



**UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI
FACULTATEA DE CHIMIE
ȘCOALA DOCTORALĂ ÎN CHIMIE**

**REZUMAT
TEZĂ DE DOCTORAT**

**SENZORI ELECTROCHIMICI MODIFICAȚI PENTRU
DETERMINAREA NICOTINAMID ADENIN DINUCLEOTIDEI**

Doctorand

Oana Maria Istrate (căs. Dumitrașcu)

Conducător doctorat

Prof. univ. dr. Camelia Bala

București

2015

Numerotarea figurilor corespunde cu teza de doctorat.

Nicotinamid adenin dinucleotida face parte dintr-un sistem redox care joacă un rol important în reacțiile enzimatic catalizate de dehidrogenaze. Structura acestei coenzime este formată din două nucleotide derivate ale adeninei și nicotinamidei (Figura I.1-1).

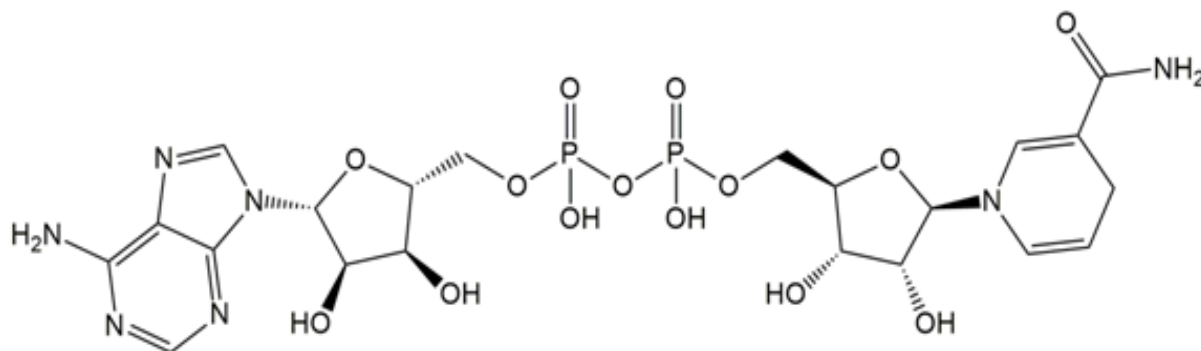


Figura I.1-1. Formula moleculară a nicotinamid adenin dinucleotidei

Nicotinamida este responsabilă de funcția de mediator redox a acesteia în sistemele biologice asigurând transferul de electroni între două sisteme enzimatic prin intermediul formei oxidate (NAD^+) și a celei reduse (NADH) a coenzimei. Importanța cuplului NAD^+/NADH constă în faptul că acesta este implicat în peste 300 de reacții enzimatic catalizate de dehidrogenaze. Determinarea acestei coenzime este de interes atât în studiul unor procese biochimice cât și pentru dezvoltarea unor aplicații analitice în controlul calității produselor alimentare, a mediului și în laboratorul clinic. Oxidarea directă a NADH -ului la suprafața electrozilor clasici necesită un potențial de oxidare mare datorită energiei mari de activare și este urmată de depunerea și acumularea produșilor de oxidare la suprafața electrodului. Reacția electrochimică are loc la un potențial cuprins între +600 și +800 mV (vs. Ag/AgCl), iar detecția NADH -ului în aceste condiții este caracterizată de o sensibilitate scăzută.

Teza de doctorat este structurată în două părți distincte; analiza stadiului actual în domeniu (I) și contribuțiile cercetărilor din perioada doctoratului (II) la dezvoltarea cunoașterii în domeniul senzorilor electrochimici pentru determinarea NADH .

Obiectivul principal al tezei de doctorat l-a reprezentat dezvoltarea unor senzori sensibili și selectivi pentru detecția NADH , care să elimine sau diminueze dezavantajele utilizării electrozilor convenționali, cum ar fi valorile mari ale potențialelor de oxidare, pasivarea suprafeței electrodului prin acumularea produșilor de reacție și selectivitate scăzută. În acest sens s-a realizat modificarea suprafeței electrozilor serigrafiați cu polielectroliți, oxid de grafenă redus electrochimic (ERGO) și

nanoparticule de aur (AuNPs), dar și cu compozite din aceste materiale, care să contribuie independent sau sinergic la îmbunătățirea transferului de electroni.

În cadrul tezei de doctorat s-a raportat un număr de șase materiale compozite GO-PAH, ERGO-PAH, AuNPs-GO, AuNPs-ERGO, AuNPs-GO-PAH și AuNPs-ERGO-PAH, care au fost caracterizate prin spectroscopie FT-IR, Raman și microscopie electronică de baleiaj (SEM). Spectroscopia FT-IR a confirmat prezența atomului de azot cuaternar în structura clorhidratului de polialilamină (PAH), prezența sarcinii pozitive fiind esențială pentru explicarea proprietăților senzorilor pentru NADH bazați pe acest polielectrolit. Spectroscopia Raman a fost utilizată pentru caracterizarea amestecurilor ce conțin oxid de grafenă (GO) și oxid de grafenă redus electrochimic. Imaginile obținute prin microscopia electronice de baleiaj au dovedit faptul că reducerea electrochimică a oxidului de grafenă nu modifică textura caracteristică a GO și faptul că PAH acționează în amestecurile ternare, AuNPs-GO-PAH și AuNPs-ERGO-PAH, ca un stabilizator pentru AuNPs.

În capitolul II.1 a fost evaluată eficiența clorhidratului de polialilamină în vederea obținerii unui senzor sensibil și selectiv pentru detecția NADH. S-a demonstrat că filmul de PAH depus pe suprafața electrodului serigrafiat permite detecția rapidă a NADH la valori reduse ale potențialului comparativ cu electrozii nemodificați, cu o sensibilitate ridicată pe un domeniu larg de concentrații, cu o limită de detecție de 0,22 μM .

Depunerea PAH s-a realizat printr-o metodă simplă, care nu necesită procese sau proceduri laborioase de purificare și/sau funcționalizare. Senzorul PAH/SPE prezintă activitate electrocatalitică față de oxidarea NADH-ului, ceea ce îl face eficient în dezvoltarea ulterioară de biosenzori bazați pe dehidrogenaze NAD-dependente.

Capitolul II.2 prezintă realizarea și caracterizarea unui senzor pentru detecția NADH, modificat cu PAH și oxid de grafenă redus electrochimic. Reducerea electrochimică a oxidului de grafenă a fost realizată direct pe suprafața electrodului de lucru, prin voltametrie ciclică. Utilizarea ERGO-PAH a condus la îmbunătățirea caracteristicilor de răspuns a senzorului pentru NADH, cum ar fi: domeniu liniar extins, limită de detecție scăzută, stabilitate mare. Scăderea potențialului de oxidare a NADH-ului a condus la îmbunătățirea selectivității.

În capitolul II.3 se prezintă utilizarea nanoparticulelor de aur în amestec cu ERGO și PAH ca material de electrod. Utilizarea acestui material compozit a condus la creșterea răspunsului amperometric pentru NADH. Senzorul AuNPs-ERGO-PAH/SPE prezintă performanțe analitice deosebite și se evidențiază printr-o detecție rapidă, sensibilitate și reproductibilitate ridicate, dar și o selectivitate bună, comparativ cu alți senzori pentru NADH similari raportați în literatura de specialitate.

După cunoștințele noastre, rezultatele prezentate în această teză de doctorat reprezintă primele aplicații analitice, raportate în literatură de specialitate, ale materialelor PAH, ERGO-PAH și AuNPs-ERGO-PAH în realizarea de senzori pentru determinarea NADH. Materialele utilizate pentru modificarea suprafeței senzorilor în vederea determinării NADH ar putea avea un dublu rol, de matrice de imobilizare pentru enzime. Aceste proprietăți vor fi exploatate ulterior pentru realizarea de biosenzori cu enzime NAD-dependente cu aplicații în domeniul controlului calității alimentelor.

Rezultatele experimentale prezentate în această teză de doctorat au fost publicate în reviste cotate ISI, după cum urmează:

1. Poly(allylamine hydrochloride) modified screen-printed carbon electrode for sensitive and selective detection of NADH, *Lucian Rotariu, Oana Maria Istrate, Camelia Bala*, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2014**, 191, 491-497 (IF: 4.097)
2. NADH sensing platform based on electrochemically generated reduced graphene oxide–gold nanoparticles composite stabilized with poly(allylamine hydrochloride), *Oana Maria Istrate, Lucian Rotariu, Virgil Emanuel Marinescu, Camelia Bala*, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2016**, 223, 697-704 (IF: 4.097)
3. Electrochemical determination of NADH using screen printed carbon electrodes modified with reduced graphene oxide and poly(allylamine hydrochloride), *Oana Maria Istrate, Lucian Rotariu, Camelia Bala*, *Microchimica Acta*, **2015**, doi:10.1007/s00604-015-1595-4, on-line din 11 august 2015 (IF: 3.741)