

Polimeri imprențați molecular pentru senzori biomimetici

Rezumat

Teza de doctorat este organizată în următoarele *capitole*:

1. Prezentarea tematicii de doctorat, a metodelor și conceptelor folosite;
2. Articolele în extenso publicate;
3. Concluzii generale;
4. Contribuții originale;
5. Diseminarea rezultatelor;
6. Bibliografie.

Cuvinte cheie: polimeri imprențați molecular, senzori, sol-gel, electropolimerizare, filme subțiri.

Primul capitol al tezei este structurat în două părți. Prima parte cuprinde un studiu asupra literaturii din domeniul polimerilor imprențați molecular (sinteză, caracteristici, aplicații, etc.). În cea de-a doua parte sunt prezentate scopul, obiectivele tezei de doctorat, conceptele și metodele utilizate.

Teza de doctorat a avut ca *scop* sinteza și caracterizarea filmelor pe bază de polimeri imprențați molecular, în vederea utilizării acestora în dezvoltarea senzorilor. Ținând cont de aceste considerente au fost studiate diferite metode de sinteză a polimerilor imprențați molecular. Filmele sintetizate se pot utiliza pentru detecția drogurilor (efedrina) și, respectiv, pentru detecția bacteriilor (LPS provenit de la Bacterii Gram Negative – *Pseudomonas Aeruginosa*).

Teza a avut următoarele obiective:

Obiectivul 1: sinteza și caracterizarea filmelor pe bază de polimeri imprențați molecular prin diferite metode, pentru a studia comportamentul și performanța materialelor, în vederea utilizării la detecția efedrinei.

Obiectivul 2: sinteza și caracterizarea filmelor pe bază de polimeri imprențați molecular prin metoda sol-gel, în vederea utilizării la detecția lipopolizaharidei (LPS) provenita de la *Pseudomonas Aeruginosa*.

Pentru îndeplinirea celor două obiective au fost utilizate concepte diferite de sinteză.

Obiectivul 1 a fost îndeplinit utilizând trei concepte pentru sinteza filmelor și caracterizarea lor prin diferite metode:

- Inversia de fază – membrane polimerice impregnate molecular pentru detecția efedrinei;
- Electropolimerizare – filme organice impregnate molecular pentru detecția efedrinei;
- Metoda Sol-Gel – filme anorganice impregnate molecular pentru detecția efedrinei;
- Metode de caracterizare a membranelor și filmelor MIP:
 - Soluțiile de copolimer au fost caracterizate din punct de vedere reologic, iar membranele obținute prin inversia de fază umedă au fost analizate prin diferite tehnici, cum ar fi: FT-IR, TGA, experimente de recunoaștere moleculară;
 - Comportamentul electrochimic al filmelor MIP obținute prin electropolimerizare a fost investigat cu ajutorul voltametriei ciclice;
 - Filmele MIP obținute prin metoda sol-gel au fost analizate prin diferite tehnici: elipsometrie – pentru determinarea proprietăților optice și a grosimii, SEM, AFM, microscopia digitală, FT-IR, TGA și experimentele de recunoaștere.
 - Comportamentul electrochimic al filmelor obținute prin metoda sol-gel și depuse pe electrozi serigrafiați de carbon, a fost investigat cu ajutorul voltametriei ciclice.

Primul concept utilizat se referă la obținerea membranelor MIP prin inversia de fază umedă. Procesul implică tranziția polimerului din stare de soluție în stare solidă, prin coagularea soluției de copolimer, la introducerea în baia ce conține un non-solvent. Soluția precursoră a fost obținută prin dizolvarea copolimerului și a moleculei țintă într-un solvent corespunzător (la temperatura camerei sau prin încălzire). Pentru sinteza membranelor au fost utilizați doi copolimeri pe bază de acrilonitril (AN) și acid metacrilic (AM). Cei doi copolimeri au fost sintetizați prin polimerizare în emulsie. În calitate de solvent pentru dizolvarea copolimerilor a fost utilizat DMF. După obținerea soluției precursoră, aceasta a fost depusă pe suport de sticlă și imersată într-o baie de coagulare, ce conține apă distilată. Au fost obținute două perechi de membrane (câte una impregnată și una neimpregnată), utilizând cei doi copolimeri. Toate membranele au fost analizate după uscare. În cazul membranelor impregnate, efedrina a fost îndepărtată prin spălare cu etanol. Etapa de

recunoaștere moleculară a constat în punerea în contact cu o soluție de efedrină, timp de 180 minute, a membranelor după îndepărtarea moleculei templat (efedrină).

Al doilea concept utilizat se referă la sinteza filmelor MIP prin electropolimerizare. În acest sens, s-a utilizat un monomer sintetizat în laborator și anume (2-(3,4- Etilendioxi)etienil)-3- (carboximetilsulfanil)tiofen) și unul comercial - 2,2' bitiofen. Sinteza filmelor a fost realizată prin electropolimerizare în condiții potențiodinamice și potențiostatice, în prezența și în absența efedrinei. După sinteză, filmele au fost caracterizate electrochimic înainte/după îndepărtarea efedrinei și după contactul cu soluția de efedrină.

Al treilea concept utilizat se referă la sinteza filmelor MIP prin metoda sol-gel. În acest sens, a fost utilizat un monomer comercial (N-(2-aminoetil)-3-aminopropiltrimetoxisilan). Sinteza s-a realizat în condiții bazice (NH₄OH), în prezența și în absența efedrinei. Au fost obținute două seturi de filme, utilizând concentrații diferite de monomer și efedrină. Soluția precursoră obținută a fost depusă prin spray-ere pe suport de sticlă, după care a fost maturată, în vederea obținerii filmelor. După finalizarea procesului de maturare, filmele au fost analizate înainte și după îndepărtarea efedrinei. Templatul a fost îndepărtat prin spălări repetate cu etanol. Experimentele de recunoaștere moleculară au fost realizate prin punerea în contact a filmelor, după îndepărtarea templatului cu o soluție de efedrină.

Obiectivul 2 a fost îndeplinit prin utilizarea unui al patrulea concept, care prevede combinarea unei metode clasice de sinteză a filmelor cu o metodă electrochimică de detecție și anume:

- Metoda sol-gel – filme impregnate molecular cu LPS provenit de la *Pseudomonas Aeruginosa*;
- Detecție electrochimică – voltametrie ciclică.

Așadar, al patrulea concept se referă la sinteza filmelor impregnate molecular prin metoda sol-gel, în vederea utilizării pentru detecția electrochimică a LPS (LPS provenit de la *Pseudomonas Aeruginosa*). În acest scop, soluția precursoră a fost depusă prin picurare pe electrozi serigrafiați de carbon (SPCE). Pentru a putea fi utilizați în detecția electrochimică, a fost necesară încorporarea unui agent de dopare. Comportamentul electrochimic al filmelor a fost studiat înainte și după extracția LPS-ului, dar și după punerea în contact cu o soluție de LPS provenit de la *Pseudomonas Aeruginosa*. Selectivitatea filmelor a fost testată prin

punerea în contact cu o soluție de LPS provenit de la *Escherichia coli*. Comportamentul electrochimic a fost studiat utilizând voltametria ciclică.

Cel de-al doilea capitol al tezei aduce în prim-plan articolele, în extenso, publicate ca urmare a valorificării rezultatelor științifice obținute. Articolele prezentate sunt:

1. **E.B. (Georgescu) Stoica**, A.M. (Florea) Gavrilă, T.V. Iordache, A. Sarbu, H. Iovu, T. Sandu, H. Brisset, Molecularly imprinted membranes obtained via wet phase inversion for ephedrine retention, **U.P.B. Sci. Bull.**, Series B, 2020, 82(2), pp. 15-26.
2. **B.E. Georgescu, C. Branger**, T.V. Iordache, H. Iovu, O.B. Vitrik, A.V. Dyshlyuk, A. Sarbu, H. Brisset, Application of unusual on/off electrochemical properties of a molecularly imprinted polymer based on an EDOT– thiophene precursor for the detection of ephedrine, **Electrochemistry Communications**, 2018, 94, pp. 45-48. IF=4,364
3. **E.B. Stoica**, A.M. Gavrilă, C. Branger, H. Brisset, A.V. Dyshlyuk, O.B. Vitrik, H. Iovu, A. Miron, A. Sarbu, T.V. Iordache, Evaluation of Molecularly Imprinted Thin Films for Ephedrine recognition, **Materiale Plastice**, 2019, 56, 4, pp. 865-874. IF=1,517
4. **B.E. Stoica**, A.M. Gavrilă, A. Sarbu, H. Iovu, H. Brisset, A. Miron, T.V. Iordache, Uncovering the behavior of screen-printed carbon electrodes modified with polymers molecularly imprinted with lipopolysaccharide, **Electrochemistry communications**, 2021, 124, 106965. IF=4,333

În cel de-al treilea capitol sunt prezentate concluziile generale ale tezei de doctorat.

Teza de doctorat a avut ca scop sinteza și caracterizarea filmelor impregnate molecular. Așa cum a fost menționat și în capitolul doi, teza are la bază patru articole științifice publicate.

- *În primul studiu* au fost obținute membrane impregnate molecular prin inversie de fază, în vederea utilizării pentru detecția efedrinei din soluții apoase. Membranele au fost sintetizate utilizând doi copolimeri cu diferite concentrații (C3 – 80% AN și 20% AM, C4 – 75% AN și 25% AM), obținându-se astfel două seturi (C3-NIP/C3-MIP și C4-NIP/C4-MIP). Analizele termice au evidențiat o stabilitate termică mai ridicată pentru membranele care au la bază copolimerul C3 comparativ cu membranele pe bază de copolimer C4. După îndepărtarea efedrinei, ambele seturi de membrane au fost supuse experimentelor de recunoaștere moleculară în vederea determinării factorului de impregnare. Setul C3 prezintă

caracteristici superioare de recunoaștere comparativ cu setul C4. Factorul de imprimare determinat pentru setul C3 a fost 3,06 după 30 minute, comparativ cu setul C4 pentru care a fost 1,8 după 180 minute. După experimentele de recunoaștere, s-a observat că membranele pe bază de C3 au o capacitate superioară față de C4 de a recunoaște și de a relega molecula de efedrină utilizată ca templat în etapa de imprimare moleculară.

- *În cel de-al doilea studiu* au fost sintetizate filme imprimate molecular prin electropolimerizare pentru detecția electrochimică a efedrinei. Filmele au fost sintetizate în condiții potențostatice și în condiții potențiodinamice în prezența și în absența efedrinei, pentru a stabili condițiile optime de obținere. Comportamentul electrochimic al filmelor a fost studiat înainte și după îndepărtarea efedrinei din cavitățile de imprimare, dar și după contactul cu soluția de efedrină în etapa de recunoaștere. În urma experimentelor, s-au evidențiat diferențe importante între voltamogramele ciclice. În urma procedurii de îndepărtare a efedrinei, voltamogramele ciclice au evidențiat pentru filmele MIP dispariția peak-urilor anodice și catodice, ceea ce poate fi atribuit îndepărtării moleculei de efedrină, în comparație cu filmele NIP la care spălarea a condus doar la o mică scădere a intensității curentului. După primul procedeu de spălare, filmele au fost puse în contact cu soluția de efedrină, ceea ce a condus la reapariția peak-ului anodic. Filmele au fost supuse apoi unui nou proces de spălare pentru îndepărtarea efedrinei legate în etapa de recunoaștere, observându-se din nou dispariția peak-ului anodic. La un nou contact cu soluția de efedrină, peak-ul anodic a reapărut. Rezultatele obținute permit dezvoltarea senzorilor electrochimici cu filme MIP, care pot fi utilizați la detecția efedrinei.

- *Cel de-al treilea studiu* prezintă sinteza filmelor imprimate molecular cu efedrină, prin metoda sol-gel. Prepararea soluției precursorului s-a realizat prin amestecarea soluției care conținea monomerul și templatul dizolvate în etanol, împreună cu mediul catalitic, timp de două ore. Filmele au fost sintetizate utilizând concentrații diferite de monomer și efedrină, notate ca diluate (D) și concentrate (C). Depunerea filmelor s-a realizat prin spray-erea soluției pe suport de sticlă. După depunere, filmele au fost menținute timp de 48h la temperatura camerei și 48h la etuvă la 80°C. Toate filmele au fost analizate prin diferite metode în vederea determinării proprietăților și a capacității de recunoaștere a efedrinei din soluții apoase. Proprietățile optice au evidențiat faptul că grosimea filmelor este influențată de concentrația monomerului: grosimea filmelor este mai mică la concentrații de monomer mai mici, comparativ cu concentrațiile mai mari. Pe de altă parte, filmele obținute din soluții cu concentrații mai mici de monomer sunt mai omogene, cu mai puține asperități, comparativ

cu cele obținute din soluții cu concentrații mai mari de monomer. Experimentele de recunoaștere realizate pentru perechea MIP și NIP, sintetizate cu cantități mai mici de monomer (MIP D/NIP D), au condus la valori ridicate ale factorilor de imprimare (5.7, 4.58, 5.8, 6.2 și 5.8 la 1, 5, 10, 15, 20 min de la contactul dintre polimer și soluția de efedrină), ceea ce a confirmat eficiența procesului de imprimare. Având în vedere rezultatele, filmele sintetizate la concentrații mai mici de monomer, prezintă un potențial ridicat pentru dezvoltarea senzorilor.

- În cel de-al patrulea studiu este prezentată sinteza filmelor imprimate cu LPS provenit de la *Pseudomonas Aeruginosa*. Filmele au fost preparate prin metoda sol-gel și depuse prin picurare pe electrozi serigrafiați de carbon. În vederea utilizării filmelor pentru detecția electrochimică, a fost necesară utilizarea unui agent de dopare (ZnO), pentru creșterea conductivității acestora. Pentru sinteza filmelor s-a optat, ca și în cazul anterior, pentru concentrații mai mici de monomer. Toate filmele au fost testate electrochimic, atât înainte, după extracția LPS, cât și după punerea în contact cu LPS provenit de la *Pseudomonas Aeruginosa* (pentru testarea specificității). Testele de selectivitate au constatat în punerea în contact a filmelor după cea de-a doua procedură de spălare, cu o soluție de LPS provenit de la *E. coli*. În urma testelor electrochimice, voltamogramele rezultate au evidențiat diferențe considerabile între filmele MIP și NIP înainte de extracția LPS, după îndepărtarea LPS și după punerea în contact cu soluțiile de LPS. Rezultatele obținute sunt promițătoare pentru dezvoltarea unei metode de detecție pe bază de polimeri imprimați molecular cu LPS provenit de la *Pseudomonas Aeruginosa*.

În cel de-al patrulea capitol sunt prezentate contribuțiile personale. Așa cum a fost prezentat și mai sus, teza de doctorat are la bază rezultatele științifice publicate în patru articole.

1. S-a dezvoltat o metodă originală de sinteză prin inversie de fază umedă a unor membrane polimerice imprimate molecular cu efedrină. Membranele sunt pe bază de copolimeri ai acrilonitrilului. Membranele pe bază de copolimer C3 (80% AN, 20%AM) au fost capabile să recunoască și să relege efedrina din soluția apoasă, mai repede, comparativ cu membranele pe bază de copolimer C4 (75% AN, 25% AM).

2. S-a dezvoltat o metodă originală de sinteză de filme polimerice imprimate molecular cu efedrină prin electropolimerizare. Originalitatea studiului a constatat în sistemul utilizat pentru obținerea filmelor. Monomerul a fost sintetizat și utilizat datorită abilității sale de a

forma legături cu molecula de efedrină, care posedă grupări amino secundare. Diferențele dintre voltamogramele înregistrate pentru filmele MIP și cele pentru filmele NIP, după electropolimerizare, îndepărtarea efedrinei/spălare și punerea în contact cu efedrină, confirmă procesul de imprimare. Rezultatele sunt promițătoare pentru dezvoltarea unei metode de obținere a senzorilor pentru detecția efedrinei.

3. S-a dezvoltat o metodă originală, sol-gel de obținere a filmelor imprimate molecular cu efedrină. Elipsometria, utilizată pentru determinarea proprietăților optice, a evidențiat grosimi ale filmelor mai mici pentru cele obținute la concentrații mai mici de monomer, comparativ cu filmele obținute la concentrații mai mari. Totodată, elipsometria a evidențiat și faptul că transmisia și indicele de refracție sunt influențate de concentrația de monomer. Analiza termogravimetrică a evidențiat o stabilitate termică ridicată. Experimentele de recunoaștere au arătat un răspuns rapid la contactul filmelor (MIP D) cu soluția de efedrină, lucru rezultat din valorile factorilor de imprimare (5.7, 4.58, 5.8, 6.2 și 5.8 la 1, 5, 10, 15, 20 min). Factorul de imprimare rezultat a confirmat prezența cavităților de imprimare. Metoda utilizată la sinteza filmelor prezintă multiple avantaje, pe lângă simplitate, costuri scăzute și o recunoaștere moleculară rapidă. Filmele prezintă potențial de aplicare în domeniul senzorilor optici datorită caracteristicilor optice evidențiate.

4. A fost dezvoltată o metodă originală sol-gel pentru sinteza filmelor imprimate molecular cu LPS. Conform literaturii de specialitate, acest studiu reprezintă prima încercare pentru obținerea biosenzorilor pentru detecția LPS. Analiza TEM a evidențiat mecanismul de auto-asamblare între monomer și LPS din etapa de imprimare moleculară. Procesul de obținere este simplu cu timp scurt de reacție. Utilizarea electrozilor serigrafiați de carbon reprezintă un alt avantaj datorită costurilor scăzute, a dimensiunilor reduse, ceea ce conduce la utilizarea unor cantități mici de soluții pentru obținerea filmelor, dar și utilizarea unor cantități mici de probă pentru detecție. În urma testelor, filmele au evidențiat un timp rapid de recunoaștere, selectivitate și faptul că pot fi reutilizați. Având în vedere toate aceste avantaje, conceptul propus prezintă rezultate importante și promițătoare pentru dezvoltarea senzorilor.

În cel de-al cincilea capitol sunt prezentate rezultatele științifice publicate în cadrul tezei de doctorat.

Articole Stiintifice indexate ISI

1. E.B. (Georgescu) Stoica, A.M. (Florea) Gavrilă, T.V. Iordache, A. Sarbu, H. Iovu, T. Sandu, H. Brisset, Molecularly imprinted membrane obtained via wet phase inversion for ephedrine retention, U.P.B. Sci. Bull., Series B, 2020, 82(2), pp. 15-26.

2. B.E. Georgescu, C. Branger, T.V. Iordache, H. Iovu, O.B. Vitrik, A.V. Dyshlyuk, A. Sarbu, H. Brisset, Application of unusual on/off electrochemical properties of a molecularly imprinted polymer based on an EDOT– thiophene precursor for the detection of ephedrine, Electrochemistry Communications, 2018, 94, pp. 45-48.

3. E.B. Stoica, A.M. Gavrilă, C. Branger, H. Brisset, A.V. Dyshlyuk, O.B. Vitrik, H. Iovu, A. Miron, A. Sarbu, T.V. Iordache, Evaluation of Molecularly Imprinted Thin Films for Ephedrine recognition, Materiale Plastice, 2019, 56, 4, pp. 865-874.

4. B.E. Stoica, A.M. Gavrilă, A. Sarbu, H. Iovu, H. Brisset, A. Miron, T.V. Iordache, Uncovering the behavior of screen-printed carbon electrodes modified with polymers molecularly imprinted with lipopolysaccharide, Electrochemistry communications, 2021, 124, 106965.

5. E.B. Stoica, C. Branger, T.V. Iordache, A. Sarbu, H. Iovu, O.B. Vitrik, A.V. Dyshlyuk, H. Brisset, Crystal Structure of Tetrakis(2,2'-bithiophene-5-yl)silane, Materiale Plastice, 2018, 55, 3, pp. 255-257.

Comunicări în cadrul Conferințelor Internaționale

1. E.B. Stoica, A.M. Gavrilă, T. Sandu, L. Ciurlica, H. Brisset, C. Branger, H. Iovu, A. Sarbu, A.L. Radu, A. Zaharia, T.v. Iordache, Molecularly imprinted polymer films doped with conductive substances for bacteria detection, 8th Graduate Student Symposium on Molecular Imprinting, 28-30 August 2019, Berlin, Germany. Poster

2. E.B. Stoica (Georgescu), H. Brisset, C. Branger, H. Iovu, A.M. Florea, A.L. Radu, T. Sandu, A. Zaharia, A. Sârbu, T.V. Iordache, Preparation of a new molecularly imprinted polymers via electropolymerization for ephedrine detection, 6th NanoToday Conference, 16-20 June 2019, Lisbon, Portugal. Poster

3. E.B. Stoica, A.M. Gavrilă, A. Sarbu, A. Miron, M. Ghiurea, B. Trica, V. Raditoiu, R. Botez, I. E. Neblea, T.V. Iordache, Electrochemical Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymers for Lipopolisaccharides Detection, PRIORITIES OF CHEMISTRY FOR

A SUSTAINABLE DEVELOPMENT” PRIOCHEM – XVIth Edition, 28-30 October 2020, Bucharest, Romania. Comunicare Orala.

Cereri brevete și brevete acordate

1. A. Sarbu, T.V. Iordache, A.M. Florea, E.B. Georgescu, S. Apostol, “Filme polimerice impregnate molecular cu droguri și procedeu de obținere a acestora”/ Molecularly imprinted polymer films with illicit drugs and a process for obtaining thereof, cerere de brevet A 00920/09.11.2017, Brevet acordat RO **133363B1/2021**

2. T.V. Iordache, E.B. Stoica, A. Sârbu, A.M. Gavrilă, A.L. Ciurlică, A.L. Chiriac, A. Zaharia, T. Sandu, „Suprafețe hibride pentru detecția electrochimică a endotoxinelor microbiene și procedeu pentru obținerea acestora”/ Hybrid surfaces for electrochemical detection of microbial endotoxins and a process for obtaining thereof, cerere de brevet A00804/27.11.2019