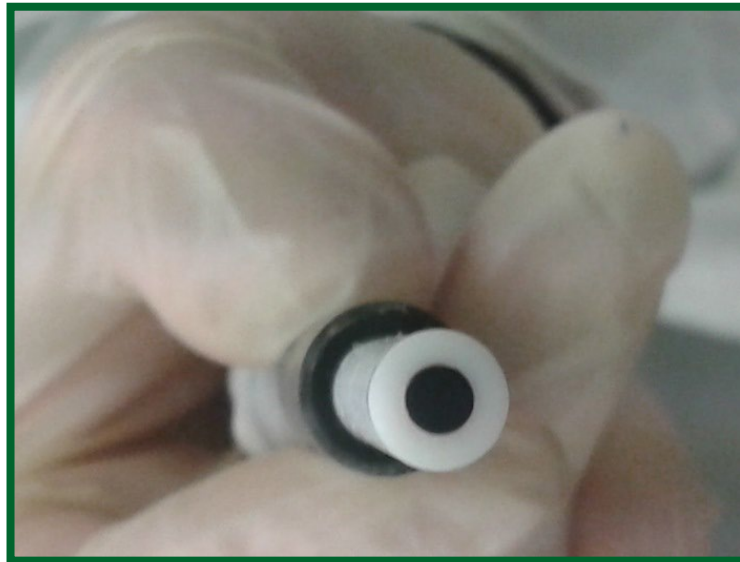
Tecniche di caratterizzazione dei polimeri elettrosintetizzati: EIS



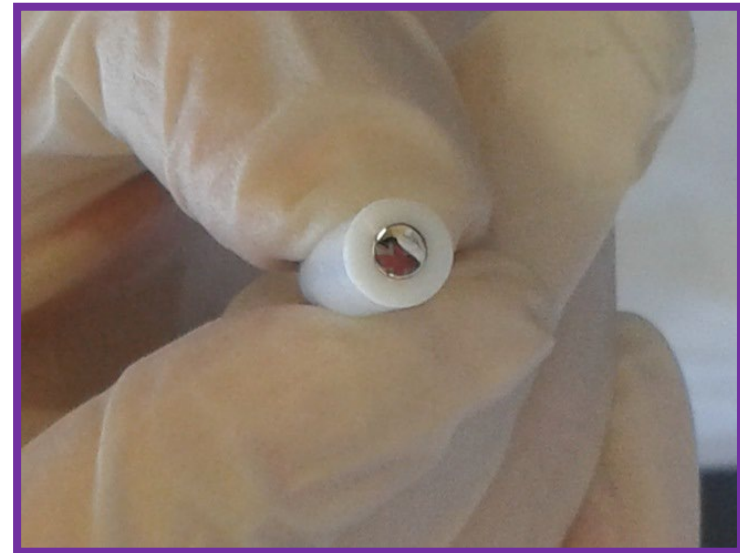
Proprietà elettrocromiche



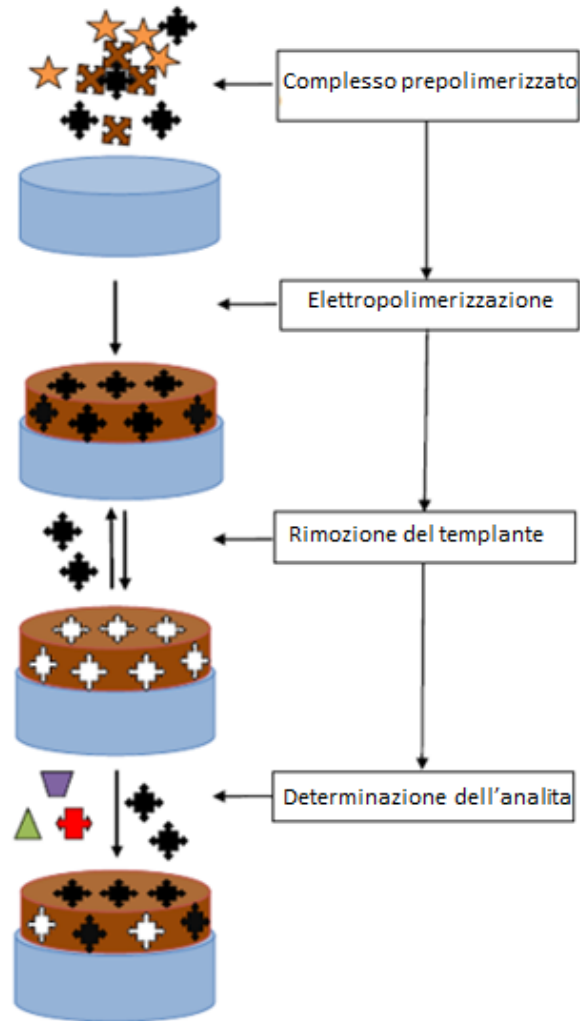
POLIMERO CONDUTTORE
poli(pirrolo)



POLIMERO ISOLANTE
poli(orto-amminofenolo)

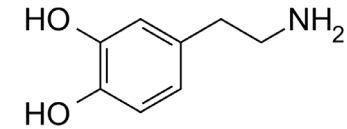


Possibili applicazioni dei polimeri elettrosintetizzati



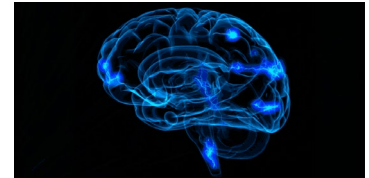
MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS (MIP)

Polimero: P(oAP) isolante
Analita: Dopamina



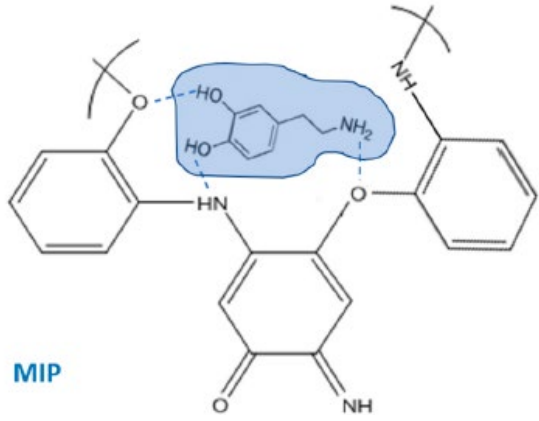
FUNZIONI:

- **Sistema nervoso centrale:** comportamento, movimenti volontari, piacere e ricompensa, sonno, umore, attenzione ...
- **Sistema nervoso periferico:** vasodilatatore, stimola l'escrezione del sodio attraverso le urine ...

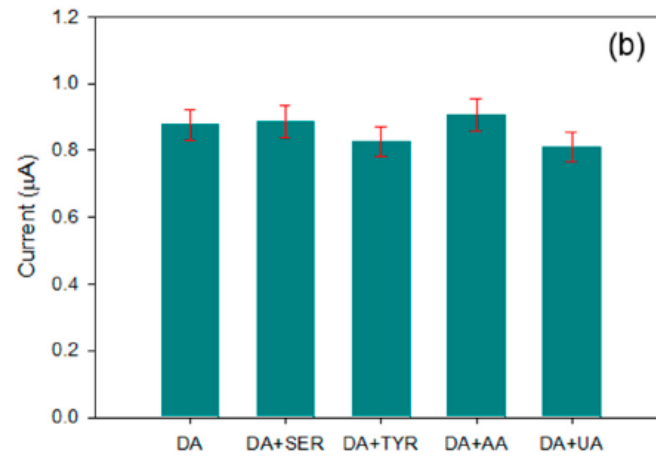
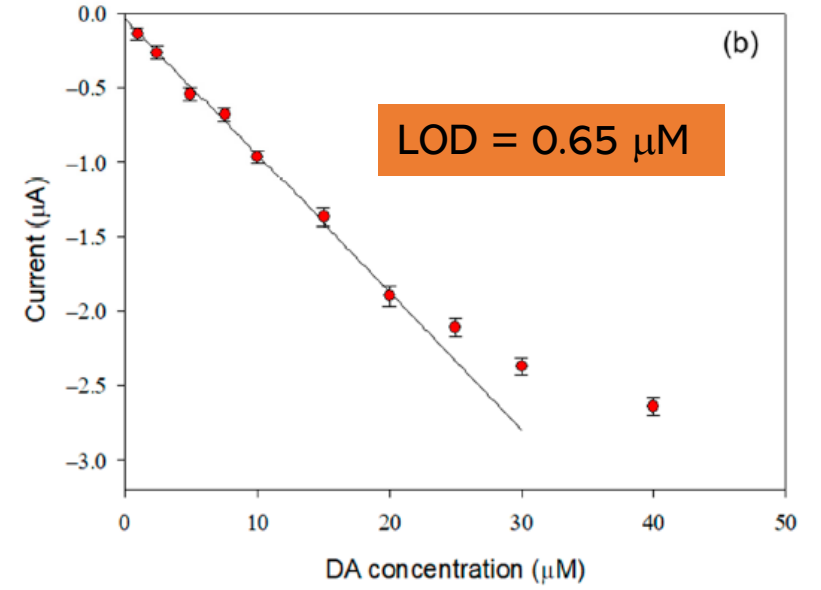
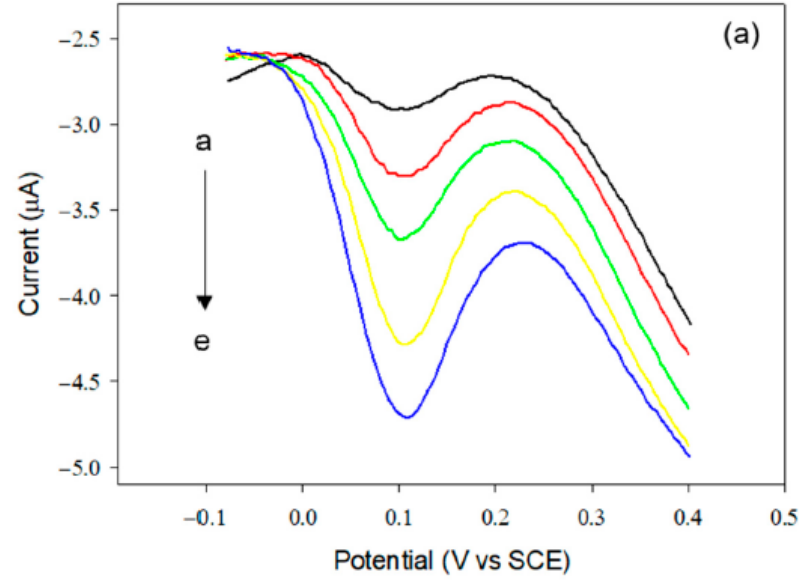


- morbo di Parkinson
- schizofrenia/psicosi e dipendenza da alcune droghe e farmaci
- sensazioni dolorose associate ad alcuni stati morbosi (es. fibromialgia)

Possibili applicazioni dei polimeri elettrosintetizzati : MIP



Compound	Structure
Dopamine (DA)	<chem>NCCc1ccc(O)c(O)c1</chem>
Ascorbic Acid (AA)	<chem>C1=CC(=O)O[C@@H](O)[C@H](O)CO1</chem>
Uric Acid (UA)	<chem>O=C1NC2=C(NC(=O)N2)C(=O)N1</chem>
Serotonin (SER)	<chem>NCCc1c[nH]c2cc(O)ccc12</chem>
Tyramine (TYR)	<chem>NCCc1ccc(O)cc1</chem>



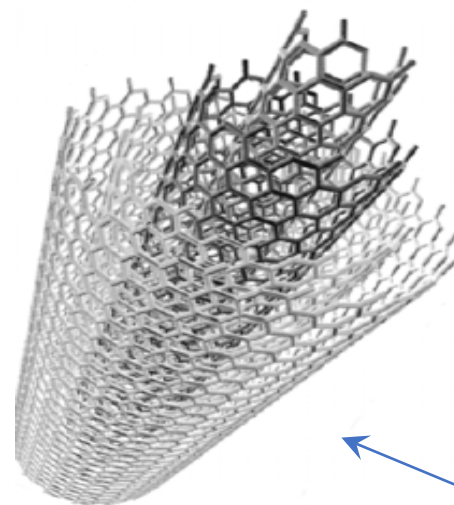
Recupero
92.5 - 102 %

Elettrodi modificati con nanomateriali

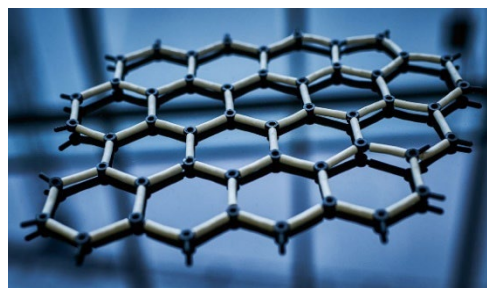


DROP CASTING

- Molto utilizzata perché semplice e rapida
- Difficoltà a controllare la distribuzione spaziale sull'elettrodo
- Scarsa riproducibilità



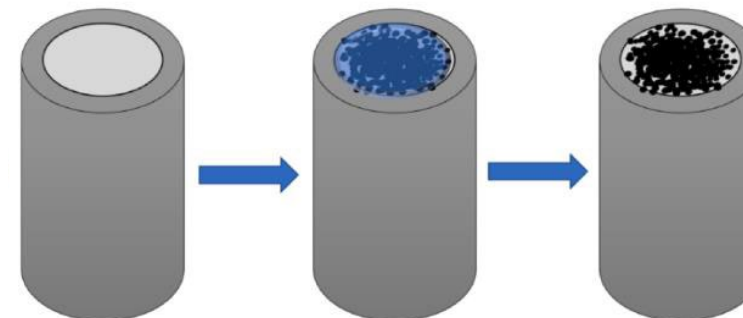
Nanotubi di carbonio



Ossido di Grafene



Nanoparticelle metalliche (AuNP, PtNP)



DEPOSIZIONE ELETTROCHIMICA

- Elevata riproducibilità
- Si adatta all'elettrodo a prescindere dalla sua forma e dimensione

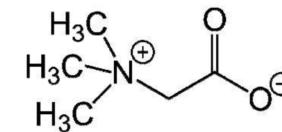
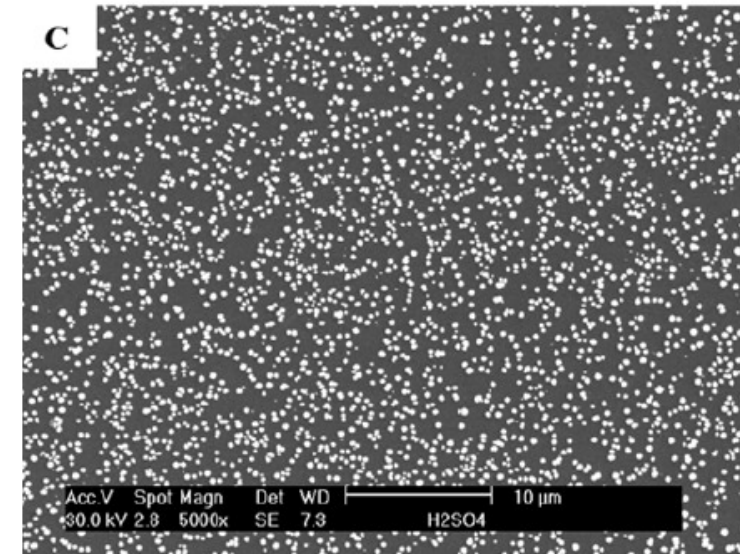
Deposizione di **nanoparticelle di platino PtNP** mediante elettroriduzione:



Ideare strategie in grado di far avvenire il processo di deposizione a potenziali elettrodici meno catodici per prevenire o contenere la scarica dell'idrogeno con sviluppo massivo di H₂ gassoso.

Es. GC/Betaina/PtNP

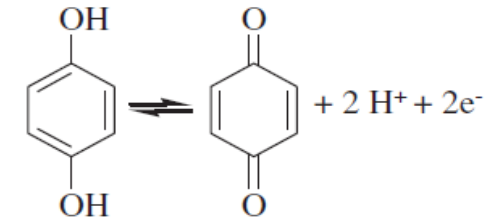
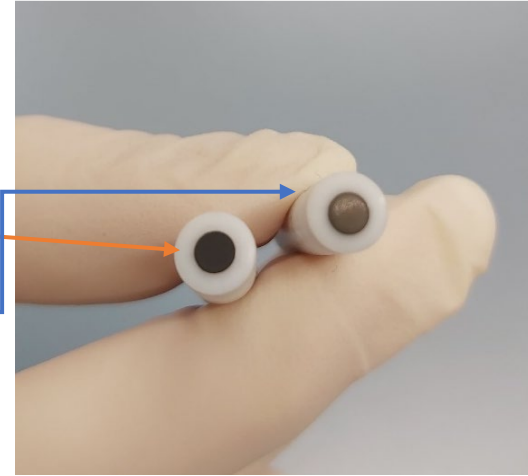
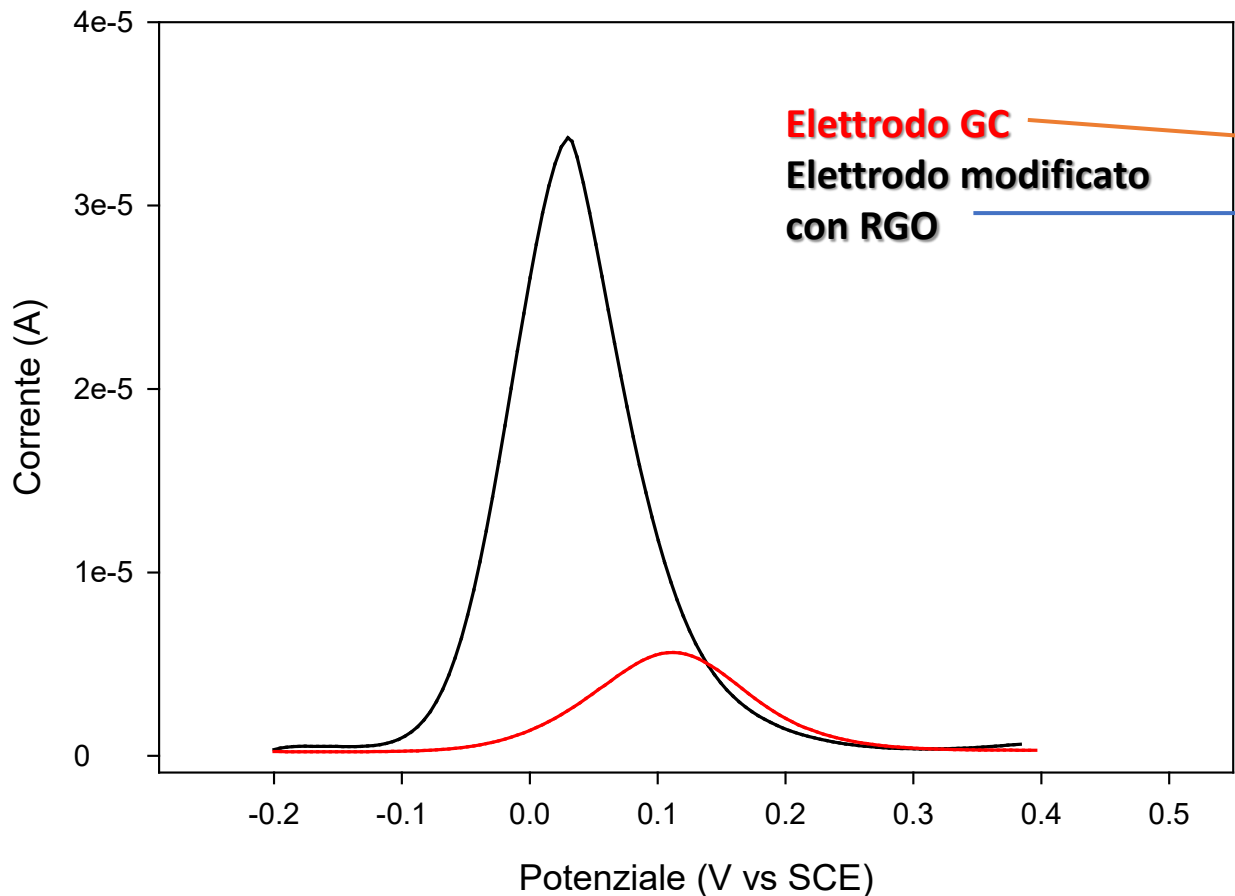
Formazione mediante interazione elettrostatica di un addotto superficiale $((\text{R}'_4\text{N}^+)_2\text{PtCl}_6^{2-})_{\text{ads}}$ fortemente adsorbito sull'elettrodo che favorisce l'elettroriduzione del platino a Pt metallico ($E_{\text{dep}} = +0.1 \text{ V vs } -0.3 \text{ V}$)



Betaina

Deposizione elettrochimica di nanomateriali su elettrodi convenzionali

Deposizione elettrochimica di ossido di grafene e di ossido di grafene combinato con nanoparticelle metalliche (valutazione delle condizioni di deposizione e della stabilità dell'elettrodo modificato risultante)



	Elettrodo modificato	Elettrodo
Potenziale di picco	0.029 V	0.120 V
Altezza	$3.24 \cdot 10^{-5}$ A	$5.37 \cdot 10^{-6}$ A