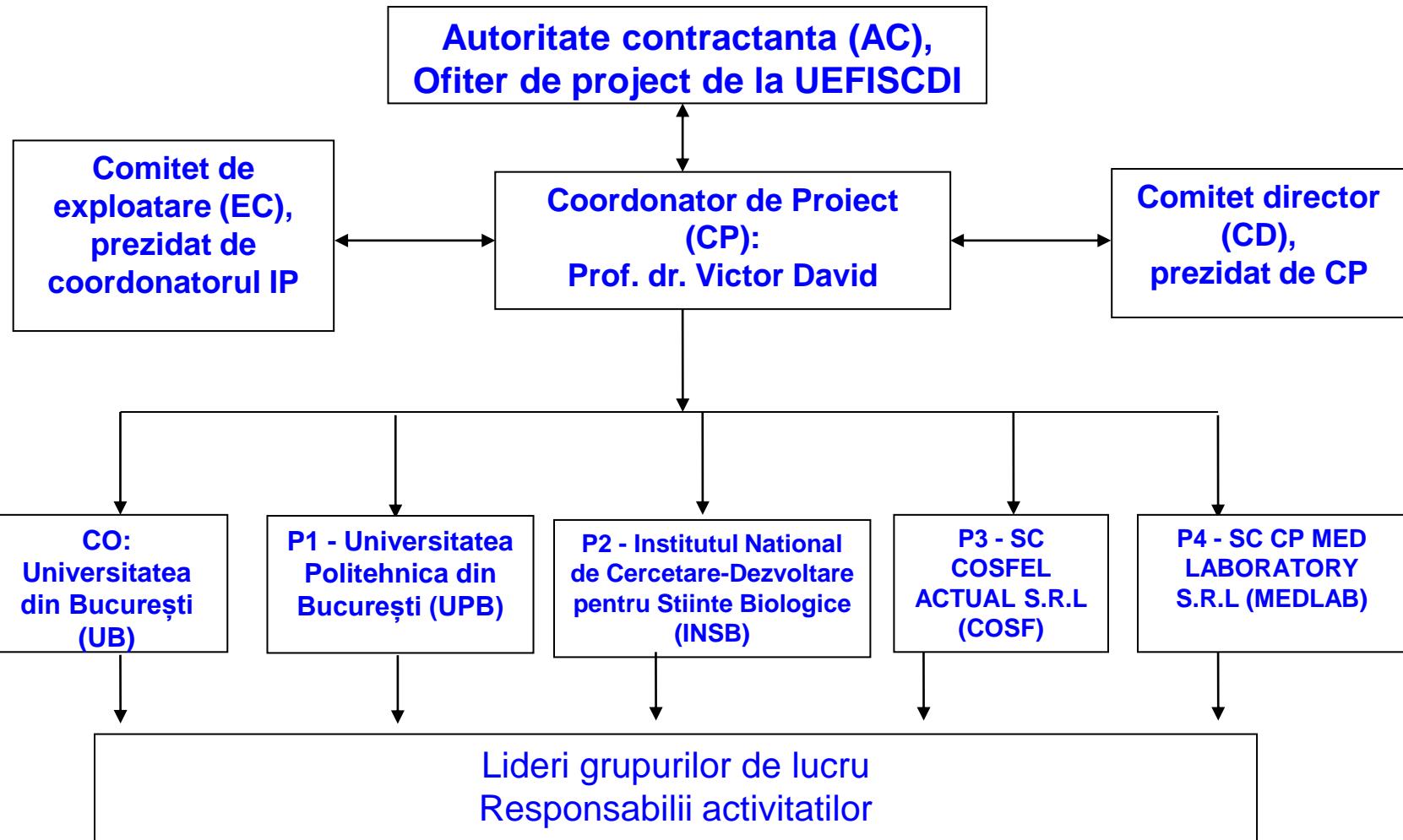


**Noi polimeri imprentati molecular (MIPs)
dezvoltati pentru analiza sensibila si rapida a
antibioticelor din clasa nitrofuranilor
(*NITROMIP*) PN-II-PT-PCCA**

PN-II-PCCA-2013-4-0203, PROIECT nr. 197/2014

Sursa de Finantare:
UNITATEA EXECUTIVA pentru
FINANTAREA INVATAMANTULUI
SUPERIOR, a CERCETARII,
DEZVOLTARII si INOVARII (UEFISCDI)



Echipa de Cercetare:

Universitatea din Bucuresti

Prof. Dr. Victor David - Director de Proiect
Conf. Dr. Mihaela Cheregi
Lect. Dr. Elena-Emilia Iorgulescu
Lect. Dr. Adriana Gheorghe
Dr. Elena Bacalum

P1 – Universitatea Politehnica Bucuresti

Conf. Dr. Edina Rusen – Responsabil
CS1 Bogdan Marculescu
CS1 – Ioan Calinescu
PostDrd – Aurel Diacon
PostDrd – Adrian Trifan
As. Florica Rizea

P2 - Institutul National de Cercetare-Dezvoltare pentru Stiinte Biologice (INSB)

Dr. Bogdan Bucur - Responsabil
Prof. Dr. Ing. Gabriel-Lucian Radu
Dr. Madalina Bucur
Dr. Radulescu Maria-Cristina
CSIII Oana Matei
CS3 – Ana Chira
Tehnician – Teoaca Nela

P3 – COSFEL ACTUAL SRL

Dumitru Rosca - Responsabil
CSII Stefan Craciun
CSIII Felicia Cosmulescu
Dr. Ing Maria Fiti
Ing Virgil Munteanu
CSII Francis Hathazi
Ing Nicolae Banoiu
Ing Vasile Antoniac
Tehn. Marin Paun
Tehn. Gheorghe Perju
Tehn. Cornelia Pena
Tehn. Ion Spinu

P4 – MED LAB SRL

Florentian Ligia Milea – Responsabil
CSIII Iuliana Picioarea
As. Mihaela Multescu
As. Luminita Moraru
As. Anca Dima
CSIII Gheorghe Trifan
CSIII Doru Oprea
As Ana Maria Stanescu

Deviz cadru:

NR. CRT	DENUMIRE CAPITOL	VALOARE Buget 2014 (lei)	VALOARE Contributie financiara proprie 2014 (lei)	VALOARE Buget 2015 (lei)	VALOARE Contributie financiara proprie 2015 (lei)	VALOARE Buget 2016 (lei)	VALOARE Contributie financiara proprie 2016 (lei)	TOTAL Buget (lei)	TOTAL Contributie financiara proprie (lei)
1.	Cheltuieli cu personalul (inclusiv taxele de angajator) din care:	35264	4200	547203	65145	177536	21135	760003	90480
	1. cheltuieli cu personalul pentru doctoranzi si cercetatori postdoctorali	1455	0	88898	0	26928	0	117281	0
	1. cheltuieli cu personalul - altul decat cei de la pct. 1.1	33810	4200	458305	65145	150608	21135	642723	90480
2.	Cheltuieli cu logistica*	9692	2760	141612	42855	53042	13905	204346	59520
3	Cheltuieli de deplasare (transport, cazare, diurna, taxe participare, asigurari de sanatate, taxe de viza) 15%	2000	0	40825	0	5825	0	48650	0
4.	Cheltieli indirekte (regia)	11044	1740	170360	27000	55597	8760	237001	37500
5.	TOTAL	58000	8700	900000	135000	292000	43800	1250000	187500

Obiectivele acestui proiect sunt sinteza a doi polimeri imprentati molecular (MIP) si utilizarea acestora in dezvoltarea a doua metode analitice pentru detectia de medicamente/metaboliti din clasa nitrofuranului. Utilizarea ilegală de medicamente din clasa nitrofuranului (furazolidon, furaltadone, nitrofurantoin, nitrofurazone, etc) ca promotori de crestere in zootehnie duce la aparitia de noi tulpini de bacterii periculoase rezistente la antibiotice si produce metaboliti periculosi, care ramin pentru o lunga perioada de timp in carne. Reglementarile UE impun controlul probelor biologice relevante prelevate de la animale vii (urina, sange), a carnii de la abatoare sau comercianti si a alimentelor preparate. Tehnicile de analiza actuale sunt lungi si costisitoare din cauza complexitatii matricei probei si a concentratiei scazute a analitilor. Cele doua MIP-uri sintetizate in acest proiect vor fi utilizate in doua aplicatii analitice diferite: (1) dezvoltarea de senzori bazati pe afinitate si (2) pentru prelucrarea probelor prin extractie in faza solida (SPE) inainte de analiza cromatografica. Senzorii vor fi utilizati pentru screening-ul rapid al probelor biologice si construiti prin imobilizarea MIP-urilor pe un traductor, iar detectia va fi efectuata cu o tehnica adevata cum ar fi spectroscopia de impedanta electrochimica (EIS) sau microbalanta cu cristal de quart (QCM). Principalele avantaje ale prelucrarii probelor cu MIP-uri in analiza cromatografica sunt izolarea si concentrarea analitului din matrici complexe. Datorita caracterului polar si a posibilitatii reduse de detectie prin absorbtie in UV-VIS a analitilor, proiectul se va concentra de asemenea asupra derivatizarii analitilor in scopul sporirii hidrofobicitatii si marcarii cu grupari fluorescente. Aceasta procedura se va efectua dupa extractia analitilor din probe prin intermediul MIP-urilor. Proiectul este orientat catre aplicatii industriale si consorțiul va lua masuri importante pentru a pregati comercializarea cu succes a MIP-urilor dezvoltate, cum ar fi: (1) dezvoltarea si optimizare la nivel de laborator va lua in considerare nu numai performantele analitice, dar, de asemenea, si cerintele de adaptare a sintezei la productia industriala in cantitati mari, (2) producerea MIP-urilor dezvoltate va fi testata la nivel de pilot industrial de catre IMM-ul care va continua productia dupa finalizarea proiectului si (3) MIP-urile dezvoltate vor fi testate de un laborator specializat in analize chimice, in scopul de a evalua indeplinirea cerintelor utilizatorilor finali.

Rezultatele finale ale proiectului

Acesta este un proiect orientat catre aplicatii industriale, care urmarest sa produca polimeri imprentati molecular (MIP) pentru analiza a doua medicamente/metaboliti din clasa nitrofuranilor din carne si alimente. Dezvoltarea MIP-urilor va urmari initial obtinerea unei afinitati mari pentru nitrofurani si, ulterior, imbunatatirea selectivitatii. Doua strategii analitice diferite bazate pe MIP vor fi dezvoltate: (1) o metoda rapida bazata pe senzori pentru screening si (2) o metoda cromatografica selectiva pentru confirmarea rezultatelor. Cei doi senzori dezvoltati se vor baza pe MIP-uri pentru recunoasterea analitului. Analiza HPLC se va baza pe prelucrarea probelor cu coloane SPE care contin MIP-uri.

Rezultatele finale ale proiectului si criteriile de succes corespunzatoare sunt:

1. Prototipul a doua MIP-uri selective. Noile MIP-uri realizate vor avea performante analitice imbunatatite prin utilizarea de monomeri cu un design nou care ia in considerare structurile chimice ale analitilor. MIP-urile dezvoltate vor fi utilizate pentru analiza a doi compusi din clasa nitrofuranielor. Folosind diferite tehnici de polimerizare va creste afinitatea polimerilor pentru moleculele tinta si metabolitii lor printr-o mai buna interacțiune intre grupele funktionale prezente pe fiecare molecule si datorita modificarii suprafatei polimerului. Polimerii vor avea grupari cu caracter hidrofil, dar vor fi insolubili in apa. Metode de extractie care implica utilizarea de solventi selectivi si iradiere cu microunde vor fi folosite pentru indepartarea moleculelor sablon (analit) dupa procesul de polimerizare. Polimerii vor prezenta o stabilitate termica pentru un interval de temperatura de 0-100 ° C, iar reproductibilitatea va fi determinata si confirmata. Criteriile de succes sunt: un factor de imprentare (calculat in raport cu polimeri neimprentati -NIP) mai mare de 4,0 si un coeficient de selectivitate (determinat pentru alti nitrofurani) mai mare de 2,0.
2. Dezvoltarea unei metode de analiza HPLC transferabile (serviciu inovativ) pentru detectia medicamentelor/metabolitilor nitrofuranului din alimente folosind extractia in faza solida bazate pe MIP-uri. Cercetarile vor tинti: 1) dezvoltarea unor noi metode de separare a analitilor din probe complexe bazate pe extractie in faza solida folosind MIP-uri, 2) imbunatatirea detectabilitatii analitilor si 3) cresterea afinitatii nitrofuranielor pentru a interactiona cu faze stationare hidrofobe. Toate etapele de SPE-MIP vor fi efectuate in mod automat intr-o configuratie off-line. Solventul utilizat pentru a re-extrage analitii retinuti pe MIP va fi optimizat pentru a fi compatibil cu metoda HPLC dezvoltata. Aceasta posibilitate permite imbunatatirea limitei de detectie prin injectarea unui volum mai mare de proba. Metodele cromatografice vor fi validate conform metodologiei specifice acestor aplicatii, si intregul proces analitic, prepararea probei, separarea cromatografica si detectia vor fi optimizate. Criteriile de succes sunt: regasirea analitului, efectele matricei, consumul de solvent, timpul de analiza si selectivitatea.
3. Modelul demonstrativ a doua senzori bazati pe recunoasterea analitului utilizand MIP-urile dezvoltate care vor fi depuse pe suprafata traductor si masurarea semnalului va fi realizata cu ajutorul unei tehnici de detectie adevarata (EIS, QCM, etc). Criteriile de succes sunt: sensibilitate si selectivitate suficiente pentru identificarea loturilor contaminate la niveluri de concentratie relevante (ppb) in probe biologice (sange, urina, extracte din carne). Senzorii vor fi optimizati si testati pe probe sintetice si reale, in scopul de a atinge sensibilitatea si selectivitatea necesara. Senzorii dezvoltati vor fi utili pentru screening-ul rapid a utilizarii ilegale a promotorilor de crestere. Disponibilitatea senzorilor dezvoltati va permite imbunatatirea sigurantei alimentelor si asigurarea unei competitii corecte intre producatorii de produse alimentare prin eliminarea fraudelor.

Contributia proiectului la diferite subdomenii ale apelului.

Subdomeniu	Contributia proiectului
Crearea unor noi tehnologii pentru producția de alimente cu siguranță maxima asupra sănătății umane	Implementarea unor tehnici analitice înalt performante în tehnologia analitică de proces (PAT) în sectorul alimentar va proteja sănătatea oamenilor prin evitarea consumului de carne contaminată sau apariția bacteriilor rezistente la antibiotice.
Metodologii cu acuratețe înaltă, fezabile, senzitive, rapide, de detectare a reziduurilor și contaminanților	Proiectul va dezvolta două metode de analiză extrem de performante de analiză a medicamentelor/reziduurilor din clasa nitrofuranilor din carne pe baza recunoașterii analitilor/ prelucrarea probelor.
Diminuarea reziduurilor și contaminanților din intreg lanțul alimentar	Utilizarea tehnicii analitice de către producătorii/comercianții din domeniul alimentar va permite identificarea și eliminarea loturilor de carne contaminate indiferent de punctul de contaminare/fraudă.
Produse agro-alimentare ecologice	Sectorul de alimente ecologice va folosi tehnici dezvoltate pentru a detecta și a preveni etichetarea frauduloasă a produselor neconforme.
Materiale avansate pentru produse competitive la export	MIP-urile dezvoltate pot fi vândute în numeroase țări sub forma de coloane de prelucrare esantion și element de recunoaștere a senzorilor. Consumabilele bazate pe materiale selective sunt componente indispensabile de mare valoare pentru laboratoarele cu specialitatea chimie analitică.
Materiale avansate destinate sectoarelor-nișă ale economiei	

Raport Stiintific:

Activitati pe anul 2014: Etapa I Stabilirea conditiilor operationale optime pentru dezvoltarea de MIP-uri cu afinitate pentru medicamente/metaboliti din clasa nitrofuranului. Coordonare stiintifica.

A.I.1. Studii privind condițiile experimentale de obținere a MIP-urilor cu afinitate pentru medicamente/ metaboliti din clasa nitrofuranului :

Partener (P1) – UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCURESTI;

Partener (P3) – COSFEL ACTUAL S.R.L.

A.I.2. Studii privind dezvoltarea de metode cromatografice pentru separarea si determinarea medicamentelor/metabolitiilor din clasa nitrofuranului din matrici sintetice:

Coordonator (CO) - UNIVERSITATEA BUCURESTI, Facultatea de Chimie.

A.I.3. Studii referitoare la construcția de senzori pentru determinarea medicamentelor /metabolitiilor din clasa nitrofuranului din matrici sintetice

Partener (P2) – INSTITUTUL NATIONAL DE CERCETARE DEZVOLTARE PENTRU STIINTE BIOLOGICE

A.I.4. Studiul metodei de analiză standard care va fi utilizata ca analiză de referință:

Partener (P4) - CP MED LABORATORY SRL

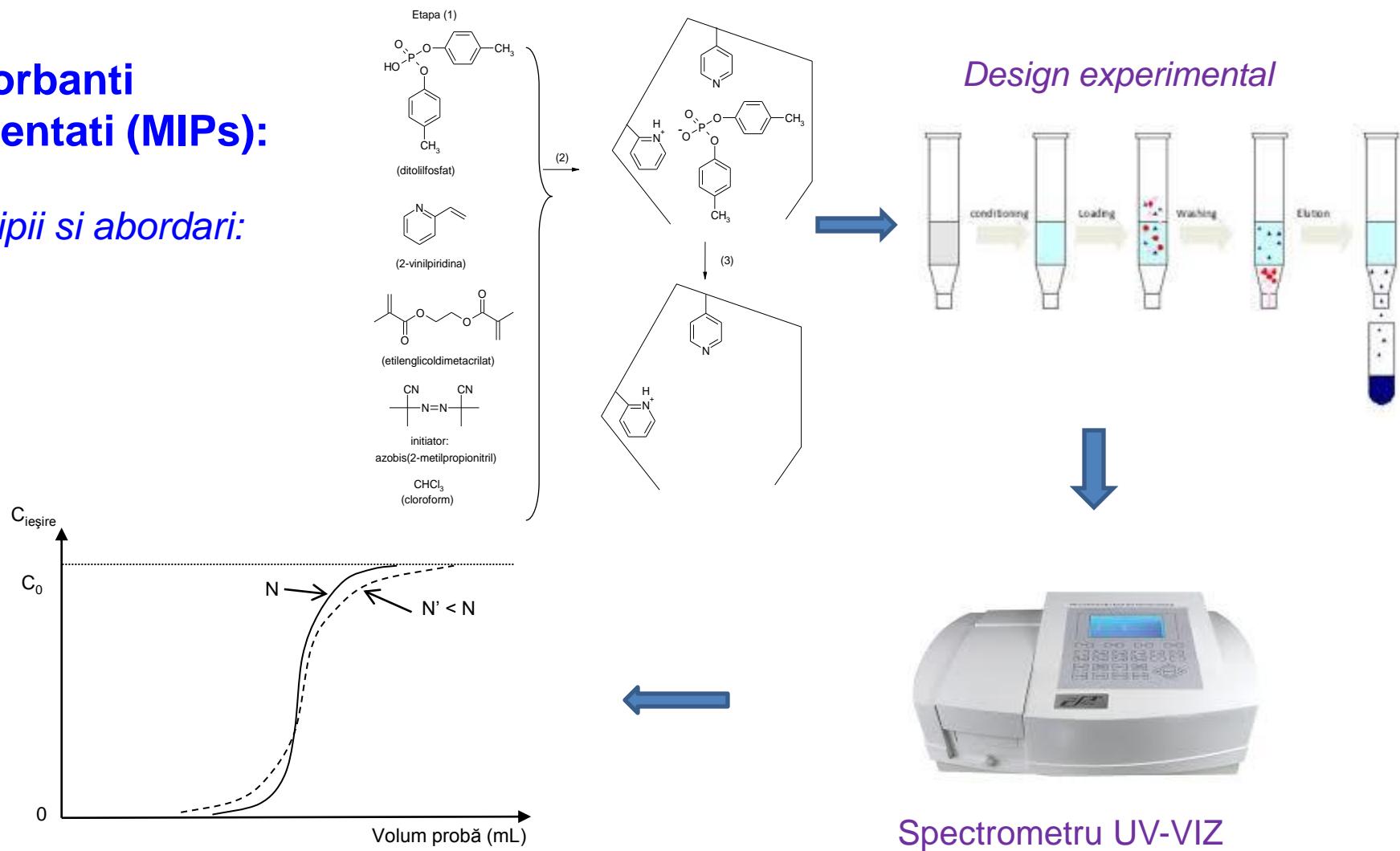
A.I.5. Diseminarea pe scara larga prin comunicarea si publicarea nationala sau internationala a rezultatelor.

A1.1. Studii privind condițiile experimentale de obținere a MIP-urilor cu afinitate pentru medicamente/metabolici din clasa nitrofuranului

Sinteza

Adsorbanti Imprintati (MIPs):

Principii si abordari:

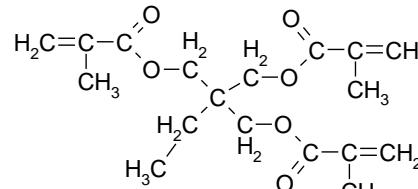
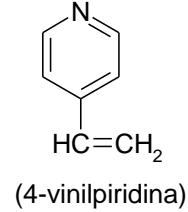
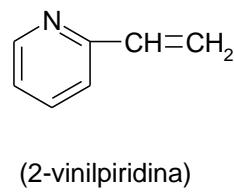
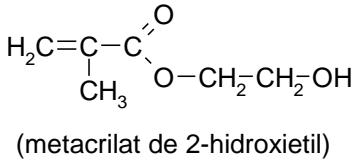
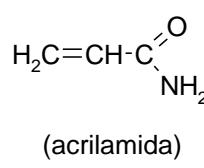
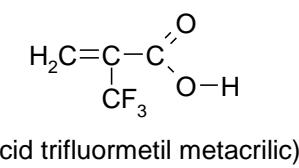
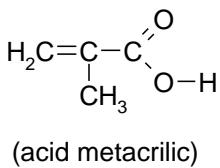


Spectrometru UV-VIZ

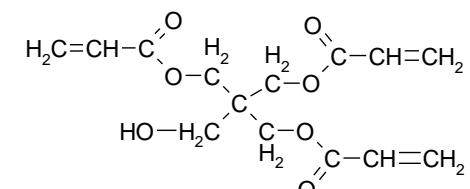


Procesul de obținere al adsorbanților imprentați constă în principal în trei etape distincte:

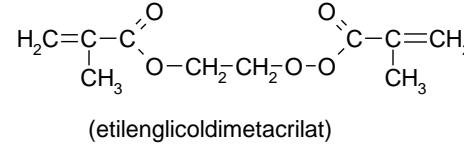
- i) formarea unui „complex” de prepolimerizare între molecule tipar și molecule de monomeri, agenți de reticulare și inițiatori de polimerizare; moleculele tipar sunt date de molecule de analit care urmează a fi extrase prin acest procedeu;
- ii) procesul de polimerizare, în urma căruia moleculele tipar intră în structura reticulară a polimerului format, fără a stabili legături covalente cu acesta (cele mai întâlnite interacții fiind de natura electrostatică, sau legături de hidrogen);
- iii) îndepărțarea moleculelor tipar din matricea polimerică, urmată de procese mecanice de măruntire și sortare după dimensiune a particulelor de adsorbant imprezentat.



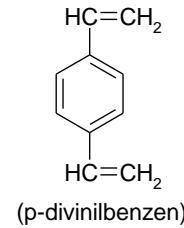
(trimetacrilat de trimetilpropan)



(triacrilat de trimetiletanol)



(etilenglicoldimetacrilat)



Structurile unor monomeri utilizăți în procese de imprentare

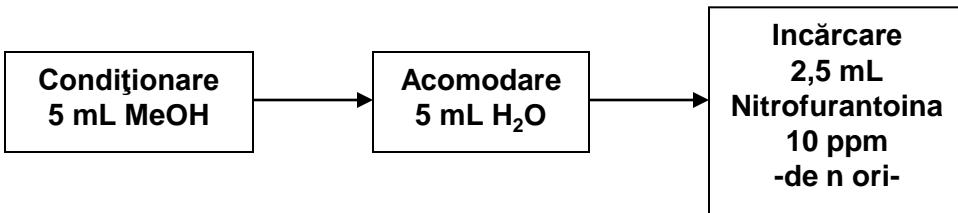
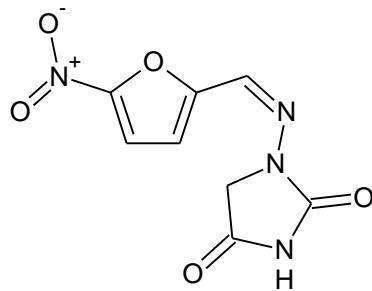
Structurile unor agenți de reticulare („crosslinkers”) utilizăți în procese de imprentare

E.Yilmaz, K.Mosbach, K.Haupt, Influence of functional and crosslinking monomers and the amount of template on the performance of molecularly imprinted polymers, Anal. Communications, 1999, 35, 167;

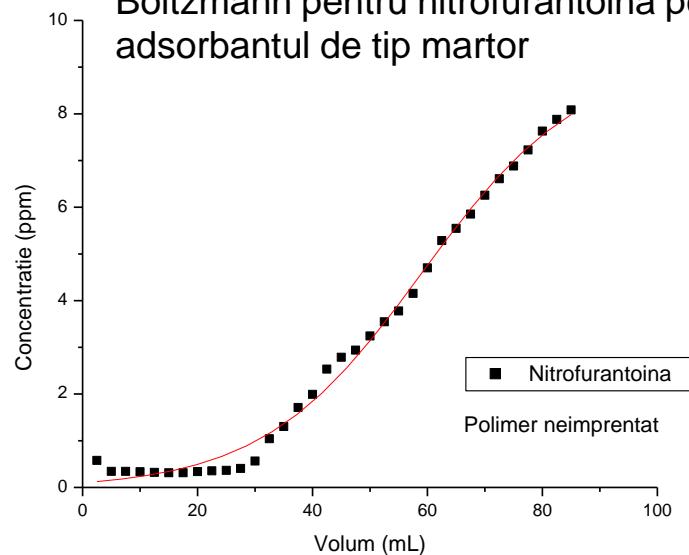
P.A.G.Cormack, E.A.Zurutuza, Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterization, J. Chromatogr. B, 2004, 804, 173;

K.Moller, U.Nilsson, C.Crescenzi, Synthesis and evaluation of molecularly imprinted polymers for extracting hydrolysis products of organophosphate flame retardants, J. Chromatogr. A, 2001, 938, 121.

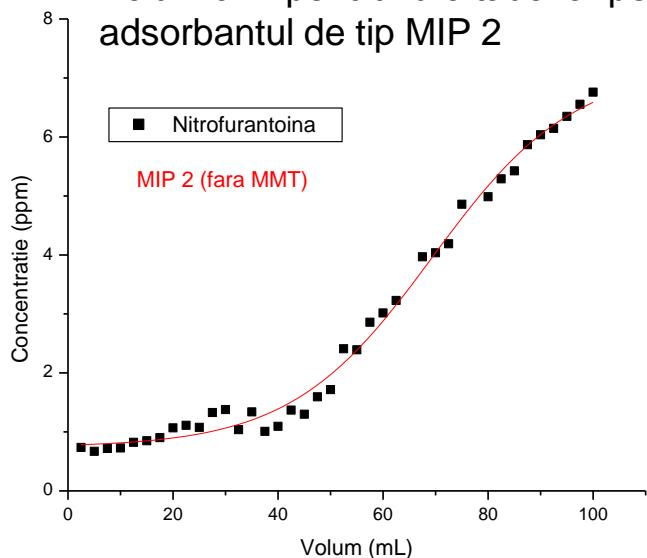
Studii privind condițiile experimentale de obținere a MIP-urilor cu afinitate pentru medicamente/ metaboliti din clasa nitrofuranului



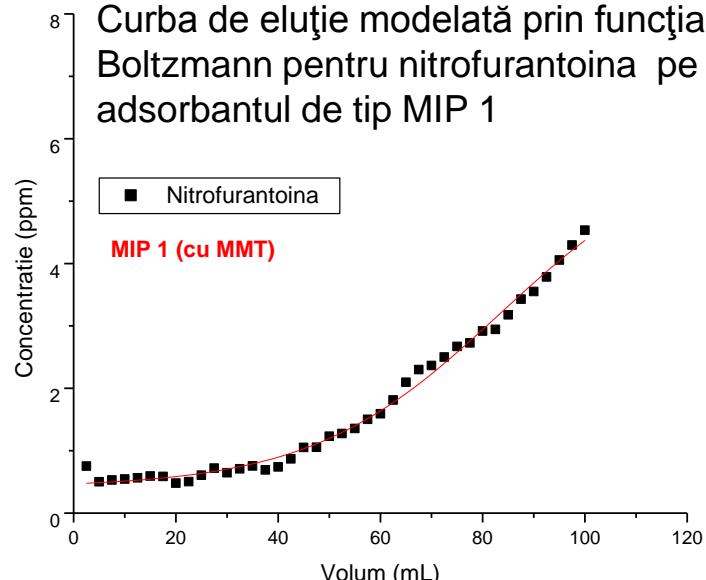
Curba de eluție modelată prin funcția Boltzmann pentru nitrofurantoina pe adsorbantul de tip martor

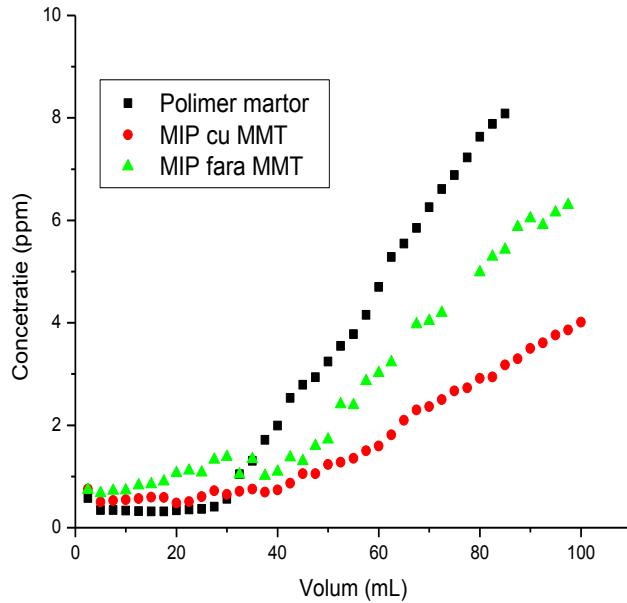


Curba de eluție modelată prin funcția Boltzmann pentru furaltadonă pe adsorbantul de tip MIP 2



Curba de eluție modelată prin funcția Boltzmann pentru nitrofurantoina pe adsorbantul de tip MIP 1





Valorile parametrilor caracteristici curbei de eluție SPE pentru furaltadonă, utilizând MIP ca adsorbant

Adsorbant	V_B (mL)	V_R (mL)	V_T (mL)
Martor	25	59	123
MIP 1	40	83	167
MIP 2	35	69	130

Comparație între curbele de eluție pentru nitrofurantoină pe cei trei adsorbanți.

Performantele studiului SPE-MIP:

Nitrofurantoină:

Randament adsorbtie pe cartus SPE: 40 %
Randament de desorbtie de pe cartus SPE: 63%

AOZ:

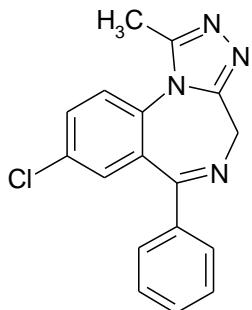
Randament adsorbtie pe cartus SPE: 72%
Randament de desorbtie de pe cartus SPE : 59%

Alte studii efectuate in cadrul proiectului: Studiul comparativ SPE pentru compusi cu caracter hidrofob investigati pe adsorbanti clasici

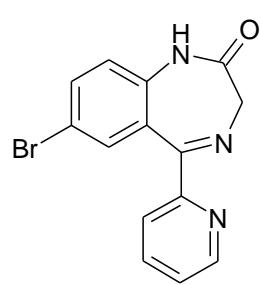
RETENTION BEHAVIOUR OF SOME BENZODIAZEPINES IN SOLID-PHASE EXTRACTION USING ADSORBENTS WITH VARIOUS HYDROPHOBICITY

Elena Bacalum, Mihaela Cheregi and Victor David

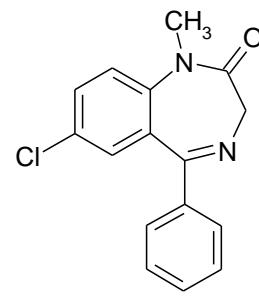
Revue Roumaine de Chimie, in curs de publicare.



Alprazolam



Bromazepam



Benzodiazepines

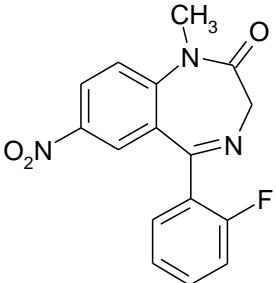
CAS Number

Molecular weight

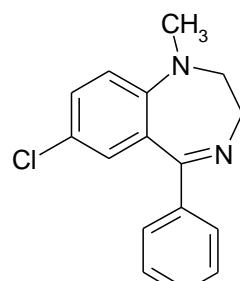
$\log K_{ow}$

pK_a

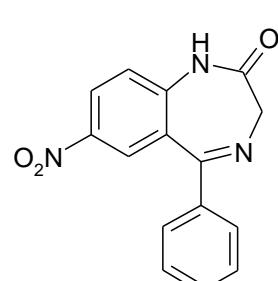
Benzodiazepines	CAS Number	Molecular weight	$\log K_{ow}$	pK_a
Alprazolam	28981-97-7	308.77	3.87	2.4
Bromazepam	1812-30-2	316.16	1.93	2.9
Diazepam	439-14-5	284.74	2.70	3.3
Flunitrazepam	1622-62-4	313.29	1.91	1.8
Medazepam	2898-12-6	270.76	4.43	6.2
Nitrazepam	146-22-5	281.27	2.45	3.2



Flunitrazepam

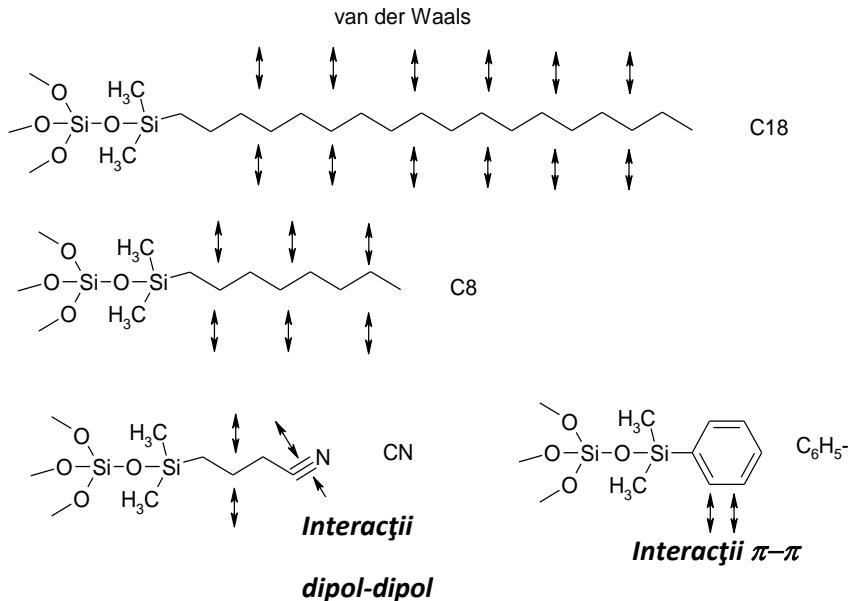
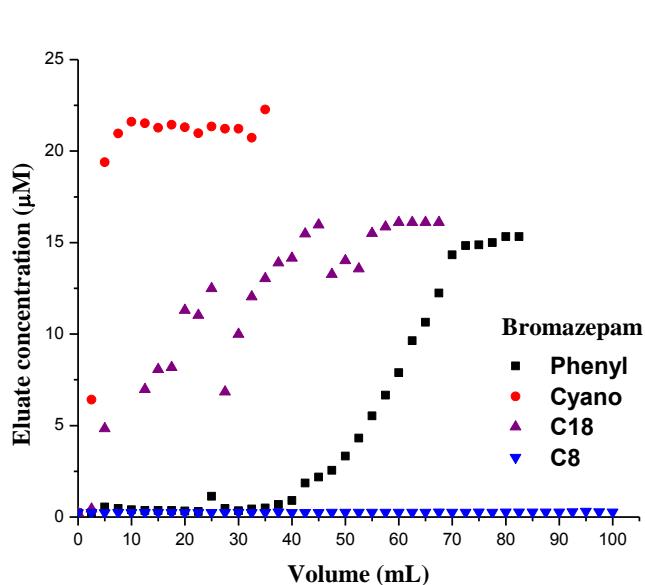


Medazepam

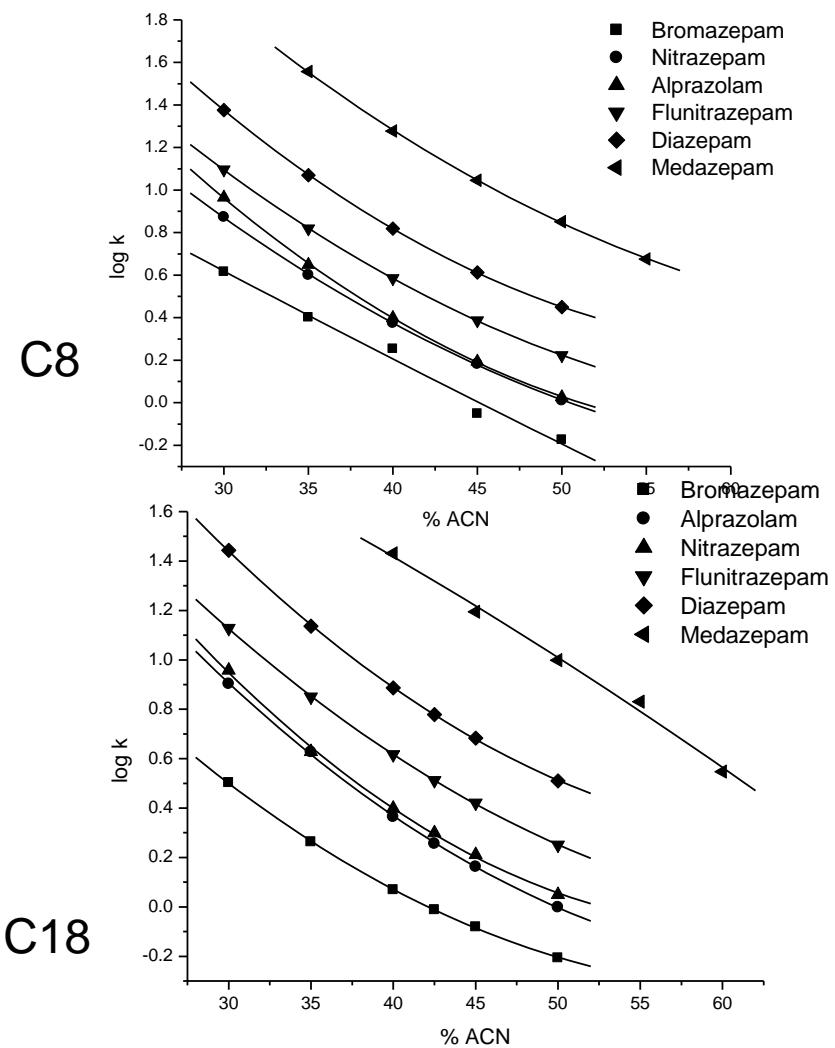
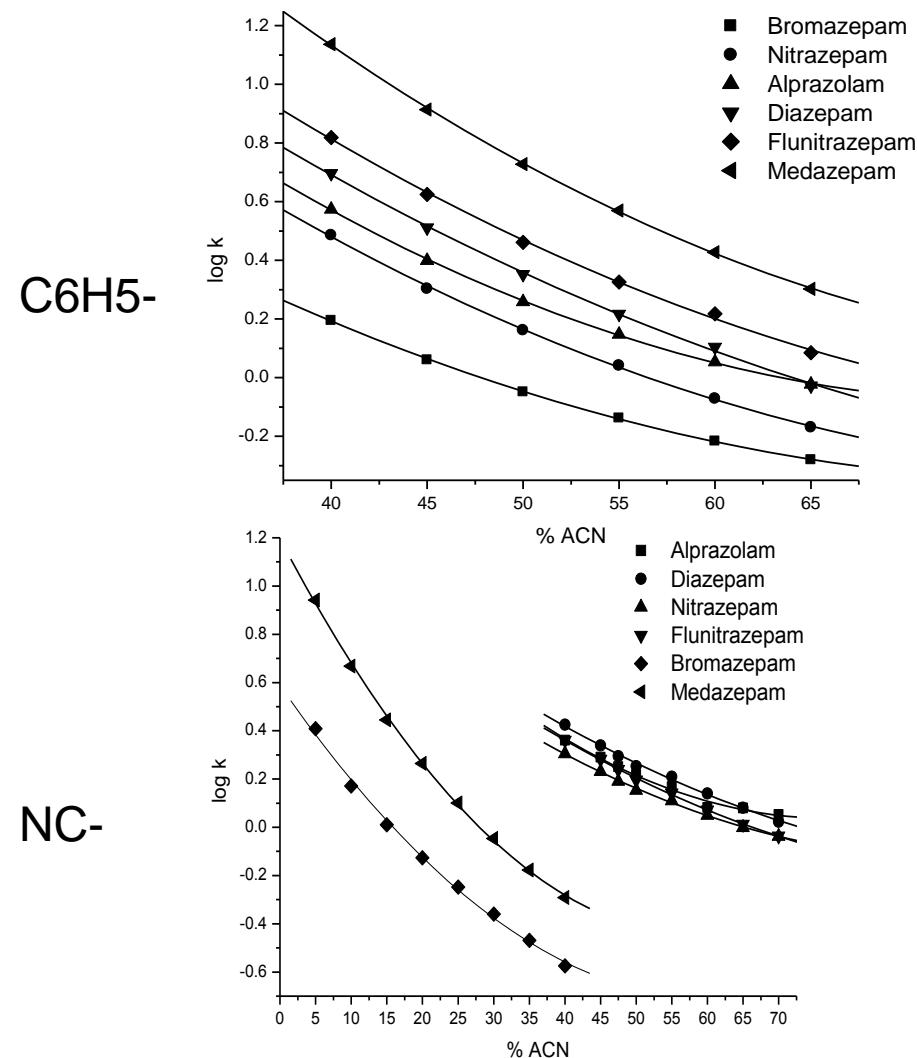


Nitrazepam

Cartridge type	Adsorbent mass mg	Surface area m ² /g	Particle size μm	Average pore size Å	Carbon loading %	Retention mechanism	Type of interaction
SampliQ C18	200	541	45	60	25.7	Reversed phase	Hydrophobic
SampliQ C8	200	571	45	60	15.6	Reversed phase	Hydrophobic
SampliQ Phenyl	200	562	45	60	12.6	Reversed phase	Hydrophobic and π-π
Finisterre Cyano	200	Not available	50	60	4	Reversed phase and normal phase	π-π, dipole-dipole, and hydrophobic

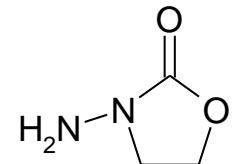
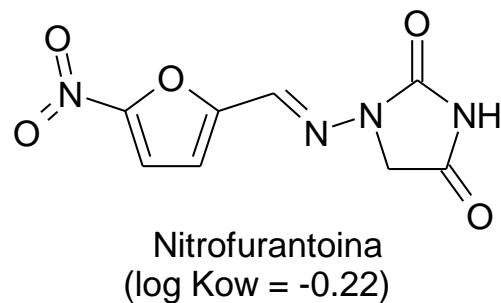


Comparative retention study for some benzodiazepines in HPLC with C8, C18, C6H5 and CN stationary phases (E.Bacalum, M.Cheregi, T.Galaon, V.David, in curs de publicare)

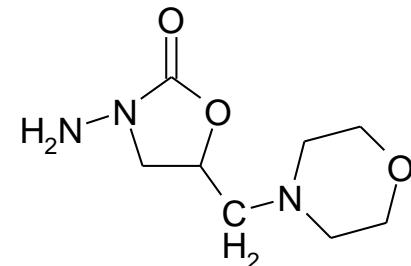
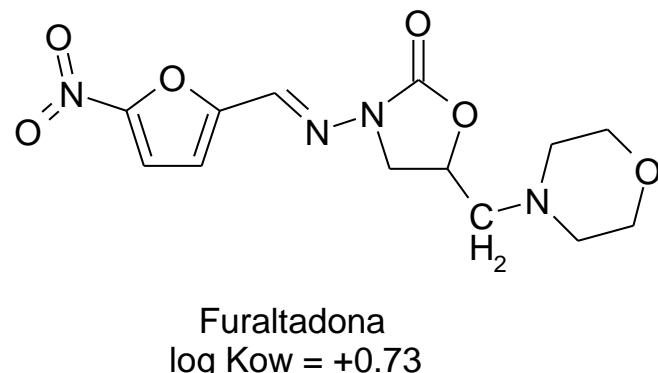


Dependente polinomiale ale retentiei HPLC pe fazele stationare indicate ale unor benzodiazepine in functie de compozitia fazei mobile data de procentul de acetonitril. (in curs de publicare)

A.I.2. Studii privind dezvoltarea de metode chromatografice pentru separarea si determinarea medicamentelor/metabolitiilor din clasa nitrofuranului din matrici sintetice:
Coordonator (CO) - UNIVERSITATEA BUCURESTI, Facultatea de Chimie.



AOZ, $\text{log K}_{\text{ow}} = -0.66$



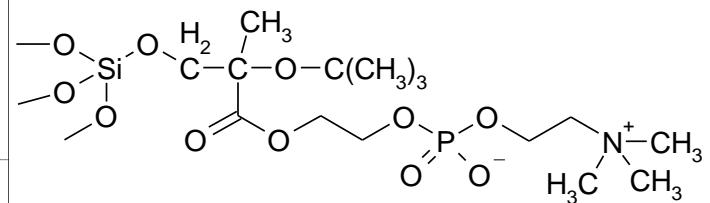
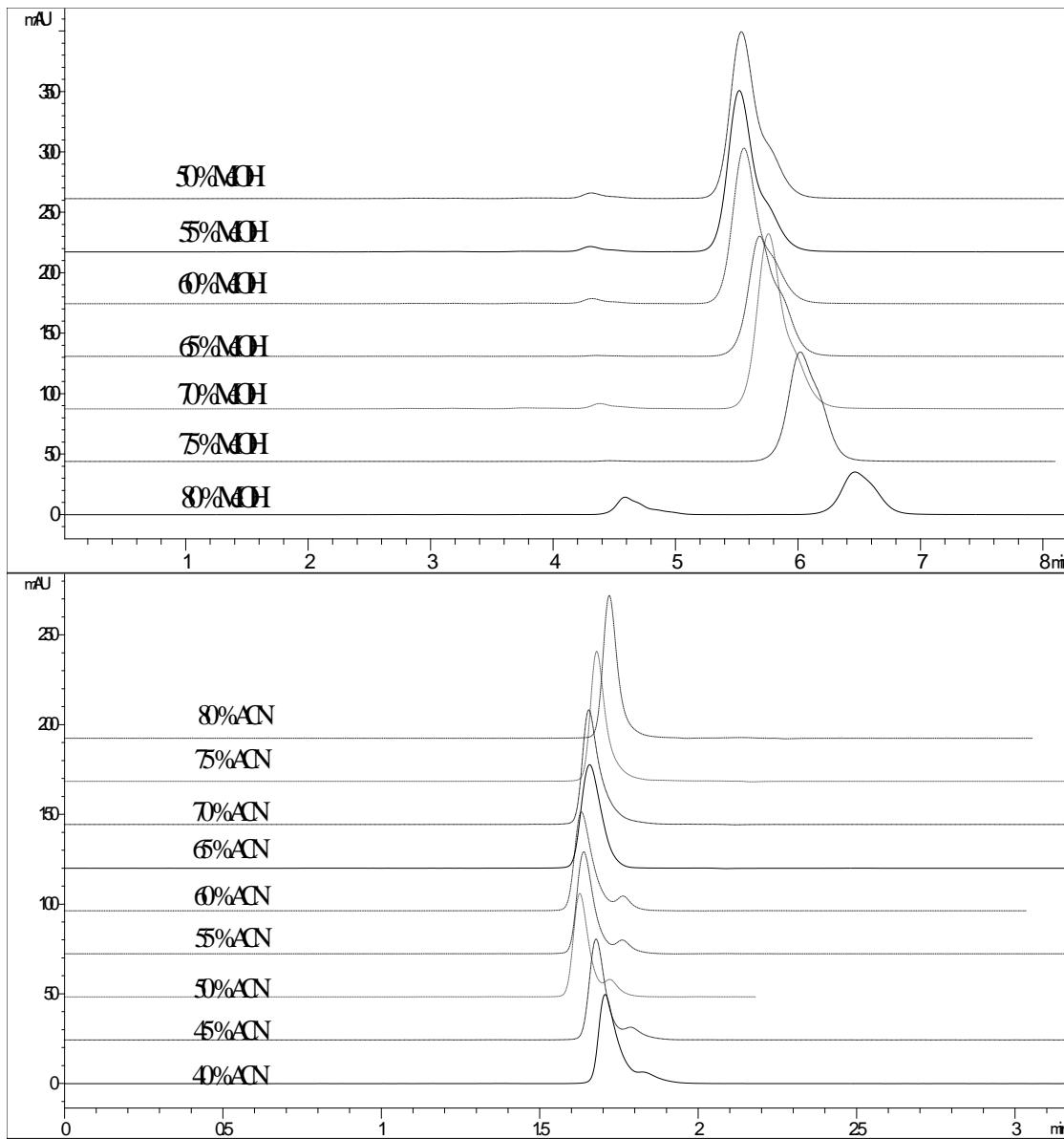
AMOZ, $\text{log K}_{\text{ow}} = -0.80$

Structurile compusilor ce urmeaza a fi investigati in cadrul acestui proiect si date privind hidrofobicitatea lor prin constanta de partitie apa/octanol (Kow)

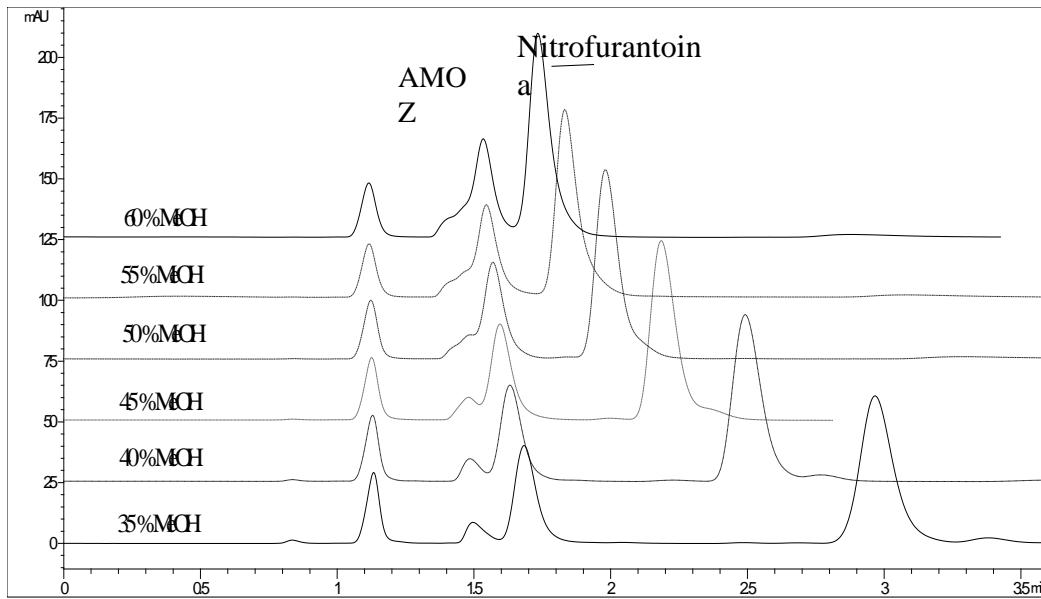
Valoarea lui Kow este esentiala in comportarea HPLC.

$$K_{\text{ow}} = \frac{[A]_{\text{octanol}}}{[A]_{\text{apa}}}$$

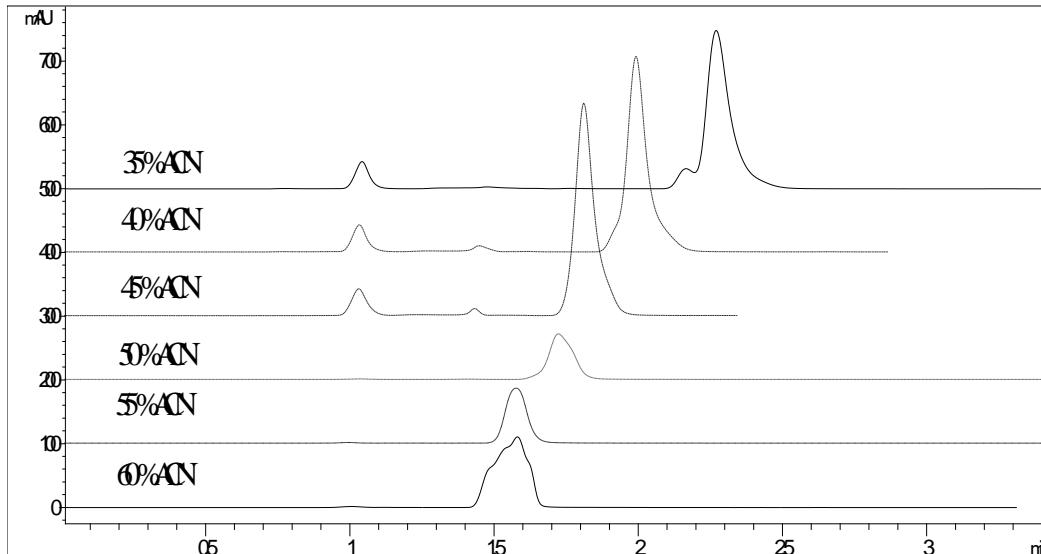
Comporatrea compusilor polari pe coloane de tip polar



Dependenta retentiei in functie de procentul de metanol (MeOH), respectiv de acetonitril (ACN) din faza mobila pentru nitrofurantoina, pentru o coloana de tip polar HILIC).



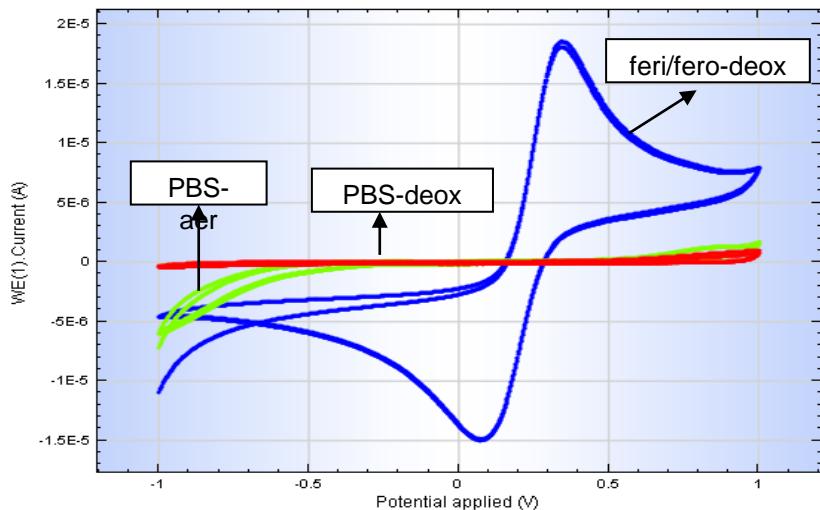
Comporatrea compusilor polari pe coloane de tip hidrofob



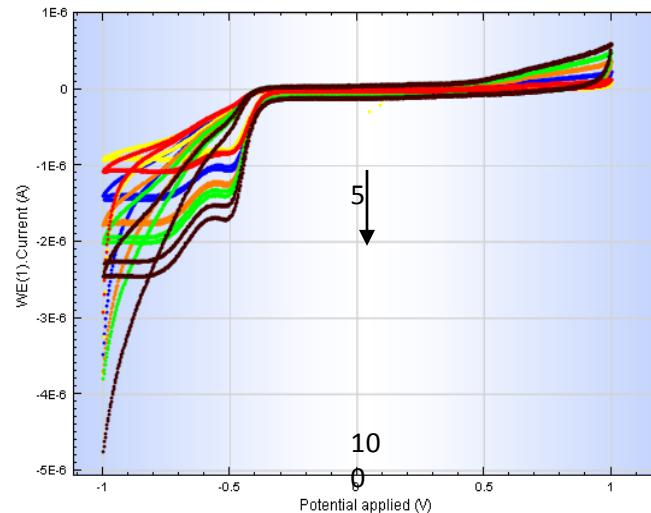
Conditii experimentale:
 Debit 1 mL/min, 25 C, 210 nm.
 Volumul de injectie: 2 μ L
 Nitrofurantoina - 200 ppm in metanol
 AMOZ – 250 ppm in metanol
 Coloana Zorbax Eclipse XDB C18.

A I.3 Studii referitoare la construcția de senzori pentru determinarea medicamentelor/metabolitilor din clasa nitrofuranului din matrici sintetice (Partener 2 - INCDSB)

In cadrul acestei etape au fost realizate studii de catre INCDSB privind posibilitatea determinarii rapide prin mijloace electrochimice a trei medicamente din clasa nitrofuranelor (furazolidona, furaltadona si nitrofurantoina) si a unui compus de degradare: AOZ care se gasesc in produsele alimentare contaminate in urma utilizarii furazolidonei.

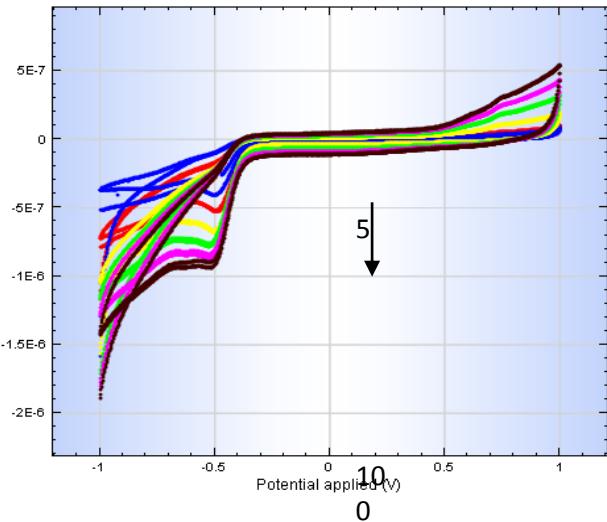


Voltamogramele ciclice inregistrate cu un electrod BDE curat in solutie deoxygenata de tampon (PBS pH 7.4) si in prezenta aerului, precum si in solutie deoxygenata de feri/fero

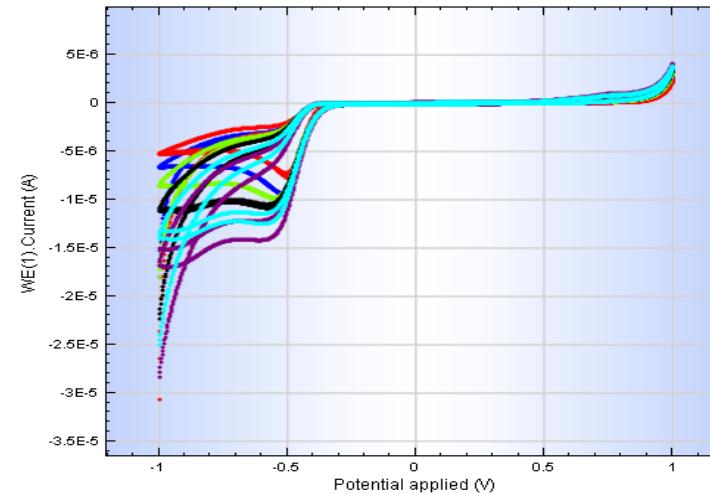


Voltamogramele ciclice inregistrate la diferite viteze de scanare intre 5-100 mV/s cu un electrod BDE curat in solutie deoxygenata de nitrofurantoin 0.1 mM.

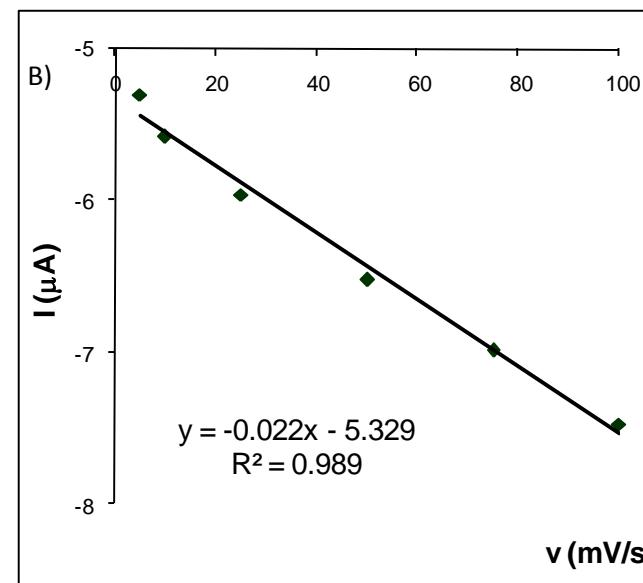
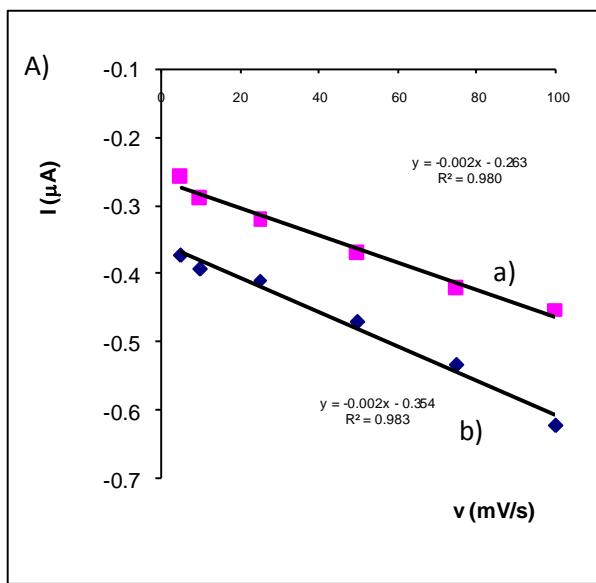
Comunicare orala: A. Chira, B. Bucur, T. Galaon, G.L. Radu: "Study of the synthesis and degradation of 4,4'-dipyridine derivatives", 2nd International Conference on Chemical Engineering ICCE2014, Iași, Romania, Noiembrie 5 - 8, 2014



Voltamogramele ciclice inregistrate la diferite viteze de scanare intre 5-100 mV/s cu un electrod BDE curat in solutie deoxigenata de furazolidona 0.1 mM.

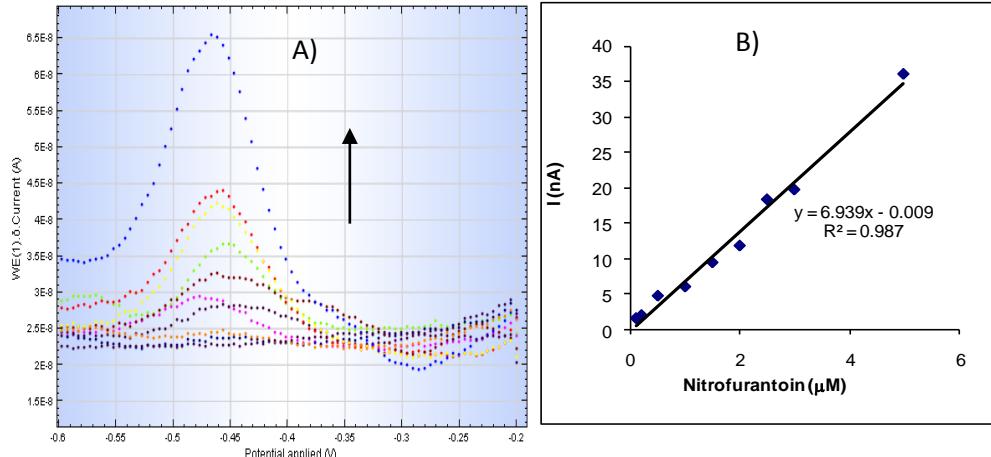


Voltamogramele ciclice inregistrate la diferite viteze de scanare intre 5-100 mV/s cu un electrod BDE curat in solutie deoxigenata de furaltadona 1 mM.

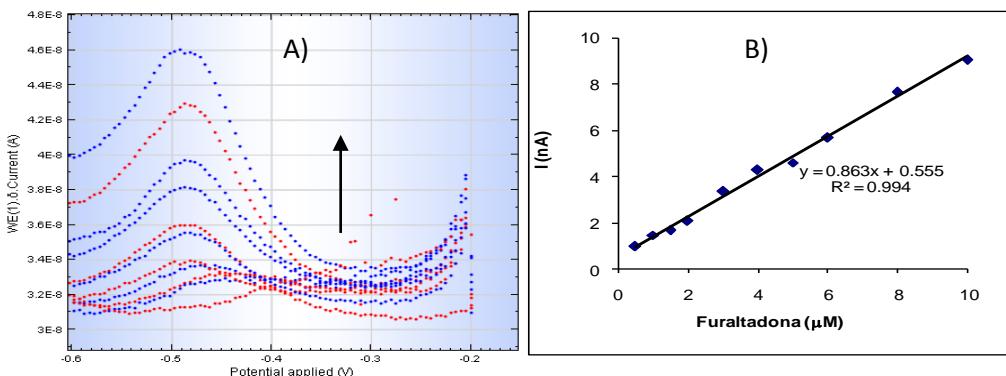


Graficele de calibrare reprezentand inaltimea picurilor vs. viteza de scanare (5-100 mV/s) pentru A) furazolidona 0.1 mM (a) si nitrofurantoin (b) ; B) furaltadona 1mM.

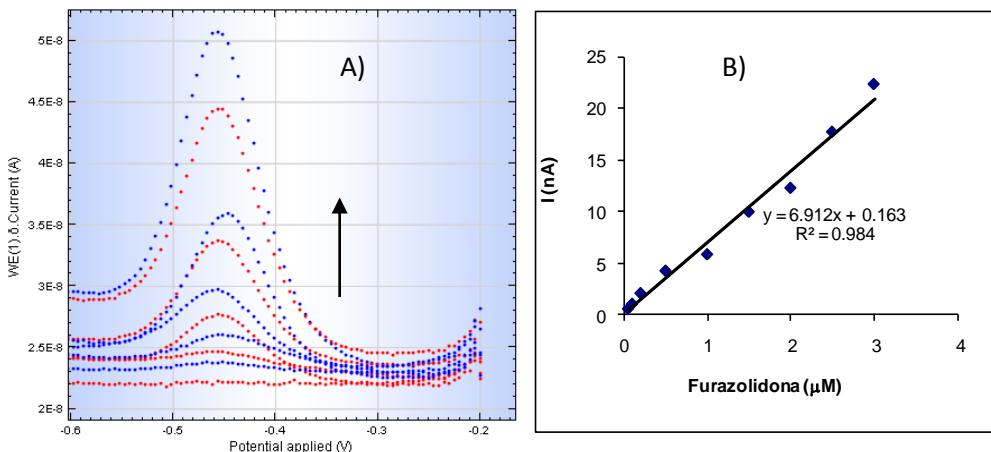
A) Semnalele analitice obtinute la determinarea nitrofurantoiului prin DPV. B) Graficul de calibrare corespunzator. Concentratii nitrofurantoin: 0.1 – 5 μ M.



A) Semnalele analitice obtinute la determinarea furaltadona prin DPV. B) Graficul de calibrare corespunzator. Concentratii nitrofurantoin : 0.5 – 10 μ M



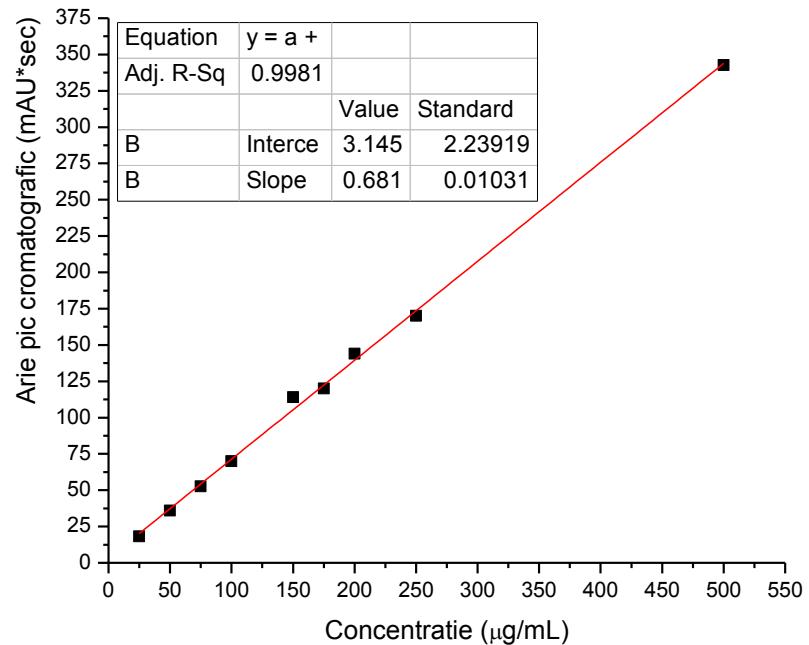
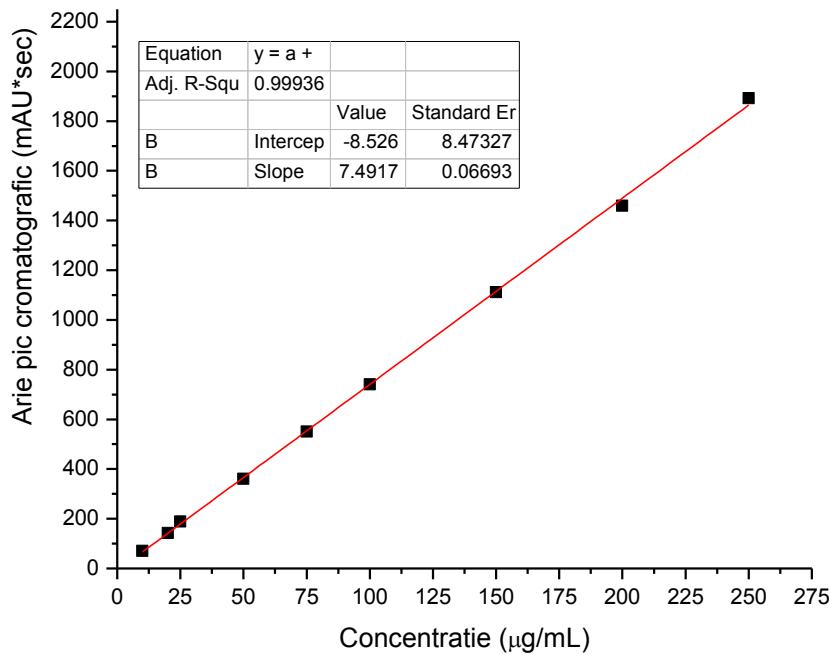
A) Semnalele analitice obtinute la determinarea furaltadona prin DPV. B) Graficul de calibrare corespunzator. Concentratii nitrofurantoin : 0.5 – 10 μ M.



A.I.4 Studiul metodei de analiză standard care va fi utilizata ca analiză de referință:

Partener (P4) - CP MED LABORATORY SRL

Metoda HPLC – Metoda standard in analiza probelor complexe.



Drepte de calibrare pentru nitrofurantoina si metabolitul AMOZ, obtinute prin HPLC cu detectie UV in mecanismul de separare de tip faza inversa.

A I.5 **Diseminarea** rezultatelor prin participare la conferinte:

Comunicare orala: A. Chira, B. Bucur, T. Galaon, G.L. Radu: “*Study of the synthesis and degradation of 4,4'-dipyridine derivatives*”, 2nd International Conference on Chemical Engineering ICCE2014, Iași, Romania, Noiembrie 5 - 8, 2014.

Alte rezultate obtinute in etapa I vor fi publicate in urmatorul an, 2015, in reviste de specialitate din tara si strainatate.

ETAPA 2 - 2015

Dezvoltarea unui MIP si a doua metode analitice pentru determinarea de medicamente / metaboliți din clasa nitrofuranului. Diseminarea si valorificarea rezultatelor.

Rezultate asteptate:

- 1. Modelul experimental al primului MIP;*
- 2. Modelul experimental: Metoda HPLC de analiză bazată pe prelucrarea probelor folosind coloane cu primul MIP dezvoltat*
- 3. Modelul experimental: senzor bazat pe MIP-ul dezvoltat.*

Activitate 2.1

Denumirea activitatii: Dezvoltarea unui MIP cu selectivitate pentru un medicament/metabolit din clasa nitrofuranului

Partener (P1) – Universitatea Politehnica din Bucuresti

Partener (P3) – COSFEL ACTUAL S.R.L.

Activitate 2.2

Denumirea activitatii: Dezvoltarea unei metode cromatografice bazată pe pregătirea probei cu MIP-uri pentru analiza unui medicamente/metabolit din clasa nitrofuranului.

Coordonator (CO) - UNIVERSITATEA BUCURESTI

Activitatea 2.3

Denumirea activitatii: Dezvoltarea unui senzor de analiza rapidă a unui medicament/metabolit din clasa nitrofuranului

Partener (P2) – Institutul National de Cercetare Dezvoltare pentru Stiinte Biologice

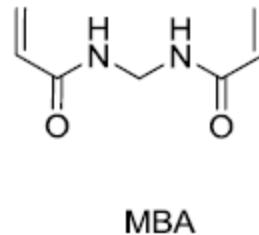
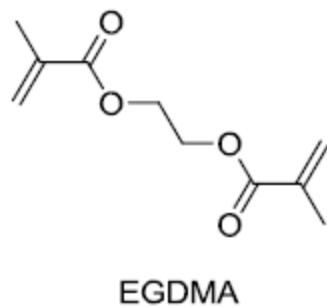
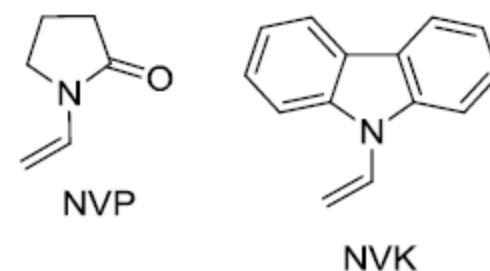
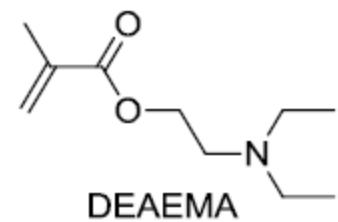
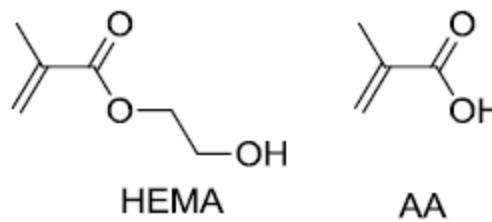
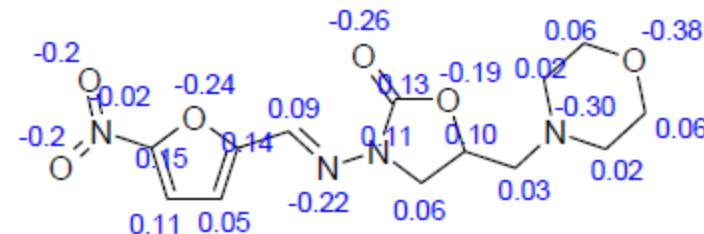
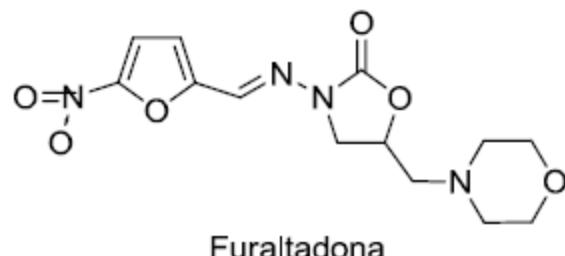
Activitatea 2.4.

Denumirea activitatii: Implementarea în laborator a unei tehnici de analiza alternative

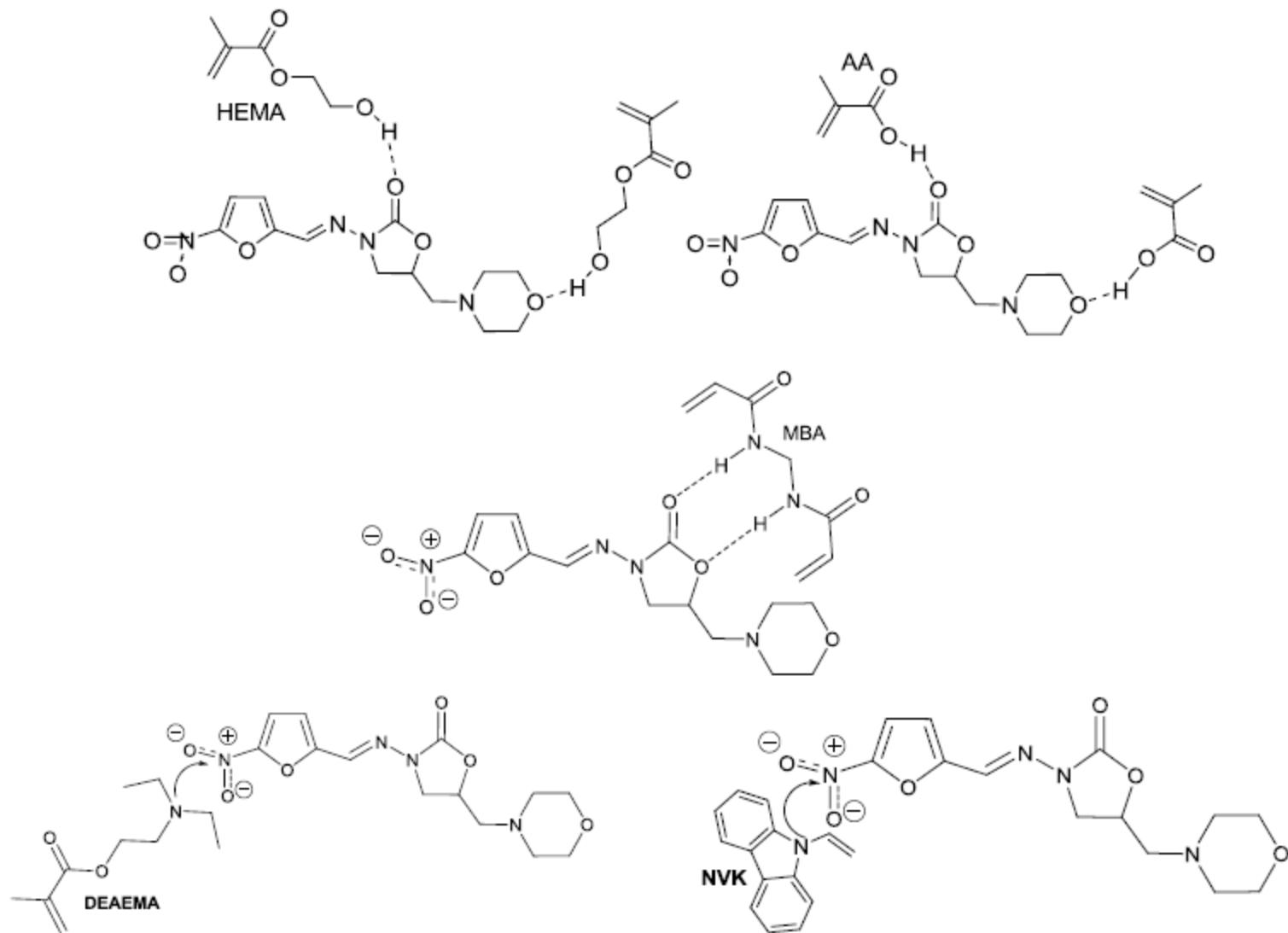
Partener (P4) - CP MED LABORATORY SRL, in colaborare cu Coordonatorul Proiectului (U.B.).

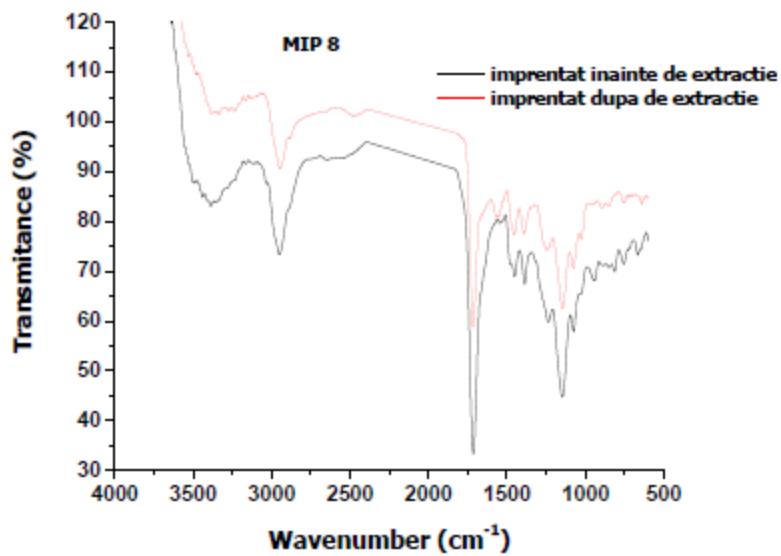
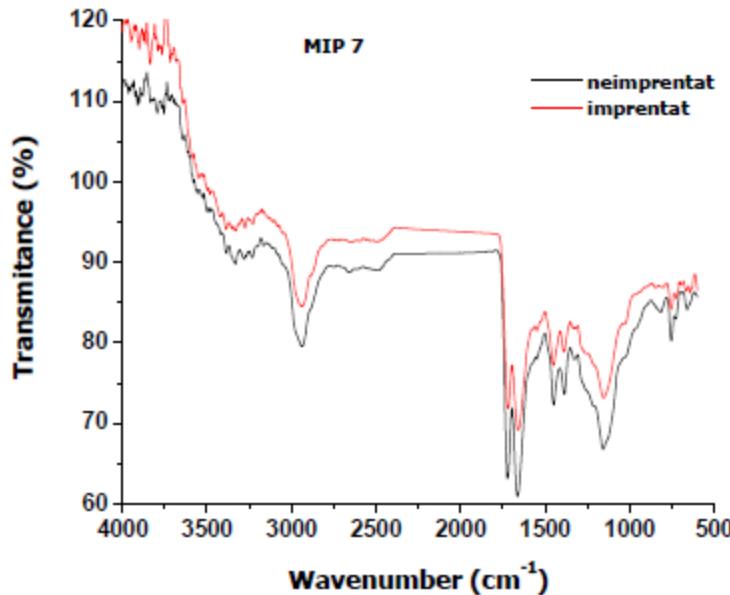
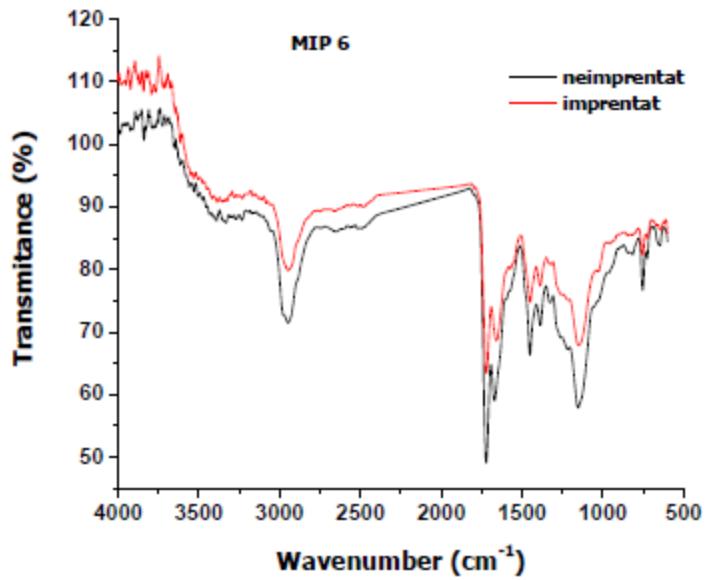
Activitatea 2.5. Diseminarea rezultatelor prin publicare in reviste ISI.

Activitatea II.6. Diseminarea rezultatelor prin participare la conferinte.

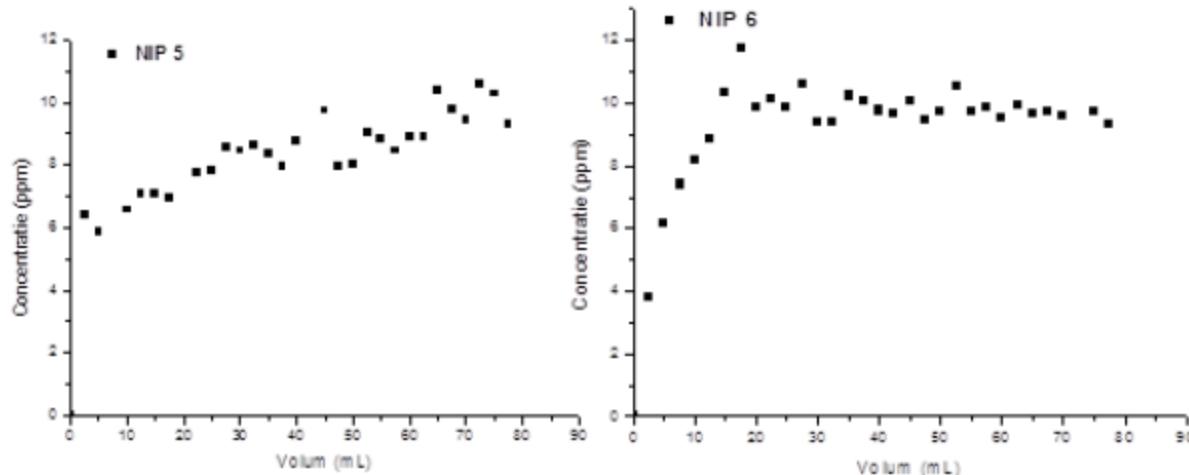


Interactiuni specifice intre molecule tipar si matricea polimerica

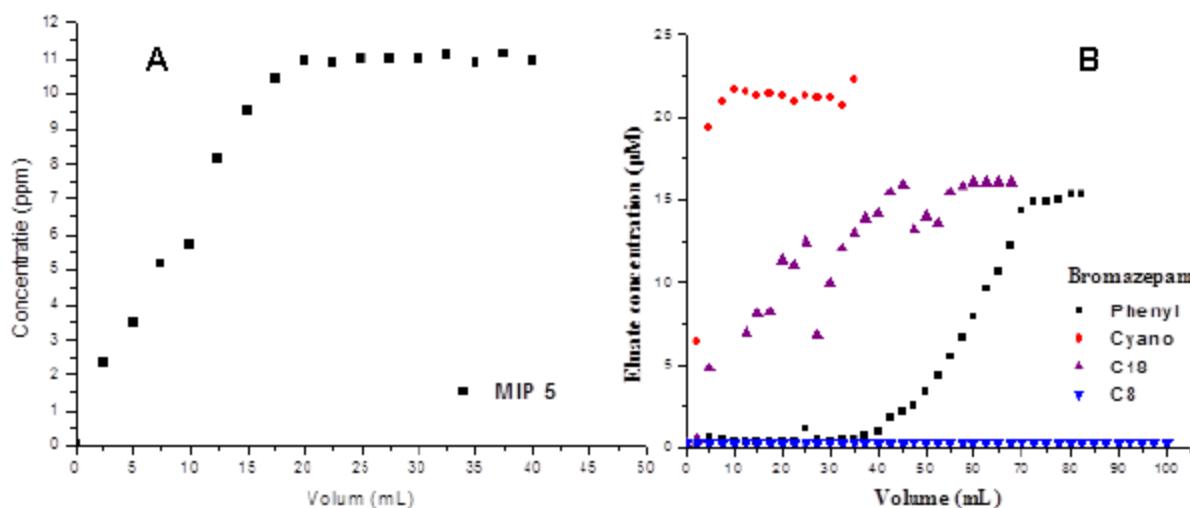




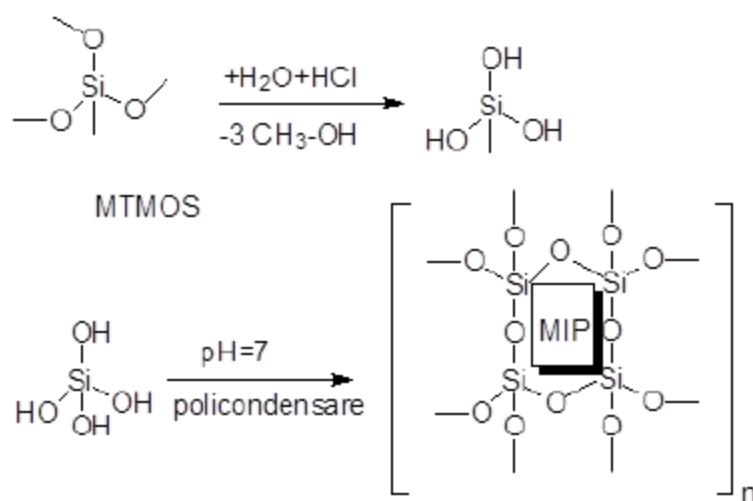
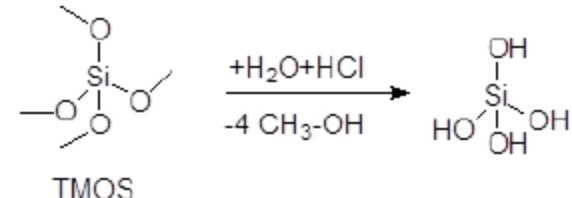
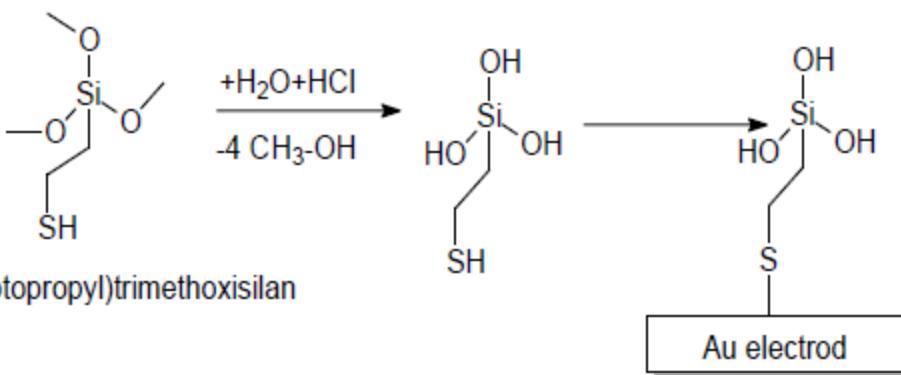
Spectre in infrarosu obtinute pentru trei probe de adsorbanti MIP sintetizati.



Curbele de elutie pentru adsorbanti fara imprentarea acestora cu moleculele tipar, furaltadona.

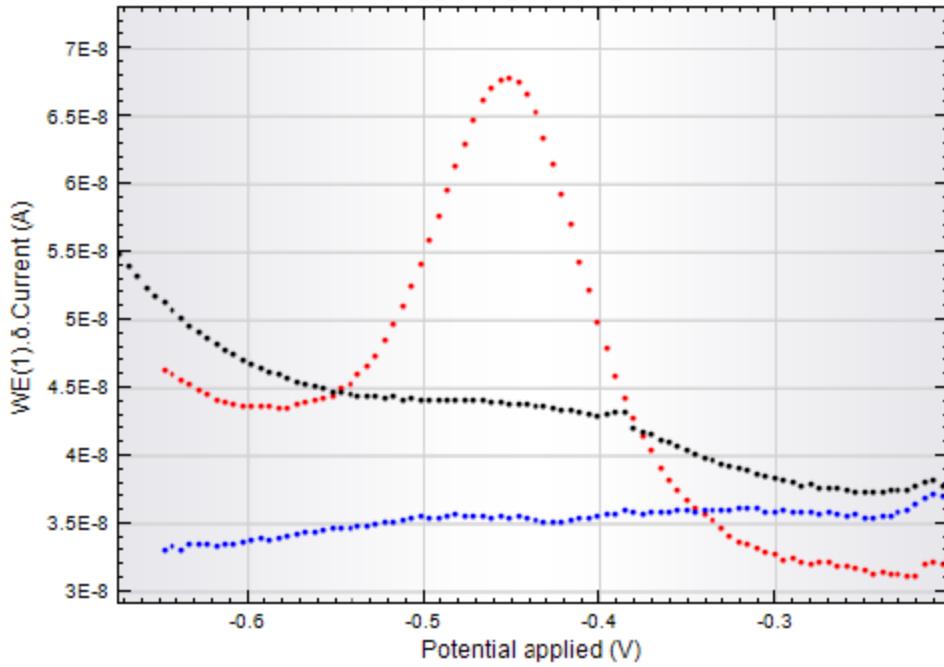


Curba de elutie pentru o solutie de furaltadona, incarcata succesiv pe un adsorbant de tip MIP (A), sintetizat in cadrul proiectului, comparativ cu curbele de elutie inregistrate pe adsorbanti neselectivi.

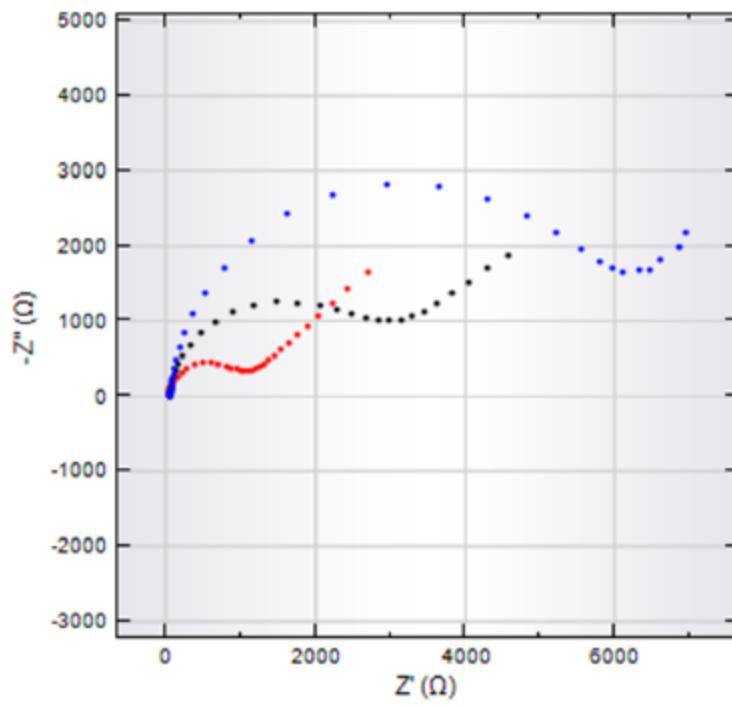


Formarea unui strat de SAM pe electrodul de aur folosind (3-mercaptopropyl)trimethoxisilan hidrolizat.

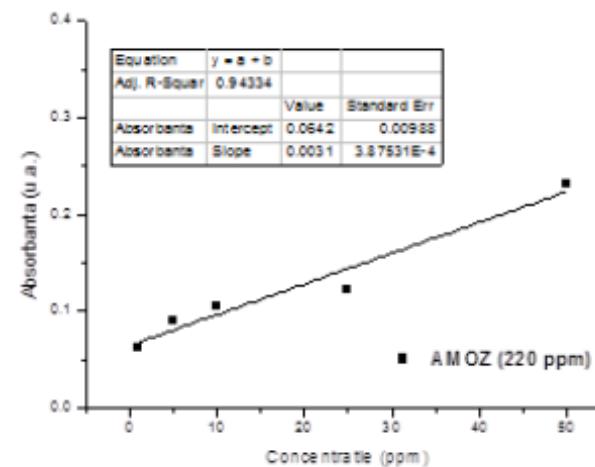
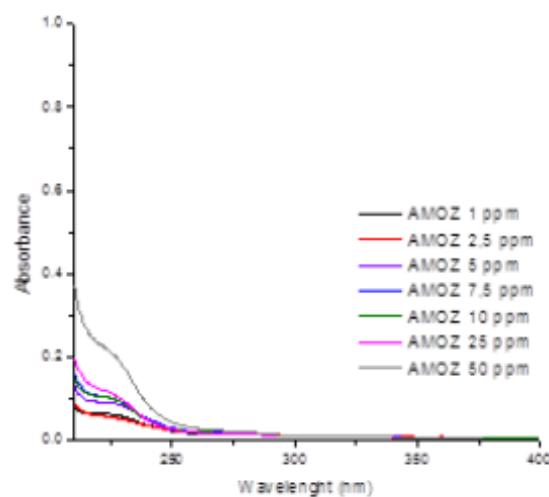
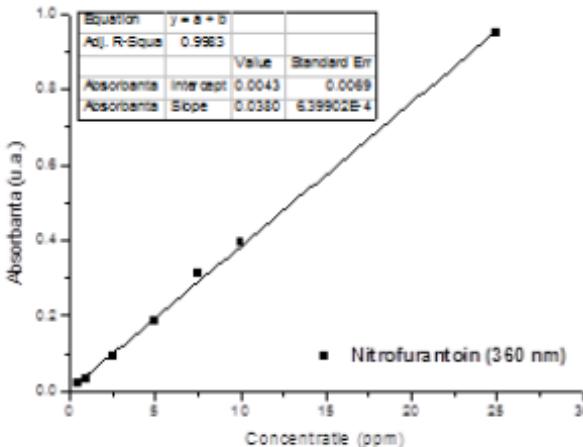
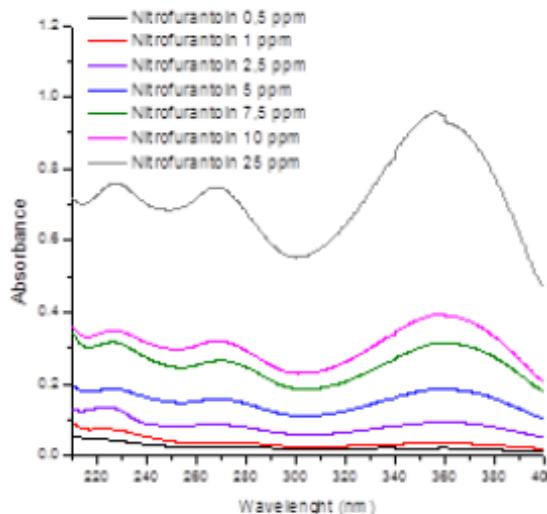
Reactiile de hidroliza a TMOS si MTMOS.
Reprezentare schematica a reactiei de policondensare.



Semnalele DPV obtinute la analiza furaltadonei. Rosu= electrod curat si analitul in solutie; albastru = electrod cu MIP si preconcentrate timp de 10 min; negru = blank in solutie tampon dezaerata.



Semnalele Niquist inregistrate folosind spectroscopia de impendanta electrochimica.
Rosu= electrod curat; negru= electrod cu MIP; albastru= electrod cu MIP dupa
preconcentrarea furaltadonei.



Spectre de absorbtie moleculara UV-VIZ pentru nitrofurantoina si metabolitul sau AMOZ, la diverse concentratii in probe apoase, impreuna cu dreptele de etalonare (parametrii de regresie indicati in figura).

Activitatea 2.5. Diseminarea rezultatelor prin publicare in reviste ISI.

Per global, in cadrul acestei etape au fost publicate rezultate ale studiilor din tema proiectului sau activitatea de cercetare avand legatura cu tema proiectului in 3 articole ISI, din tara sau din strainatate, dupa cum urmeaza:

M.C. Radulescu, M.P. Bucur, B. Bucur, G.L. Radu, *Biosensor based on inhibition of monoamineoxidases A and B for detection of β-carbolines*, **Talanta** 137, 94–99, 2015; DOI: 10.1016/j.talanta.2015.02.013

A. Chira, B. Bucur, T. Galaon, G. Radu, *Study of the synthesis and environmental removal of 4,4'-dipyridine derivatives*, **Environmental Engineering and Management Journal**, 14 (2), 269-275 (2015).

E.Bacalum, M.Cheregi, V.David, *Retention behavior of some benzodiazepines in solid-phase extraction using adsorbents with various hydrophobicities*, **Revue Roumaine de Chimie**, 60 (9), 891-898 (2015).

Activitatea II.6. Diseminarea rezultatelor prin participare la conferinte.

1. Comunicare orala: M. C. Radulescu, M. P. Bucur, B. Bucur, G. L. Radu: "Stable Prussian blue-copper modified (micro)electrodes for sensitive enzymatic biosensors based on oxidases", 7th International Workshop on Biosensors for Food Safety and Environmental Monitoring, Erfoud, Morocco, November 19 - 21, 2015.
2. Edina Rusen, Alexandra Mocanu, Aurel Diacon - "One Reaction - Two Types of Polymerization Mechanisms for N-vinyl Carbazole using a Single Donor-Acceptor Initiating System", Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering – RICCCE XIX, Sibiu, Romania, 02-05 Septembrie 2015.
3. E.Bacalum, M.Cheregi, B.Bucur, V.David, F.Rizea, A.Diaconu, E.Rusen International Symposium: Priorities of Chemistry for a Sustainable Development (PRIOCHEM), Editia a XI-a, Bucuresti, 29-30 octombrie 2015; Section 3: "Materiale multifunctionale si nanocompozite", Poster S3 – Pb 2, cu titlul <*Studies for solid-phase extraction using molecular imprinted polymers for nitrofurantoin*>.

ETAPA 3 - 2016

Act. 3.1. Studii preliminare privind dezvoltarea si utilizarea unui al doilea MIP.

Partener (P1) – UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCURESTI; Partener (P3) – COSFEL ACTUAL S.R.L.

Activitati partener: Studii preliminare privind dezvoltarea unui al doilea MIP.

A. 3.2. Studii preliminare privind dezvoltarea unei metode cromatografice bazata pe prelucrarea probei cu MIP-uri pentru analiza unui al doilea medicament/metabolit din clasa nitrofuranului.

Coordonator: Universitatea din Bucuresti

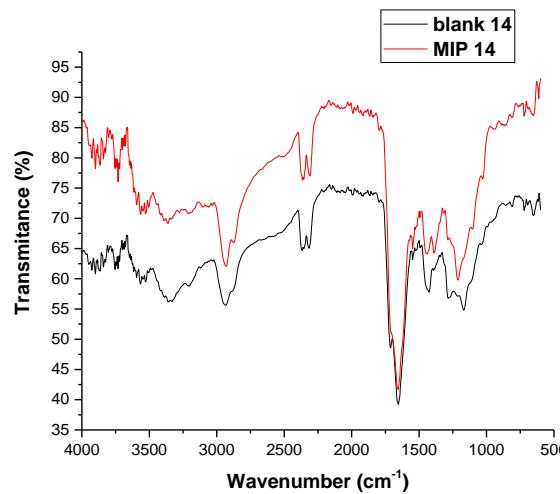
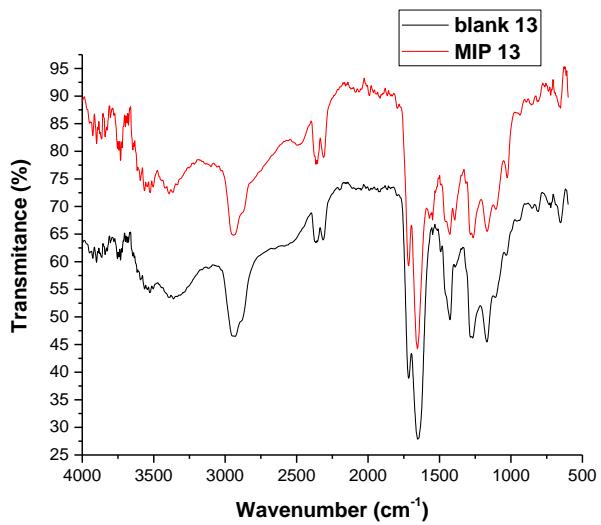
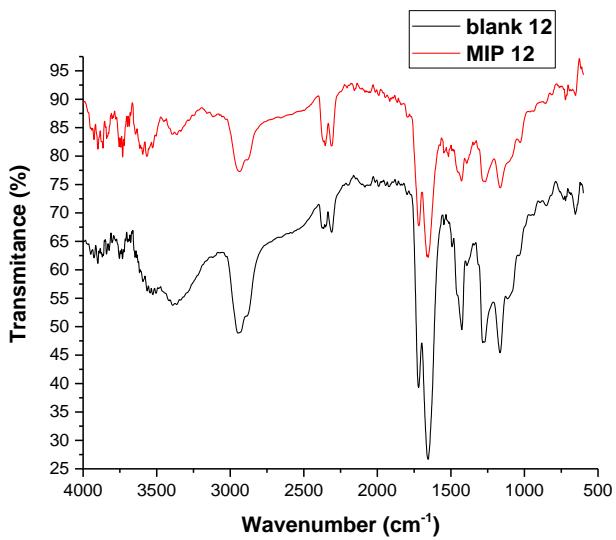
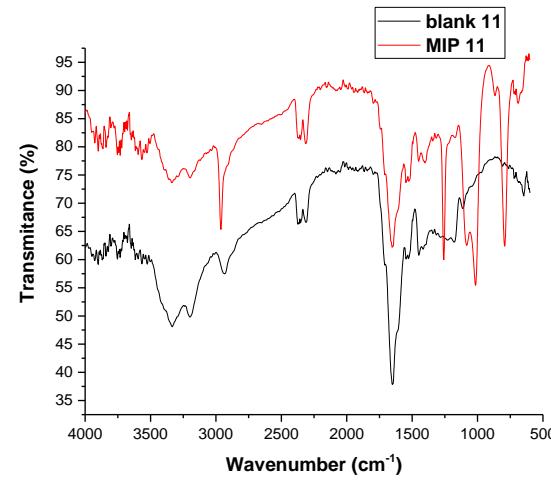
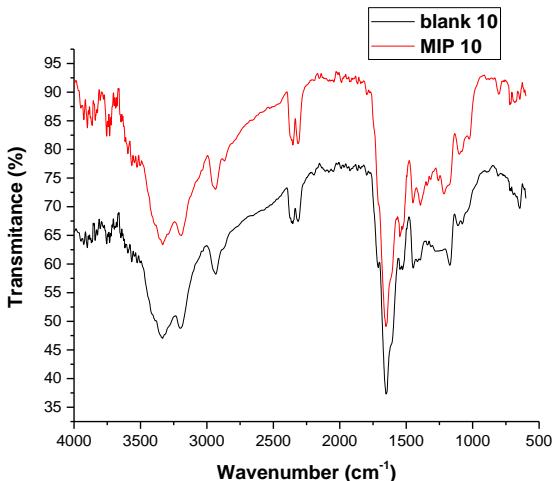
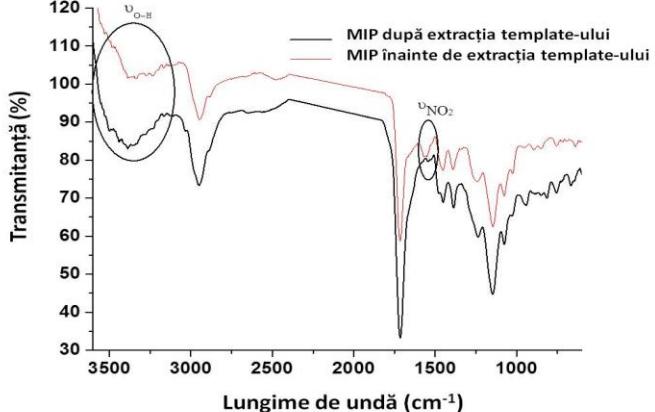
A III.3 Studii preliminare privind dezvoltarea unui senzor pentru analiza rapida a unui al doilea medicament/metabolit din clasa nitrofuranului

Partener: INCDSB -2016.

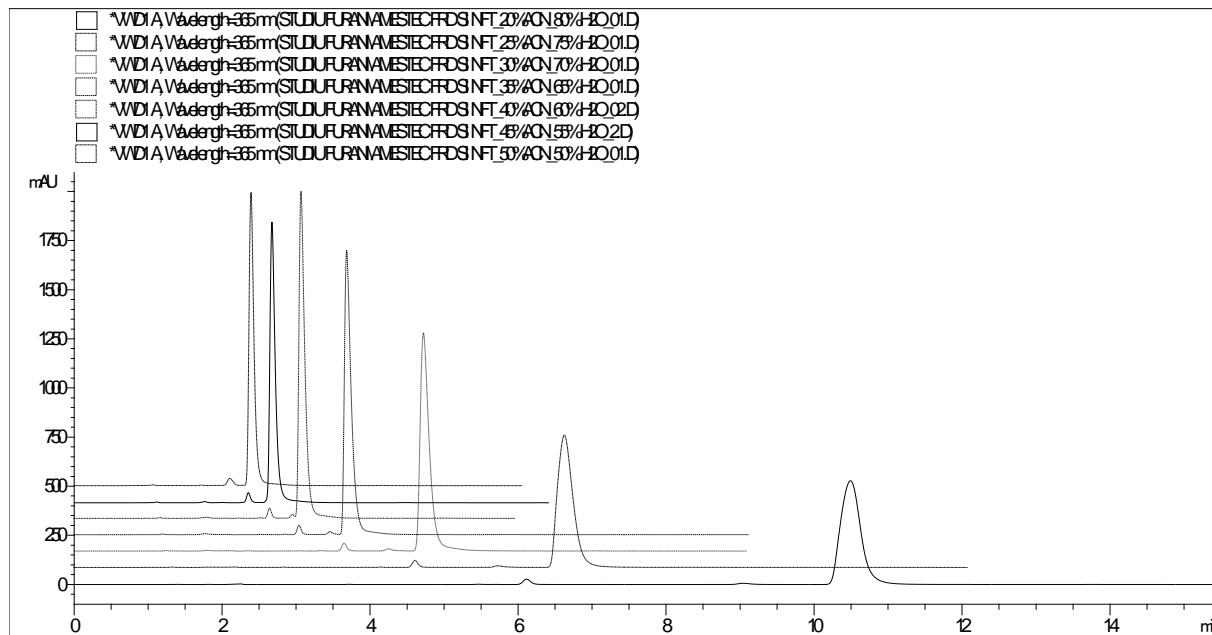
Activitatea A3.4: Compararea metodelor analitice dezvoltate

Partener (P4) - CP MED LABORATORY SRL

Activitatea A3.5. Diseminarea pe scara larga prin comunicarea si publicarea nationala sau internationala a rezultatelor.

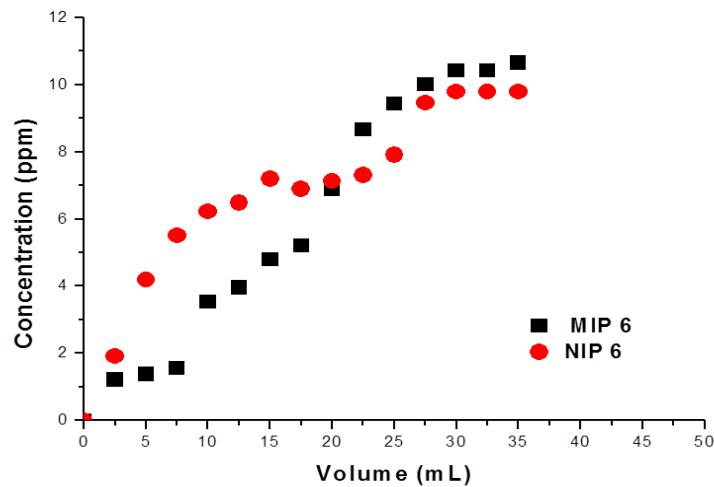
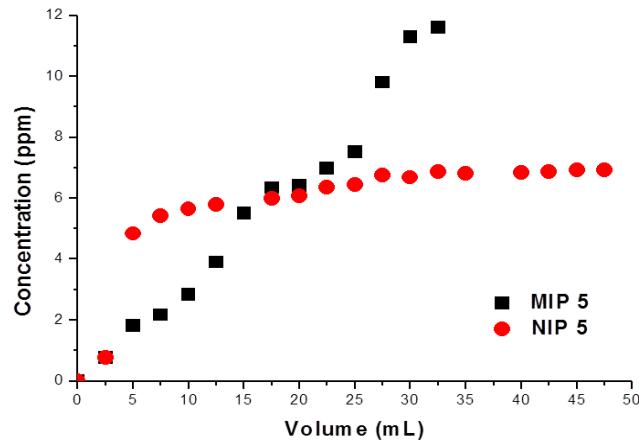


Spectrele FT-IR pentru adsorbantii de tip MIP sintetizati de **UPB**, colectivul condus de **Conf. Dr. Edina Rusen**, înainte de extracție moleculei template de furaltadona din matricea polimerului (linia roșie), respectiv după extracție (linia neagră).

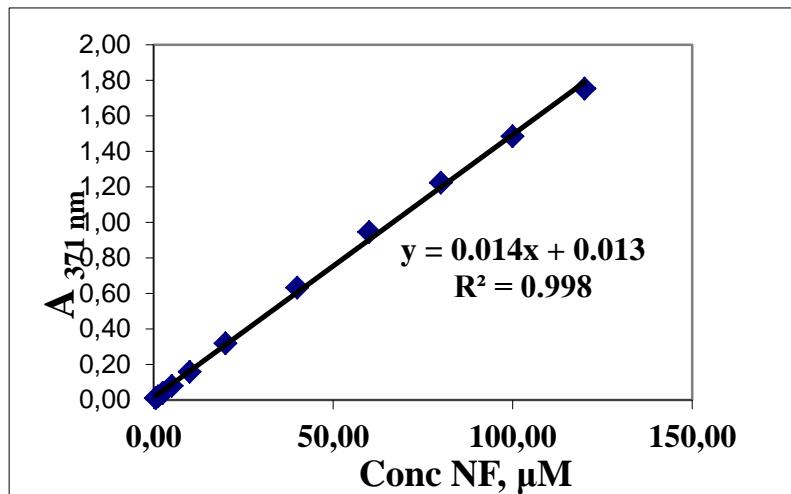
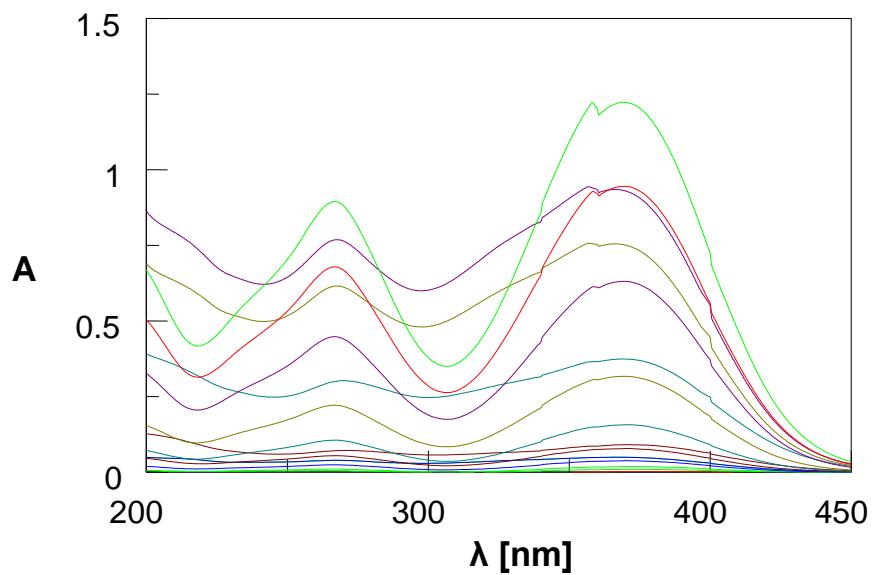


Cromatograme suprapuse la diverse componetii ale fazei mobile, utilizand o coloana cromatografica Luna C8 (dublu inertizata), pentru concentratii de acetonitril in faza mobila in intervalul 20 – 50% (debit de faza mobila – 1 mL/min; temperatura coloanei 25°C; detectie la 365 nm, volum de injectie 10 mL).

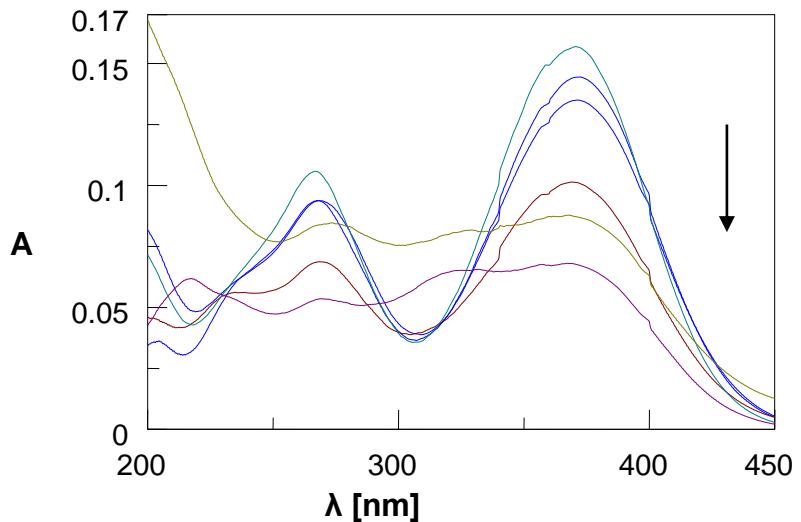
Studiul chromatografic a fost efectuat in laboratorul de cromatografie al Facultatii de Chimie, UB

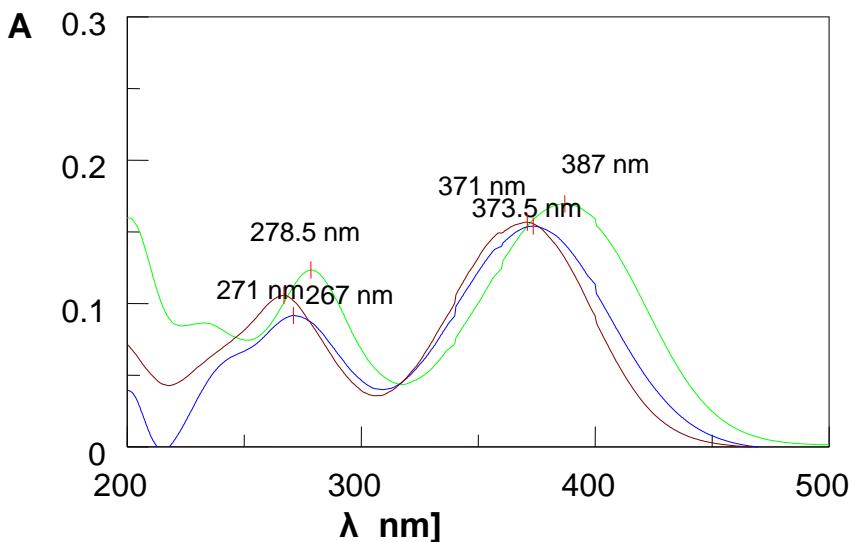


Curbe de elutie ale furaltadonei pe doua MIP-uri, notate cu MIP 5 si 6, in comparatie cu adsorbanti neimprentati (notati cu NIP 5 si 6).



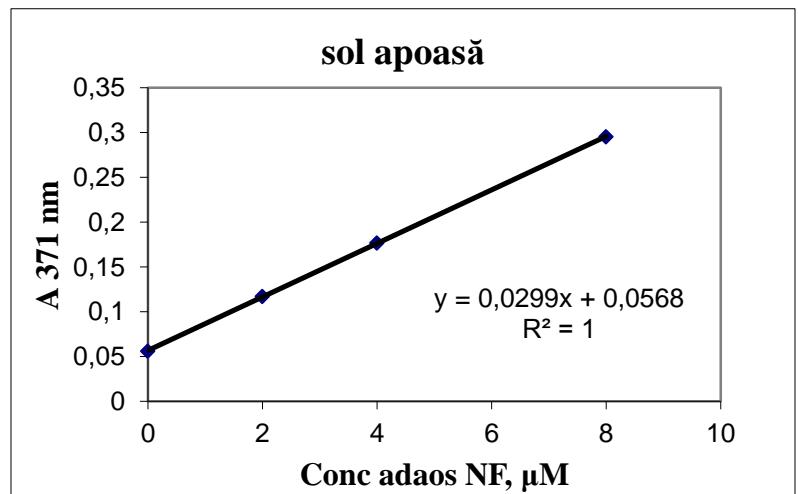
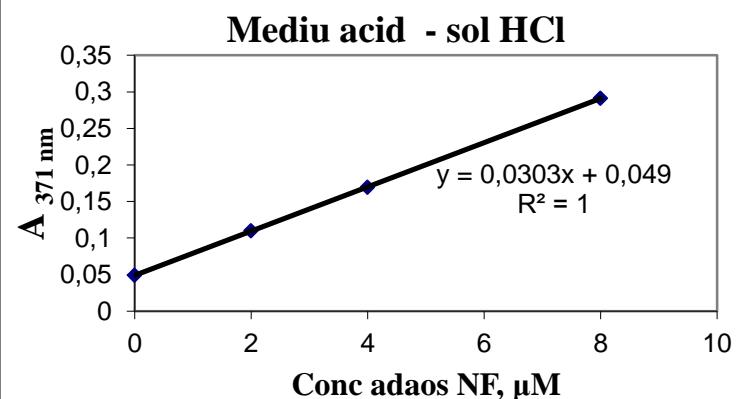
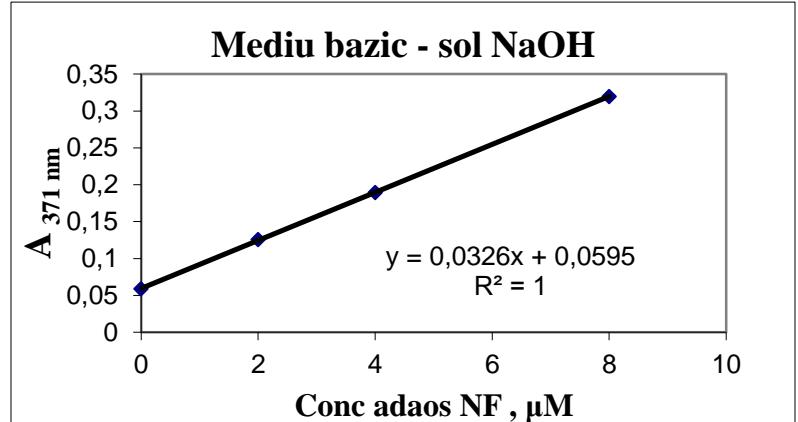
Studiu spectrometric UV-Viz asupra stabilitatii nitrofurantoinei efectuat in laboratorul Departamentului de Chimie Analitica, UB (Lector Dr. A. Gheorghe).

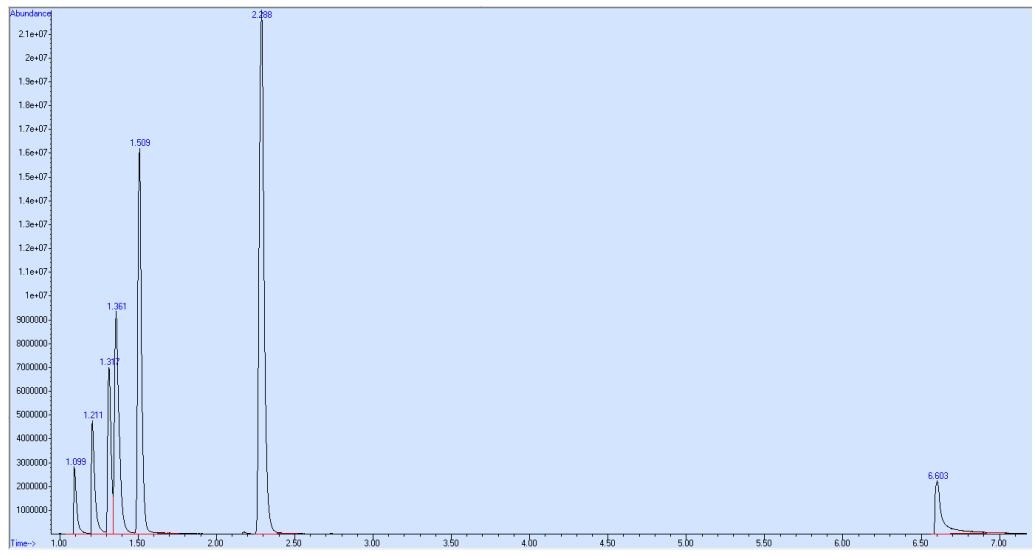




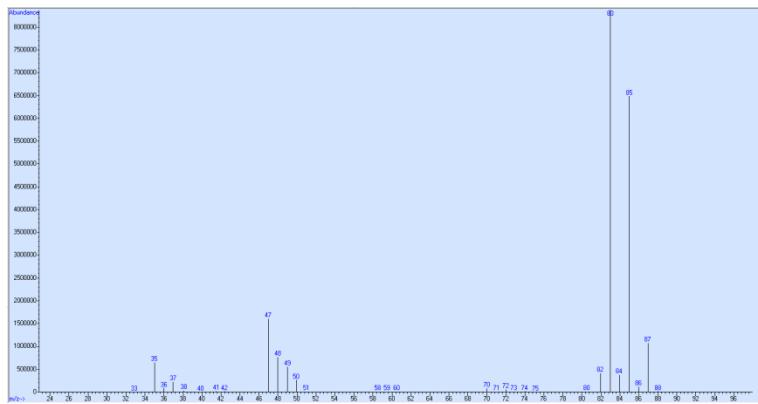
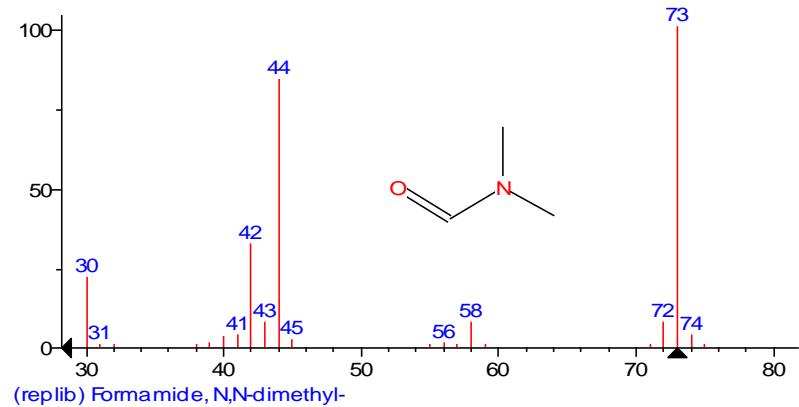
Spectrele de absorbție ale soluției apoase de nitrofurantoină cu concentrația $10 \mu\text{M}$ în mediu neutru, acid și basic.

Studiul aplicării metodei adiților standard pe probe de apă de suprafață în următoarele condiții: (a) proba cu pH inițial 6,5; (b) mediu acid; (c) mediu basic.

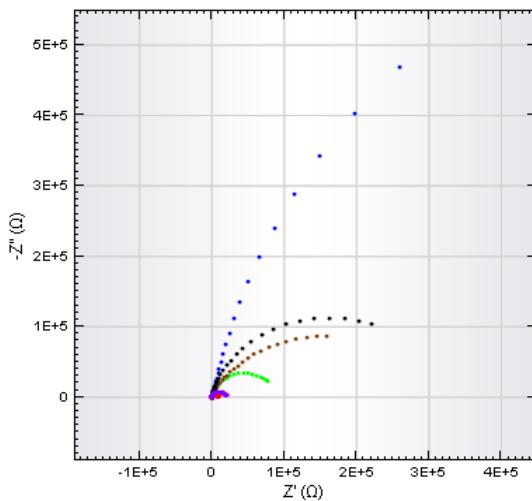




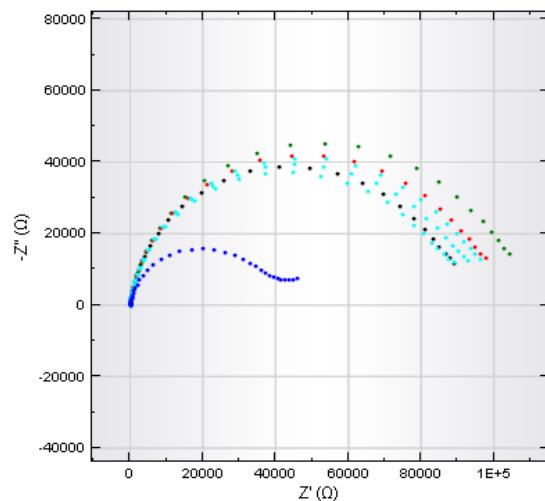
Cromatograma separarii unui amestec de solventi volatili prin GC-MS, realizat in laboratorul de cromatografie de gaze al partenerului CP MED LABORATORY SRL.



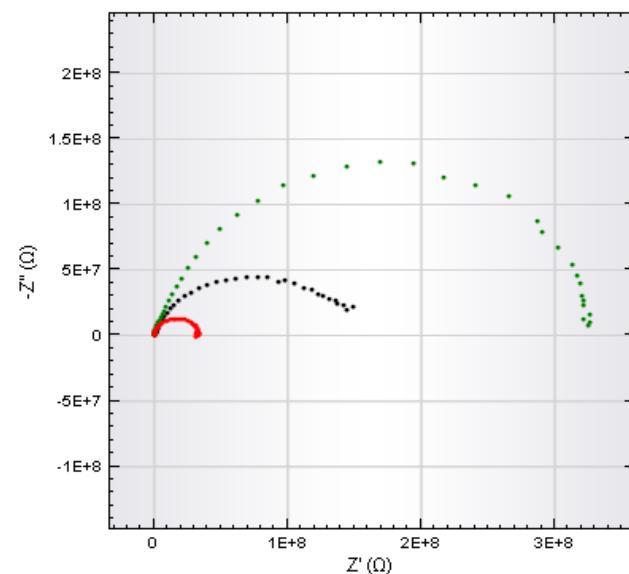
Spectrul de masa al dimetilformamidei din libraria spectrala (sus) si cel experimental, obtinut din cu detectorul MS al sistemul gaz-cromatografic.



Reprezentarea Nyquist a spectrelor de impedanta electrochimica masurate pentru electrozi acoperiti cu SAM.



Semnalele obtinute pentru un electrod cu MIP. Albastru inchis: semnal initial inainte de stabilizare. Albastru deschis: semnalele obtinute pentru masuratori separate de imersare in PBS. Negru, rosu si verde: semnalele obtinute pentru electrozi regenerati prin imersie in etanol si PBS



Semnalele analitice obtinute cu electrozii cu MIP pentru diferite solutii standard de furaltadona

Studii preliminare privind dezvoltarea unui senzor pentru analiza rapida a unui al doilea medicament/metabolit din clasa nitrofuranului (realizat de grupul condus de Dr. Bogdan Bucur, - INCDSB)

Diseminarea rezultatelor etapei 2016:

1. E. Bacalum. M. Tanase, M. Cheregi, H.Y. Aboul-Enein, V. David, *Retention mechanism in zwitterionic hydrophilic liquid chromatography (Zic-Hilic) studied for highly polar compounds under different elution conditions*, Revue Roumaine de Chimie, 61 (6-7), 531-539 (2016).
2. M-C. Radulescu, M-P. Bucur, A. Alecu, B. Bucur, G. L. Radu, *Electrochemical determination of hydrogen peroxide using a prussian blue-copper modified platinum microelectrode*, Analytical Letters, 49 (13), 2006-2017 (2016); doi.org/10.1080/00032719.2015.1131706
3. M.P. Bucur, M.C. Radulescu, B. Bucur, G.L. Radu: „*Low-interferences Determination of the Antioxidant Capacity in Fruits Juices Based on Xanthine Oxidase and Mediated Amperometric Measurements in the Reduction Mode*”, Analytical Sciences, 32 (2), 135- 140 (2016); DOI: 10.2116/analsci.32.135
4. V. David, Plenary Lecture: *Molecular properties investigated by liquid chromatography*, 3rd International Conference on Chemical Engineering, Iasi, 9 – 11 november, 2016.
5. E. Bacalum, E. Rusen, F. Rizea, A. Diacon, M. Cheregi, A. Gheorghe, B. Bucur, V. David, *Optimization of solid phase extraction based on molecularly imprinted adsorbents for furaltadone*, International Conference on Analytical and Nanoanalytical Methods for Biomedical and Environmental Sciences, 4th edition, June 29 – July 1, 2016, Brasov, Romania.
6. E. Bacalum, A. Gheorghe, M. Cheregi, V. David, E. Rusen, A. Diacon, F. Rizea, *HPLC-UV determination of nitrofuran antibiotics using molecularly imprinted polymers for sample enrichment*, PRIOCHEM XII – 2016, Section: Environmental engineering and cultural heritage protection – XXX, ICECHIM, 27-28 octombrie 2016.
7. E. Rusen, F. Rizea, A. Diacon, M. Cheregi, B. Bucur, E. Bacalum, V. David, *Retention modeling for solid-phase extraction on molecularly imprinted polymers (SPE – MIPs) for nitrofuran antibiotics*, A XXXIV-a Conferinta Nationala cu Participare Internationala, Calimanesti-Caciulata, Valcea, 04– 07octombrie 2016.
8. A. Gheorghe, S. Stănișteanu, M. Cheregi, V. David, *Spectrometric approach to investigate analytical and environmental issues of nitrofurantoin*, A XXXIV-a Conferinta Nationala cu Participare Internationala, Calimanesti-Caciulata, Valcea, 04– 07 octombrie 2016.

SPECTROMETRIC APPROACH TO INVESTIGATE ANALYTICAL AND ENVIRONMENTAL ISSUES OF NITROFURANTOIN

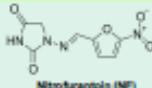


Adriana Gheorghe, Sorin Stănilăsanu, Mihaela Cheregi and Victor David

University of Bucharest, Faculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry,
Sos Panduri 90-92, Bucharest 050663, ROMANIA

Background

- ❑ Nitrofuran-based antibiotics used for therapy in human and veterinary microbial infections.
- ❑ Their recent extensive use led to increasing levels of these compounds and their degradation products in aquatic systems and other environmental compartments.
- ❑ The environmental concentrations and fate depend on pharmacokinetic behaviour (half-life, urinary/faecal excretion, metabolism).
- ❑ Even at low concentration levels, it is presumed that the presence of antibiotics leads to the formation of resistant bacterial strains in the environment.
- ❑ The emerging concern because of their presence and possible antibiotic resistance requests for development of sensitive and reliable methods to investigate nitrofuran derivatives from both, analytical and environmental perspectives.



Materials and methods

- Working solutions have been obtained using appropriate volume from a stock solution of 400 µM NF.
- Equipment :
 - Double beam spectrophotometer Jasco V-530 for the spectrophotometric measurements (UV-VIS);
 - Spectrophotometer Jasco FP-8200 for all experiments with fluorimetric detection.

Analytical aspects

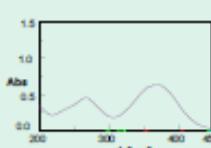


Figure 1. Absorption spectrum of NF solution with concentration 40 µM

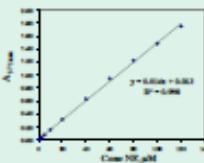


Figure 2. Calibration curve for NF analysis in aqueous media (0.5 – 120 µM)

Analytical characteristics

- ❑ Linearity range: 0.5 – 120 µM
- ❑ LOQ: 0.15 µM
- ❑ LOD: 0.05 µM
- ❑ $\epsilon = 1.4 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (371 nm)
- *LOD = 3 × SD Blank slope ; LOQ = 10 × SD Blank Slope
- ❑ The spectrophotometric approach represents an accessible alternative with high sensitivity and applicability on large concentration range (almost three orders of magnitude) for nitrofuran.

Table 1. Results of the retention study of NF on solid particles in surface waters

	Open NF (µM)	Recovery (%)
0.5	1.0210	87.5
4.0	1.0033	74.0
10.0	1.04375	93.3

The retention experiments developed on surface water samples with solid particles contain between 1,000 and 10,000 µg/L of total organic carbon (TOC), working solutions 0.01 M of HCl and respectively NaOH for pH adjustment before spiking.

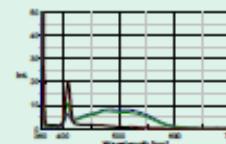


Figure 3. Study of stability for NF solution (10 µM)



Figure 4. Standard additions to surface water sample (pH = 6.0) without solid particles; $C_0 = 2.207 \mu\text{M}$ NF.

Conclusions and Perspectives

- ❑ NF concentration decreased with around 10% daily in the first four days, after 25 days representing 53% of C_0 .
- ❑ The retention of nitrofuran on solid particles shown maximum value (20%) in acidic medium (pH=4).
- ❑ The results of the spectrophotometric study will be correlated with data from the spectrofluorimetric measurements (preliminary: Figure 5, based on preliminary experiments with spectrofluorimetric detection);
- ❑ Development and optimization of spectrophotometric and spectrofluorimetric methods using organic solvents (acetone, methanol, acetone) as useful step in extending their applicability;
- ❑ Design and develop experiments to evaluate the influence of some relevant chemical and biological stress factors on fate and persistence of nitrofuran-based antibiotics and related degradation products.



References

1. Marshall B. and Gilard R., "The environmental release and fate of antibiotics - Review", *Water Pollution Research*, 2004, 70, 7-10.
2. Vass M., Hause K., Probst M., "Nitrofuran antibiotics: a review on the synthesis, properties and their analysis", *Analyst (London)*, 2008, 133, 458-469.

Acknowledgements

- The authors are grateful to UEFISCDI for the financial support (PN-II-RU-PC2013-4-0205, no. 1932/2014, "New imprinted polymers for sensible and fast analysis of nitrofuran antibiotics" – NITRO-MIP).



HPLC-UV DETERMINATION OF NITROFURAN ANTIBIOTICS USING MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS FOR SAMPLE ENRICHMENT

E. BACALUM¹, A. GHEORGHE¹, M. CHEREGI¹, V. DAVID¹, E. RUSEN², A. DIACON², F. RIZEA²

¹ University of Bucharest, Faculty of Chemistry, Sos Panduri 90-92, Bucharest 050663, ROMANIA

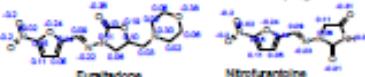
² University Politehnica of Bucharest, Faculty of Applied Chemistry and Materials Science, Spl. Independentei 333, Bucharest 060042, ROMANIA

Introduction: Furantadine and nitrofurantoin are two important compounds that belong to a class of synthetic broad spectrum antibiotics containing a characteristic 5-nitrofuran ring. These nitrofurans have been largely used as feed additives for growth promotion, and mainly used for livestock, aquaculture and bee colonies in the prophylactic and therapeutic treatment of bacterial and protozoan infections, such as gastrointestinal enteritis caused by *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. However, they have been banned from use EU since 1995, due to many concerns on the potential carcinogenicity of their residues in natural matrices [1]. Therefore, the analytical methods for their determination have to take into consideration low concentrations and complex matrices where they are found.

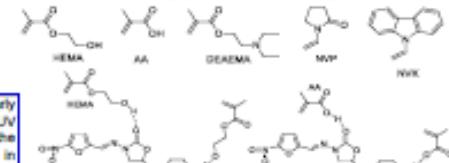
Materials: Imprinted polymers, antibiotics, HPLC solvents (methanol; acetonitrile).

Instrumentation: Alltech SPE vacuum manifold, HPLC system Agilent 1100 with UV detection; autoampler; C8 column; HILIC column.

Structures of studied antibiotics and their charge simulation with the aid of MarvinSketch program



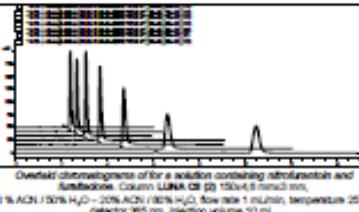
Interactions between template molecule (furantadine) and monomers and cross-linking agents used for developing new MIPs



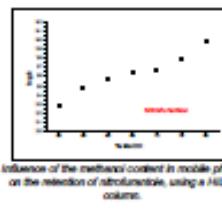
Results and discussions: An analytical study based on molecularly imprinted polymers (MIPs) for sample enrichment, and HPLC with UV detection for sample analysis, was undertaken for being applied to the determination of sub-ppm levels of furantadine and nitrofurantoin in aqueous samples. MIPs were synthesized by new methods using these antibiotics as template molecules [2] and then exploited as selective adsorbents for the solid-phase extraction (SPE) of chosen nitrofuran antibiotics [3]. The HPLC separations were based on reversed-phase mechanism using a C8 stationary phase or a hydrophilic interaction mechanism on silica derivatized with sulfobutene functionality [4].

References:

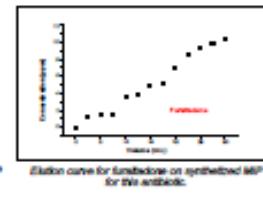
1. Vasile M., Ionescu A., Petrescu M., "Nitrofuran antibiotics: a review on the application, production, and analysis", *Water, Air, Soil Pollut.*, 2010, 201, 241-262.
2. Petrescu M., Vasile M., "Synthesis and characterization of a molecularly imprinted polymer for furantadine", *Polymer Preprints (Washington)*, 2010, 51(1), 254-257.
3. Petrescu M., David V., "Solid-Phase Separation in Chromatography", Elsevier, Amsterdam, 2010.
4. Rusean E., Negru S., "Analytical and Bioanalytical Chemistry", 2010, 402, 251-267.



Overall chromatogram of a solution containing nitrofurantoin and furantadine. Column: Luna C8 (2.0 mm×5.0 mm); 50% ACN / 50% H₂O – 20% ACN / 80% H₂O, flow rate 1 mL/min, temperature 25 °C, detector 365 nm, injection volume 10 µL.



Influence of the methanol content in mobile phase on the retention of nitrofurantoin, using a HPLC column.



Elution curve for furantadine on synthesized MIP for this antibiotic.

Conclusions: The synthesized polymers have the capacity of retaining the template molecules, and can be used for the enrichment of samples containing these compounds. The new developed analytical method based on SPE with MIPs and HPLC can be applied for the determination of sub-ppm levels of furantadine and nitrofurantoin in aqueous samples.

The financial support of this research, by UEFISCDI project (PN-II-RU-PC2013-4-0205, no. 1932/2014, "New imprinted polymers for sensible and fast analysis of nitrofurans antibiotics" – NITRO-MIP) is gratefully acknowledged.

Etapa 4 - Studii preliminare privind dezvoltarea si utilizarea unui al doilea MIP. Protejarea rezultatelor (faza 2017).

Act 4.1

A.2 - Cercetare Industriala

Denumire activitate:

Studii preliminare privind producția MIP-urilor în instalație industrială pilot

Partener (P1) – UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCURESTI

Activitati partener:

Studii preliminare privind producția MIP-urilor în instalație industrială pilot.

Partener (P3) – COSFEL ACTUAL S.R.L.

Activitati partener:

Studii preliminare privind producția MIP-urilor în instalație industrială pilot.

Act 4.2 A.2 - Cercetare Industriala (Compararea metodelor analitice dezvoltate)

Coordonator (CO) - UNIVERSITATEA BUCURESTI

Partener (P2) – INSTITUTUL NATIONAL DE CERCETARE DEZVOLTARE PENTRU STIINTE BIOLOGICE

Partener (P4) - CP MED LABORATORY SRL.

Act 4.3; D.2 - Participare la manifestari tehnico-stiintifice din domenii specifice proiectului (mesa rotunde, workshopuri, simpozioane nationale / internationale, targuri nationale/ internationale).

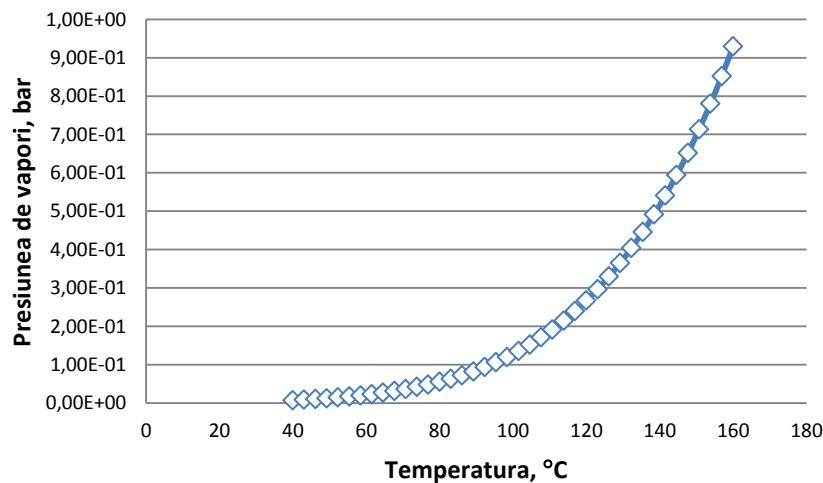
Partener (P1) – UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCURESTI

Act 4.4 D.3 - Vizite de lucru / schimburi de buna practica (Stagiu international de cercetare pentru instruirea cercetatorilor).

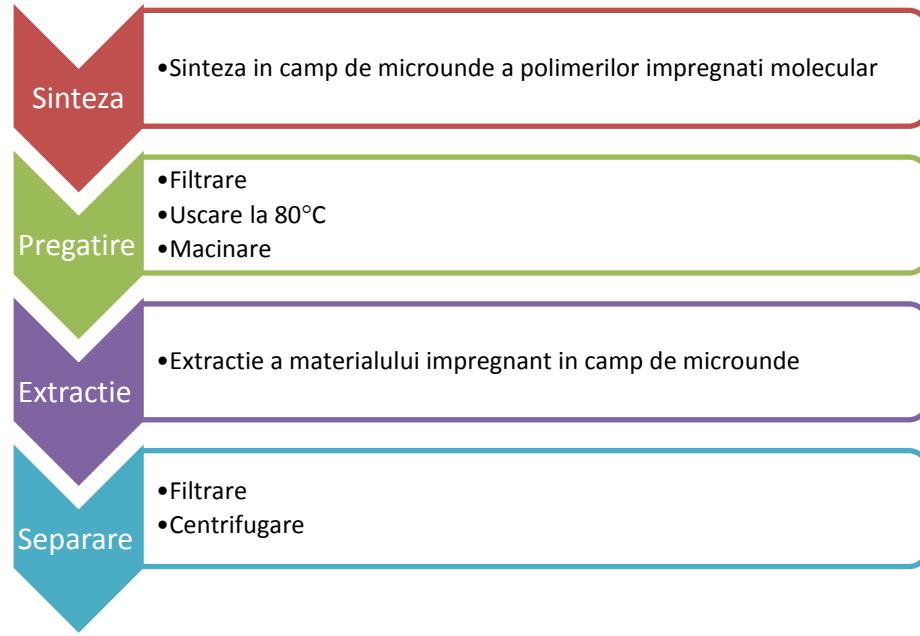
Act 4.5 C.2 - Protejarea drepturilor de proprietate industrială pentru Cercetare Industrială (Protejarea și valorificarea rezultatelor).

Parametrii fizici si termodinamici pentru recepturi cu continut diferit de DMF – calcule efectuate pentru 500 g masa amestec

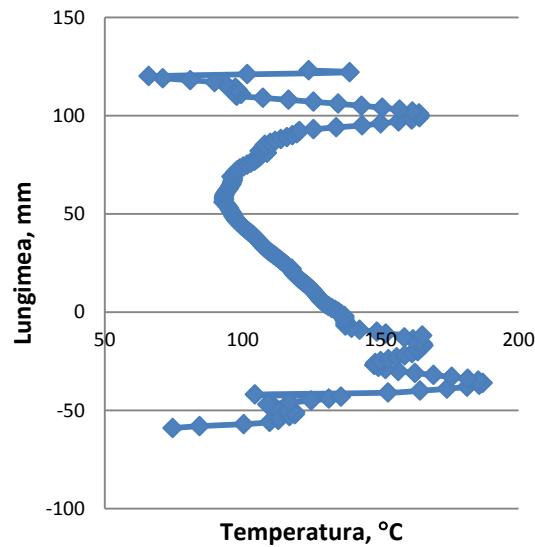
Parametru	UM	34% DMF		47% DMF	
Temperatura	°C	20	80	20	80
Presiunea	bar	1.0132	1.0132	1.0132	1.0132
Entalpia	MJ/h	-4241.3	-4111.2	-4108.79	-3980.96
Tc	°C	382.23	382.23	377.26	377.26
Pc	bar	47.84	47.84	48.30	48.30
Masa molara medie	g/mol	88.16	88.16	81.45	81.45
Densitatea actuala	kg/m ³	1014.81	955.44	998.60	939.12
Volumul actual	m ³ /h	1.1574	1.2294	1.197	1.2728
Caldura specifica, Cp	kJ/kg-K	2.0931	2.244	2.0564	2.206
Vascozitatea	N-s/m ²	0.002064	0.000721	0.001451	0.000604
Conductibilitatea termica	W/m-K	0.182	0.1652	0.179	0.1627
Tensiunea superficiala	N/m	0.0333	0.0268	0.0331	0.0267



Variatia presiunii de vapori cu temperatura, amestec de reactie in vederea polimerizarii.

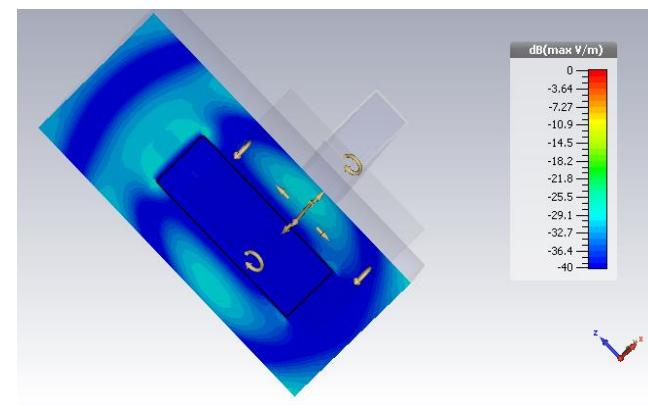
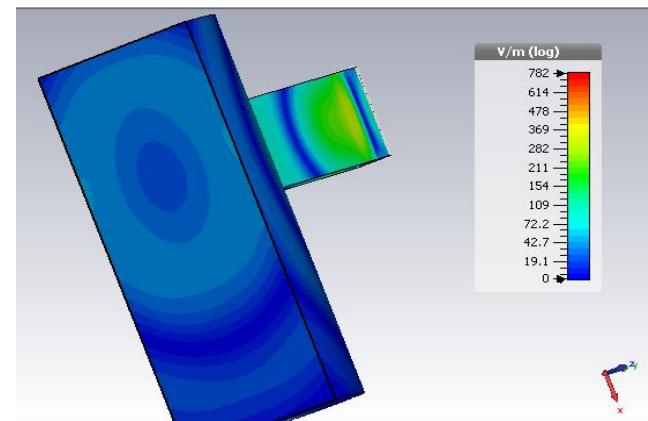


Variatia profilului termic din cilindrul de apa cu lungimea.



Fluxul tehnologic de productie a unor polimeri impregnati molecular MIPs).

Variatia formei campului electric al microundelor de 2,45GHz intr-o incinta de injectie, in absenta respectiv in prezenta unui material absorbant cu volum definit.

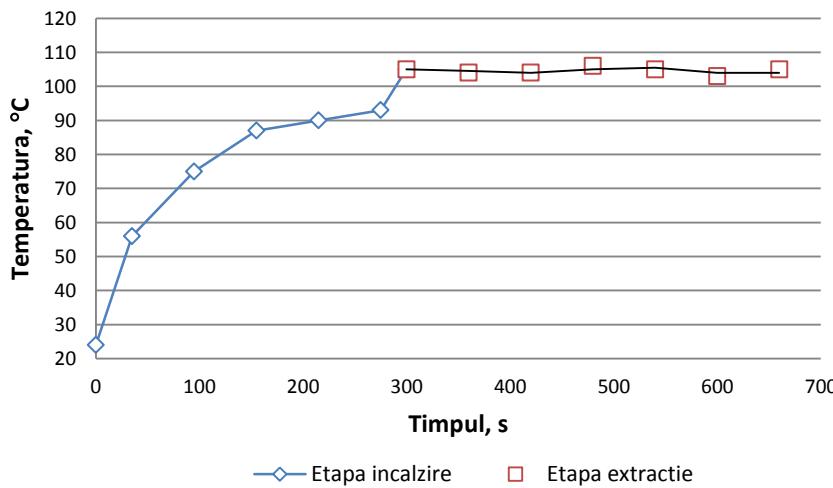




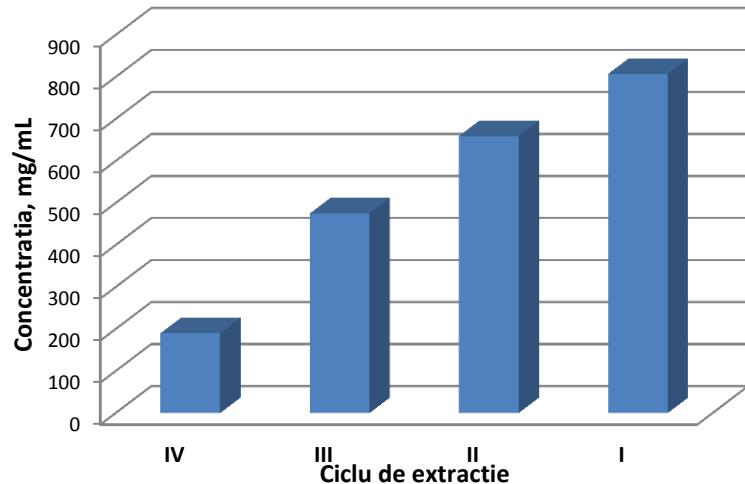
Gel PIM sub forma de fractii granulometrice: a) fractia 1...3 mm; b) fractia mai mica de 1 mm.



Solutii rezultate din ciclurile de extractie in microunde.



Parcursul termic al unei etape de extractie in camp de microunde.

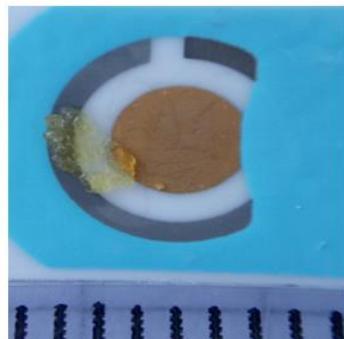
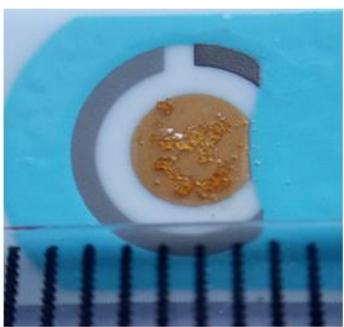


Variatia concentratiei de furantoina (template) in functie de numarul de cicluri de extractie.

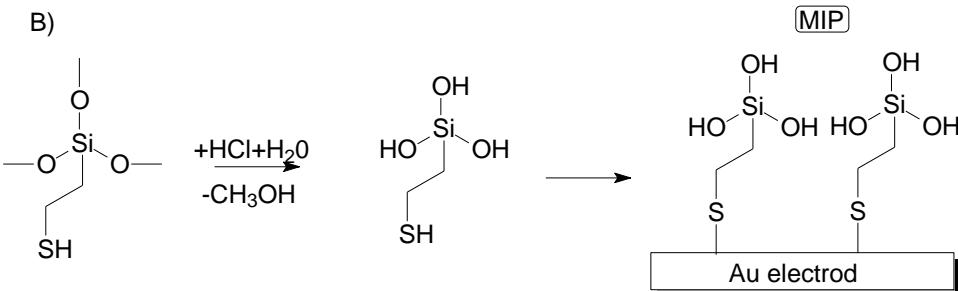
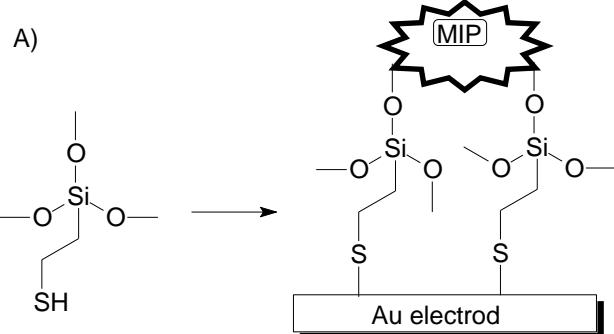
Calcul economic

Pentru calculul pretului per kilogram de PIM, s-a utilizat reteta stabilita. Pretul materiilor prime utilize pentru un kg de amestec este de 390,50 euro, in conditiile in care materiile prime sunt achizitionate cu amanuntul. La acest pret se adauga costurile specifice etapelor de sinteza, uscare, macinare, extractie si uscare finala.

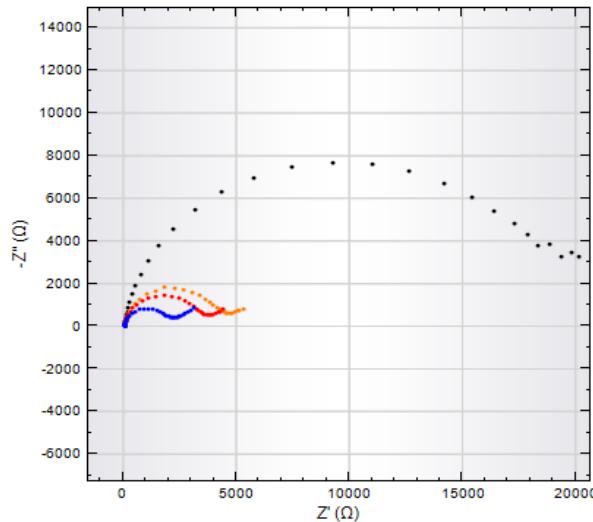
Act 4.2 A.2 - Cercetare Industrială (Compararea metodelor analitice dezvoltate)



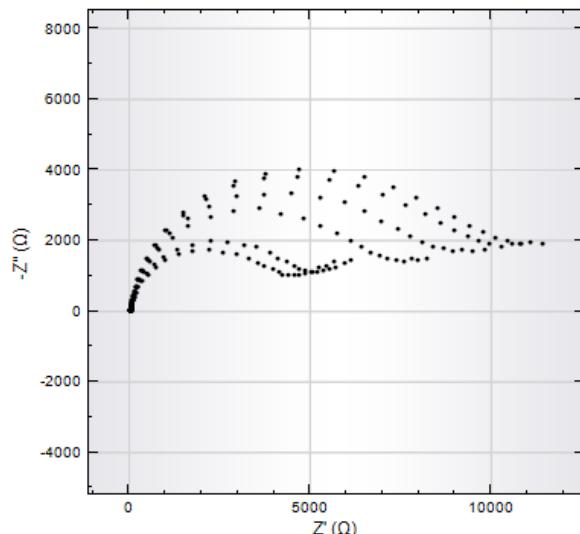
Efectul imersarii in solutie de tampon asupra MIP-ului imobilizat in PVA-Sbq per electrod screen-printat din aur. Stanga electrod imediat dupa imobilizare. Mijloc electrodul dupa 30 min de imersare se observa o umflare a stratului imobilizat. Dreapta dupa inca 30 de minute stratul imobilizat este complet dezlipit de pe electrod.



Reprezentarea schematică a imobilizării particulelor de MIP în matrice fotopolimerizabilă de PVA-Sbq pe electrozi din aur acoperiti cu strat autoasamblat. A) SAM realizat din 3-mercaptopropil trimetoxisilan și B) SAM realizat din 3-mercaptopropil trihidroxisilan obținut în 2 etape prima fiind hidroliza acida a precursorului.

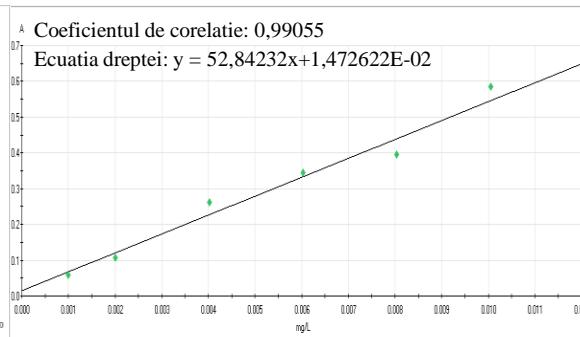
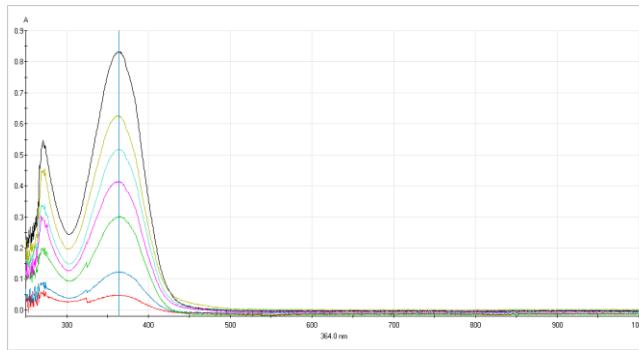


Reprezentarile Niquist pentru electrozi screen-printati acoperiti cu SAM-uri realizate timp de 15 (albastru), 20 (rosu), 30 (portocaliu) si 50 (negru) minute.

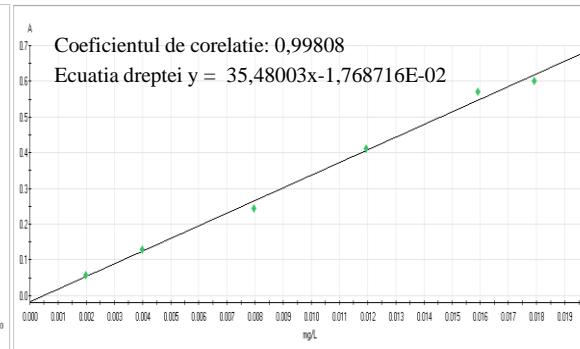
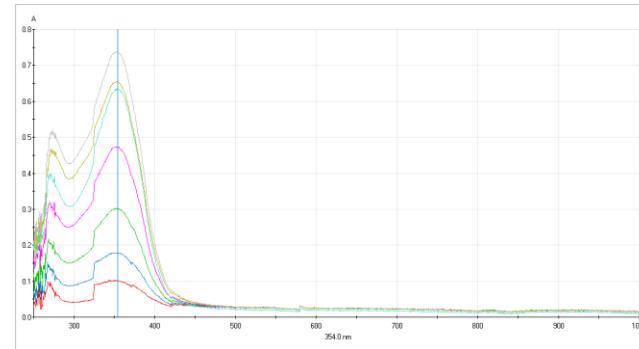


Reprezentarea Niquist a semnalelor analitice analitice obtinute pentru solutii cu concentratii 0-150 ppm nitrofurantoina. Semicercul creste cu valoarea concentratiei.

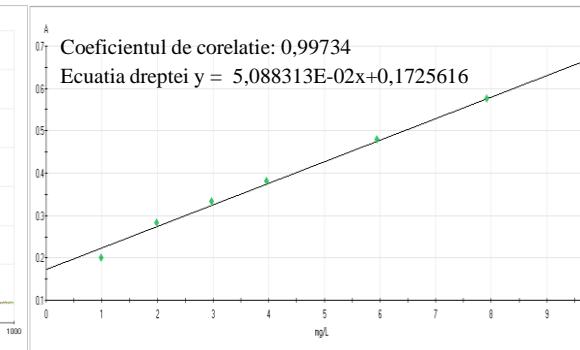
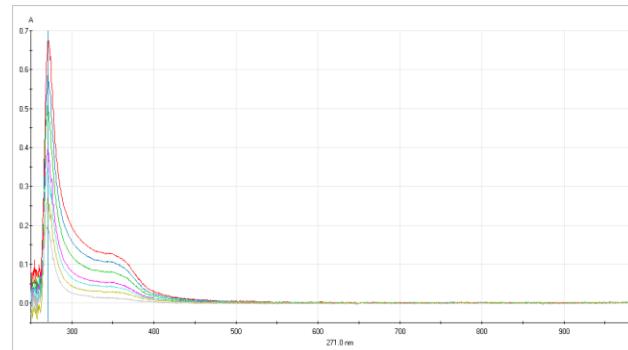
Acstea cercetari au fost efectuate de Partener (P2) – INSTITUTUL NATIONAL DE CERCETARE DEZVOLTARE PENTRU STIINTE BIOLOGICE



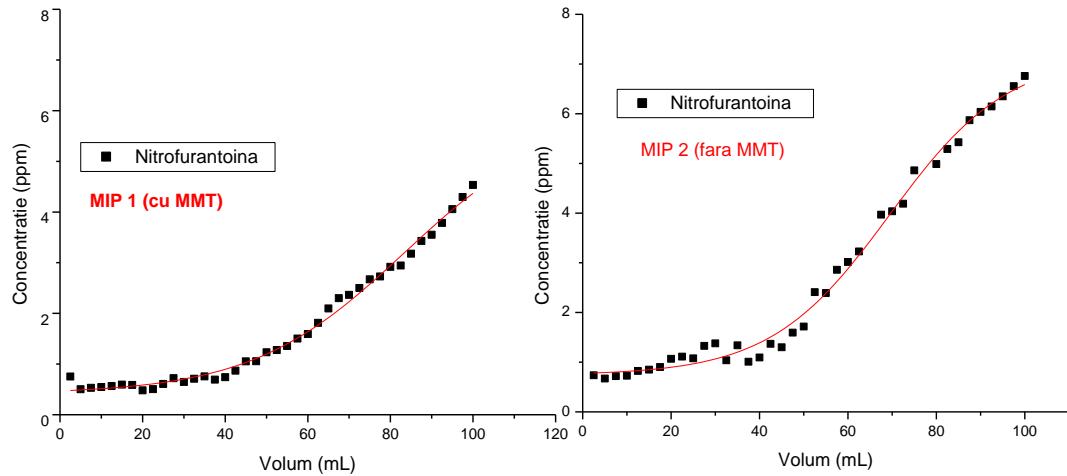
Spectrul UV-VIZ al nitrofurantoinei si dreapta de calibrare.



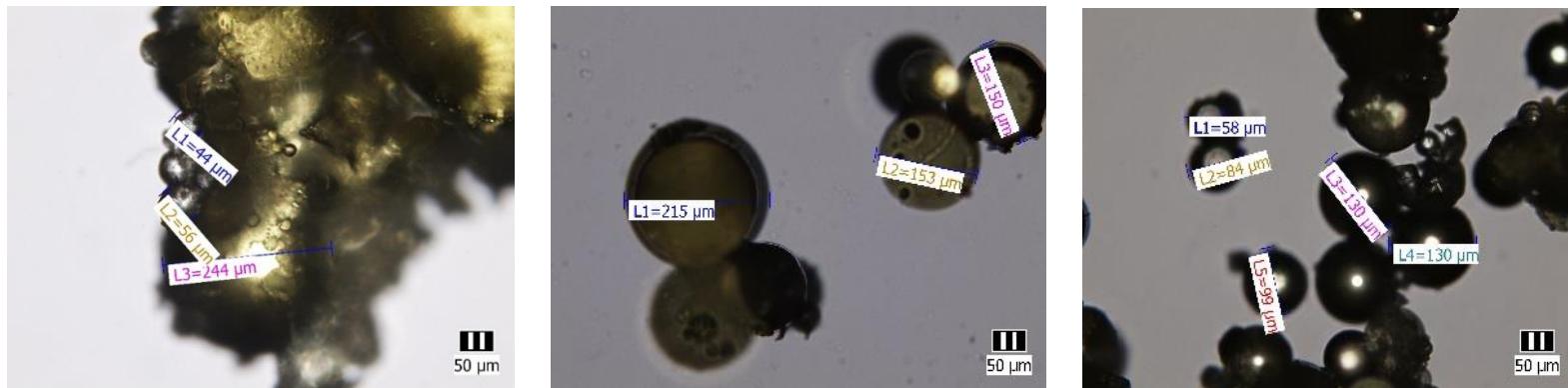
Spectrul UV-VIZ al furaltadonei si dreapta de calibrare.



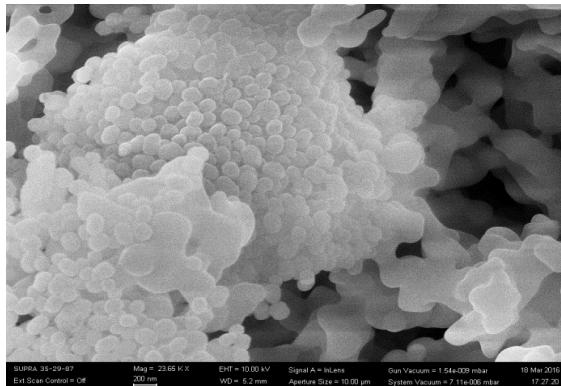
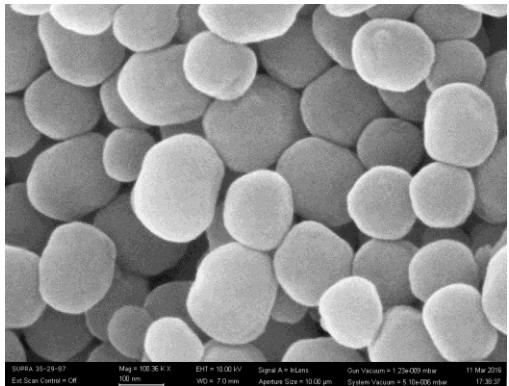
Spectrul UV-VIZ al metabolitului AHDsi dreapta de calibrare.



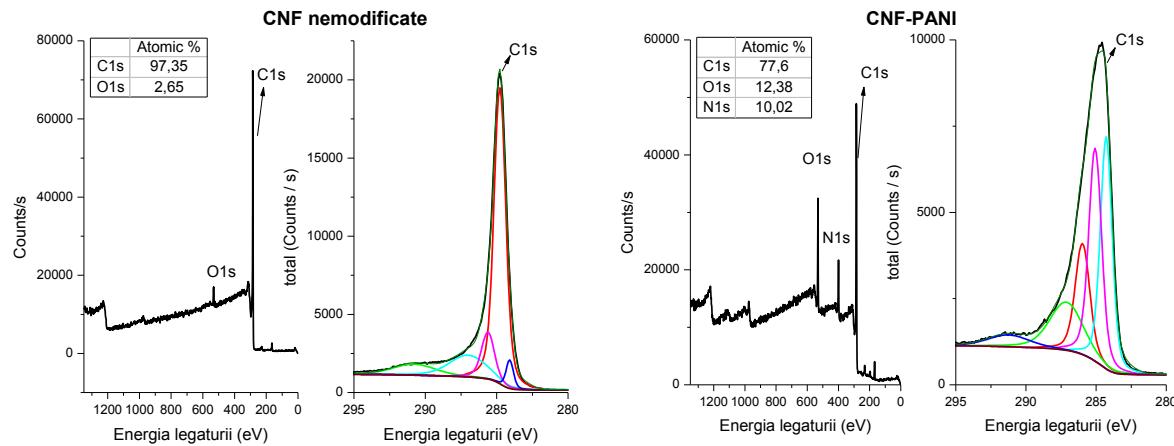
Curbe de elutie obtinute pentru nitrofurantoină pe adsorbanti notati cu MIP 1 si MIP2.



Imagini microscopie optică a particulelor polimerice MIP1-3 PEGMA.



Imagini SEM ale particulelor SiO_2 -vinil (stânga) și SiO_2 -PVP (dreapta).



Analiza XPS a CNF nemonodificate și CNF-PANI.

Act 4.3; D.2 - Participare la manifestări tehnico-stiințifice din domenii specifice proiectului (meserotunde, workshopuri, simpozioane nationale / internaționale, targuri nationale/ internaționale).

Partener (P1) – UNIVERSITATEA POLITEHNICA DIN BUCURESTI

Activitățile desfășurate de echipa UPB, pe parcursul anului 2017 în cadrul proiectului NITRO-MIP au avut ca următoarele direcții:

Dezvoltarea de noi MIP-uri

Studii privind producția MIP-urilor selectate la scală pilot

Diseminarea rezultatelor prin: participarea la conferințe, redactarea de articole și a brevetului

Diseminarea rezultatelor prin: participarea la conferințe, redactarea de articole și a brevetului

Pentru diseminarea rezultatelor echipa UPB a participat în anul 2017 la următoarele conferințe internaționale:

Advances On Photocatalysis, AdvPhotoCat-E 2017 The 2nd International Workshop , July 14 and 16, 2017 Technological Educational Institute (TEI) of Crete, Heraklion, Greece.

Au fost prezentate următoarele lucrări: “*New Type of Conductive Materials Based on Carbon Fibers*” și „*Novel facile method for obtaining CdSe/polyaniline/C60 composite material*”

20th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering, Poiana Brașov, 6-9 Septembrie 2017.

A fost prezentată lucrarea: “*Supported Cu⁰ nanoparticles catalyst for controlled radical polymerization reaction and block-copolymer synthesis*”.

In a IV-a etapa a fost prevazuta o mobilitate intr-un laborator de cercetare din UE. Deplasarea a fost realizata de dr. Bogdan Bucur in perioada 07.07.2017-26.07.2017 in laboratorul BAE condus de Prof. Jean-Louis Marty in cadrul Universitatii Via Dominitia din Perpignan, Franta.

Cererea de brevet :

Edina Rusen; Aurel Diacon; Alexandra Mocanu; Elena Bacalum; Mihaela Cheregi; Victor David, Bogdan Bucur, Madalina Petruta Bucur, Gabriel Lucian Radu: „Polimer imprentat molecular obtinut prin polimerizare in masa pentru nitrofurantoina pentru realizarea de coloane de extractive in faza solida si senzori electrochimici” cod A10637/12.09.2017.

Articole publicate in reviste cotate ISI raportate la acest proiect (cu < Acknowledgements >) :

1. E. Bacalum, M. Cheregi, Recent analytical applications of fluorinated hydrocarbon-based stationary phases in HPLC, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, vol. 40, no. 2, p. 59-68 (2017).

2. E.Caiali, S.C. Moldoveanu, V. David, Comparison of the phase ration for C18 HPLC columns using three different organic modifiers (metahnol, ethanol and acetontrile) in mobile phase composition, *Revue Roumaine de Chimie*, 62 (8-9), p. 629-636 (2017).



Dedicated to the memory of
Professor Victor-Emanuel Sahini (1927–2017)

COMPARISON OF THE PHASE RATIO FOR C18 HPLC COLUMNS USING THREE DIFFERENT ORGANIC MODIFIERS (METHANOL, ETHANOL AND ACETONITRILE) IN MOBILE PHASE COMPOSITION

Edvin CAIALI,^{a,b} Serban C. MOLDOVEANU^c and Victor DAVID^{a*}

^a University of Bucharest, Faculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry, Sos. Panduri, no 90, 050663, Bucharest, Romania

^b SCIENT – Research Center for Instrumental Analysis (Cromatec Plus S.R.L.), Bucharest, Romania
^c R. J. Reynolds Tobacco Co., Winston-Salem, NC, USA

Acknowledgements: One of the authors (V.D.) acknowledges the financial support from a grant provided by the Romanian National Authority for Scientific Research, CNCS – UEFISCDI, project PN-II-PT-PCCA, no. 197/2014.

REFERENCES

1. K. S. Yun, C. Zhu and J. F. Parcher, *Anal. Chem.*, 1995, 67, 613-619.
2. C. A. Rimmer, C. R. Simmons and J. G. Dorsey, *J. Chromatogr. A*, 2002, 965, 219-232.
3. S. C. Moldoveanu and V. David, "Selection of the HPLC Method in Chemical Analysis", Elsevier, Amsterdam, 2017, p. 126.
4. T. L. Chester and J. W. Coym, *J. Chromatogr. A*, 2003, 1003, 101-111.

REVIEW ARTICLE

Recent analytical applications of fluorinated hydrocarbon-based stationary phases in HPLC

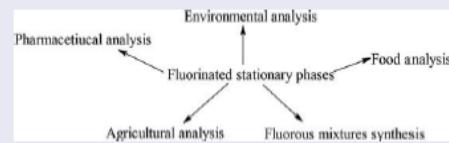
Elena Bacalum^a and Mihaela Cheregi^b

^aResearch Institute from University of Bucharest – ICUB, Bucharest, Romania; ^bFaculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry, University of Bucharest, Bucharest, Romania

ABSTRACT

Fluorocarbon stationary phases have taken great advances in recent years in liquid chromatography. Numerous studies to elucidate the retention mechanism have been undertaken that concluded the retention is driven by a multitude of factors, due to the presence of fluorine atoms in the molecule. Many applications in this domain have been described in the literature so far. Applications for other fields have also been published in various original papers for fluorocarbon silica.

GRAPHICAL ABSTRACT



KEYWORDS

Applications; classification; fluorocarbon silica; retention mechanism; review; stationary phases

Great advances will be made in explaining the retention mechanism of perfluorinated stationary phases by the use of nonchromatographic methods like molecular modeling of the fluorinated stationary phase, solvents, and compounds being analyzed.

Funding

The authors acknowledge the financial support to a grant provided by the Romanian National Authority for Scientific Research, CNCS – UEFISCDI, project PN-II-PT-PCCA, no. 197/2014.

References

- [1] Zhang, W. Fluorocarbon Stationary Phases for Liquid Chromatography Applications. *J. Fluorine Chem.* 2008, 129, 910–919.
- [2] Przybyciel, M. Fluorinated HPLC Phases – Looking Beyond C18 for Reversed-Phase HPLC. *LCGC North Am.* 2005, 23, 554–565.
- [3] Varughese, P.; Gangoda, M. E.; Gilpin, R. K. Applications of Fluorinated Compounds as Phases and Additives in Chromatography and Their Uses in Pharmaceutical Analysis. *J. Chromatogr. Sci.* 1988, 26, 401–405.
- [4] Hayama, T.; Yoshida, H.; Yamaguchi, M.; Nohta, H. Fluorous Affinity-Based Separation Techniques for the Analysis of Biogenic and Related Molecules. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2014, 101, 151–160.

RAPORT FINAL

Obiectivele prevazute in cele patru etape ale proiectului au fost indeplinite.

Realizarile proiectului pot fi sistematizate in urmatoarele directii:

- Au fost realizate sintezele a doi polimeri de tip MIP, cu proprietati adsorbante selective fata de furaltadona si nitrofurantoina;
- Au fost caracterizati adsorbantii sintetizati prin metode fizice de analiza;
- Au fost dezvoltate si optimizate metode spectrometrice UV-VIZ si chromatografice pentru controlul compusilor studiati;
- Au fost studiate proprietatile adsorbante ale polimerilor sintetizati de tip MIP fata de compusii utilizati ca molecule tipar in imprentarea acestora;
- Au fost dezvoltati senzori pentru detectia furaltadonei si nitrofurantoinei folosind MIP-urile dezvoltate de partenerii P1 si P3;
- S-au efectuat studii analitice de concentrare a probelor bazate pe extractie in faza solida avand ca adsorbant polimeri sintetizati in cadrul acestui proiect;
- S-a efectuat un studiu analitic de determinare a solventilor reziduali din matricea adsorbantilor prin GC-MS.
- Au fost publicate un numar semnificativ de articole stiintifice in reviste de specialitate cotate ISI si au fost participari la conferinte nationale si internationale.

Pe global, in cadrul acestui proiect au fost disseminate rezultate cercetarilor efectuate astfel:

1. Un numar de 8 articole publicate in reviste cotate ISI, nationale si internationale, cum ar fi: *Talanta*; *Analytical Letters*; *Analytical Sciences*; *Environmental Engineering and Management Journal*; *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*; *Revue Roumaine de Chimie*.
2. O cerere de brevet pentru un polimer imprentat;
3. Un numar de 12 comunicari stiintifice la diverse manifestari nationale si internationale.
4. Un articol trimis spre publicare la revista RSC Advances.

Colaborarea in cadrul proiectului a fost una utila pentru toti partenerii, iar implicarea tinerilor in proiect a adus rezultate importante la dezvoltarea temei, dar si a carierrei profesionale ale acestora.