



Politecnico di Torino
Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica
Indirizzo bionanotecnologie

Tesi di Laurea

DETEZIONE NON ENZIMATICA DI MOLECOLE BIOATTIVE IN MATRICI FARMACOLOGICHE

Studente:
Giuseppe Martino

Relatori:
Prof. Alberto Tagliaferro
Dott. Mattia Bartoli

ANNO ACCADEMICO 2022-2023

Ringraziamenti

Vorrei ringraziare tutte le persone che mi hanno sostenuto in questo progetto di tesi.

Desidero ringraziare il mio relatore, il Prof. Alberto Tagliaferro che mi ha dato l'opportunità di partecipare a questo interessante progetto. Ringrazio anche il mio correlatore il dottor Mattia Bartoli per avermi aiutato in tutte le fasi del mio lavoro di tesi a partire dalla preparazione dei campioni.

Infine, vorrei ringraziare la mia famiglia e i miei amici per il loro sostegno. La loro presenza è stata fondamentale per la realizzazione di questo progetto.
Grazie a tutti.

Sommario

Negli ultimi anni il Paracetamolo si è rivelato un valido sostituto dell'aspirina e viene generalmente utilizzato come rimedio per dolori, nevralgia, artrite e febbre. Tuttavia, a causa del suo utilizzo sempre più diffuso sono aumentati i casi di danni a organi vitali dovuti all'accumulo di una elevata quantità di Paracetamolo nei reni e nel fegato. Pertanto, è necessario elaborare delle strategie per migliorare il rilevamento del Paracetamolo ed evitare i suoi effetti collaterali. Sono stati utilizzati diversi metodi come la spettrofotometria, la spettrofluorimetria, la chemiluminescenza e la colorimetria. Tuttavia, questi metodi risultano poco efficaci per le analisi a causa dei tempi di rilevazione, della sensibilità e del costo dei macchinari necessari. Negli ultimi anni sono stati sviluppati diversi sensori elettrochimici per superare i limiti dei precedenti metodi. I sensori non enzimatici sono più utilizzati di quelli enzimatici poiché risultano essere più stabili e meno sensibili alle variazioni delle condizioni esterne. Per migliorare l'efficacia di rilevamento è possibile modificare la superficie dei sensori. I nanomateriali hanno suscitato un grande interesse in campo biomedico poiché risultano essere meno invasivi dei precedenti metodi diagnostici. Inoltre, grazie ai loro particolari processi di produzione è possibile ottenere materiali con proprietà controllabili. I composti a base di bismuto risultano essere molto interessanti grazie alla loro stabilità e al basso rischio di tossicità. I parametri di produzione dei materiali sono stati modificati in modo da studiare il ruolo del pH nel processo di produzione e il ruolo del tensioattivo in base alla quantità utilizzata. Sono state analizzate le strutture dell'ossido di bismuto tramite la tecnica della spettroscopia Raman. Le prestazioni dei sensori modificati con composti a base di bismuto sono state valutate tramite tecniche di analisi elettrochimiche come la voltammetria ciclica. L'efficacia di rivelamento è stata valutata tramite curve di calibrazione ricavate dalle analisi elettrochimiche e tramite lo studio delle proprietà cinetiche dei diversi materiali sintetizzati. Tramite l'utilizzo della tecnica della spettroscopia Raman è stato possibile verificare la sintesi di ossido di bismuto individuando alcuni picchi caratteristici negli spettri Raman. Tramite l'utilizzo della voltammetria ciclica è stato osservato un aumento del valore di picco della corrente di ossidazione nella maggior parte degli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati rispetto all'elettrodo non modificato. Solo in alcuni casi si è osservato un aumento della sensibilità degli elettrodi modificati rispetto all'elettrodo non modificato.

Indice

Lista delle figure

Lista delle tabelle

Lista dei grafici

1. Introduzione
 - 1.1 Sensori
 - 1.2 Sensori modificati
 - 1.3 Nanomateriali
 - 1.4 Composti a base di ossidi di bismuto
 - 1.5 Rilevamento di Paracetamolo
2. Materiali e metodi
 - 2.1 Elementi chimici
 - 2.2 Sintesi di ossidi di bismuto con diverse quantità di idrossido di sodio
 - 2.3 Sintesi di ossidi di bismuto con diverso pH nella soluzione finale
 - 2.4 Sintesi di ossidi di bismuto con diverse quantità in peso di PEG
 - 2.5 Funzionalizzazione degli elettrodi
 - 2.5.1 Preparazione delle sospensioni di materiale
 - 2.5.2 Modifica della superficie degli elettrodi
 - 2.5.3 Preparazione della soluzione elettrolitica
 - 2.6 Spettroscopia Raman
 - 2.7 Voltammetria ciclica
3. Risultati e discussione
 - 3.1 Misurazioni elettrochimiche
 - 3.1.1 Misurazioni effettuate con i campioni realizzati con diverse quantità di NaOH
 - 3.1.2 Misurazioni effettuate con i campioni realizzati con rapporto PEG:Bi=1:1 e pH variabile
 - 3.1.3 Misurazioni effettuate con i campioni realizzati con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH variabile
 - 3.1.4 Misurazioni effettuate con i campioni realizzati con rapporto PEG:Bi=1:4 e pH variabile
 - 3.1.5 Calcolo della sensibilità e del limite di riconoscimento
 - 3.2 Spettroscopia Raman
4. Conclusioni

Bibliografia

Lista delle figure

- 1.1 Schema illustrativo delle due unità fondamentali dei sensori e descrizione del sistema di rilevamento per ottenere un determinato segnale in uscita [2]
- 1.2 Differenti tipi di biosensori divisi in base al segnale di output e sottogruppi dei sensori elettrochimici [6]
- 1.3 Differenti possibilità di utilizzo dei biosensori in ambito sanitario sviluppate negli ultimi anni [2]
- 1.4 Illustrazione generica di un elettrodo modificato. Il film è ancorato a un elettrodo convenzionale per migliorare le prestazioni o ottenere una funzione specializzata [7]
- 1.5 Schema di un rivestimento Langmuir-Blodgett [7]
- 1.6 Schema di un rivestimento per chemisorbimento [7]
- 1.7 Campi di applicazione dei nanomateriali [12]
- 1.8 Caratteristiche principali da considerare per scegliere un nanomateriale destinato ad essere utilizzato in campo biomedico [12]
- 1.9 Elenco dei vantaggi e degli svantaggi principali degli ossidi di bismuto utilizzati per la preparazione di nanoparticelle [20]
- 1.10 Schema delle diverse fasi degli ossidi di bismuto con descrizione della struttura cristallina [25]
- 1.11 Struttura del paracetamolo [28]
- 1.12 Meccanismo di ossidazione elettrochimica del paracetamolo [41]
- 2.1 Nitrato di bismuto(iii) pentaidrato ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), acido nitrico (HNO_3) con grado di purezza maggiore o uguale al 65% e soda caustica in scaglie (NaOH)
- 2.2 Soluzione con agitatore magnetico su piastra riscaldante
- 2.3 Strumento per eseguire la filtrazione sottovuoto
- 2.4 Campioni ottenuti con diverse quantità di NaOH
- 2.5 Meccanismo dello scattering Raman confrontato con il meccanismo di diffusione elastica [44]
- 2.6 Schema dei componenti e rappresentazione del percorso della luce durante un'analisi con spettroscopia Raman [47]
- 2.7 Diverse varianti della tecnica Raman utilizzate per migliorare l'efficacia delle analisi [47]
- 2.8 Potenziostato SP-300 utilizzato per effettuare analisi elettrochimiche e ottenere i voltammogrammi ciclici
- 2.9 Un esempio del sensore serigrafato a tre elettrodi prodotto da Metrohm DropSens. Il substrato utilizzato è costituito da un materiale ceramico ($3,4 \times 1,0 \times 0,05 \text{ cm}$) con elettrodo di

lavoro in carbonio (area $0,11 \text{ cm}^2$), un elettrodo di riferimento in argento e un contro-elettrodo in carbonio. In basso vengono mostrate anche le connessioni di uscita.

2.10 Esempio di segnale di eccitazione per la voltammetria ciclica in cui si applica un potenziale ottenendo una forma d'onda triangolare [49]

2.11 Esempio di voltammogramma ciclico in cui vengono indicati i parametri fondamentali per le analisi elettrochimiche [49]

3.1 Spettri Raman dei campioni realizzati con diverse quantità di NaOH:

a) realizzato con 1 g di NaOH, b) realizzato con 1,5 g di NaOH, c) realizzato con 2 g di NaOH
d) realizzato con 4 g di NaOH, e) realizzato con 6 g di NaOH, f) realizzato con 8 g di NaOH

3.2 Spettri Raman dei campioni realizzati con diverse quantità di PEG e a diversi pH:

a) campione con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH=8, b) campione con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH=10, c) campione con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH=12, d) campione con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH=14, e) campione con rapporto PEG:Bi=1:1 e pH=8, f) campione con rapporto PEG:Bi=1:1 e pH=14

Lista delle tabelle

2.1 Quantità di HNO₃, PEG e NaOH utilizzate per la preparazione dei campioni

2.2 Quantità di HNO₃, PEG e NaOH utilizzate per la preparazione dei campioni

2.3 Quantità di HNO₃, PEG e NaOH utilizzate per la preparazione dei campioni

3.1 Picco della corrente di ossidazione e potenziale corrispondente dell'elettrodo non modificato "bare" e degli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

3.2 Equazioni delle rette che associano i picchi delle correnti al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

3.3 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

3.4 Elenco dei valori del coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

3.5 Valori di separazione picco-picco con frequenza di scansione pari a 100 mV/s e retta che associa la separazione picco-picco al logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

3.6 Valori della costante di velocità cinetica (k) e del coefficiente di diffusione (D) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

3.7 Picco della corrente di ossidazione e potenziale corrispondente dell'elettrodo non modificato "bare" e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14

3.8 Equazioni delle rette che associano i picchi delle correnti al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

- 3.9 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione
- 3.10 Elenco dei valori del coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14
- 3.11 Valori di separazione picco-picco con frequenza di scansione pari a 100 mV/s e retta che associa la separazione picco-picco al logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14
- 3.12 Valori della costante di velocità cinetica (k) e del coefficiente di diffusione (D) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14
- 3.13 Picco della corrente di ossidazione e potenziale corrispondente dell'elettrodo non modificato "bare" e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14
- 3.14 Equazioni delle rette che associano i picchi delle correnti al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione
- 3.15 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione
- 3.16 Elenco dei valori del coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14
- 3.17 Valori di separazione picco-picco con frequenza di scansione pari a 100 mV/s e retta che associa la separazione picco-picco al logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14
- 3.18 Valori della costante di velocità cinetica (k) e del coefficiente di diffusione (D) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14
- 3.19 Picco della corrente di ossidazione e potenziale corrispondente dell'elettrodo non modificato "bare" e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14
- 3.20 Equazioni delle rette che associano i picchi delle correnti al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

3.21 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

3.22 Elenco dei valori del coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

3.23 Valori di separazione picco-picco con frequenza di scansione pari a 100 mV/s e retta che associa la separazione picco-picco al logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

3.24 Valori della costante di velocità cinetica (k) e del coefficiente di diffusione (D) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

3.25 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente alla concentrazione di Paracetamolo nella soluzione i rispettivi coefficienti di regressione

3.26 Valori della sensibilità e del limite di rilevamento per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati

Lista dei grafici

3.1 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato "bare" utilizzando una soluzione con PCM e una senza PCM

3.2 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

3.3 Voltammogramma ciclico per l'elettrodo non modificato "bare" con velocità di scansione variabile tra 50 mV/s e 300 mV/s a passi di 50 mV/s

3.4 Rette che mettono in relazione la corrente anodica (linea blu) e la corrente catodica (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo non modificato "bare"

3.5 Rette che mettono in relazione il potenziale anodico (linea blu) e il potenziale catodico (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo non modificato "bare"

3.6 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14

3.7 Rette che mettono in relazione la corrente anodica (linea blu) e la corrente catodica (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione a pH=8 e rapporto PEG:Bi=1:1

3.8 Rette che mettono in relazione il potenziale anodico (linea blu) e il potenziale catodico (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=8 con rapporto PEG:Bi=1:1

3.9 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14

3.10 Rette che mettono in relazione la corrente anodica (linea blu) e la corrente catodica (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione a pH=8 e rapporto PEG:Bi=1:2

3.11 Rette che mettono in relazione il potenziale anodico (linea blu) e il potenziale catodico (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=8 con rapporto PEG:Bi=1:2

3.12 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a

pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

3.13 Rette che mettono in relazione la corrente anodica (linea blu) e la corrente catodica (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione a pH=10 e rapporto PEG:Bi=1:4

3.14 Rette che mettono in relazione il potenziale anodico (linea blu) e il potenziale catodico (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=8 con rapporto PEG:Bi=1:4

3.15 Voltammogramma ciclico di Paracetamolo in PBS 0,1 M a pH 7 variando la concentrazione di Paracetamolo per l'elettrodo non modificato "bare"

3.16 Curva di calibrazione dell'elettrodo non modificato "bare"

Capitolo 1

Introduzione

1.1 Sensori

I sensori sono dispositivi utilizzati per poter effettuare un rilevamento efficace di un particolare elemento da analizzare. I sensori sono costituiti da due unità funzionali: un recettore e un trasduttore di segnale. Il recettore è un materiale di rilevamento attivo utilizzato sull'elettrodo come catalizzatore [1]. Il recettore interagisce con l'analita, catalizzando la reazione chimica e convertendo l'evento di riconoscimento in un segnale di uscita predeterminato [2].

Il trasduttore è responsabile della conversione del segnale creato dall'interazione recettore-analita in un valore leggibile [2]. Questi dispositivi producono diversi tipi segnali in uscita che successivamente possono essere convertiti in un segnale digitale. Nella figura 1.1 sono rappresentate le diverse componenti dei sensori e le diverse fasi del processo di rilevamento di un analita tramite l'utilizzo di un sensore.

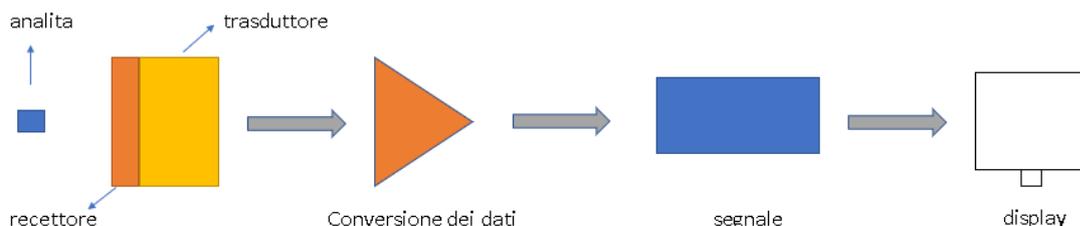


Figura 1.1 Schema illustrativo delle due unità fondamentali dei sensori e descrizione del sistema di rilevamento per ottenere un determinato segnale in uscita [2]

I sensori possono essere classificati in due categorie: sensori chimici e biosensori [1].

Un sensore chimico è definito dalla IUPAC come "un dispositivo che converte i dati chimici, dalla concentrazione di un singolo componente del campione all'analisi completa della composizione, in un segnale analiticamente utilizzabile" [3].

In un sensore chimico è presente un trasduttore fisico-chimico mentre i recettori sono variabili e possono essere superfici attivate o drogate o complesse macromolecole che creano interazioni altamente specifiche con l'analita [2]. Un biosensore è un dispositivo in cui viene utilizzato un recettore di origine biologica [4]. Tramite i biosensori è possibile effettuare il rilevamento di composti biochimici come proteine biologiche, nucleotidi e persino tessuti [5].

È possibile classificare i sensori in base al tipo di segnale in output, come si può osservare nella figura 1.2. Infatti, in base al tipo di trasduttore utilizzato si possono avere biosensori ottici, bioluminescenti, elettrochimici, calorimetrici o piezoelettrici [6]. A loro volta, i sensori elettrochimici possono essere suddivisi in tre diversi gruppi: sensori amperometrici, sensori potenziometrici e sensori conduttometrici.

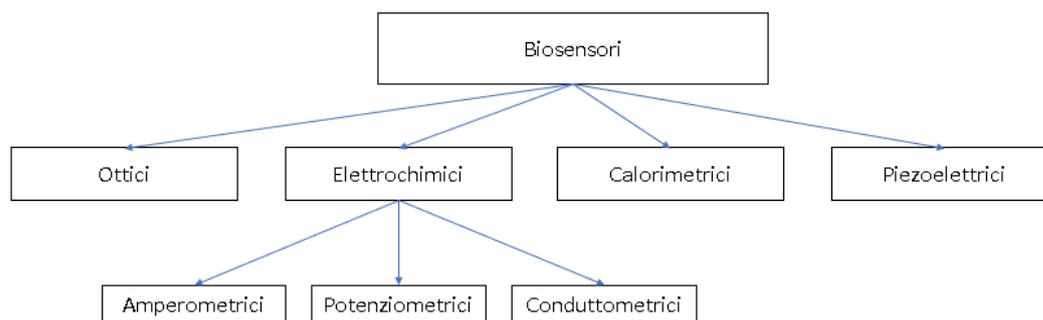


Figura 1.2 Differenti tipi di biosensori divisi in base al segnale di output e sottogruppi dei sensori elettrochimici [6]

La combinazione dei sensori chimici e dei biosensori ha dato origine a un nuovo tipo di sensori che sono chiamati biosensori elettrochimici, dove vengono applicati i metodi elettrochimici per la costruzione e per il funzionamento di un biosensore [1]. Un biosensore elettrochimico è stato definito come un “dispositivo integrato autonomo, che è in grado di fornire specifiche informazioni quantitative o semiquantitative utilizzando un elemento biologico di riconoscimento mantenuto in diretto contatto spaziale con un elemento di trasduzione elettrochimica” [5]. In questo modo è possibile sfruttare le tecniche elettrochimiche e la specificità dei recettori di origine biologica.

I sensori elettrochimici sono i sensori più impiegati e si sono affermati nel mercato grazie a diversi vantaggi come l'elevata sensibilità dovuta a un limite di rilevamento inferiore in confronto agli altri tipi di biosensori e per l'utilizzo di attrezzature a basso costo [2]. Inoltre, hanno tempi di risposta inferiori rispetto agli altri sensori, sono più adatti a essere miniaturizzati e permettono di rilevare i materiali presenti all'interno dell'ospite senza causare alcun danno nel sistema ospite [1]. I sensori elettrochimici sono disponibili in diverse forme e possono essere sia prodotti da banco che dispositivi indossabili. Grazie alla loro elevata sensibilità e selettività sono molto utilizzati nel controllo di processi industriali, nella diagnostica clinica e in campo forense. Come si può osservare nella figura 1.3, questi sensori possono essere utilizzati a livello sanitario per la diagnosi di malattie cardiache, per la diagnosi del fenotipo di un cancro, per analisi tramite risonanza magnetica con contrasto, per protesi retiniche, per il monitoraggio della salute generale o per una diagnostica rapida su DNA e RNA [2]. Inoltre, essi sono ampiamente utilizzati per trattare pazienti affetti da diabete tramite la rilevazione di glicemia.

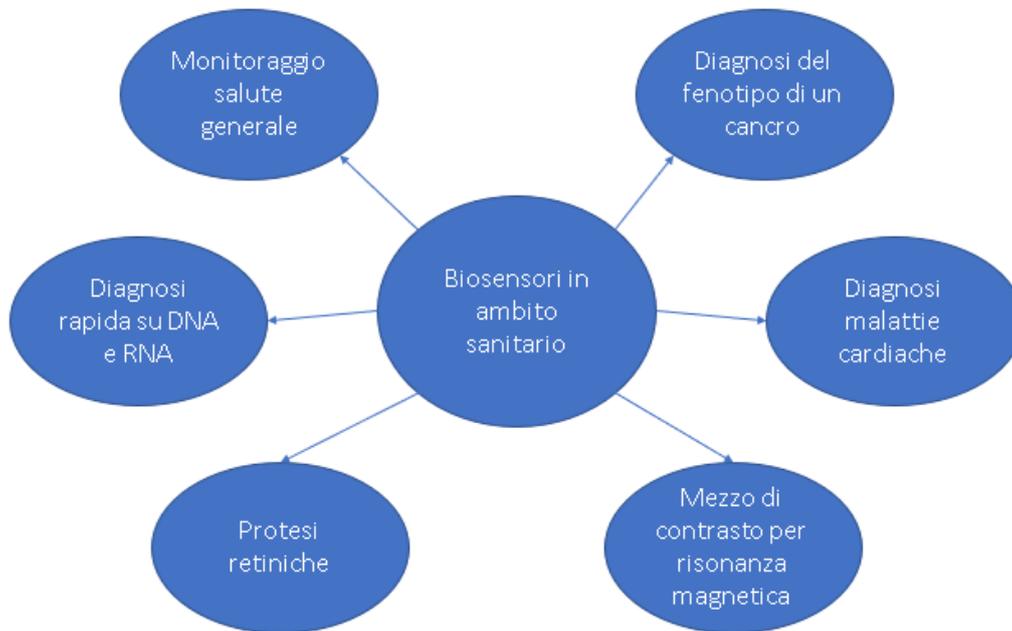


Figura 1.3 Differenti possibilità di utilizzo dei biosensori in ambito sanitario sviluppate negli ultimi anni [2]

1.2 Sensori modificati

Le superfici degli elettrodi possono essere modificate per ottenere elettrodi con caratteristiche migliori rispetto agli elettrodi non modificati. È possibile effettuare modifiche per ottenere miglioramenti come una maggiore selettività, sensibilità, stabilità chimica ed elettrochimica o una migliore resistenza alle incrostazioni [7]. Inoltre, gli elettrodi con superfici modificate permettono di effettuare studi sui processi interfacciali in maniera più efficace. Un elettrodo chimicamente modificato (CME) viene definito come un materiale conduttore o semiconduttore che è stato rivestito con un materiale monomolecolare, multimolecolare, ionico o con uno strato polimerico in modo da alterare le proprietà elettrochimiche, ottiche e altre proprietà dell'interfaccia [7]. Per i substrati conduttivi e semiconduttivi si possono utilizzare materiali per elettrodi convenzionali, mentre i rivestimenti possono variare per origini e proprietà. Alcune proprietà importanti per i rivestimenti sono legate alle dimensioni dei materiali che possono raggiungere la microscala e la nanoscala. Nella figura 1.4 è possibile osservare un esempio generico di un elettrodo modificato in cui sono messi in evidenza i legami chimici tra l'elettrodo e lo strato di rivestimento (film) e le proprietà superficiali.

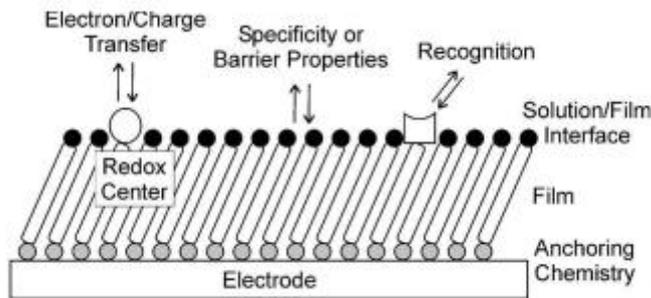


Figura 1.4 Illustrazione generica di un elettrodo modificato. Il film è ancorato a un elettrodo convenzionale per migliorare le prestazioni o ottenere una funzione specializzata [7]

Gli elettrodi modificati possono essere classificati in base al metodo di fissaggio del film sul substrato.

Si possono avere due diversi metodi di modifica degli elettrodi:

- Fisisorbimento
- Chemisorbimento

La tecnica di assemblaggio di Langmuir-Blodgett (L-B) si basa sul fisisorbimento e offre un modo versatile per preparare un elettrodo modificato [8]. Gli strati L-B vengono realizzati trasferendo film monomolecolari in fase liquida su un supporto solido. Grazie alla presenza di interazioni non covalenti si instaura un legame tra il film di rivestimento e il substrato [8]. La stabilità del rivestimento è limitata a causa della natura debole del legame presente tra film e substrato. I film L-B sono utili negli studi biologici, in quanto possono essere facilmente preparati per agire come imitazioni delle membrane lipidiche. Gli elettrodi modificati in questo modo sono spesso utilizzati negli studi di fenomeni di trasporto e attività enzimatica [9]. Inoltre, sono spesso usati anche come sensori di riconoscimento molecolare e nell'elettronica molecolare [9]. Nella figura 1.5 si può osservare uno schema generico di un rivestimento Langmuir-Blodgett in cui sono messi in evidenza i gruppi funzionali di testa e di coda.

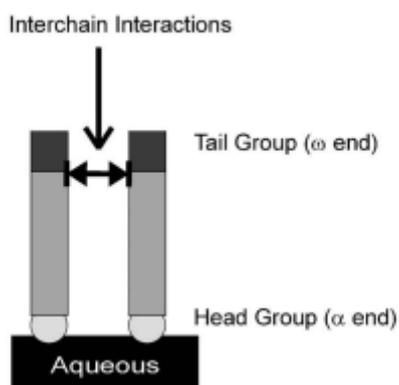


Figura 1.5 Schema di un rivestimento Langmuir-Blodgett [7]

Il chemisorbimento è il forte adsorbimento di una molecola su una superficie attraverso la formazione spontanea di un legame chimico. Pertanto, sono presenti forze intermolecolari forti a causa della presenza di un legame chimico tra un gruppo funzionale nella molecola e un sito

sull'elettrodo [7]. Per ottenere un elettrodo modificato con un rivestimento legato al substrato per chemisorbimento, si utilizza la tecnica dell'autoassemblaggio con cui si ottiene una modifica superficiale del substrato per adsorbimento spontaneo [10]. Gli strati monomolecolari preparati mediante chemisorbimento sono noti come monostrati autoassemblati (SAM). Nella figura 1.6 si può osservare uno schema generico di un rivestimento per chemisorbimento in cui è messo in evidenza il legame chimico tra il substrato e il gruppo di testa dello strato di rivestimento.

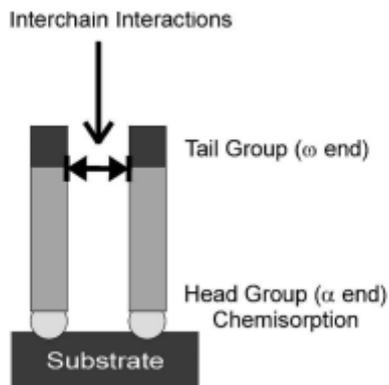


Figura 1.6 Schema di un rivestimento per chemisorbimento [7]

1.3 Nanomateriali

Negli ultimi anni è aumentato l'interesse verso le micro e le nanotecnologie che hanno dimostrato di avere un enorme potenziale in diversi campi come l'ingegneria, la fisica, la chimica, la biologia e l'informatica [11]. Grazie alle nanotecnologie è possibile produrre materiali in scala nanometrica utili in diversi campi applicativi come la somministrazione di farmaci, la purificazione dell'acqua, la gestione dei dati ed altre applicazioni industriali [12]. Nella figura 1.7 sono mostrati i principali campi scientifici in cui sono stati utilizzati i nanomateriali.

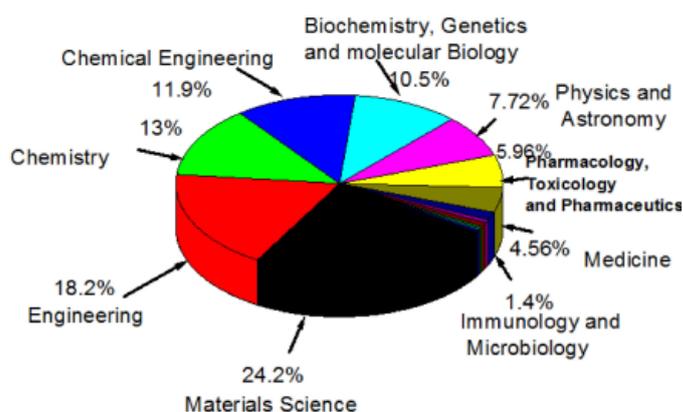


Figura 1.7 Campi di applicazione dei nanomateriali [12]

Sono definiti nanomateriali i materiali fabbricati che presentano dimensioni comprese tra 1 nm e 100 nm. A causa della loro dipendenza dalle dimensioni, i nanomateriali mostrano proprietà

fisiche e chimiche diverse rispetto ai materiali molecolari convenzionali e in forma bulk [13]. Sono state condotte numerose ricerche in campo biomedico tramite la fabbricazione di strutture e dispositivi in scala nanometrica.

Pertanto, i materiali in nanoscala hanno un impatto sempre più importante sulla salute umana e hanno dimostrato di avere il potenziale per rivoluzionare il campo della medicina grazie alle diverse applicazioni diagnostiche e terapeutiche [13]. La scelta di un nanomateriale in campo biomedico dipende da diverse caratteristiche come la dimensione delle nanoparticelle, la permeabilità, la carica superficiale, la biocompatibilità, il tasso di degradazione, l'antigenicità e il suo comportamento nel rilascio di un farmaco solubile [12]. Le principali proprietà da considerare per la scelta di un biomateriale applicato in campo biomedico sono elencate nella figura 1.8.

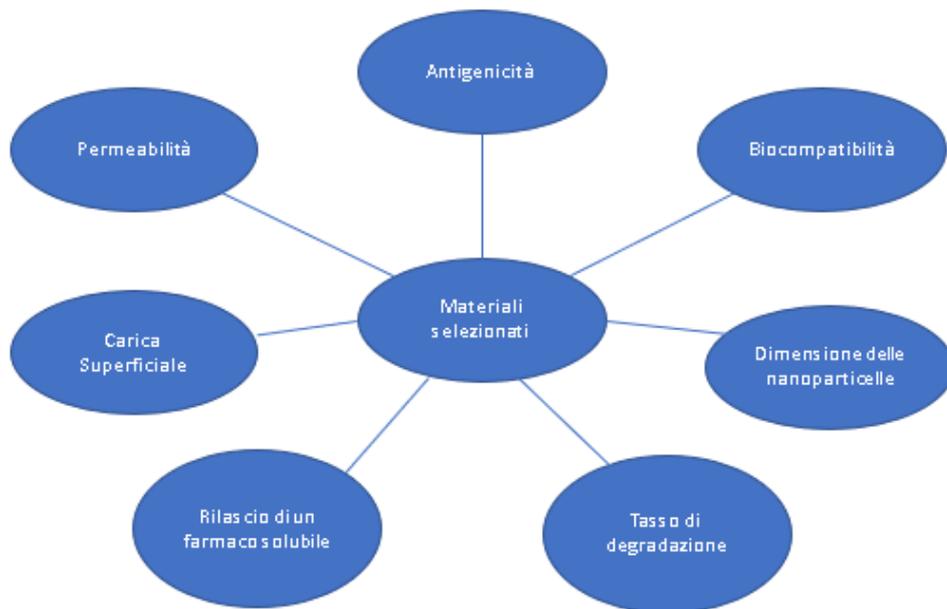


Figura 1.8 Caratteristiche principali da considerare per scegliere un nanomateriale destinato ad essere utilizzato in campo biomedico [12]

Sebbene le applicazioni principali in campo biomedico siano legate principalmente a sistemi di somministrazione di farmaci, i nanomateriali presentano caratteristiche uniche che possono essere utilizzate in aree come:

- Imaging [14];
- Rilevamento di biomolecole [15]
- Ingegneria tissutale [16].

Negli ultimi due decenni l'utilizzo dei nanomateriali ha avuto un grande impatto nell'ambito del sensing di biomolecole. Ci sono stati progressi rilevanti grazie alla realizzazione di diversi nanomateriali con diverse caratteristiche controllabili come la forma, le dimensioni, la carica superficiale e le proprietà fisico-chimiche [17].

In generale, i nanomateriali possono essere nanostrutture organiche, inorganiche e composite

organiche-inorganiche come nanoparticelle, nanofili e nanopattern [13]. Essi possono essere funzionalizzati con polimeri e molecole bioattive e utilizzati per modificare la superficie degli elettrodi in modo da migliorare la biocompatibilità e la capacità di rilevamento. La possibilità di controllare le proprietà dei nanomateriali e di modificarle tramite la funzionalizzazione utilizzando dei biomateriali ha portato alla progettazione di una nuova generazione di dispositivi bioelettronici fondamentali per lo studio di eventi di riconoscimento biologico con trasduzione elettronica del segnale [17].

L'utilizzo dei biomateriali presenta due vantaggi principali. Infatti, possono essere utilizzati come strumenti diagnostici con una minore invasività rispetto ai metodi tradizionali e prevedono la possibilità di impostare più modalità di analisi ricorrendo ad un'unica sonda [17]. Pertanto, è possibile realizzare sensori con maggiore sensibilità in grado di identificare particolari specie cellulari e analizzare in maniera più approfondita processi in vivo.

1.4 Composti a base di ossidi di bismuto

Il bismuto è un elemento metallico con numero atomico pari a 83 [18]. Recentemente è stato scoperto che il bismuto è debolmente radioattivo. Tuttavia, il bismuto può essere considerato il metallo stabile più pesante della tavola periodica a causa dell'elevato tempo di decadimento (circa $1,9 \cdot 10^{19}$ anni) [18]. Il comportamento del bismuto è stato studiato in ambiente biologico per poter valutare il suo utilizzo in ambito biomedico. Infatti, in precedenza il bismuto è stato usato per diversi trattamenti in ambito medico. Diversi composti di bismuto come il bismuto subcitrato colloidale o di potassio sono stati utilizzati per alcuni disturbi gastrointestinali [19]. Il bismuto è stato utilizzato anche per il trattamento di infezioni batteriche dal XIX secolo [20]. Sono stati osservati diversi casi di encefalopatia causata da un accumulo di bismuto in Francia e in Australia a metà del XX secolo [20]. Questo effetto collaterale ha causato la diminuzione dell'utilizzo del bismuto.

Attualmente i nanomateriali realizzati con il bismuto risultano essere molto interessanti. Infatti, è possibile realizzare nanomateriali a base di bismuto tramite processi di fabbricazione economici. Inoltre, i nanomateriali ottenuti risultano essere molto stabili e versatili [20].

L'obiettivo principale consiste nell'utilizzare il bismuto per produrre biomateriali per poter sfruttare le sue proprietà in ambito diagnostico e per applicazioni in campo teragnostico.

Il bismuto risulta essere molto interessante per il trattamento del cancro, a causa della sua bassa tossicità, all'elevata capacità di attenuazione dei raggi X e all'alto coefficiente di assorbimento dei raggi dell'infrarosso vicino [21].

Comunemente, il bismuto è usato sotto forma di alogenuri, oxoalogenuri, nitrati e derivati di ossidi.

Gli ossidi di bismuto sono un gruppo di composti di bismuto che presentano diversi vantaggi. Infatti, sono molto stabili, hanno una scarsa citotossicità possono essere facilmente assorbite dalle cellule e possono svolgere un'attività fotocatalitica [20]. Gli svantaggi principali sono legati principalmente alla loro elevata idrofobicità e alla presenza di impurità di fase e di difetti superficiali. I principali vantaggi e svantaggi degli ossidi di bismuto sono elencati nella figura 1.9.

Vantaggi	Svantaggi
<ul style="list-style-type: none"> • Elevata stabilità • Facilità di sintesi • Elevato controllo delle dimensioni • Bassa citotossicità • Attività fotocatalitica 	<ul style="list-style-type: none"> • Elevata idrofobicità • Impurezze di fase • Difetti superficiali

Figura 1.9 Elenco dei vantaggi e degli svantaggi principali degli ossidi di bismuto utilizzati per la preparazione di nanoparticelle [20]

Le nanoparticelle di ossido di bismuto possono essere utilizzate per varie applicazioni come la preparazione di superfici superidrofobiche grazie alle loro proprietà di bagnabilità, per bloccare i raggi UV, per svolgere un'attività antibatterica contro Gram-positivi e Gram negativi, per la rimozione degli inquinanti e in ambito di sicurezza e citotossicità [22]. Inoltre, l'ossido di bismuto può anche essere usato come catalizzatore per l'elettrossidazione di composti organici [23].

Il polimorfismo è una delle caratteristiche fondamentali degli ossidi di bismuto. Lo studio del polimorfismo è fondamentale per poter mettere in relazione le proprietà fisiche degli ossidi di bismuto con la loro struttura molecolare [24].

È possibile osservare gli ossidi di bismuto in cinque diverse fasi principali: α -Bi₂O₃, β -Bi₂O₃, γ -Bi₂O₃, δ -Bi₂O₃, ϵ -Bi₂O₃ [25]. Inoltre, è possibile ottenere una fase metastabile chiamata ω -Bi₂O₃ a 800 °C su un substrato di BeO [25]. Queste fasi possono essere suddivise in due gruppi in base alla loro purezza a temperatura ambiente. Infatti, solamente due di queste fasi (α -Bi₂O₃ e γ -Bi₂O₃) sono pure, mentre le altre sono contaminate con sostanze estranee utilizzate nel processo di preparazione di queste fasi [23]. Sia β -Bi₂O₃ che δ -Bi₂O₃ esistono come fasi pure solo a temperature elevate, ma possono essere stabilizzate a temperatura ambiente mediante l'aggiunta di cationi metallici come niobio o tantalio. Inoltre, è possibile analizzare le diverse fasi in base alla loro stabilità che varia in base alla temperatura. α -Bi₂O₃ risulta essere stabile a bassa temperatura mentre γ -Bi₂O₃ è la fase stabile ad alta temperatura [20]. Le fasi β -Bi₂O₃ e δ -Bi₂O₃, invece, sono metastabili ad alta temperatura [24]. Infatti, la fase γ -Bi₂O₃ è altamente instabile e difficile da sintetizzare senza la presenza di altri ossidi o specie metalliche come supporto [20]. Modificando la temperatura è possibile osservare le diverse trasformazioni di fase. A una temperatura di circa 730°C α -Bi₂O₃ subisce una trasformazione di fase in δ -Bi₂O₃ [25]. Abbassando la temperatura, δ -Bi₂O₃ può trasformarsi in β -Bi₂O₃ a circa 650°C o in γ -Bi₂O₃ a 639°C. È possibile passare dalla fase ϵ -Bi₂O₃ alla fase α -Bi₂O₃ a circa 400°C [25].

Ogni polimorfo possiede una precisa struttura cristallina e specifiche proprietà fisiche. La fase α -Bi₂O₃ ha una struttura monoclinica e può essere preparata mediante tempra o raffreddamento lento di una massa fusa [23]. La fase β -Bi₂O₃ ha una struttura tetragonale e può essere preparata mediante sublimazione di ossido di bismuto. Il processo di preparazione inizia facendo passare rapidamente ossigeno su bismuto metallico mantenuto a 800°C in un forno di grafite e si procede con un successivo raffreddamento rapido dei vapori prodotti [23]. La fase γ -Bi₂O₃ ha una struttura cubica a corpo centrato e può essere ottenuta tramite fusione di ossido di bismuto per cinque minuti a 900°C in un crogiolo di porcellana [23].

La fase δ -Bi₂O₃ presenta una struttura cubica semplice con difetti nella struttura a causa della

presenza di vacanze casuali di ossigeno [25]. Può essere preparata mediante fusione di ossido di bismuto per almeno venti minuti a 900°C in crogiolo di porcellana [23]. La fase ϵ - Bi_2O_3 ha una struttura ortorombica.

Nella figura 1.10 sono rappresentate le diverse fasi degli ossidi di bismuto e le relative strutture cristalline.

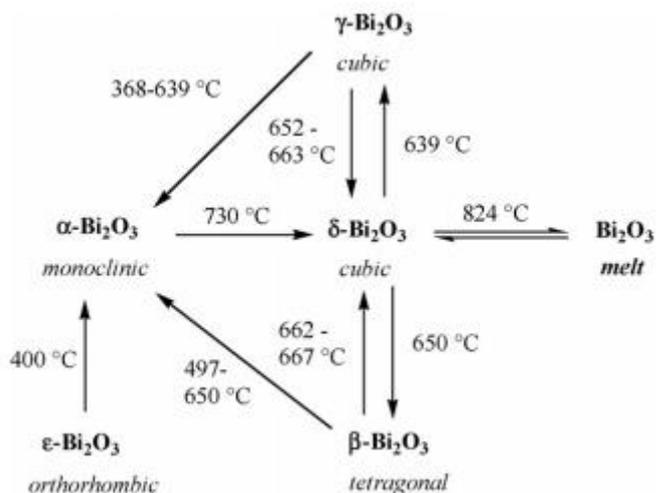


Figura 1.10 Schema delle diverse fasi degli ossidi di bismuto con descrizione della struttura cristallina [25]

1.5 Rilevamento di Paracetamolo

Il Paracetamolo (acetaminofene o N-acetil-p-amminofenolo) contiene ammido aromatico acetilato, è utilizzato in tutto il mondo per la sua azione antipiretica e analgesica [26] ed è un sostituto efficace per i pazienti che sono sensibili all'acido acetilsalicilico (aspirina) [27]. Nella figura 1.11 è possibile osservare la struttura del Paracetamolo.

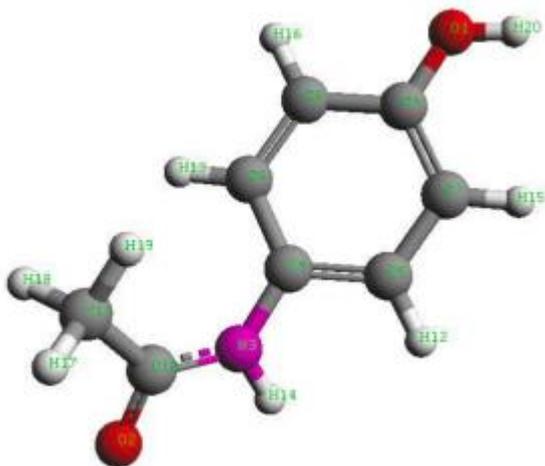


Figura 1.11 Struttura del Paracetamolo [28]

Alla dose terapeutica (50-100 mM), il Paracetamolo non ha gravi effetti collaterali [27] ed è metabolizzato in modo rapido e completo mediante glucuronidazione e solfatazione in metaboliti inattivi che vengono eliminati tramite l'urina [29].

Tuttavia, è stato osservato che una dose eccessiva di Paracetamolo può comportare l'accumulo di N-acetil-p-benzochinone immina (NAPQI). NAPQI è un metabolita tossico in grado di danneggiare fegato e reni nel corpo umano e causare infine la morte [30].

A causa di questi rischi legati all'accumulo di NAPQI è stato necessario sviluppare metodi e tecniche analitiche per valutare in maniera rapida e accurata la quantità di Paracetamolo presente in formulazioni farmaceutiche e in vari tipi di campioni biologici come urine, sangue e plasma.

Sono stati utilizzati vari metodi per valutare la presenza del Paracetamolo come la spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR) [31], la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) [32], la spettrofotometria [33], la titrimetria [34], i metodi di elettroforesi capillare [35], la spettrofluorimetria [36], la gascromatografia [37], la colorimetria [38] e le tecniche elettrochimiche [39].

I metodi spettrofotometrici e titrimetrici prevedono un processo di estrazione prima del rilevamento.

La HPLC, invece, richiede tempi di analisi maggiori arrivando fino a 5 minuti per ogni campione [32]. Pertanto, questi metodi risultano essere inadatti per analisi di routine [40].

Le tecniche elettrochimiche rappresentano una valida alternativa per la determinazione di Paracetamolo.

I metodi elettrochimici risultano essere vantaggiosi a causa del basso costo, della portabilità, della facilità d'uso e del rilevamento accurato [39].

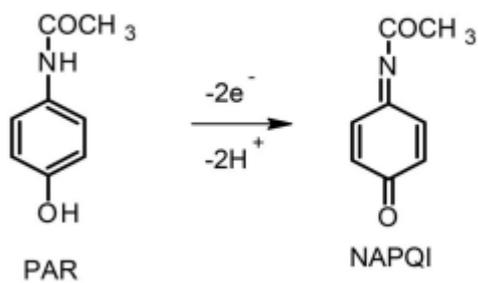
Gli elettrodi di lavoro più comunemente utilizzati per il rilevamento elettrochimico di Paracetamolo sono gli elettrodi a base di carbonio, in particolare elettrodi di carbonio vetroso (GCE), elettrodi in pasta di carbonio (CPE) ed elettrodi di carbone serigrafato (SPCE) [27].

È stato utilizzato un elettrodo in pasta di carbonio per descrivere il comportamento elettrochimico del Paracetamolo. L'ossidazione elettrochimica del Paracetamolo è un processo irreversibile sui materiali convenzionali, ma in presenza di composti catalitici, come nanomateriali a base di carbonio, particelle metalliche o polimeri conduttivi, diventa reversibile a causa della rapida velocità di trasferimento degli elettroni [40]. Come si può osservare nella figura 1.12, è stato analizzato il meccanismo di ossidazione elettrochimica del Paracetamolo in soluzione acquosa. È stato osservato che il Paracetamolo subisce ossidazione elettrochimica dipendente dal pH mediante scambio di due elettroni e due protoni e forma N-acetil-p-benzochinone-immina (NAPQI) nella fase I [41]. A pH=6, NAPQI esiste nella forma non protonata e se il mezzo è più acido, NAPQI subisce la protonazione e produce specie attive meno stabili elettrochimicamente nella fase II [41].

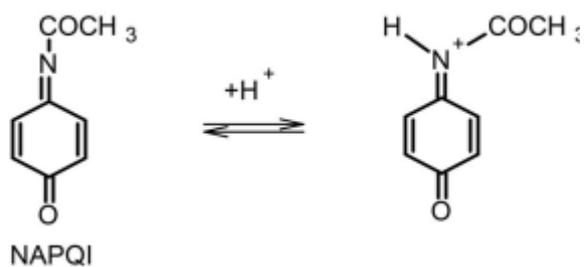
Pertanto, nella fase III si ottiene una forma idrata elettrochimicamente inattiva che si converte in benzochinone (BQ) in condizioni acide nella fase IV [41]. Allo stesso modo, è stato studiato il comportamento elettrochimico del Paracetamolo utilizzando un elettrodo di carbonio vetroso in pH acido e in soluzione alcalina.

È stato riferito che NAPQI comporta reazioni di idrossilazione, dimerizzazione o idrolisi basate sul pH della soluzione [42].

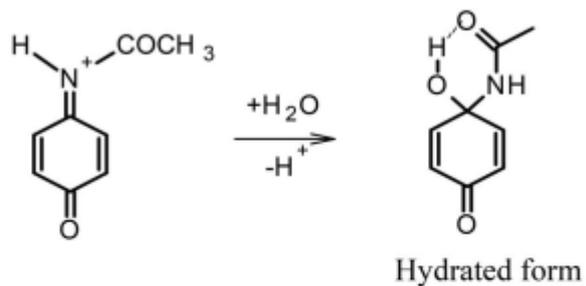
Step I



Step II



Step III



Step IV

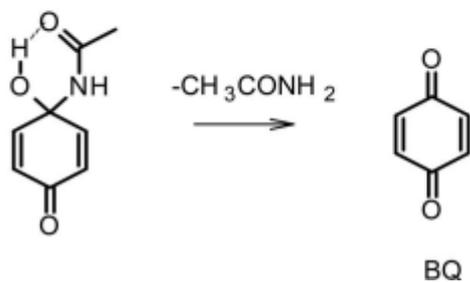


Figura 1.12 Meccanismo di ossidazione elettrochimica del paracetamolo [41]

Capitolo 2

Materiali e metodi

2.1 Elementi chimici

Sono stati utilizzati nitrato di bismuto pentaidrato ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), acido nitrico (HNO_3) con grado di purezza maggiore o uguale al 65%, polietilenglicole (PEG) e soda caustica in scaglie (NaOH) per la sintesi dei materiali al Politecnico di Torino, come si può osservare in figura 2.1. È stata utilizzata acqua distillata per la preparazione di sospensioni di materiali a base di bismuto. Sono stati utilizzati il tampone fosfato salino (PBS) e le compresse di Paracetamolo trasformati in polvere per la preparazione di soluzioni elettrolitiche nel laboratorio con sede in Mondovì.



Figura 2.1 Nitrato di bismuto(iii) pentaidrato ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), acido nitrico (HNO_3) con grado di purezza maggiore o uguale al 65% e soda caustica in scaglie (NaOH)

2.2 Sintesi di ossidi di bismuto con diverse quantità di idrossido di sodio

La prima fase prevedeva la sintesi di Bi_2O_3 . Sono stati pesati 2 g di $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ su bilancia. Sono stati portati in soluzione aggiungendo 50 mL di H_2O in un becker. Nella fase successiva, lavorando sotto una cappa chimica da laboratorio, sono stati aggiunti 3 mL di HNO_3 . È stato inserito un magnete in soluzione e il becker è stato posizionato su un agitatore magnetico con piastra riscaldante (modello lktc-b1-t) impostando una temperatura pari a 80 °C. Dopo il raggiungimento della temperatura impostata sono stati aggiunti 2 g di PEG (rapporto PEG:Bi 1:1) mantenendo il becker sulla piastra riscaldata e in agitazione magnetica. L'idrossido di sodio (NaOH) è stato pesato e aggiunto dopo aver tolto il becker dall'agitatore magnetico lavorando sotto cappa. Il becker è stato rimesso sull'agitatore magnetico mantenendo la temperatura impostata in precedenza. In seguito sono stati aggiunti H_2O ogni 30 minuti per 3 ore per compensare l'evaporazione della soluzione. Nella figura 2.2 si può osservare il becker posto in agitazione magnetica sulla piastra riscaldante alla temperatura di 80°C.

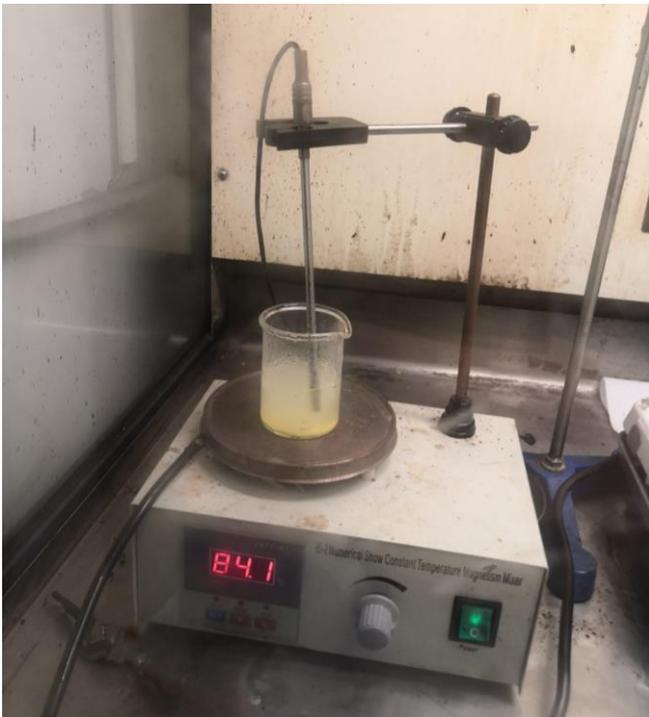


Figura 2.2 Soluzione con agitatore magnetico su piastra riscaldante

Successivamente è stata verificata la precipitazione dell'ossido di bismuto. In seguito, è stata effettuata la filtrazione sottovuoto lavorando sotto cappa. Lo strumento utilizzato per la filtrazione sottovuoto è rappresentato nella figura 2.3. Il campione precipitato è stato lasciato a riposo in un forno d'essiccazione a 80 °C per 24 ore.



Figura 2.3 Strumento per eseguire la filtrazione sottovuoto

Sono stati preparati diversi campioni partendo da un peso di NaOH iniziale che veniva modificato per i successivi campioni. È stato necessario scartare il campione preparato utilizzando 500 mg di NaOH a causa dell'assenza di precipitato.

Nella Tabella 2.1 sono indicati le quantità in peso e in volume dei diversi componenti utilizzati per la sintesi di ogni campione.

Nome	HNO ₃ (mL)	PEG(g)	NaOH(g)
01	3	2	2
02	3	2	1
03	3	2	1.5
04	3	2	4
05	3	2	6
06	3	2	8

Tabella 2.1 Quantità di HNO₃, PEG e NaOH utilizzate per la preparazione dei campioni

Nella figura 2.4 sono rappresentati i campioni ottenuti utilizzando diverse quantità di NaOH nel processo di sintesi



Figura 2.4 Campioni ottenuti con diverse quantità di NaOH

2.3 Sintesi di ossidi di bismuto con diverso pH nella soluzione finale

Nella fase successiva i campioni sono stati preparati con il metodo descritto in precedenza modificando il volume di acido nitrico per avere una soluzione iniziale con un determinato pH. Si è scelto di avere una soluzione di partenza con pH=3 dopo l'aggiunta di acido nitrico. Il rapporto PEG:Bi è stato mantenuto invariato utilizzando 2 g di PEG. È necessario calcolare il volume di HNO₃ da aggiungere per poter ottenere una soluzione iniziale con il valore di pH desiderato, considerando il volume di acqua utilizzato, le proprietà fisiche dell'acido nitrico e il suo grado di purezza.

$$\text{pH}=3 \quad \rightarrow \quad \text{concentrazione } [\text{H}^+] = 10^{-3} \text{ mol/L}$$

$$V_{\text{H}_2\text{O}} = 50 \text{ mL} = 50 \cdot 10^{-3} \text{ L}$$

$$m_{\text{NaOH}} = \text{concentrazione } [\text{H}^+] \cdot V_{\text{H}_2\text{O}} = 10^{-3} \text{ mol/L} \cdot 50 \cdot 10^{-3} \text{ L} = 50 \cdot 10^{-6} \text{ mol}$$

$$M_{\text{HNO}_3} = 63,01 \text{ g/mol}$$

$$\text{Densità}_{\text{HNO}_3} = 1,51 \text{ g/cm}^3 = 1,51 \cdot 10^{-3} \text{ g/L}$$

$$\text{Peso}_{\text{HNO}_3} = m_{\text{NaOH}} \cdot M_{\text{HNO}_3} = 50 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot 63,01 \text{ g/mol} = 3,1505 \text{ mg}$$

$$\text{Purezza}_{\text{HNO}_3} = 63\% = 0,63$$

$$\text{Peso}_{\text{realeHNO}_3} = \text{Peso}_{\text{HNO}_3} / \text{Purezza}_{\text{HNO}_3} = 3,1505 \text{ mg} / 0,63 = 5,001 \text{ mg}$$

$$V_{\text{HNO}_3} = \text{Peso}_{\text{HNO}_3} / \text{Densità}_{\text{HNO}_3} = 5,001 \text{ mg} / 1,51 * 10^{-3} \text{ g/L} = 3.312 \text{ } \mu\text{L} \sim 3 \text{ } \mu\text{L}$$

Il peso dell'idrossido di sodio è stato variato per ottenere soluzioni finali con diversi valori di pH.

La massa di NaOH da aggiungere è la somma tra la massa necessaria per arrivare a pH neutro e la massa per arrivare al pH basico desiderato. L'esperimento è stato eseguito con soluzioni finali con pH finale variabile tra 8 e 14.

$$M_{\text{totNaOH}} = m_1 + m_2$$

Si calcola m_1 necessaria per arrivare a pH neutro. Per raggiungere un pH neutro è necessario aggiungere una quantità di NaOH che abbia lo stesso numero di moli dell'acido nitrico aggiunto in precedenza.

$$M_{\text{NaOH}} = 39,997 \text{ g/mol}$$

$$\text{mol}_{\text{NaOH}} = \text{mol}_{\text{HNO}_3} = 50 * 10^{-6} \text{ mol}$$

$$m_1 = \text{mol}_{\text{NaOH}} * M_{\text{NaOH}} = 50 * 10^{-6} \text{ mol} * 39,997 \text{ g/mol} = 1,999 \text{ mg} \sim 2 \text{ mg}$$

La massa m_2 è stata calcolata per ottenere una soluzione finale con diversi pH basici. È necessario considerare il valore di pH che si desidera ottenere nella soluzione finale e il volume di acqua utilizzato.

$$\text{pH}_{\text{finale}} = 8$$

$$\text{pOH} = 14 - \text{pH}_{\text{finale}} = 14 - 8 = 6$$

$$\text{pOH} = 6 \rightarrow \text{concentrazione } [\text{OH}^-] = 10^{-6} \text{ mol/L}$$

$$V_{\text{H}_2\text{O}} = 50 \text{ mL} = 50 * 10^{-3} \text{ L}$$

$$\text{mol}_{\text{NaOH}} = \text{concentrazione } [\text{OH}^-] * V_{\text{H}_2\text{O}} = 10^{-6} \text{ mol/L} * 50 * 10^{-3} \text{ L} = 5 * 10^{-8} \text{ mol}$$

$$m_2 = \text{mol}_{\text{NaOH}} * M_{\text{NaOH}} = 5 * 10^{-8} \text{ mol} * 39,997 \text{ g/mol} = 2 * 10^{-6} \text{ g} = 2 * 10^{-3} \text{ mg}$$

Si calcola la massa totale di NaOH da aggiungere sommando la massa m_1 necessaria per arrivare a pH neutro e la massa m_2 per arrivare al valore di pH desiderato

$$m_{\text{tot}} = m_1 + m_2 = 2 \text{ mg} + 2 * 10^{-3} \text{ mg} = 2 \text{ mg}$$

Avendo utilizzato soluzioni iniziali con lo stesso valore di pH e con lo stesso volume di acqua, il valore m_1 resta invariato. Pertanto, si procede calcolando il valore m_2 necessario per raggiungere il valore di pH desiderato. Successivamente si calcola per ogni caso la massa totale di NaOH sommando il valore m_1 che resta invariato con il valore m_2 che varia in base al valore di pH finale desiderato.

Si calcola la massa di NaOH da aggiungere per ottenere una soluzione finale con pH=10.

$$\text{pH}_{\text{finale}} = 10$$

$$\text{pOH} = 14 - \text{pH}_{\text{finale}} = 14 - 10 = 4$$

$$\text{pOH} = 4 \rightarrow \text{concentrazione } [\text{OH}^-] = 10^{-4} \text{ mol/L}$$

$$V_{H_2O} = 50 \text{ mL} = 50 * 10^{-3} \text{ L}$$

$$m_{\text{oli}_{NaOH}} = \text{concentrazione } [OH^-] * V_{H_2O} = 10^{-4} \text{ mol/L} * 50 * 10^{-3} \text{ L} = 5 * 10^{-6} \text{ mol}$$

$$m_2 = m_{\text{oli}_{NaOH}} * M_{NaOH} = 5 * 10^{-6} \text{ mol} * 39,997 \text{ g/mol} = 2 * 10^{-4} \text{ g} = 2 * 10^{-1} \text{ mg}$$

$$m_{\text{tot}} = m_1 + m_2 = 2 \text{ mg} + 2 * 10^{-1} \text{ mg} = 2,2 \text{ mg}$$

Si calcola la massa di NaOH da aggiungere per ottenere una soluzione finale con pH=12.

$$pH_{\text{finale}} = 12$$

$$pOH = 14 - pH_{\text{finale}} = 14 - 12 = 2$$

$$pOH = 2 \rightarrow \text{concentrazione } [OH^-] = 10^{-2} \text{ mol/L}$$

$$V_{H_2O} = 50 \text{ mL} = 50 * 10^{-3} \text{ L}$$

$$m_{\text{oli}_{NaOH}} = \text{concentrazione } [OH^-] * V_{H_2O} = 10^{-2} \text{ mol/L} * 50 * 10^{-3} \text{ L} = 5 * 10^{-4} \text{ mol}$$

$$m_2 = m_{\text{oli}_{NaOH}} * M_{NaOH} = 5 * 10^{-4} \text{ mol} * 39,997 \text{ g/mol} = 2 * 10^{-2} \text{ g} = 20 \text{ mg}$$

$$m_{\text{tot}} = m_1 + m_2 = 2 \text{ mg} + 20 \text{ mg} = 22 \text{ mg}$$

Si calcola la massa di NaOH da aggiungere per ottenere una soluzione finale con pH=14.

$$pH_{\text{finale}} = 14$$

$$pOH = 14 - pH_{\text{finale}} = 14 - 14 = 0$$

$$pOH = 0 \rightarrow \text{concentrazione } [OH^-] = 10^0 \text{ mol/L} = 1 \text{ mol/L}$$

$$V_{H_2O} = 50 \text{ mL} = 50 * 10^{-3} \text{ L}$$

$$m_{\text{oli}_{NaOH}} = \text{concentrazione } [OH^-] * V_{H_2O} = 1 \text{ mol/L} * 50 * 10^{-3} \text{ L} = 5 * 10^{-2} \text{ mol}$$

$$m_2 = m_{\text{oli}_{NaOH}} * M_{NaOH} = 5 * 10^{-2} \text{ mol} * 39,997 \text{ g/mol} = 2 \text{ g}$$

$$m_{\text{tot}} = m_1 + m_2 = 2 \text{ mg} + 2 \text{ g} = 2002 \text{ mg}$$

Nella Tabella 2.2 sono indicati le quantità in peso e in volume dei diversi componenti utilizzati per la sintesi di ogni campione.

Nome	HNO ₃ (μL)	PEG(g)	NaOH(mg)	pH finale
GM1.8	3	2	2	8
GM1.10	3	2	2.2	10
GM1.12	3	2	22	12
GM1.14	3	2	2002	14

Tabella 2.2 Quantità di HNO₃, PEG e NaOH utilizzate per la preparazione dei campioni

2.4 Sintesi di ossidi di bismuto con diverse quantità in peso di PEG

Utilizzando lo stesso metodo di sintesi si è passati alla fase successiva preparando nuovi campioni modificando il rapporto PEG:Bi ottenendo soluzioni finali con diversi pH. I rapporti PEG:Bi considerati sono 1:2 e 1:4.

Nella Tabella 2.3 sono indicati le quantità in peso e in volume dei diversi componenti utilizzati per la sintesi di ogni campione.

Nome	HNO ₃ (μ L)	PEG(g)	NaOH(mg)	pH finale
GM2.8	3	1	2	8
GM2.10	3	1	2.2	10
GM2.12	3	1	22	12
GM2.14	3	1	2002	14
GM4.8	3	0.5	2	8
GM4.10	3	0.5	2.2	10
GM4.12	3	0.5	22	12
GM4.14	3	0.5	2002	14

Tabella 2.3 Quantità di HNO₃, PEG e NaOH utilizzate per la preparazione dei campioni

2.5 Funzionalizzazione degli elettrodi

2.5.1 Preparazione delle sospensioni di materiale

Imitando il metodo utilizzato da Gen-qing Liu e colleghi [43], sono state preparate sospensioni omogenee per tutti i materiali utilizzando l'acqua distillata come solvente. I materiali e i solventi sono stati aggiunti in modo da avere 1 mL di solvente ogni 3 mg di materiale. Per ottenere delle soluzioni omogenee, le sospensioni sono state mantenute nel bagno ad ultrasuoni per 30 minuti. In alcuni casi per ottenere una soluzione omogenea è stato necessario mantenere il campione nel bagno ad ultrasuoni per altri 30 minuti.

2.5.2 Modifica della superficie degli elettrodi

È stato utilizzato un sensore drp-110 come elettrodo serigrafato con elettrodo di lavoro in carbonio (area di 0,11 cm²), un contro elettrodo di carbonio e un elettrodo di riferimento in argento. È stata utilizzata la tecnica del drop casting per modificare la superficie degli elettrodi. Questa tecnica prevede di depositare una goccia di soluzione sul substrato. Successivamente si attende l'evaporazione del solvente che porta alla formazione di un film di rivestimento. Sono state aggiunte 5 μ L di gocce di ciascuna sospensione sulla superficie dell'elettrodo di lavoro. L'elettrodo modificato è stato lasciato a temperatura ambiente sotto una cappa chimica da laboratorio. Sono stati testati 18 diversi elettrodi modificati utilizzando i diversi compositi a base di bismuto.

2.5.3 Preparazione della soluzione elettrolitica

Il Paracetamolo 1 mM in tampone fosfato salino (PBS) a pH 7 è stato preparato aggiungendo 1,51 g di paracetamolo a 10 ml di soluzione PBS 0,1 M.

$$M_{\text{paracetamolo}} = 151,163 \text{ g/mol}$$

$$\text{Concentrazione}_{\text{paracetamolo}} = 1 \text{ mM} = 10^{-3} \text{ mol/L}$$

$$V_{\text{D}_{1\text{H}_2\text{O}}} = 10 \text{ mL} = 10^{-2} \text{ L}$$

$$\text{Peso}_{\text{paracetamolo}} = \text{Concentrazione}_{\text{paracetamolo}} * M_{\text{paracetamolo}} * V_{\text{D}_{1\text{H}_2\text{O}}} = 10^{-3} \text{ mol/L} * 151,163 \text{ g/mol} * 10^{-2} \text{ L} = 1,51 \text{ mg}$$

2.6 Spettroscopia Raman

La spettroscopia Raman è una tecnica vibrazionale che utilizza la luce diffusa per analizzare le vibrazioni molecolari [44]. Tramite lo spettro ottenuto è possibile effettuare analisi qualitative e quantitative per campioni o per una miscela di componenti non conosciuti [45]. La spettroscopia Raman è un metodo fondamentale per la caratterizzazione dei materiali grazie all'elevata quantità di informazioni che si possono ottenere dagli spettri Raman con la possibilità di analizzare piccole quantità di materiali o piccole regioni all'interno di un materiale [46]. In questo modo è possibile ottenere informazioni riguardanti la struttura, la simmetria, l'ambiente elettronico, i gruppi funzionali, i tipi di legame e le conformazioni molecolari [44].

La spettroscopia Raman ha applicazioni molto ampie nello studio dei nanomateriali impiegati nei campi chimico, biologico e medico [47]. È stata impiegata negli studi sulle biomolecole svolgendo un ruolo fondamentale in molte importanti scoperte sulla struttura e sulla funzione di alcune biomolecole. Infatti è possibile studiare la lunghezza dei legami e determinare la struttura del sito attivo degli enzimi e la distribuzione degli elettroni, monitorando i cambiamenti nella struttura proteica durante le reazioni o in risposta a cambiamenti nelle condizioni sperimentali. Inoltre, la spettroscopia Raman è stata utilizzata per la caratterizzazione di proteine e acidi nucleici, per lo studio dell'assemblaggio del capsido del virus e dei meccanismi enzimatici [46]. Come si può osservare nella figura 2.5, quando la luce passa attraverso un mezzo trasparente possono verificarsi tre tipi di fenomeni. È possibile osservare lo scattering di Rayleigh, che è lo scattering elastico della radiazione elettromagnetica nel caso in cui vengano irradiate particelle di dimensioni inferiori alla lunghezza d'onda della radiazione incidente [47]. In questo caso la frequenza della luce diffusa è uguale a quella della luce incidente ($E = E_0$) [44].

In altri casi, invece, è possibile osservare lo scattering Raman, che è lo scattering anelastico della luce che si verifica per circa $1/10^7$ della luce diffusa. Secondo l'effetto Raman quando la luce passa attraverso un mezzo trasparente, parte della radiazione diffusa subisce cambiamenti nella sua lunghezza d'onda, modificando la sua energia [47].

Pertanto, il fotone può guadagnare o perdere una certa quantità di energia.

Quando una radiazione elettromagnetica monocromatica di frequenza $h\nu_0$ irradia un campione, può essere riflessa, assorbita o diffusa in tutte le direzioni [47].

Si verifica un cambiamento negli stati vibrazionali che si manifesta con una variazione di frequenza di un valore $h\nu$ e una conseguente variazione di energia.

In questo caso si può osservare uno spostamento di Stokes o a uno spostamento anti-Stokes.

Si verifica uno spostamento di Stokes quando la molecola dell'analita assorbe energia e la

radiazione diffusa ha un'energia inferiore a quella incidente [44]. In questo caso si ha una frequenza pari a $h_{\nu_0} - h_{\nu}$.

Nel secondo caso si verifica uno spostamento anti-Stokes quando la molecola dell'analita perde energia e la radiazione diffusa ha un'energia maggiore della radiazione incidente [44]. In questo caso si ha una frequenza pari a $h_{\nu_0} + h_{\nu}$.

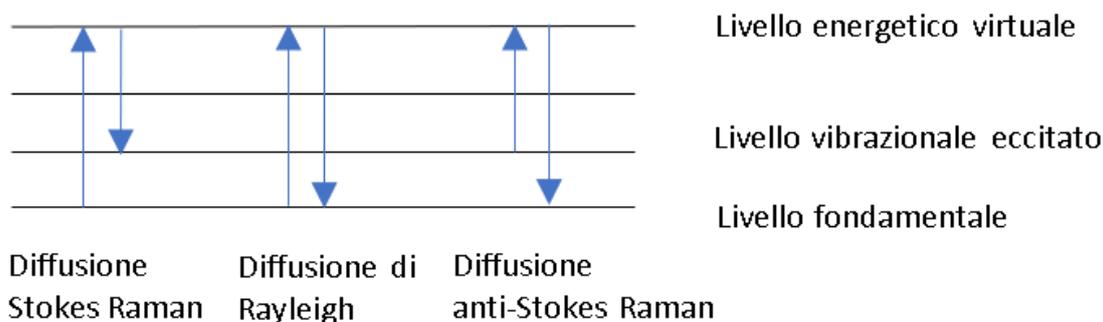


Figura 2.5 Meccanismo dello scattering Raman confrontato con il meccanismo di diffusione elastica [44]

Uno spettrometro Raman è composto da una sorgente luminosa, un monocromatore, un portacampioni e un rivelatore. Nella figura 2.6 è rappresentata la strumentazione utilizzata per un'analisi di spettroscopia Raman [47]. Le analisi Raman prevedono l'utilizzo di un raggio laser che attraversa un filtro notch e una feritoia d'ingresso. Successivamente, attraverso degli specchi che deviano la sua traiettoria, il raggio va a colpire la superficie del campione da analizzare. La radiazione diffusa viene raccolta da una lente e passa attraverso il monocromatore dotato di un dispositivo di accoppiamento di carica (CCD) che separa le differenti lunghezze d'onda del segnale. Nell'ultima fase si ha l'elaborazione del segnale tramite un sistema informatico e la rappresentazione su un display. Gli spettri Raman sono grafici di intensità diffusa in funzione della differenza di energia tra i fotoni incidenti e diffusi. La differenza di frequenza tra luce incidente e luce diffusa Raman è chiamato spostamento Raman, che è unico per le singole molecole ed è misurato in $1/\text{cm}$. I picchi Raman sono stretti e in molti casi possono essere associati alla vibrazione di un particolare legame chimico o di un singolo gruppo funzionale in una molecola [48].

Per molti decenni la spettroscopia Raman ha avuto un numero limitato di applicazioni a causa della bassissima efficienza dello scattering Raman [44]. Inoltre, le parti dello spettrometro erano costose e non adatte per l'analisi in loco. Grazie ai significativi miglioramenti a livello tecnologico è stato possibile superare i limiti della spettroscopia Raman grazie alla maggiore accessibilità a dispositivi portatili e relativamente economici [44]. È possibile ricorrere a diverse varianti della tecnica Raman in base alle diverse sorgenti laser e al metodo di rivelazione. È possibile usare diversi tipi di laser come fonte di eccitazione, come lo ione krypton (530,9 e 647,1 nm), He:Ne (632,8 nm), Nd:YAG (1064 nm e 532 nm) ioni di argon (488,0 e 514,5 nm) e laser a diodi (630 e 780 nm) [44].

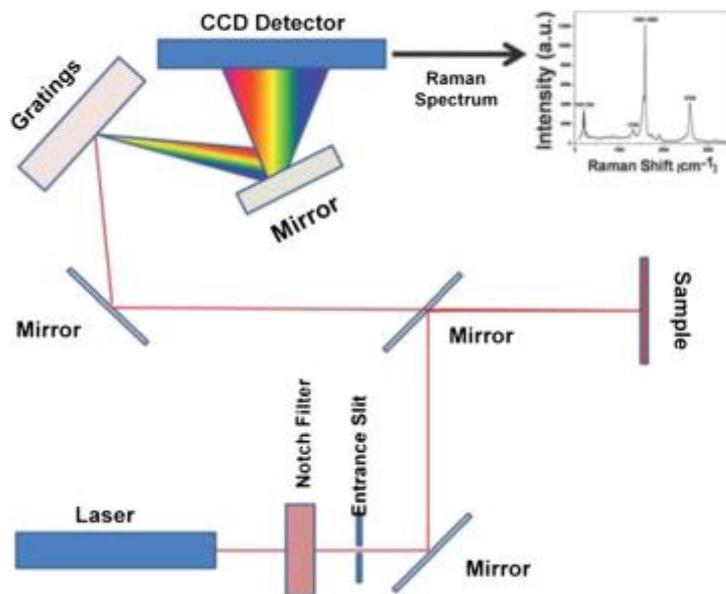


Figura 2.6 Schema dei componenti e rappresentazione del percorso della luce durante un'analisi con spettroscopia Raman [47]

Come si può osservare nella figura 2.7, esistono diverse varianti della tecnica Raman come la spettroscopia Raman amplificata da superfici (SERS), la spettroscopia a diffusione Raman coerente anti-stokes (CARS), la spettroscopia Raman potenziata dalla punta (TERS), la spettroscopia Raman stimolata, la spettroscopia Raman confocale e la spettroscopia Raman di risonanza.

Queste tecniche permettono di superare i limiti della spettroscopia Raman attraverso diversi approcci.

La tecnica SERS permette di migliorare l'intensità del segnale Raman grazie alla presenza di nuvole plasmoniche di nanostrutture di metalli nobili [45]. In questa tecnica sono presenti due diversi potenziamenti: uno chimico a corto raggio e uno elettromagnetico a lungo raggio [47]. In questo modo la tecnica SERS permette di migliorare la sensibilità di diversi ordini di grandezza. La tecnica CARS prevede l'utilizzo di tre fasci laser con tre diverse frequenze: un fascio di pompa, un fascio di Stokes e un fascio di sonda. La combinazione del fascio di pompa e di quello di Stokes permette di portare la molecola a uno stato vibrazionale eccitato. Grazie al fascio di sonda si ha l'emissione di un segnale anti-Stokes più intenso rispetto a quello della classica spettroscopia Raman [47].

Nella tecnica TERS si utilizza una punta rivestita da oro che genera un campo elettrico localizzato quando si trova a pochi nanometri dal substrato. Grazie a questa tecnica si ha un miglioramento della risoluzione spaziale arrivando fino alla nanoscala [45].

La spettroscopia Raman stimolata permette di migliorare le analisi su cellule viventi. In questa tecnica si utilizzano un fascio di pompa e un fascio di Stokes con due frequenze diverse.

Quando la differenza di energia tra i due fasci corrisponde alla frequenza di vibrazione molecolare di un legame della molecola analizzata, il legame passa ad uno stato vibrazionale eccitato e si osserva una diminuzione d'intensità nel raggio di pompa e un aumento d'intensità nel raggio di Stokes [45].

Nella spettroscopia Raman confocale si utilizza un microscopio confocale che trasmette al

rilevatore solo i fotoni generati nel campo focale. Pertanto si effettua un'analisi della profondità che permette di ottenere un'immagine con risoluzione tridimensionale [47].

La spettroscopia Raman di risonanza prevede l'utilizzo di una sorgente laser con energia pari a quella necessaria per la transizione energetica di un composto. Grazie a questa tecnica si ottiene un miglioramento della sensibilità permettendo il rilevamento di campioni a concentrazione micromolare [47].

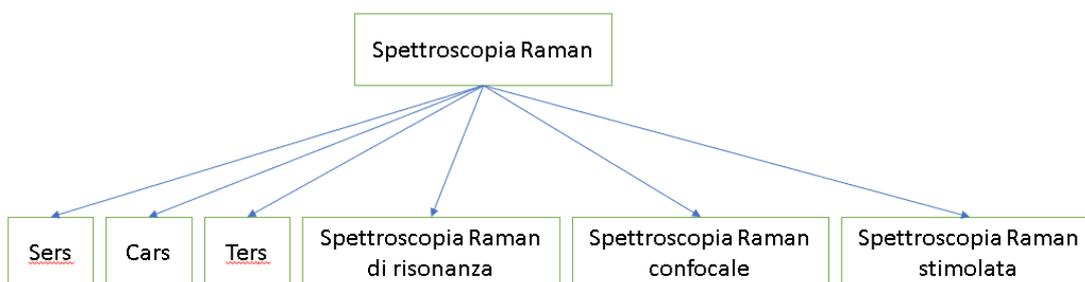


Figura 2.7 Diverse varianti della tecnica Raman utilizzate per migliorare l'efficacia delle analisi [47]

2.7 Voltammetria ciclica

La voltammetria ciclica (CV) è una delle tecniche più versatili in campo elettroanalitico per lo studio delle specie elettroattive. Grazie alla sua versatilità questa tecnica è una delle più utilizzate nei campi dell'elettrochimica, della chimica organica e inorganica e della biochimica [49]. Inoltre, la CV risulta molto vantaggiosa poiché non richiede strumentazione costosa o altamente sofisticata [49]. La voltammetria ciclica richiede un generatore di forme d'onda per produrre il segnale di eccitazione, un potenziostato per applicare questo segnale a una cella elettrochimica, un convertitore da corrente a tensione per misurare la corrente risultante e un registratore XY o un oscilloscopio per visualizzare il voltammogramma [50]. I primi tre elementi sono normalmente incorporati in un unico dispositivo elettronico [50]. Nella figura 2.8 è rappresentato il potenziostato SP-300 che è stato utilizzato per effettuare le analisi elettrochimiche



Figura 2.8 Potenziostato SP-300 utilizzato per effettuare analisi elettrochimiche e ottenere i voltammogrammi ciclici

I potenziostati moderni utilizzano una configurazione a tre elettrodi [49].

I tre elettrodi presenti sono l'elettrodo di lavoro (WE), il contro-elettrodo o ausiliario (CE) e l'elettrodo di riferimento (RE).

Per le analisi elettrochimiche è stato utilizzato un sensore serigrafato a tre elettrodi prodotto da Metrohm DropSens che viene descritto nella figura 2.9.

Il potenziostato è lo strumento utilizzato per controllare il potenziale applicato all'elettrodo di carbonio serigrafato (SPCE). Questo strumento applica una differenza di potenziale variabile fra l'elettrodo di lavoro e l'elettrodo ausiliario.

L'elettrodo di lavoro è l'elettrodo su cui avviene la semireazione redox di interesse analitico.

L'elettrodo di lavoro prodotto dalla Metrohm è realizzato in carbonio e ha un'area di $0,11 \text{ cm}^2$.

L'elettrodo ausiliario è l'elettrodo su cui avviene la seconda semireazione redox.

L'elettrodo ausiliario prodotto dalla Metrohm è realizzato in carbonio.

L'elettrodo di riferimento prodotto dalla Metrohm è realizzato in argento.

I dati sono ottenuti tramite un registratore XY e rappresentati tramite un voltammogramma grazie alla presenza dell'oscilloscopio. Generalmente si utilizzano basse velocità di scansione con valori minori di 500 mV/s .

È possibile utilizzare velocità di scansione più elevate arrivando a un valore di 20.000 V/s [50].

Tuttavia, si applicano raramente velocità di scansione superiori a 100 V/s a causa della caduta ohmica (iR) che corrisponde alla porzione della differenza di potenziale applicata necessaria per mantenere il passaggio di corrente nella cella [50]. A causa della caduta ohmica, durante la scansione del potenziale si registrano misurazioni del potenziale in ritardo rispetto al potenziale applicato. Tuttavia, questo errore per valori bassi di velocità di scansione può considerarsi trascurabile.



Figura 2.9 Un esempio del sensore serigrafato a tre elettrodi prodotto da Metrohm DropSens. Il substrato utilizzato è costituito da un materiale ceramico (3,4 x 1,0 x 0,05 cm) con elettrodo di lavoro in carbonio (area 0,11 cm²), un elettrodo di riferimento in argento e un contro-elettrodo in carbonio. In basso vengono mostrate anche le connessioni di uscita.

L'efficacia della tecnica deriva dalla sua capacità di osservare rapidamente il comportamento redox in un ampio intervallo di potenziale. La tecnica CV consiste nel variare ciclicamente il potenziale di un elettrodo, che viene immerso in una soluzione non agitata e misura la corrente risultante. Il potenziale di questo elettrodo è controllato rispetto a un elettrodo di riferimento come un elettrodo a calomelano saturo (SCE) o un elettrodo al cloruro di argento/argento (Ag/AgCl). Il potenziale di controllo applicato attraverso questi due elettrodi può essere considerato un segnale di eccitazione [50]. Come si può osservare nella figura 2.10, il segnale di eccitazione per CV è una scansione del potenziale con una forma d'onda triangolare.

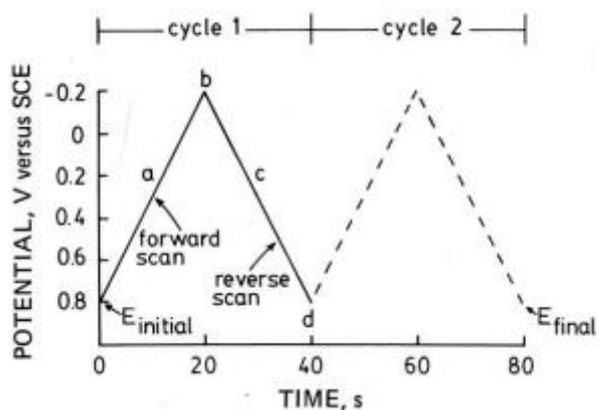


Figura 2.10 Esempio di segnale di eccitazione per la voltammetria ciclica in cui si applica un potenziale ottenendo una forma d'onda triangolare [49]

Questo segnale di eccitazione triangolare modifica il potenziale dell'elettrodo tra due valori, chiamati potenziali di commutazione. Si ottiene un voltammogramma ciclico misurando la corrente all'elettrodo di lavoro durante la scansione del potenziale. La corrente può essere considerata il segnale di risposta al segnale di eccitazione. Come si può osservare nella figura

2.11, il voltammogramma presenta la corrente sull'asse verticale e il potenziale sull'asse orizzontale. L'asse orizzontale può essere considerato come un asse temporale poiché il potenziale varia linearmente con il tempo. Partendo dal potenziale di commutazione negativo si ha un aumento di potenziale. In questo intervallo avviene un'ossidazione e si misura un picco di corrente anodica. Il valore del potenziale continua ad aumentare fino a raggiungere il valore del potenziale di commutazione positivo mentre la corrente dopo aver raggiunto il picco inizia a diminuire. La direzione della scansione viene quindi invertita e tornato al potenziale di partenza iniziale. Quindi il valore del potenziale inizia a diminuire. In questo intervallo si verifica una riduzione e si misura un picco di corrente catodica. Infine, il valore del potenziale continua a diminuire fino a raggiungere il valore iniziale che corrisponde al potenziale di commutazione negativo. Quindi nel voltammogramma si osserva il comportamento della corrente che aumenta fino a un valore di corrente di picco. A quel punto la corrente decade a causa dell'esaurimento delle specie elettroattive vicino all'elettrodo. I parametri importanti di un voltammogramma ciclico sono: la corrente di picco anodica (i_a), la corrente di picco catodica (i_c), il potenziale di picco anodico (E_a) e il potenziale di picco catodico (E_c).

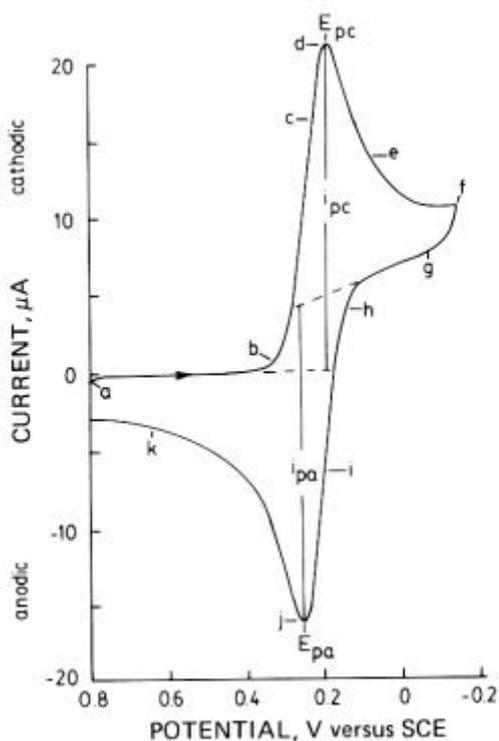


Figura 2.11 Esempio di voltammogramma ciclico in cui vengono indicati i parametri fondamentali per le analisi elettrochimiche [49]

Le correnti di picco e i potenziali di picco sono importanti per determinare la costante di velocità delle reazioni di trasferimento elettronico (k), il coefficiente di trasferimento elettronico (α), il numero di trasferimento elettronico (n) e il coefficiente di diffusione (D). La costante di velocità delle reazioni di trasferimento elettronico (k) è una misura della velocità con cui si verifica il trasferimento di elettroni in un sistema elettrochimico. Il coefficiente di trasferimento elettronico (α) è una misura della simmetria della barriera energetica di una reazione redox. Il numero di trasferimento elettronico (n) corrisponde al numero di elettroni coinvolti nel

meccanismo redox del Paracetamolo. Il coefficiente di diffusione (D) è un parametro che descrive la relazione tra un flusso di massa che attraversa una barriera e la variazione di concentrazione di massa. È possibile determinare il potenziale redox (E0) e la separazione dei picchi (ΔE_p) tramite le seguenti formule:

$$E_0 = \frac{(E_{pa} + E_{pc})}{2} \quad (2.1)$$

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} \quad (2.2)$$

È possibile effettuare misurazioni modificando la velocità di scansione. Aumentando la velocità di scansione, si osserva che sono presenti picchi di corrente a valori maggiori. Inoltre, il valore della corrente raggiunge il suo massimo ad un valore di potenziale maggiore. Pertanto, anche la separazione dei picchi aumenta. A basse velocità di scansione la separazione dei picchi tende a 0 perché il centro redox è adsorbito sull'elettrodo e la diffusione non gioca un ruolo fondamentale [51].

Nel 1979 E. Laviron pubblicò il metodo matematico per l'utilizzo della voltammetria ciclica per determinare la costante cinetica delle specie adsorbite ad un elettrodo [52]. Il metodo si basa sull'approccio di Butler Volmer [50] e gli unici dati sperimentali richiesti per utilizzare questo metodo sono i sovrapotenziali. Si definisce il sovrapotenziale (η) come differenza tra il potenziale nel punto di picco e il potenziale standard:

$$\eta = E_{pa} - E^\circ \quad (2.3)$$

Il potenziale standard è il potenziale misurato riferito all'elettrodo a idrogeno misurato in condizioni standard con temperatura di 298 K, pressione di 100 kPa e concentrazione di reagenti e prodotti pari a 1.

Il metodo Laviron è utilizzato per determinare la costante cinetica di trasferimento elettronico (k) ma è soggetto a una serie di vincoli che ne limitano l'applicazione [50]. Idealmente, si dovrebbe avere $\alpha = 0,5$ per tutti i sovrapotenziali in modo da avere un trasferimento di carica relativo alla reazione di ossidazione simmetrico rispetto a quella catodica. Tuttavia, in molti casi α si discosta da 0,5. La determinazione di α è fondamentale per calcolare la costante cinetica di trasferimento elettronica (k). Come descritto da Laviron, se il valore α ha un valore che tende a 0,5, il valore ΔE_p non è strettamente dipendente dal valore α ed è possibile calcolare la costante di cinetica di trasferimento elettronico (k) con un basso errore relativo (6%) [52]. Per determinare α , è necessario rappresentare su un grafico il potenziale di picco E_p rispetto al logaritmo naturale della velocità di scansione [52]. Pertanto, si devono rappresentare E_{pa} ed E_{pc} separatamente per ottenere due curve. Dopo aver eseguito diverse misurazioni modificando la velocità di scansione è possibile tracciare un grafico per valutare la relazione tra la velocità di scansione e il potenziale a cui si raggiungono i picchi di corrente anodico e catodico. Si ottengono due rette che associano un valore di velocità di scansione a un valore di potenziale in cui si ha il picco della corrente anodica e catodica e che hanno equazione:

$$E_{pa} = \left(\frac{2.3RT}{(1 - \alpha)nF} \right) \text{Log } v + \text{costante} \quad (2.4)$$

$$E_{pc} = \left(-\frac{2.3RT}{\alpha nF} \right) \text{Log } v + \text{costante} \quad (2.5)$$

R è la costante universale dei gas, di valore pari a 8,314462618 J/ (mol * K).

T rappresenta la temperatura assoluta misurata in gradi Kelvin.

α rappresenta il coefficiente di trasferimento elettronico.

n rappresenta il numero di trasferimento elettronico.

F è la costante di Faraday che corrisponde a 96485 C/mol

v indica la velocità di scansione impostata nelle analisi.

Grazie al valore della pendenza delle rette è possibile calcolare il coefficiente di trasferimento elettronico e il numero di elettroni scambiati. I due valori delle pendenze corrispondono a:

$$pendenza_{retta_correnti_anodiche} = \frac{2.3RT}{(1 - \alpha) * n * F} \quad (2.6)$$

$$pendenza_{retta_correnti_catodiche} = \frac{-2.3RT}{\alpha * n * F} \quad (2.7)$$

Utilizzando queste due equazioni come con un sistema di due equazioni a due incognite è possibile ricavare i valori α e n.

Secondo l'equazione di Laviron per una reazione elettrochimica quasi reversibile quando $n \times \Delta E > 200$ mV, la costante di velocità di trasferimento elettronico (k) può essere calcolata con la seguente equazione [53]:

$$\log k = \alpha * \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) * \log(\alpha) - \log\left(\frac{RT}{n * F * v}\right) - \alpha * (1 - \alpha) * n * F * \frac{\Delta E_p}{2.3 * R * T} \quad (2.8)$$

Un lento trasferimento di elettroni sulla superficie dell'elettrodo causa un aumento del valore della separazione dei picchi. Considerando la seconda legge di Fick (2.9), è stato realizzato un modello matematico per calcolare la corrente di picco per un sistema reversibile.

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(x, t)}{\partial x^2} \quad (2.9)$$

C(x,t) è la concentrazione a una distanza x dalla superficie dell'elettrodo al tempo t.

D è il coefficiente di diffusione.

Si considera una reazione redox di questo tipo:



O è la specie presente inizialmente in soluzione.

n indica il numero di elettroni.

R è la specie ridotta che si forma sulla superficie dell'elettrodo.

Inoltre, è necessario considerare le seguenti condizioni al contorno:

1. A una certa distanza x che tende ad infinito la concentrazione di O e di R è costante e corrisponde a quella nella soluzione;
2. La concentrazione di O e R varia a seconda del potenziale

Si considera l'equazione di Nernst (2.11) per calcolare il potenziale, considerando le attività uguali alle concentrazioni per soluzioni diluite [54]:

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{C_p^{vp}}{C_R^{vr}} \right) \quad (2.11)$$

E è il potenziale di riduzione in condizioni non standard che si vuole calcolare.

E° è invece il potenziale standard, a 25° e concentrazione pari a 1 M degli elettroliti.

R è la costante universale dei gas, di valore pari a 8,314462618 J/(mol * K).

T rappresenta la temperatura assoluta misurata in gradi Kelvin.

n rappresenta il numero degli elettroni che vengono scambiati.

F è la costante di Faraday che corrisponde a 96485 C/mol.

C_p è la concentrazione dei prodotti della reazione.

C_R è la concentrazione dei reagenti della reazione.

v_p è il numero delle molecole dei prodotti.

v_r è il numero delle molecole dei reagenti.

La corrente di picco è ottenuta dall'equazione di Randles-Sevcik [55]:

$$I_p = 0,4463 * n * F * A * C * \left(\frac{nFDv}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (2.12)$$

o per una soluzione alla temperatura di 298,15 K:

$$I_p = 2,686 * 10^5 * n^{\frac{3}{2}} * A * D^{\frac{1}{2}} * C * v^{\frac{1}{2}} \quad (2.13)$$

I_p è la corrente di picco (A).

n è il numero di elettroni scambiati.

A è area dell'elettrodo (cm²).

D è il coefficiente di diffusione (cm²/s).

C è concentrazione (mol/cm³).

v è la velocità di scansione (V/s).

Di conseguenza, I_p aumenta con la concentrazione ed è direttamente proporzionale a $v^{1/2}$. Il rapporto con la concentrazione è particolarmente importante nelle applicazioni analitiche. I valori della corrente anodica e di quella catodica dovrebbero essere identici per una semplice coppia reversibile con uno scambio elettronico veloce. Tuttavia, il rapporto tra le correnti di picco può essere significativamente influenzato dalle reazioni chimiche che si verificano sugli elettrodi. L'irreversibilità elettrochimica è causata dallo scambio lento di elettroni delle specie redox con l'elettrodo di lavoro [49].

Capitolo 3

Risultati e discussione

3.1 Misurazioni elettrochimiche

3.1.1 Misurazioni effettuate con i campioni realizzati con diverse quantità di NaOH

Le prestazioni elettrochimiche degli elettrodi di carbonio serigrafati modificati (SPCE) sono state studiate mediante esperimenti di voltammetria ciclica (CV) per rilevare Paracetamolo (PCM) 1 mM in PBS 0,1 M a pH 7 utilizzando lo strumento SP-300 in modalità potenziostatica. Si esegue l'esperimento di voltammetria ciclica depositando 100 μ L della soluzione elettrolitica sulla superficie degli elettrodi di carbonio serigrafati.

Si imposta un potenziale applicato tra l'elettrodo di riferimento e l'elettrodo di lavoro che varia tra -0,4 V e 0,8 V. Si imposta una velocità di scansione (scanrate) di 100 mV/s e si misura la corrente relativa all'elettrodo di lavoro.

Il grafico 3.1 mostra i voltammogrammi ciclici di un elettrodo di carbonio serigrafato non modificato utilizzando una soluzione elettrolitica di PBS 0.1 M a pH 7 e un'altra soluzione con Paracetamolo 1 mM in PBS 0,1 M a pH 7. L'elettrodo non modificato viene indicato con il nome "bare" nei successivi grafici e nelle successive tabelle.

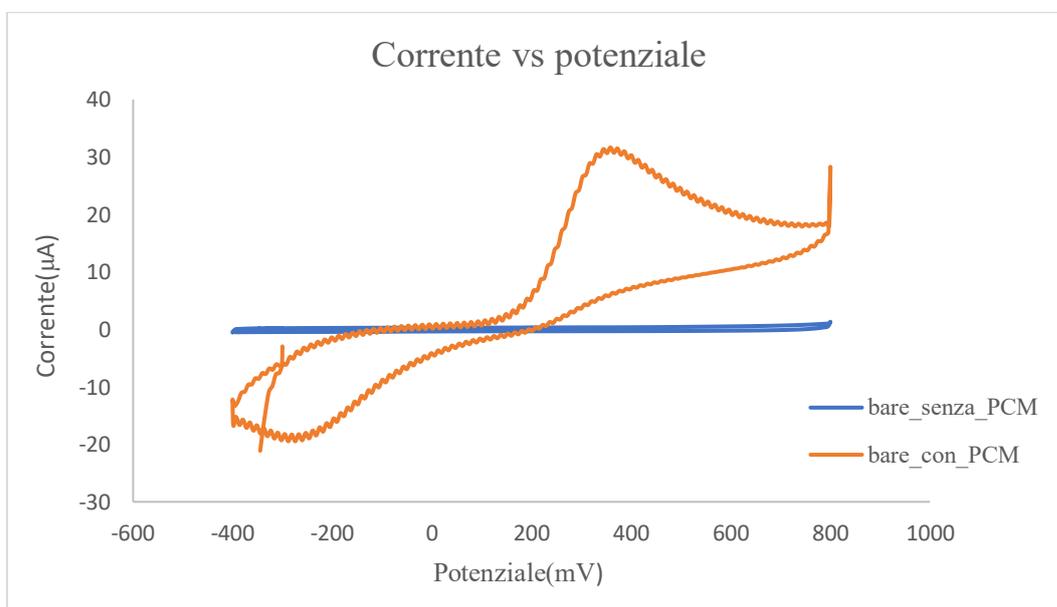


Grafico 3.1 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato "bare" utilizzando una soluzione con PCM e una senza PCM

Nel grafico 3.1 non si osservano picchi con la scansione della tensione quando non è presente un analita nella soluzione tampone (linea blu) mentre sono presenti picchi chiari con la scansione del potenziale in presenza di un analita nella soluzione tampone (linea arancione). I due picchi presenti indicano lo svolgimento di una reazione di ossidazione e di una reazione di riduzione. Si osserva una corrente di picco di ossidazione di $31,7 \pm 0,2 \mu\text{A}$ al potenziale di picco $340 \pm 8 \text{ mV}$ misurato come valore medio di diverse misurazioni. Le incertezze sulle misure corrispondono all'errore standard che si calcola con la seguente formula:

$$\text{Errore standard} = \frac{S}{\left(n^{\frac{1}{2}}\right)} \quad (3.1)$$

S corrisponde alla deviazione standard delle misure ottenute dal voltammogramma ciclico. n corrisponde al numero di misure effettuate.

Le correnti redox sono dovute alla presenza di Paracetamolo nella soluzione tampone PBS con cui si ottiene un'ossidazione con una scansione del potenziale anodico e una riduzione con una scansione del potenziale catodico.

Il meccanismo di ossidazione del Paracetamolo è un processo che coinvolge due elettroni e due protoni come mostrato nel capitolo 1. Si effettua voltammetria ciclica per gli elettrodi modificati con la deposizione di $100 \mu\text{l}$ di soluzione con Paracetamolo 1 mM in PBS $0,1 \text{ M}$ per i diversi campioni di ossidi di bismuto preparati.

Nel grafico 3.2 sono rappresentati i voltammogrammi ciclici dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati con diverse quantità di NaOH.

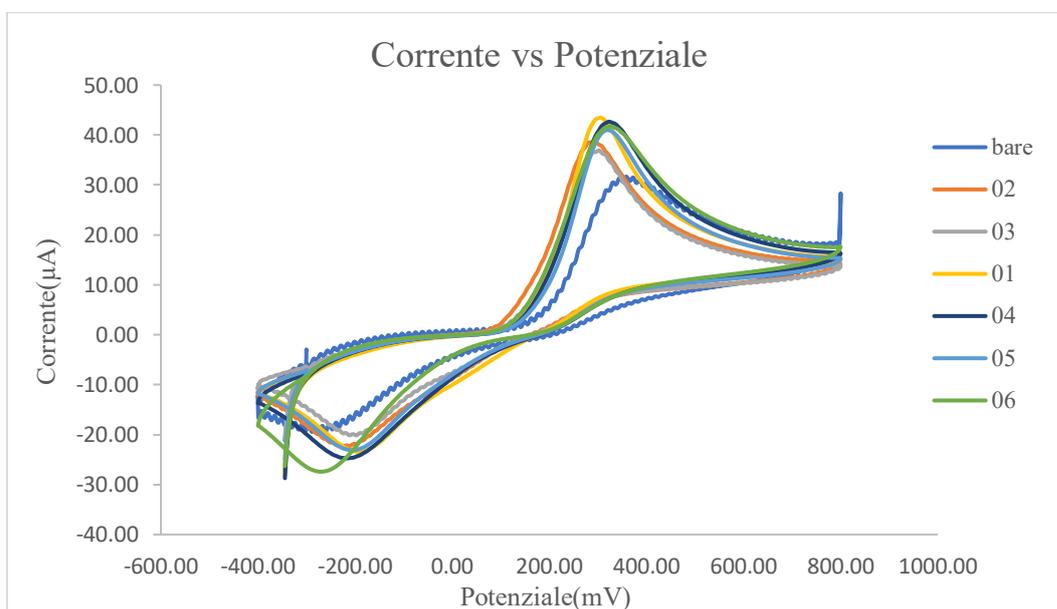


Grafico 3.2 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

Si confrontano i risultati di questi elettrodi modificati con le misurazioni dell'elettrodo non modificato e vengono riportati nella tabella 3.1.

	Potenziale(mV)	Corrente(μ A)
Bare	340 \pm 8	31,7 \pm 0,2
02(1 g NaOH)	276 \pm 5	38,7 \pm 0,2
03(1,5 g NaOH)	300 \pm 8	36,8 \pm 0,1
01(2 g NaOH)	287 \pm 6	43,9 \pm 0,7
04(4 g NaOH)	316 \pm 4	42,6 \pm 0,3
05(6 g NaOH)	318 \pm 3	40,8 \pm 0,2
06(8 g NaOH)	324 \pm 5	41,8 \pm 0,2

Tabella 3.1 Picco della corrente di ossidazione e potenziale corrispondente dell'elettrodo non modificato "bare" e degli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

Per ogni campione si ottiene un miglioramento del picco di corrente di ossidazione e si può osservare uno spostamento negativo nel potenziale di picco rispetto all'elettrodo non modificato. Il PEG viene usato come elemento tensioattivo con l'obiettivo di fornire stabilità alle particelle e aumentare la superficie attiva delle nanoparticelle. Ogni campione utilizzato per modificare la superficie dell'elettrodo ha ottenuto l'effetto di aumentare il valore di picco della corrente di ossidazione. Si può osservare che con l'aumento di NaOH utilizzato per la preparazione dei campioni si ottiene un aumento del picco della corrente di ossidazione. Il campione 01 presenta il valore di picco della corrente di ossidazione maggiore (43,9 \pm 0,7 μ A) e uno spostamento negativo più elevato (287 \pm 6 mV) del potenziale rispetto agli altri campioni. Tuttavia, è possibile osservare che continuando ad aumentare la quantità di NaOH per la preparazione dei campioni la corrente di picco non aumenta ma continua a mantenersi a valori superiori ai 40 μ A. L'aumento della corrente di picco potrebbe essere legato al valore del pH. Infatti, aumentando la quantità di NaOH nel processo di preparazione si ottengono soluzioni con pH basici.

Oltre i 2 g di NaOH potrebbe non esserci un aumento del valore di picco della corrente poiché potrebbe essere stato già raggiunto il valore massimo del pH pari a 14.

Successivamente per studiare il comportamento elettrochimico degli elettrodi in carbonio serigrafato è stata eseguita la voltammetria ciclica variando la velocità di scansione. Le misurazioni sono state eseguite partendo da una velocità di scansione di 50 mV/s e aumentando di 50 mV/s nelle successive misurazioni fino ad arrivare a 300 mV/s. Il grafico 3.3 mostra il voltammogramma ciclico con la velocità di scansione e le posizioni del picco redox con $\ln(v)$ misurate con l'elettrodo non modificato.

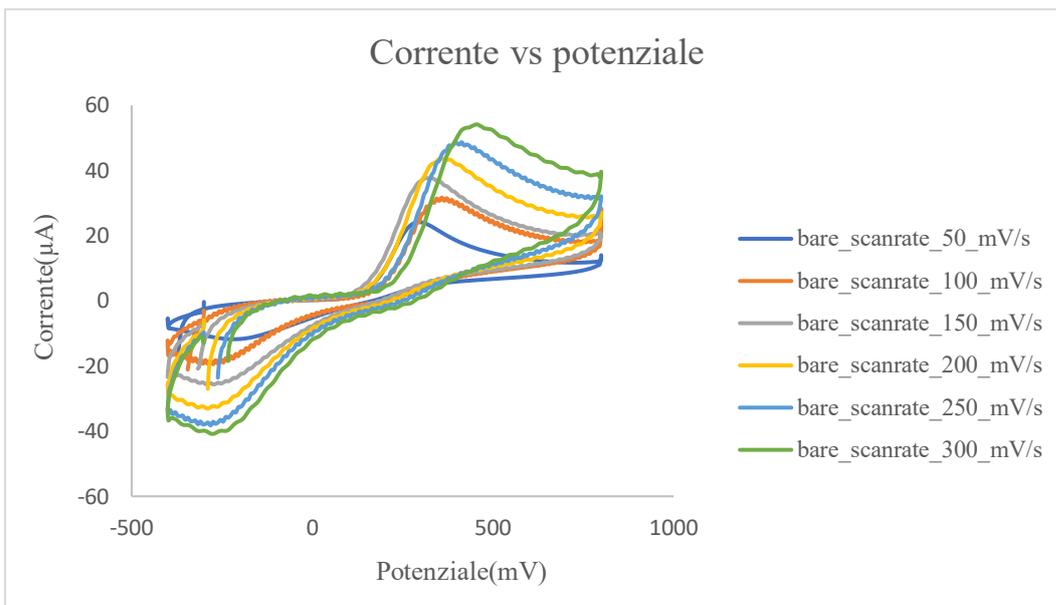


Grafico 3.3 Voltammogramma ciclico per l'elettrodo non modificato "bare" con velocità di scansione variabile tra 50 mV/s e 300 mV/s a passi di 50 mV/s

Tramite i voltammogrammi ciclici ottenuti variando i valori della velocità di scansione, si può osservare che le correnti di picco aumentano linearmente con l'aumento della velocità di scansione come mostrato nel grafico 3.4.

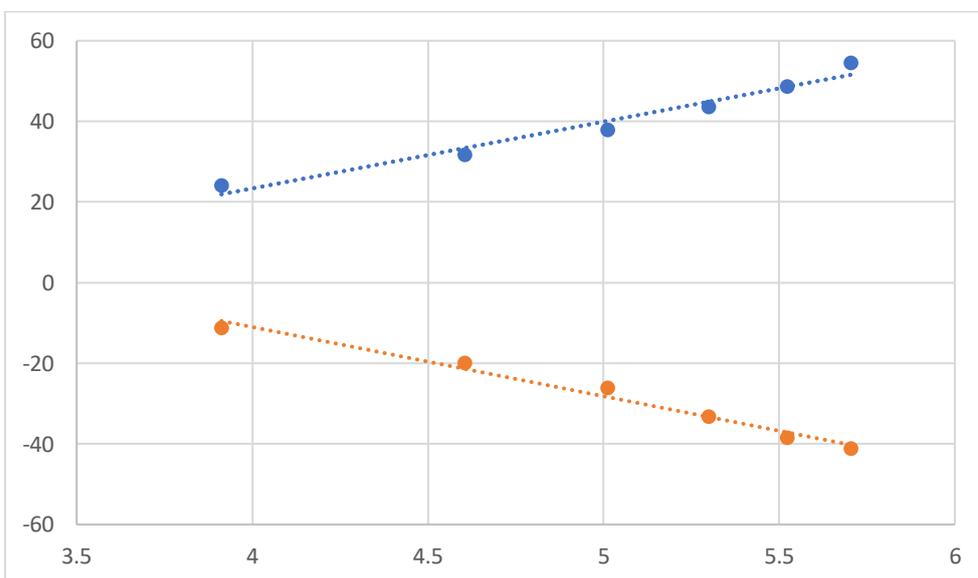


Grafico 3.4 Rette che mettono in relazione la corrente anodica (linea blu) e la corrente catodica (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo non modificato "bare"

Nella tabella 3.2 sono riportate le equazioni delle rette che mettono in relazione i picchi delle correnti di ossidazione e di riduzione con il logaritmo naturale della velocità di scansione per

l'elettrodo non modificato e per quelli modificati con i diversi campioni. Inoltre, viene indicato per ogni retta il suo corrispondente coefficiente di regressione R^2 .

	I_{pa} (μA)	R^2	I_{pc} (μA)	R^2
Bare	$16,552*\ln(v)-42,834$	0,964	$-17,168*\ln(v)+57,641$	0,981
02(1 g NaOH)	$10,129*\ln(v)-11,308$	0,882	$-15,606*\ln(v)+49,263$	0,994
03(1,5 g NaOH)	$10,608*\ln(v)-14,833$	0,946	$-15,052*\ln(v)+47,978$	0,989
01(2 g NaOH)	$14,051*\ln(v)-23,866$	0,896	$-21,472*\ln(v)+74,019$	0,964
04(4 g NaOH)	$13,812*\ln(v)-26,639$	0,908	$-15,988*\ln(v)+51,077$	0,967
05(6 g NaOH)	$9,756*\ln(v)-10,189$	0,812	$-13,571*\ln(v)+41,162$	0,983
06(8 g NaOH)	$8,281*\ln(v)-4,148$	0,649	$-11,264*\ln(v)+29,884$	0,908

Tabella 3.2 Equazioni delle rette che associano i picchi delle correnti al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

Le posizioni dei picchi si spostano con la velocità di scansione e il rapporto tra i picchi di correnti di ossidazione e riduzione non è uguale a 1.

Pertanto, è possibile concludere che i sistemi elettrochimici sono sistemi quasi reversibili a diffusione libera.

Come si può osservare nel grafico 3.5, anche le posizioni dei picchi anodici e catodici variano linearmente rispetto al logaritmo naturale della velocità di scansione.

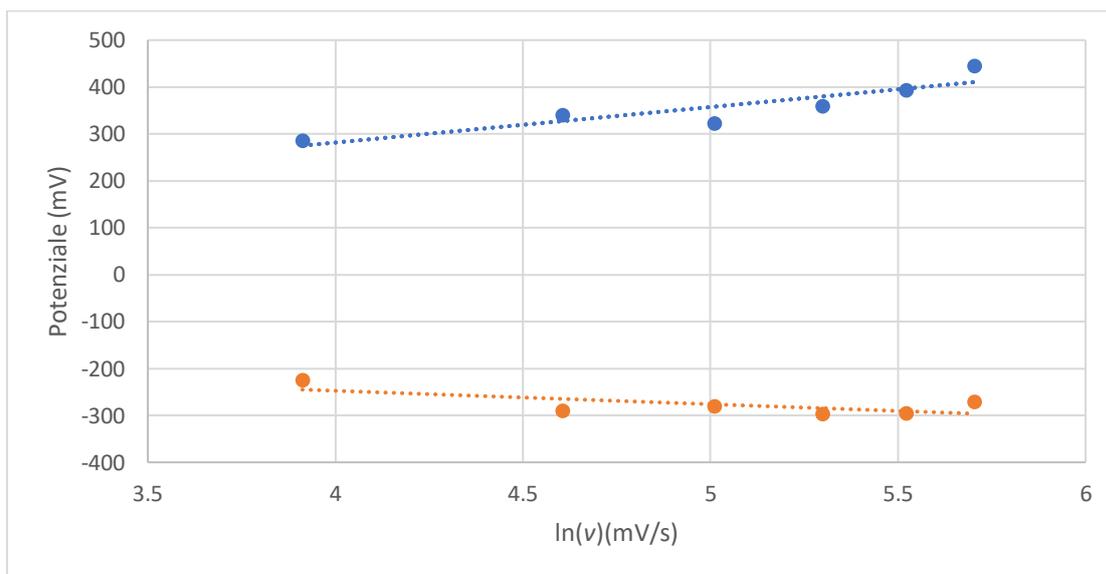


Grafico 3.5 Rette che mettono in relazione il potenziale anodico (linea blu) e il potenziale catodico (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo non modificato "bare"

Si individuano le posizioni dei picchi anodici e catodici per le diverse velocità di scansione per ciascun elettrodo e si rappresentano su un grafico rispetto al logaritmo naturale (\ln) della velocità di scansione. Le equazioni del potenziale di picco anodico e catodico in relazione con $\ln(v)$ e il rispettivo coefficiente di regressione (R^2) per ciascun elettrodo sono mostrate nella tabella 3.3.

	E_{pa} (mV)	R^2	E_{pc} (mV)	R^2
Bare	$75,645 \cdot \ln(v) - 20,965$	0,802	$-28,631 \cdot \ln(v) - 133,042$	0,489
02(1 g NaOH)	$80,751 \cdot \ln(v) - 84,475$	0,924	$-88,002 \cdot \ln(v) + 173,151$	0,966
03(1,5 g NaOH)	$73,212 \cdot \ln(v) - 46,001$	0,939	$-85,529 \cdot \ln(v) + 172,731$	0,963
01(2 g NaOH)	$61,905 \cdot \ln(v) + 1,781$	0,983	$-105,394 \cdot \ln(v) + 303,243$	0,875
04(4 g NaOH)	$60,325 \cdot \ln(v) + 22,519$	0,898	$-57,386 \cdot \ln(v) + 40,468$	0,974
05(6 g NaOH)	$69,062 \cdot \ln(v) + 7,512$	0,943	$-65,975 \cdot \ln(v) + 67,595$	0,881
06(8 g NaOH)	$88,757 \cdot \ln(v) - 73,147$	0,938	$-57,071 \cdot \ln(v) + 11,302$	0,987

Tabella 3.3 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

Dalle pendenze delle equazioni del potenziale relativo al picco di corrente rispetto al logaritmo naturale (\ln) della velocità di scansione, è possibile calcolare il coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) utilizzando le equazioni 2.6 e 2.7. Tutti i valori calcolati di α e n sono riportati nella tabella 3.4.

	α	n
Bare	$0,73 \pm 0,02$	$2,86 \pm 0,07$
02(1 g NaOH)	$0,48 \pm 0,01$	$1,41 \pm 0,02$
03(1,5 g NaOH)	$0,46 \pm 0,01$	$1,51 \pm 0,04$
01(2 g NaOH)	$0,37 \pm 0,01$	$1,53 \pm 0,03$
04(4 g NaOH)	$0,51 \pm 0,01$	$2,02 \pm 0,03$
05(6 g NaOH)	$0,51 \pm 0,01$	$1,76 \pm 0,02$
06(8 g NaOH)	$0,61 \pm 0,01$	$1,71 \pm 0,02$

Tabella 3.4 Elenco dei valori del coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

Il valore α dell'elettrodo non modificato risulta essere quello più elevato con un valore pari a $0,73 \pm 0,02$. Gli altri elettrodi, invece, presentano valori di α minori che tendono ad avvicinarsi al valore ideale del coefficiente di trasferimento elettronico ($\alpha=0,5$).

Il valore n risulta essere maggiore nell'elettrodo non modificato con un valore pari a $2,86 \pm 0,07$. Per gli altri elettrodi il valore n risulta essere minore. Inoltre, i valori n dei campioni realizzati con una maggiore quantità di NaOH tendono ad avvicinarsi al valore 2 previsto in caso di ossidazione del Paracetamolo.

La separazione picco-picco (ΔE_p) a 100 mV/s con il relativo errore viene riportata nella tabella 3.5 ed è calcolata come differenza tra i valori precedentemente ottenuti.

Inoltre vengono riportate in tabella 3.5 anche le equazioni delle rette ottenute tramite le rette indicate in precedenza per l'elettrodo non modificato e per quelli modificati.

	$\Delta E_p(\text{mV})$	$\Delta E_p(\text{mV})$
Bare	630,5±3,3	104,276*ln(v) +112,035
02(1 g NaOH)	494,0±8,8	168,753*ln(v) -257,625
03(1,5 g NaOH)	506±11	158,739*ln(v)-218,731
01(2 g NaOH)	452,0±3,2	167,295*ln(v)-301,420
04(4 g NaOH)	540±11	117,711*ln(v)-17,949
05(6 g NaOH)	525,3±6,9	135,067*ln(v)-60,083
06(8 g NaOH)	572±10	145,827*ln(v)-84,449

Tabella 3.5 Valori di separazione picco-picco con frequenza di scansione pari a 100 mV/s e retta che associa la separazione picco-picco al logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

Si può osservare che la separazione da picco a picco tende a crescere linearmente con ln(v) come mostrato nella tabella 3.5.

L'elettrodo non modificato presenta un valore di separazione di picco pari a 630,5±3,3 mV.

Tutti gli elettrodi modificati presentano valori di separazione picco-picco inferiori rispetto all'elettrodo non modificato. Questo è dovuto alla presenza del PEG che, come evidenziato in precedenza, causa uno spostamento negativo del potenziale relativo ai picchi di corrente.

L'elettrodo modificato con il campione 01 presenta il valore di separazione picco-picco più basso rispetto agli altri elettrodi. Ciò significa che per gli elettrodi modificati è più probabile avere una reazione reversibile. Inoltre, questi elettrodi presentano una minore resistenza rispetto all'elettrodo non modificato poiché ΔE_p è direttamente correlata alla cinetica di trasferimento di elettroni. Infatti, gli elettrodi con una minore separazione picco-picco possono fornire reazioni di trasferimento di elettroni più veloci rispetto ad altri elettrodi. Pertanto, i valori di ΔE_p possono essere considerati come parametri cinetici approssimativi e possono essere utilizzati per confrontare le prestazioni degli elettrodi.

Dal modello di Laviron discusso nel capitolo 2, si può osservare che $n\Delta E_p$ è maggiore di 200 mV e che è possibile applicare la prima condizione del modello di Laviron per calcolare la costante di velocità (k). La costante di velocità cinetica (k) è stata calcolata utilizzando l'equazione 2.8 per tutti gli elettrodi considerando una velocità di scansione di 100 mV/s. I valori ottenuti sono elencati nella tabella 3.6 con le relative deviazioni standard. Anche il coefficiente di diffusione (D) è stato calcolato utilizzando l'equazione 2.12 a una velocità di scansione di 100 mV/s considerando l'area geometrica (A) dell'elettrodo di lavoro pari a 0,11 cm². I coefficienti di diffusione per l'elettrodo non modificato e per gli elettrodi modificati alla velocità di scansione di 100 mV/s sono riportati nella tabella 3.6.

Di seguito viene riportata la tabella 3.6 in cui sono indicati i valori k e D calcolati per i diversi elettrodi.

	k(ms ⁻¹)	D(cm ² /s)
Bare	0,165±0,005	1,45*10 ⁻⁶
02(1 g NaOH)	0,275±0,009	2,16*10 ⁻⁶
03(1,5 g NaOH)	0,23±0,01	1,95*10 ⁻⁶
01(2 g NaOH)	1,00±0,03	2,78*10 ⁻⁶
04(4 g NaOH)	0,112±0,004	2,62*10 ⁻⁶
05(6 g NaOH)	0,149±0,004	2,40*10 ⁻⁶
06(8 g NaOH)	0,094±0,003	2,52*10 ⁻⁶

Tabella 3.6 Valori della costante di velocità cinetica (k) e del coefficiente di diffusione (D) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni sintetizzati con diverse quantità di NaOH: bare è l'elettrodo non modificato, il campione 02 è stato realizzato con 1 g di NaOH, il campione 03 è stato realizzato con 1,5 g di NaOH, il campione 01 è stato realizzato con 2 g di NaOH, il campione 04 è stato realizzato con 4 g di NaOH, il campione 05 è stato realizzato con 6 g di NaOH e il campione 06 è stato realizzato con 8 g di NaOH

I campioni realizzati con quantità di NaOH inferiori a 2 g presentano un coefficiente k maggiore rispetto all'elettrodo non modificato. Tuttavia, nei campioni realizzati con quantità di NaOH superiori ai 2 g il coefficiente k risulta essere minore rispetto al valore misurato per l'elettrodo non modificato.

Anche se α è inferiore, l'elettrodo modificato con il campione 01 ha un valore k più elevato (1,00±0,03 ms⁻¹) a causa del basso ΔE_p come discusso in precedenza. Quindi tramite questo campione è possibile ottenere una reazione di trasferimento di elettroni più veloce rispetto ad altri elettrodi. Inoltre, presenta anche un basso valore di differenza di potenziale rispetto agli altri elettrodi.

Tutti gli elettrodi modificati hanno coefficienti di diffusione più elevati rispetto all'elettrodo non modificato che ha un valore D di $1,44 \times 10^{-6}$ cm²/s. L'elettrodo modificato con il campione 01 ha un coefficiente di diffusione più elevato di $2,78 \times 10^{-6}$ cm²/s rispetto ad altri elettrodi.

Dopo il successo dell'esperimento con gli elettrodi modificati si prosegue con diverse analisi valutando l'influenza del pH e del PEG.

3.1.2 Misurazioni effettuate con i campioni realizzati con rapporto PEG:Bi=1:1 e pH variabile

Si esegue l'esperimento di voltammetria ciclica depositando 100 μ L della soluzione elettrolitica sulla superficie degli elettrodi di carbonio serigrafati. Si imposta un potenziale applicato tra l'elettrodo di riferimento e l'elettrodo di lavoro che varia tra -0,4 V e 0,8 V. Si imposta una velocità di scansione di 100 mV/s e si misura la corrente relativa all'elettrodo di lavoro.

Si effettua voltammetria ciclica per gli elettrodi modificati con la deposizione di 100 μ l di soluzione con Paracetamolo 1mM in PBS 0,1 M per i diversi campioni di ossidi di bismuto preparati. Nel grafico 3.6 sono rappresentati i voltammogrammi ciclici dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati con rapporto PEG/Bi=1:1 e pH variabile tra 8 e 14.

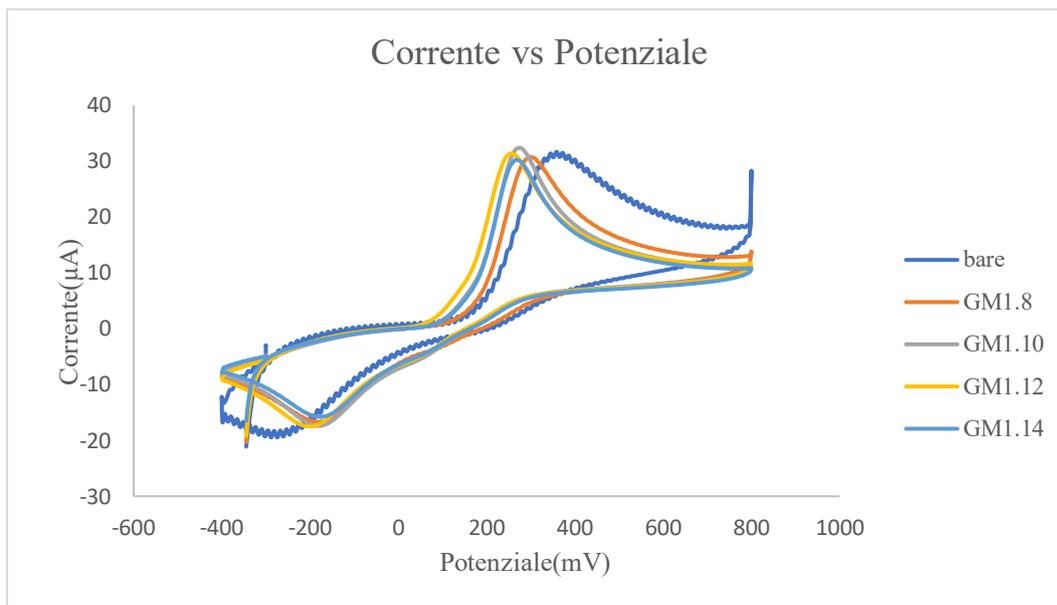


Grafico 3.6 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14

Si confrontano i risultati di questi elettrodi modificati con le misurazioni dell'elettrodo non modificato e vengono riportati nella tabella 3.7.

	Potenziale(mV)	Corrente(µA)
Bare	340± 8	31,7±0,2
GM1.8(PH=8)	297±4	30,7±0,1
GM1.10(PH=10)	267±7	32,5±0,3
GM1.12(PH=12)	267±5	31,0±0,3
GM1.14(PH=14)	273±5	30,4±0,1

Tabella 3.7 Picco della corrente di ossidazione e potenziale corrispondente dell'elettrodo non modificato "bare" e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14

Anche in questo caso si può osservare uno spostamento negativo del potenziale relativo al picco di corrente di ossidazione. Tuttavia, gli elettrodi modificati con i campioni preparati presentano bassi valori di corrente di picco di ossidazione. Infatti, solo l'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=10 presenta un valore di corrente di picco (32,5±0,3 µA) superiore rispetto al valore dell'elettrodo non modificato.

Successivamente, per studiare il comportamento elettrochimico degli elettrodi in carbonio serigrafato, è stata eseguita la voltammetria ciclica variando la velocità di scansione. Le misurazioni sono state eseguite partendo da una velocità di scansione di 50 mV/s e aumentando di 50 mV/s nelle successive misurazioni fino ad arrivare a 300 mV/s. Come si può osservare nel grafico 3.7, le posizioni delle correnti anodiche e catodiche variano linearmente rispetto al logaritmo naturale della velocità di scansione.

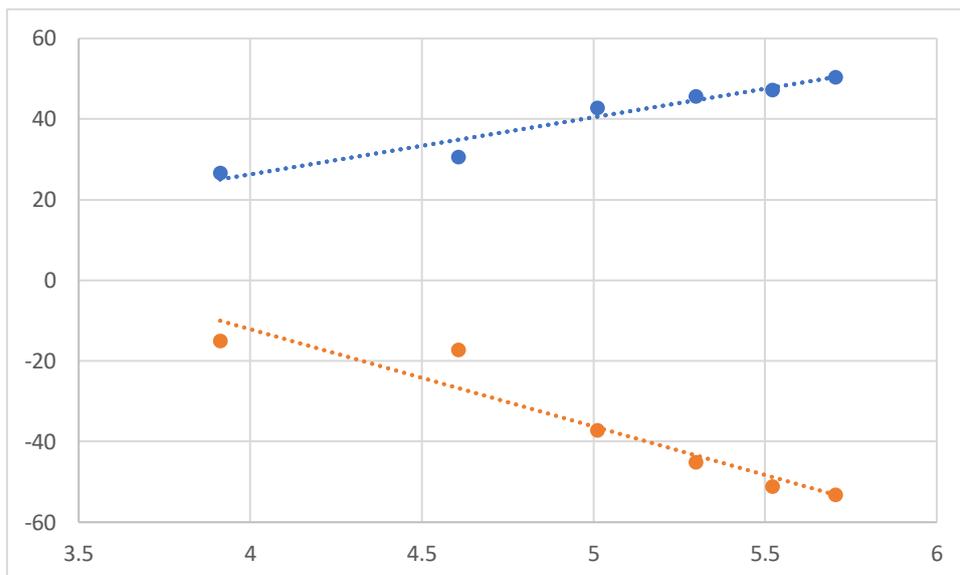


Grafico 3.7 Rette che mettono in relazione la corrente anodica (linea blu) e la corrente catodica (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione a pH=8 e rapporto PEG:Bi=1:1

Nella tabella 3.8 sono riportate le equazioni delle rette che mettono in relazione i picchi delle correnti di ossidazione e di riduzione con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo non modificato e per quelli modificati con i diversi campioni. Inoltre, viene indicato per ogni retta il suo corrispondente coefficiente di regressione R^2 .

	I_{pa} (μA)	R^2	I_{pc} (μA)	R^2
Bare	$16,552 \cdot \ln(v) - 42,834$	0,964	$-17,168 \cdot \ln(v) + 57,641$	0,981
GM1.8(PH=8)	$14,159 \cdot \ln(v) - 30,329$	0,925	$-24,104 \cdot \ln(v) + 84,291$	0,883
GM1.10(PH=10)	$6,674 \cdot \ln(v) - 0,680$	0,794	$-12,834 \cdot \ln(v) + 37,748$	0,900
GM1.12(PH=12)	$5,585 \cdot \ln(v) + 2,340$	0,682	$-12,712 \cdot \ln(v) + 37,969$	0,931
GM1.14(PH=14)	$7,203 \cdot \ln(v) - 3,744$	0,829	$-15,001 \cdot \ln(v) + 48,055$	0,912

Tabella 3.8 Equazioni delle rette che associano i picchi delle correnti al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

Le posizioni dei picchi si spostano con la velocità di scansione e il rapporto tra i picchi di correnti di ossidazione e riduzione non è uguale a 1.

Pertanto, è possibile concludere che i sistemi elettrochimici sono sistemi quasi reversibili a diffusione libera.

Come si può osservare nel grafico 3.8, anche le posizioni dei picchi anodici e catodici variano linearmente rispetto al logaritmo naturale della velocità di scansione.

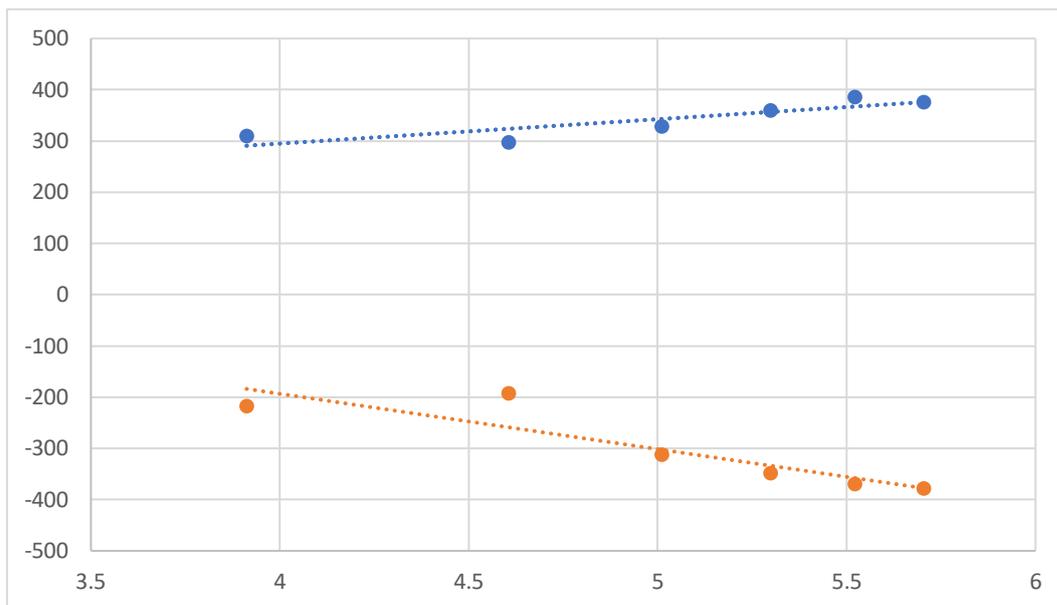


Grafico 3.8 Rette che mettono in relazione il potenziale anodico (linea blu) e il potenziale catodico (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=8 con rapporto PEG:Bi=1:1

Si individuano le posizioni dei picchi anodici e catodici per le diverse velocità di scansione per ciascun elettrodo e si rappresentano su un grafico rispetto al logaritmo naturale (\ln) della velocità di scansione. Le equazioni del potenziale di picco della regressione lineare con $\ln(v)$ e il rispettivo coefficiente di regressione (R^2) per ciascun elettrodo sono mostrate nella tabella 3.9.

	E_{pa} (mV)	R^2	E_{pc} (mV)	R^2
Bare	$75,645 \cdot \ln(v) - 20,965$	0,802	$-28,631 \cdot \ln(v) - 133,042$	0,489
GM1.8(PH=8)	$47,484 \cdot \ln(v) + 105,072$	0,690	$-108,112 \cdot \ln(v) + 238,973$	0,759
GM1.10(PH=10)	$112,814 \cdot \ln(v) - 189,723$	0,731	$-102,983 \cdot \ln(v) + 212,692$	0,680
GM1.12(PH=12)	$75,087 \cdot \ln(v) - 13,765$	0,484	$-108,771 \cdot \ln(v) + 216,554$	0,625
GM1.14(PH=14)	$84,334 \cdot \ln(v) - 73,337$	0,762	$-122,733 \cdot \ln(v) + 310,881$	0,757

Tabella 3.9 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

Dalle pendenze delle equazioni del potenziale relativo al picco di corrente rispetto al logaritmo naturale (\ln) della velocità di scansione, è possibile calcolare il coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) utilizzando le equazioni 2.6 e 2.7. Tutti i valori calcolati di α e n sono riportati nella tabella 3.10.

	α	n
Bare	0,73±0,02	2,86±0,07
GM1.8	0,305±0,004	1,80±0,03
GM1.10	0,52±0,01	1,10±0,03
GM1.12	0,408±0,008	1,34±0,03
GM1.14	0,407±0,007	1,19±0,02

Tabella 3.10 Elenco dei valori del coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14

Il valore α dell'elettrodo non modificato risulta essere quello più elevato con un valore pari a 0,73±0,02. Gli altri elettrodi, invece, presentano valori di α minori che tendono ad avvicinarsi al valore ideale del coefficiente di trasferimento elettronico ($\alpha=0,5$).

Il valore n risulta essere maggiore nell'elettrodo non modificato con un valore pari a 2,86±0,07. Per gli altri elettrodi il valore n risulta essere minore. Tuttavia, non è possibile individuare un andamento preciso che dipenda dalla variazione del pH.

La separazione picco-picco (ΔE_p) a 100 mV/s con il relativo errore viene riportata nella tabella 3.11 ed è calcolata come differenza tra i valori precedentemente ottenuti.

Inoltre vengono riportate in tabella 3.11 anche le equazioni delle rette ottenute tramite le rette indicate in precedenza per l'elettrodo non modificato e per quelli modificati.

	$\Delta E_p(\text{mV})$	$\Delta E_p(\text{mV})$
Bare	631±3	104,276*ln(v) +112,035
GM1.8(PH=8)	489±4	155,584*ln(v) -133,934
GM1.10(PH=10)	451±8	215,792*ln(v) -402,414
GM1.12(PH=12)	476±9	183,857*ln(v) -230,315
GM1.14(PH=14)	452±5	207,064*ln(v) -384,217

Tabella 3.11 Valori di separazione picco-picco con frequenza di scansione pari a 100 mV/s e retta che associa la separazione picco-picco al logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14

Si può osservare che la separazione da picco a picco tende a crescere linearmente con ln(v) come mostrato nella tabella 3.11.

Tutti gli elettrodi modificati presentano valori di separazione picco-picco inferiori rispetto all'elettrodo non modificato. Questo è dovuto alla presenza del PEG che come evidenziato in precedenza causa uno spostamento negativo del potenziale relativo ai picchi di corrente. Inoltre, come evidenziato nelle analisi effettuate con i precedenti campioni, in presenza di valori di separazione picco-picco più bassi è più probabile avere una reazione reversibile. Infatti, gli elettrodi con una minore separazione picco-picco possono fornire reazioni di trasferimento di elettroni più veloci rispetto ad altri elettrodi

Dal modello di Laviron discusso nel capitolo 2, si può osservare che $n\Delta E_p$ è maggiore di 200 mV e che è possibile applicare la prima condizione del modello di Laviron per calcolare la costante di velocità (k). La costante di velocità cinetica (k) è stata calcolata utilizzando

l'equazione 2.8 per tutti gli elettrodi considerando una velocità di scansione di 100 mV/s. I valori ottenuti sono elencati nella tabella 3.12 con le relative deviazioni standard. Anche il coefficiente di diffusione (D) è stato calcolato utilizzando l'equazione 2.12 a una velocità di scansione di 100 mV/s considerando l'area geometrica (A) dell'elettrodo di lavoro pari a 0,11 cm². I coefficienti di diffusione per l'elettrodo non modificato e per gli elettrodi modificati alla velocità di scansione di 100 mV/s sono riportati nella tabella 3.12.

	k(ms ⁻¹)	D(cm ² /s)
Bare	0,165±0,005	1,45*10 ⁻⁶
GM1.8	0,99±0,02	1,36*10 ⁻⁶
GM1.10	0,63±0,03	1,52*10 ⁻⁶
GM1.12	0,50±0,02	1,39*10 ⁻⁶
GM1.14	0,79±0,02	1,33*10 ⁻⁶

Tabella 3.12 Valori della costante di velocità cinetica (k) e del coefficiente di diffusione (D) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:1:GM1.8 a pH=8, GM1.10 a pH=10, GM1.12 a pH=12, GM1.14 a pH=14

Tutti gli elettrodi modificati presentano un valore di costante di velocità cinetica maggiore rispetto a quello dell'elettrodo non modificato. L'elettrodo modificato con il campione GM1.8 a pH 8 ha una costante di velocità cinetica più elevata pari a 0,99±0,02 ms⁻¹. Quindi tramite questo campione è possibile ottenere una reazione di trasferimento di elettroni più veloce rispetto ad altri elettrodi. Inoltre, presenta un basso valore di separazione picco-picco. Tutti gli elettrodi modificati hanno coefficienti di diffusione con valori molto simili rispetto all'elettrodo non modificato che ha un valore D di 1,44 × 10⁻⁶ cm²/sec. L'elettrodo modificato con il campione GM1.8 ha un coefficiente di diffusione più elevato di 1,52×10⁻⁶ cm²/sec rispetto ad altri elettrodi.

3.1.3 Misurazioni effettuate con i campioni realizzati con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH variabile

Si esegue l'esperimento di voltammetria ciclica depositando 100 μL della soluzione elettrolitica sulla superficie degli elettrodi di carbonio serigrafati. Si imposta un potenziale applicato tra l'elettrodo di riferimento e l'elettrodo di lavoro che varia tra -0,4 V e 0,8 V. Si imposta una velocità di scansione di 100 mV/s e si misura la corrente relativa all'elettrodo di lavoro. Si effettua voltammetria ciclica per gli elettrodi modificati con la deposizione di 100 μl di soluzione con Paracetamolo 1 mM in PBS 0,1 M per i diversi campioni di ossidi di bismuto preparati. Nel grafico 3.9 sono rappresentati i voltammogrammi ciclici dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati con rapporto PEG/Bi=1:2 e pH variabile.

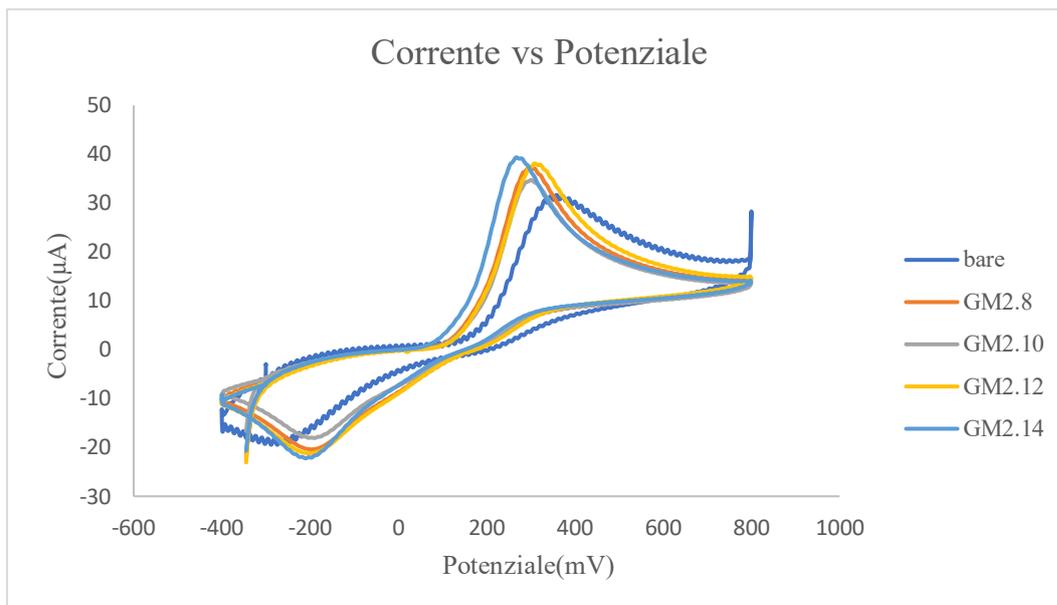


Grafico 3.9 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14

Si confrontano i risultati di questi elettrodi modificati con le misurazioni dell'elettrodo non modificato e vengono riportati nella tabella 3.13.

	Potenziale(mV)	Corrente(µA)
Bare	340± 8	31,7±0,2
GM2.8(PH=8)	282±7	37,3±0,3
GM2.10(PH=10)	296±5	34,8±0,1
GM2.12(PH=12)	286±6	38,2±0,5
GM2.14(PH=14)	283±7	39,5±0,3

Tabella 3.13 Picco della corrente di ossidazione e potenziale corrispondente dell'elettrodo non modificato "bare" e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14

Anche in questo caso si può osservare uno spostamento negativo del potenziale relativo al picco di corrente di ossidazione. Tutti gli elettrodi modificati con i campioni preparati presentano valori di corrente di picco di ossidazione superiori rispetto al valore dell'elettrodo non modificato. L'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=14 presenta una corrente di picco (39,5±0,3 µA) superiore rispetto agli altri elettrodi.

Successivamente per studiare il comportamento elettrochimico degli elettrodi in carbonio serigrafato è stata eseguita la voltammetria ciclica variando la velocità di scansione. Le misurazioni sono state eseguite partendo da una velocità di scansione di 50 mV/s e aumentando di 50 mV/s nelle successive misurazioni fino ad arrivare a 300 mV/s.

Come si può osservare nel grafico 3.10, le correnti anodiche e catodiche variano linearmente rispetto al logaritmo naturale della velocità di scansione.

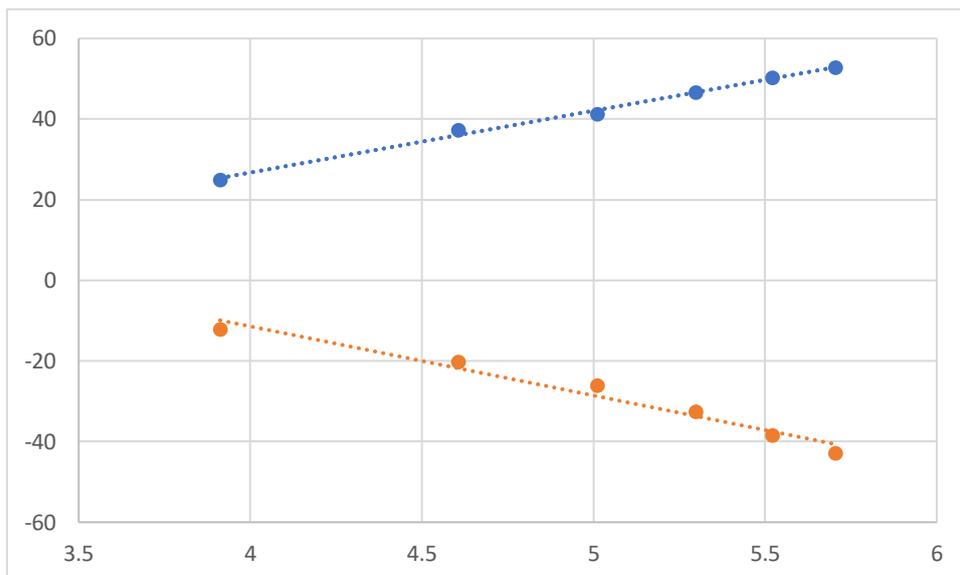


Grafico 3.10 Rette che mettono in relazione la corrente anodica (linea blu) e la corrente catodica (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione a pH=8 e rapporto PEG:Bi=1:2

Nella tabella 3.14 sono riportate le equazioni delle rette che mettono in relazione i picchi delle correnti di ossidazione e riduzione con il logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato e per quelli modificati con i diversi campioni. Inoltre, viene indicato per ogni retta il suo corrispondente coefficiente di regressione R^2 .

	I_{pa} (μA)	R^2	I_{pc} (μA)	R^2
Bare	$16,552 \cdot \ln(v) - 42,834$	0,964	$-17,168 \cdot \ln(v) + 57,641$	0,981
GM2.8(PH=8)	$15,336 \cdot \ln(v) - 34,594$	0,995	$-17,149 \cdot \ln(v) + 57,185$	0,967
GM2.10(PH=10)	$12,513 \cdot \ln(v) - 25,235$	0,975	$-15,014 \cdot \ln(v) + 50,151$	0,972
GM2.12(PH=12)	$12,544 \cdot \ln(v) - 21,916$	0,969	$-16,115 \cdot \ln(v) + 52,442$	0,982
GM2.14(PH=14)	$8,958 \cdot \ln(v) - 6,712$	0,809	$-13,171 \cdot \ln(v) + 39,044$	0,994

Tabella 3.14 Equazioni delle rette che associano i picchi delle correnti al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

Le posizioni dei picchi si spostano con la velocità di scansione e il rapporto tra i picchi di correnti di ossidazione e riduzione non è uguale a 1.

Pertanto, è possibile concludere che i sistemi elettrochimici sono sistemi quasi reversibili a diffusione libera.

Come si può osservare nel grafico 3.11, anche le posizioni dei picchi anodici e catodici variano linearmente rispetto al logaritmo naturale della velocità di scansione.

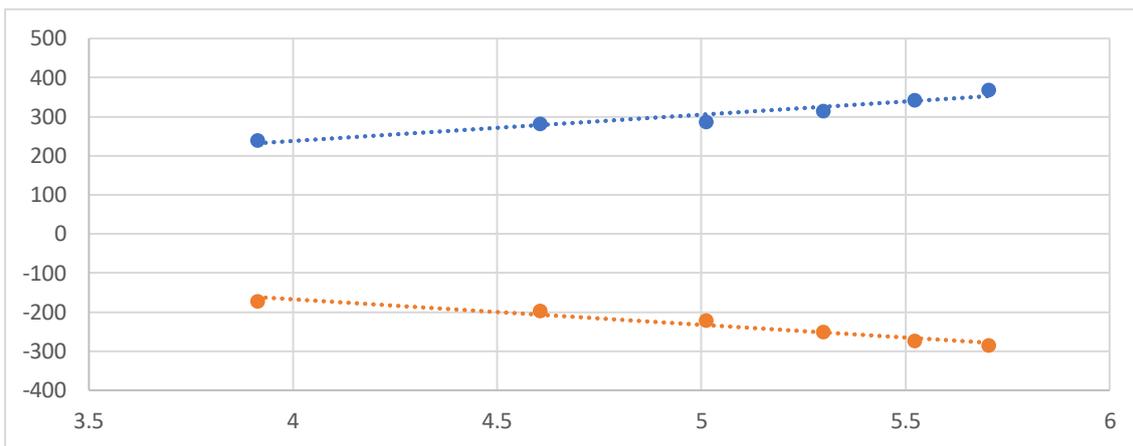


Grafico 3.11 Rette che mettono in relazione il potenziale anodico (linea blu) e il potenziale catodico (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=8 con rapporto PEG:Bi=1:2

Si individuano le posizioni dei picchi anodici e catodici per le diverse velocità di scansione per ciascun elettrodo e si rappresentano su un grafico rispetto al logaritmo naturale (ln) della velocità di scansione. Le equazioni del potenziale di picco della regressione lineare con ln(v) e il rispettivo coefficiente di regressione (R^2) per ciascun elettrodo sono mostrate nella tabella 3.15.

	E_{pa} (mV)	R^2	E_{pc} (mV)	R^2
Bare	$75,645 \cdot \ln(v) - 20,965$	0,802	$-28,631 \cdot \ln(v) - 133,042$	0,489
GM2.8(PH=8)	$67,325 \cdot \ln(v) - 31,407$	0,923	$-65,208 \cdot \ln(v) + 93,586$	0,952
GM2.10(PH=10)	$72,885 \cdot \ln(v) - 39,649$	0,946	$-73,594 \cdot \ln(v) + 137,624$	0,934
GM2.12(PH=12)	$76,721 \cdot \ln(v) - 59,876$	0,925	$-78,984 \cdot \ln(v) + 154,282$	0,943
GM2.14(PH=14)	$87,346 \cdot \ln(v) - 103,133$	0,921	$-76,558 \cdot \ln(v) + 127,541$	0,924

Tabella 3.15 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

Dalle pendenze delle equazioni del potenziale relativo al picco di corrente rispetto al logaritmo naturale (ln) della velocità di scansione, è possibile calcolare il coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) utilizzando le equazioni 2.6 e 2.7.. Tutti i valori calcolati di α e n sono riportati nella tabella 3.16.

	α	n
Bare	$0,73 \pm 0,02$	$2,86 \pm 0,07$
GM2.8	$0,51 \pm 0,01$	$1,80 \pm 0,04$
GM2.10	$0,50 \pm 0,01$	$1,62 \pm 0,03$
GM2.12	$0,49 \pm 0,01$	$1,53 \pm 0,03$
GM2.14	$0,53 \pm 0,01$	$1,48 \pm 0,04$

Tabella 3.16 Elenco dei valori del coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14

Il valore α dell'elettrodo non modificato risulta essere quello più elevato con un valore pari a $0,73 \pm 0,02$. Gli altri elettrodi, invece, presentano valori di α minori che tendono ad avvicinarsi al valore ideale del coefficiente di trasferimento elettronico ($\alpha=0,5$).

Il valore n risulta essere maggiore nell'elettrodo non modificato con un valore pari a $2,86 \pm 0,07$. Per gli altri elettrodi il valore n risulta essere minore. Tuttavia, non è possibile individuare un andamento preciso che dipenda dalla variazione del pH.

La separazione picco-picco (ΔE_p) a 100 mV/s con il relativo errore viene riportata nella tabella 3.17 ed è calcolata come differenza tra i valori precedentemente ottenuti.

Inoltre vengono riportate in tabella 3.17 anche le equazioni delle rette ottenute tramite le rette indicate in precedenza per l'elettrodo non modificato e per quelli modificati.

	ΔE_p (mV)	ΔE_p (mV)
Bare	$630,5 \pm 3,3$	$104,276 * \ln(v) + 112,035$
GM2.8(PH=8)	$478,4 \pm 7,4$	$132,533 * \ln(v) - 124,993$
GM2.10(PH=10)	$490,1 \pm 7,2$	$146,479 * \ln(v) - 177,269$
GM2.12(PH=12)	490 ± 11	$155,705 * \ln(v) - 214,156$
GM2.14(PH=14)	$481,5 \pm 9,1$	$163,904 * \ln(v) - 230,631$

Tabella 3.17 Valori di separazione picco-picco con frequenza di scansione pari a 100 mV/s e retta che associa la separazione picco-picco al logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14

Si può osservare che la separazione da picco a picco tende a crescere linearmente con $\ln(v)$ come mostrato nella tabella 3.17.

Tutti gli elettrodi modificati presentano valori di separazione picco-picco inferiori rispetto all'elettrodo non modificato. Questo è dovuto alla presenza del PEG che come evidenziato in precedenza causa uno spostamento negativo del potenziale relativo ai picchi di corrente. Inoltre, come evidenziato nelle analisi effettuate con i precedenti campioni, in presenza di valori di separazione picco-picco più bassi è più probabile avere una reazione reversibile. Infatti, gli elettrodi con una minore separazione picco-picco possono fornire reazioni di trasferimento di elettroni più veloci rispetto ad altri elettrodi

Dal modello di Laviron discusso nel capitolo 2, si può osservare che $n\Delta E_p$ è maggiore di 200 mV e che è possibile applicare la prima condizione del modello di Laviron per calcolare la costante di velocità (k). La costante di velocità cinetica (k) è stata calcolata utilizzando l'equazione 2.8 per tutti gli elettrodi considerando una velocità di scansione di 100 mV/s. I valori ottenuti elencati nella tabella 3.18 con le relative deviazioni standard. Anche il coefficiente di diffusione (D) è stato calcolato utilizzando l'equazione 2.12 a una velocità di scansione di 100 mV/s considerando l'area geometrica (A) dell'elettrodo di lavoro pari a $0,11 \text{ cm}^2$. I coefficienti di diffusione per l'elettrodo non modificato e per gli elettrodi modificati alla velocità di scansione di 100 mV/s sono riportati nella tabella 3.18.

	k(ms ⁻¹)	D(cm ² /s)
Bare	0,165±0,005	1,45*10 ⁻⁶
GM2.8	0,37±0,01	2,01*10 ⁻⁶
GM2.10	0,292±0,009	1,75*10 ⁻⁶
GM2.12	0,30±0,01	2,10*10 ⁻⁶
GM2.14	0,36±0,02	2,25*10 ⁻⁶

Tabella 3.18 Valori della costante di velocità cinetica (k) e del coefficiente di diffusione (D) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:2:GM2.8 a pH=8, GM2.10 a pH=10, GM2.12 a pH=12, GM2.14 a pH=14

Tutti gli elettrodi modificati presentano un valore di costante di velocità cinetica maggiore rispetto a quello dell'elettrodo non modificato. L'elettrodo modificato con il campione GM2.8 a pH 8 ha una costante di velocità cinetica più elevata pari a 0,37±0,01 ms⁻¹. Quindi tramite questo campione è possibile ottenere una reazione di trasferimento di elettroni più veloce rispetto ad altri elettrodi. Inoltre, presenta un basso valore di separazione picco-picco.

Tutti gli elettrodi modificati hanno coefficienti di diffusione maggiori rispetto all'elettrodo non modificato che ha un valore D di 1,44 × 10⁻⁶ cm²/sec. L'elettrodo modificato con il campione GM2.14 ha un coefficiente di diffusione più elevato di 2,25×10⁻⁶ cm²/sec rispetto ad altri elettrodi.

3.1.4 Misurazioni effettuate con i campioni realizzati con rapporto PEG:Bi=1:4 e pH variabile

Si esegue l'esperimento di voltammetria ciclica depositando 100 µL della soluzione elettrolitica sulla superficie degli elettrodi di carbonio serigrafati. Si imposta un potenziale applicato tra l'elettrodo di riferimento e l'elettrodo di lavoro che varia tra -0,4 V e 0,8 V. Si imposta una velocità di scansione di 100 mV/s e si osserva la corrente tra l'elettrodo di lavoro e il contro elettrodo.

Si effettua voltammetria ciclica per gli elettrodi modificati con la deposizione di 100 µl di soluzione Paracetamolo 1 mM in PBS 0,1 M per i diversi campioni di ossidi di bismuto preparati. Nel grafico 3.12 sono rappresentati i voltammogrammi ciclici dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati con rapporto PEG/Bi=1:4 e pH variabile.

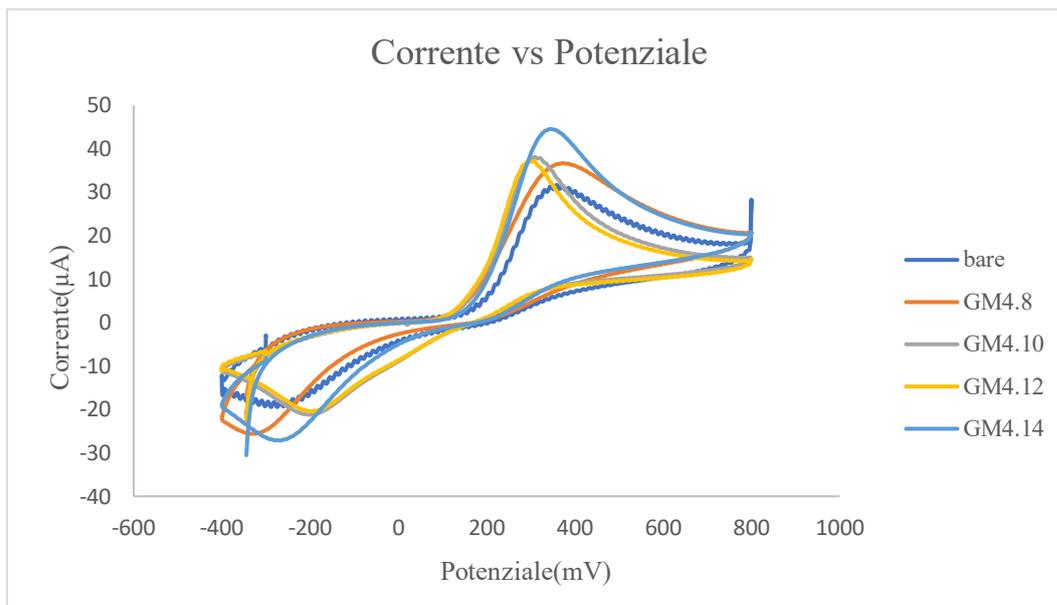


Grafico 3.12 Voltammogramma ciclico dell'elettrodo non modificato e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

Si confrontano i risultati di questi elettrodi modificati con le misurazioni dell'elettrodo non modificato e vengono riportati nella tabella 3.19.

	Potenziale(mV)	Corrente(µA)
Bare	340,0± 7,8	31,7±0,2
GM4.8(PH=8)	388,1±9,5	36,5±0,6
GM4.10(PH=10)	391±11	38,1±0,9
GM4.12(PH=12)	359,6±7,7	37,3±0,5
GM4.14(PH=14)	330,7±6,3	44,8±0,8

Tabella 3.19 Picco della corrente di ossidazione e potenziale corrispondente dell'elettrodo non modificato "bare" e degli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

In questo caso non si osserva uno spostamento negativo del potenziale relativo al picco di corrente di ossidazione come negli altri casi. Questo è dovuto al fatto che viene utilizzata una quantità minore di PEG per la preparazione dei campioni. Pertanto, in presenza di una piccola quantità di PEG si osserva un miglioramento nella misura del picco della corrente di ossidazione mentre non si osserva uno spostamento negativo del potenziale corrispondente. Tutti gli elettrodi modificati con i campioni preparati presentano valori di corrente di picco di ossidazione superiori rispetto al valore dell'elettrodo non modificato. L'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=14 presenta una corrente di picco (44,8±0,8 µA) superiore rispetto agli altri elettrodi.

Successivamente, per studiare il comportamento elettrochimico degli elettrodi in carbonio serigrafato è stata eseguita la voltammetria ciclica variando la velocità di scansione. Le misurazioni sono state eseguite partendo da una velocità di scansione di 50 mV/s e

aumentando di 50 mV/s nelle successive misurazioni fino ad arrivare a 300 mV/s. Come si può osservare nel grafico 3.13, le correnti anodiche e catodiche variano linearmente rispetto al logaritmo naturale della velocità di scansione.

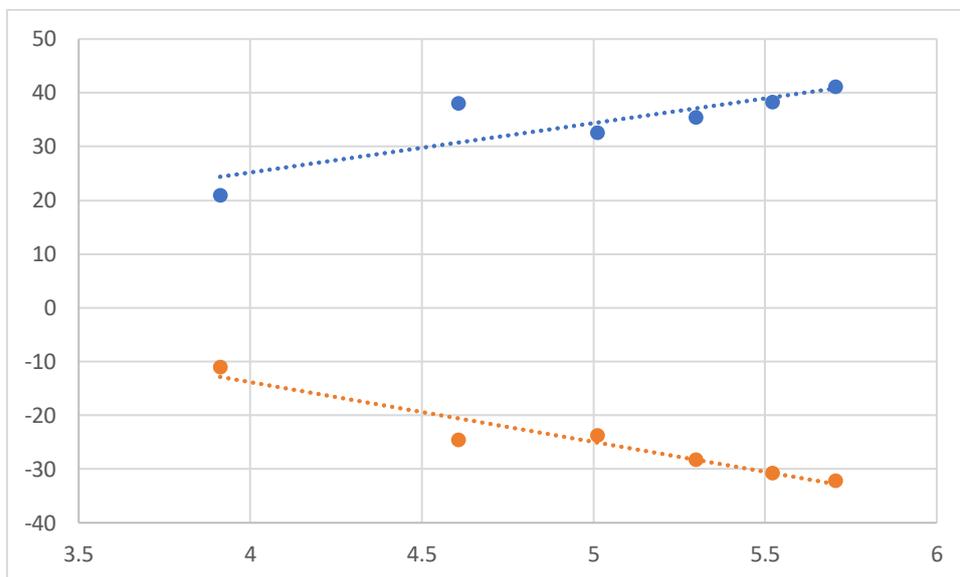


Grafico 3.13 Rette che mettono in relazione la corrente anodica (linea blu) e la corrente catodica (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione a pH=10 e rapporto PEG:Bi=1:4

Nella tabella 3.20 sono riportate le equazioni delle rette che mettono in relazione i picchi delle correnti di ossidazione e di riduzione con il logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato e per quelli modificati con i diversi campioni. Inoltre, viene indicato per ogni retta il suo corrispondente coefficiente di regressione R^2 .

	I_{pa} (μA)	R^2	I_{pc} (μA)	R^2
Bare	$16,552 \cdot \ln(v) - 42,834$	0,964	$-17,168 \cdot \ln(v) + 57,641$	0,981
GM4.8(PH=8)	$15,045 \cdot \ln(v) - 37,125$	0,932	$-17,301 \cdot \ln(v) + 57,517$	0,927
GM4.10(PH=10)	$9,184 \cdot \ln(v) - 11,551$	0,719	$-11,124 \cdot \ln(v) + 30,666$	0,925
GM4.12(PH=12)	$16,123 \cdot \ln(v) - 41,915$	0,905	$-19,795 \cdot \ln(v) + 68,554$	0,915
GM4.14(PH=14)	$12,984 \cdot \ln(v) - 23,394$	0,796	$-16,878 \cdot \ln(v) + 53,681$	0,960

Tabella 3.20 Equazioni delle rette che associano i picchi delle correnti al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

Le posizioni dei picchi si spostano con la velocità di scansione e il rapporto tra i picchi di correnti di ossidazione e riduzione non è uguale a 1.

Pertanto, è possibile concludere che i sistemi elettrochimici sono sistemi quasi reversibili a diffusione libera.

Come si può osservare nel grafico 3.14, anche le posizioni dei picchi anodici e catodici variano linearmente rispetto al logaritmo naturale della velocità di scansione.

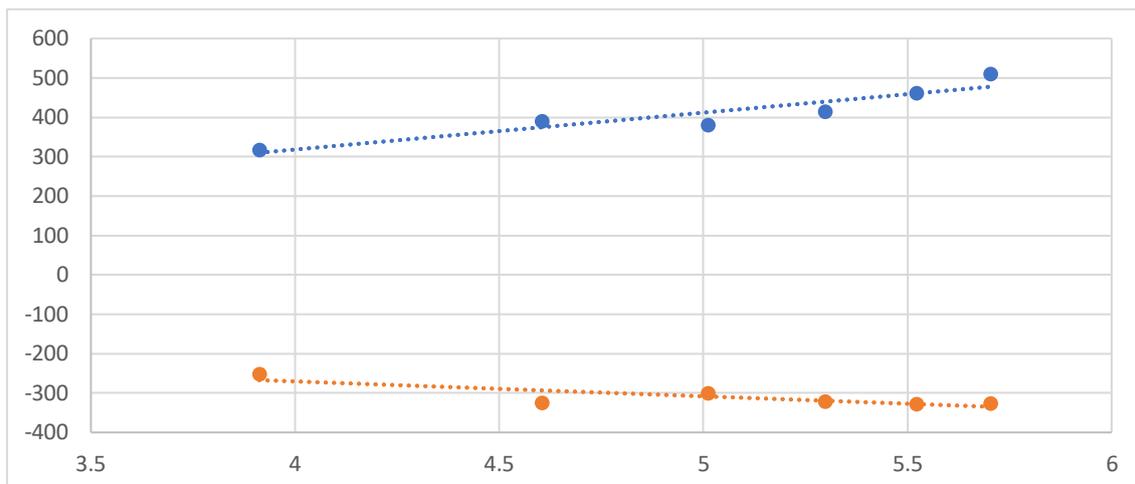


Grafico 3.14 Rette che mettono in relazione il potenziale anodico (linea blu) e il potenziale catodico (linea arancione) con il logaritmo naturale della velocità di scansione per l'elettrodo modificato con il campione realizzato a pH=8 con rapporto PEG:Bi=1:4

Si individuano le posizioni dei picchi anodici e catodici per le diverse velocità di scansione per ciascun elettrodo e si rappresentano su un grafico rispetto al logaritmo naturale (ln) della velocità di scansione. Le equazioni del potenziale di picco della regressione lineare con $\ln(v)$ e il rispettivo coefficiente di regressione (R^2) per ciascun elettrodo sono mostrate nella tabella 3.21.

	E_{pa} (mV)	R^2	E_{pc} (mV)	R^2
Bare	$75,645 \cdot \ln(v) - 20,965$	0,802	$-28,631 \cdot \ln(v) - 133,042$	0,489
GM4.8(PH=8)	$48,281 \cdot \ln(v) + 117,793$	0,587	$-28,525 \cdot \ln(v) - 147,232$	0,352
GM4.10(PH=10)	$93,618 \cdot \ln(v) - 56,264$	0,865	$-37,792 \cdot \ln(v) - 119,271$	0,699
GM4.12(PH=12)	$29,714 \cdot \ln(v) + 188,744$	0,511	$-50,867 \cdot \ln(v) - 33,163$	0,837
GM4.14(PH=14)	$67,197 \cdot \ln(v) + 4,017$	0,836	$-50,566 \cdot \ln(v) - 30,587$	0,911

Tabella 3.21 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente al logaritmo naturale della velocità di scansione e i rispettivi coefficienti di regressione

Dalle pendenze delle equazioni del potenziale relativo al picco di corrente rispetto al logaritmo naturale (ln) della velocità di scansione, è possibile calcolare il coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) utilizzando le equazioni 2.6 e 2.7. Tutti i valori calcolati di α e n sono riportati nella tabella 3.22.

	α	n
Bare	0,73±0,02	2,86±0,07
GM4.8	0,63±0,02	3,32±0,08
GM4.10	0,71±0,02	2,21±0,06
GM4.12	0,37±0,01	3,19±0,07
GM4.14	0,57±0,01	2,06±0,04

Tabella 3.22 Elenco dei valori del coefficiente di trasferimento elettronico (α) e il numero di trasferimento elettronico (n) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

Il valore α dell'elettrodo non modificato risulta essere quello più elevato con un valore pari a 0,73±0,02. Gli altri elettrodi, invece, presentano valori di α minori che tendono a discostarsi dal valore ideale del coefficiente di trasferimento elettronico ($\alpha=0,5$). Il valore n risulta essere maggiore nell'elettrodo modificato con il campione GM4.8 a pH=8 con un valore pari a 3,32±0,08. Anche utilizzando il campione GM4.12 a PH=12 si calcola un valore n maggiore rispetto a quello dell'elettrodo non modificato. Per gli altri elettrodi il valore n risulta essere minore e risulta essere simile al valore previsto riportato nel capitolo 1. Non è possibile individuare un andamento preciso che dipenda dalla variazione del pH.

La separazione picco-picco (ΔE_p) a 100 mV/s con il relativo errore viene riportata nella tabella 3.23 ed è calcolata come differenza tra i valori precedentemente ottenuti.

Inoltre vengono riportate in tabella 3.23 anche le equazioni delle rette ottenute tramite le rette indicate in precedenza per l'elettrodo non modificato e per quelli modificati.

	ΔE_p (mV)	ΔE_p (mV)
Bare	630,5±3,3	104,276*ln(v) +112,035
GM4.8(PH=8)	716±11	76,805*ln(v) +264,993
GM4.10(PH=10)	715±12	131,408*ln(v) +63,006
GM4.12(PH=12)	654,6±9,9	80,581*ln(v) +221,943
GM4.14(PH=14)	611±10	117,763*ln(v) +34,604

Tabella 3.23 Valori di separazione picco-picco con frequenza di scansione pari a 100 mV/s e retta che associa la separazione picco-picco al logaritmo naturale della frequenza di scansione per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

Si può osservare che la separazione da picco a picco tende a crescere linearmente con ln(v) come mostrato nella tabella 3.23.

Solo l'elettrodo modificato con il campione GM4.14 a pH=14 presenta un valore di separazione picco-picco inferiore rispetto all'elettrodo non modificato. Questo è dovuto alla presenza di una piccola quantità di PEG che in questo caso non causa uno spostamento negativo del potenziale relativo ai picchi di corrente. Pertanto,utilizzando piccole quantità di PEG, è meno probabile ottenere una reazione reversibile a causa dei valori di separazione picco-picco elevati.

Dal modello di Laviron discusso nel capitolo 2, si può osservare che $n\Delta E_p$ è maggiore di 200 mV e che è possibile applicare la prima condizione del modello di Laviron per calcolare la costante di velocità (k). La costante di velocità cinetica (k) è stata calcolata utilizzando

l'equazione 2.8 per tutti gli elettrodi durante una scansione di 100 mV/s ed elencati nella tabella 3.24 con le relative deviazioni standard.

Anche il coefficiente di diffusione (D) è stato calcolato utilizzando l'equazione 2.12 a una velocità di scansione di 100 mV/s considerando l'area geometrica (A) dell'elettrodo di lavoro pari a 0,11 cm². I coefficienti di diffusione per l'elettrodo non modificato e per gli elettrodi modificati alla velocità di scansione di 100 mV/s sono riportati nella tabella 3.24.

	k(ms ⁻¹)	D(cm ² /s)
Bare	0,165±0,005	1,45*10 ⁻⁶
GM4.8	0,0083±0,0003	1,92*10 ⁻⁶
GM4.10	0,034±0,002	2,09*10 ⁻⁶
GM4.12	0,0250±0,0009	2,01*10 ⁻⁶
GM4.14	0,035±0,001	2,89*10 ⁻⁶

Tabella 3.24 Valori della costante di velocità cinetica(k) e del coefficiente di diffusione(D) per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati con i campioni preparati a diversi valori di pH e rapporto PEG:Bi=1:4:GM4.8 a pH=8, GM4.10 a pH=10, GM4.12 a pH=12, GM4.14 a pH=14

Tutti gli elettrodi modificati presentano un valore di costante di velocità cinetica minore rispetto a quello dell'elettrodo non modificato. Quindi, tramite questi campioni è possibile ottenere una reazione di trasferimento di elettroni più lenta rispetto all'elettrodo non modificato.

Tutti gli elettrodi modificati hanno coefficienti di diffusione maggiori rispetto all'elettrodo non modificato che ha un valore D di 1,44 × 10⁻⁶ cm²/sec. L'elettrodo modificato con il campione GM4.14 ha un coefficiente di diffusione più elevato di 2,89×10⁻⁶ cm²/sec rispetto ad altri elettrodi.

3.1.5 Calcolo della sensibilità e del limite di riconoscimento

In base ai risultati precedentemente ottenuti si sceglie di calcolare la sensibilità e il limite di riconoscimento per gli elettrodi modificati con i campioni a pH=14 e con i campioni con rapporto PEG:Bi=1:4. È stato osservato che a parità di pH si ha un aumento più significativo del valore della corrente di picco anodica negli elettrodi modificati con i campioni preparati con una quantità minore di PEG. Inoltre, a parità di rapporto PEG:Bi è stato osservato un aumento più significativo del valore di picco della corrente anodica nei campioni preparati a pH=14. Infine, sono stati ottenuti coefficienti di diffusione maggiori utilizzando i campioni citati.

Si esegue la voltammetria ciclica a una velocità di scansione di 100 mV/s utilizzando soluzioni con diverse concentrazioni di Paracetamolo. Si misurano le correnti di picco di ossidazione utilizzando soluzioni con concentrazione variabile tra 0,5 da mM a 3 mM. Per ogni misurazione successiva si aumenta la concentrazione di 0,5 mM fino ad arrivare a una concentrazione pari a 3 mM. Sono mostrati nel grafico 3.15 i voltammogrammi ciclici per l'elettrodo non modificato e per gli elettrodi modificati con diverse concentrazioni di Paracetamolo.

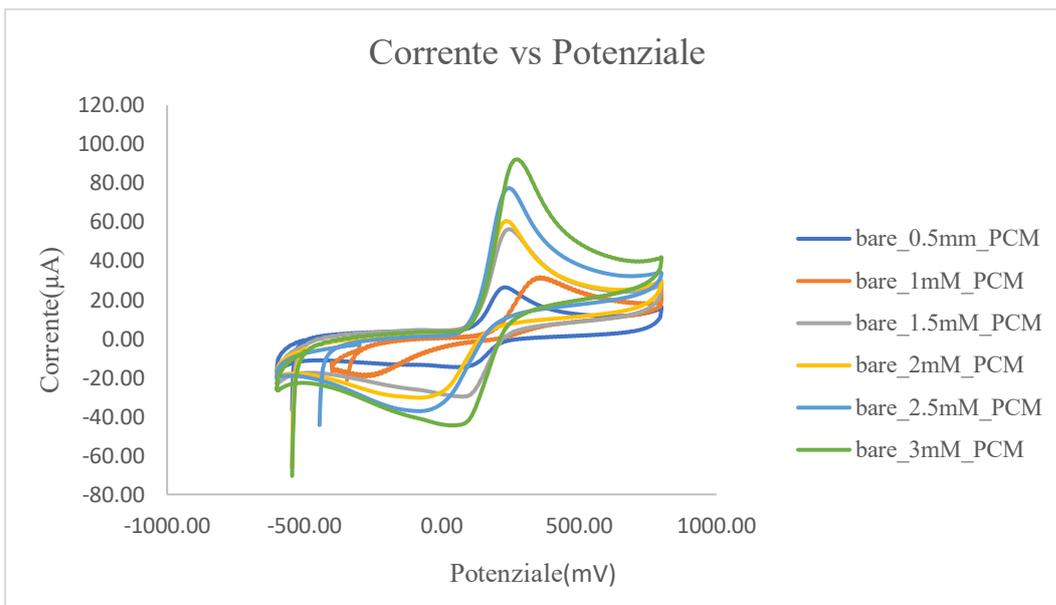


Grafico 3.15 Voltammogramma ciclico di Paracetamolo in PBS 0,1 M a pH 7 variando la concentrazione di Paracetamolo per l'elettrodo non modificato "bare"

Come si può osservare nel grafico 3.16, le correnti di picco di ossidazione hanno mostrato una relazione lineare con concentrazioni comprese tra 0,5 da mM a 3 mM.

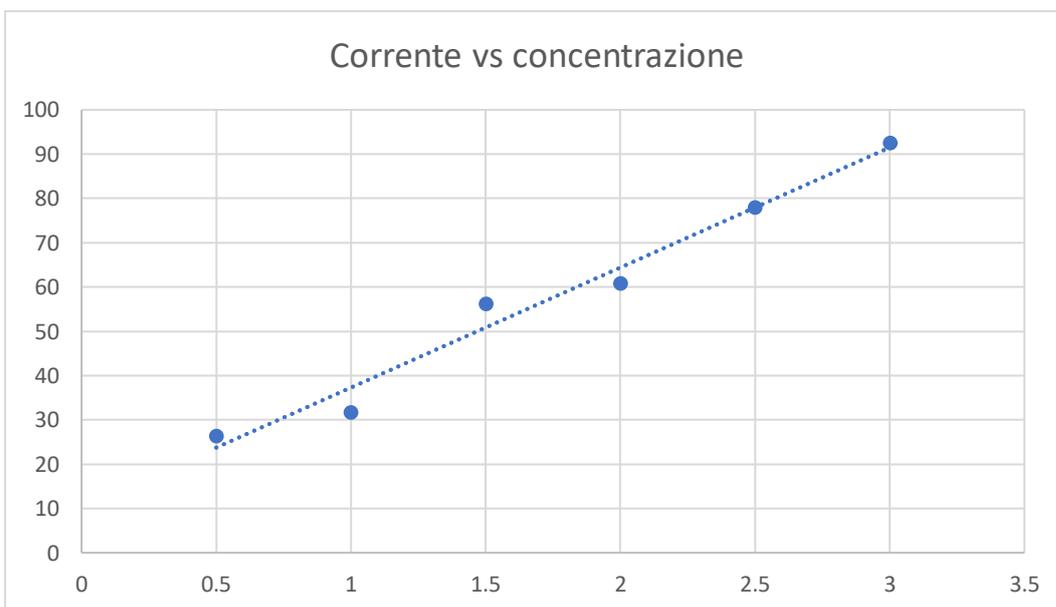


Grafico 3.16 Curva di calibrazione dell'elettrodo non modificato "bare"

Si può osservare che le correnti di picco redox aumentano in maniera direttamente proporzionale alla concentrazione della soluzione elettrolitica.

Gli elettrodi sono stati puliti con acqua distillata prima di aggiungere gocce delle soluzioni con diverse concentrazioni. Il tempo di analisi per ciascuna concentrazione di Paracetamolo è di circa 30 secondi. Le curve di calibrazione sono tracciate considerando il picco delle correnti di

ossidazione per ciascuna concentrazione. Le equazioni delle rette che associano il picco della corrente di ossidazione alla concentrazione per l'elettrodo non modificato e per quelli non modificati sono riportate nella tabella 3.25 con i rispettivi coefficienti di regressione.

	$I_p(\mu A)$	R^2
Bare	$27,105*[C]+10,183$	0,975
GM4.8	$27,367*[C]+12,272$	0,981
GM4.10	$26,604*[C]+14,009$	0,985
GM4.12	$24,695*[C]+14,858$	0,979
GM4.14	$29,204*[C]+18,645$	0,986
GM2.14	$30,584*[C]+13,184$	0,992
GM1.14	$26,704*[C]+11,555$	0,968

Tabella 3.25 Equazioni delle rette che associano i potenziali dei picchi di corrente alla concentrazione di Paracetamolo nella soluzione i rispettivi coefficienti di regressione

La sensibilità (S) di ciascun elettrodo è stata ottenuta considerando la pendenza della rispettiva curva di calibrazione. Il limite di rilevamento (LOD) è stato calcolato utilizzando la formula

$$LOD = \frac{KD}{S} \quad (3.1)$$

K è il livello di confidenza statistica 1 per 68,2%, 2 per 95,4% e 3 per 99,6%.

D è la deviazione standard delle misurazioni effettuate utilizzando la soluzione blank senza Paracetamolo.

S è la sensibilità.

Tutte le sensibilità e i limiti di rilevamento con le relative deviazioni standard (R.S.D) degli elettrodi sono mostrati nella tabella 3.26 per l'elettrodo non modificato e per quelli modificati.

	Sensibilità($\mu A/mM$)	LOD(μM)	R.S.D
Bare	$27,1\pm 0,6$	$2,25\pm 0,05$	2,30%
GM4.8	$27,4\pm 0,7$	$2,97\pm 0,07$	2,45%
GM4.10	$26,6\pm 0,7$	$5,3\pm 0,1$	2,70%
GM4.12	$24,7\pm 0,5$	$11,0\pm 0,2$	2,01%
GM4.14	$29,2\pm 0,5$	$15,4\pm 0,3$	1,89%
GM2.14	$30,6\pm 0,7$	$20,6\pm 0,5$	2,40%
GM1.14	$26,7\pm 0,4$	$10,1\pm 0,2$	1,64%

Tabella 3.26 Valori della sensibilità e del limite di rilevamento per l'elettrodo non modificato "bare" e per gli elettrodi modificati

L'elettrodo non modificato ha una sensibilità di $27,1\pm 0,6 \mu A/mM$ e un limite di rilevamento pari a $2,25\pm 0,05 \mu M$ e deviazione standard del 2,30%. Tra tutti gli elettrodi modificati, l'elettrodo modificato col campione GM2.14 (a pH=14 e rapporto PEG:Bi=1:2) ha una maggiore sensibilità di $30,6\pm 0,7 \mu A/mM$ con limite di rilevamento pari a $20,6\pm 0,5 \mu M$ e deviazione standard del 2,40%. L'elettrodo modificato con il campione GM4.8 (a pH=8 e rapporto PEG:Bi=1:4) presenta caratteristiche simili all'elettrodo non modificato. Tutti gli elettrodi modificati hanno un limite di rilevamento maggiore rispetto a quello dell'elettrodo non modificato. Secondo l'equazione 3.1, quest'ultimo deve diminuire all'aumentare della sensibilità ma questo non succede come riportato dalla tabella 3.26 in quanto dipende anche dalle misure del blank. Nonostante per alcuni elettrodi sia stata ottenuta una sensibilità maggiore rispetto all'elettrodo non modificato, la deviazione standard delle misurazioni effettuate con la soluzione

blank in assenza di Paracetamolo risulta essere maggiore per tutti gli elettrodi modificati. Questo può essere legato all'utilizzo della tecnica del drop casting con cui si ottiene una deposizione e una distribuzione imprecisa delle sospensioni dei materiali. Questo può causare risposte diverse per ogni sensore modificato con la tecnica del drop casting .

3.2 Spettroscopia Raman

Per le analisi viene scelto come punto di partenza 200 cm^{-1} , poiché i dati acquisiti a uno spostamento Raman inferiore sono stati considerati inaffidabili a causa alla componente di Rayleigh. La Figura 3.1 presenta diversi spettri Raman per i campioni preparati con diverse quantità di NaOH.

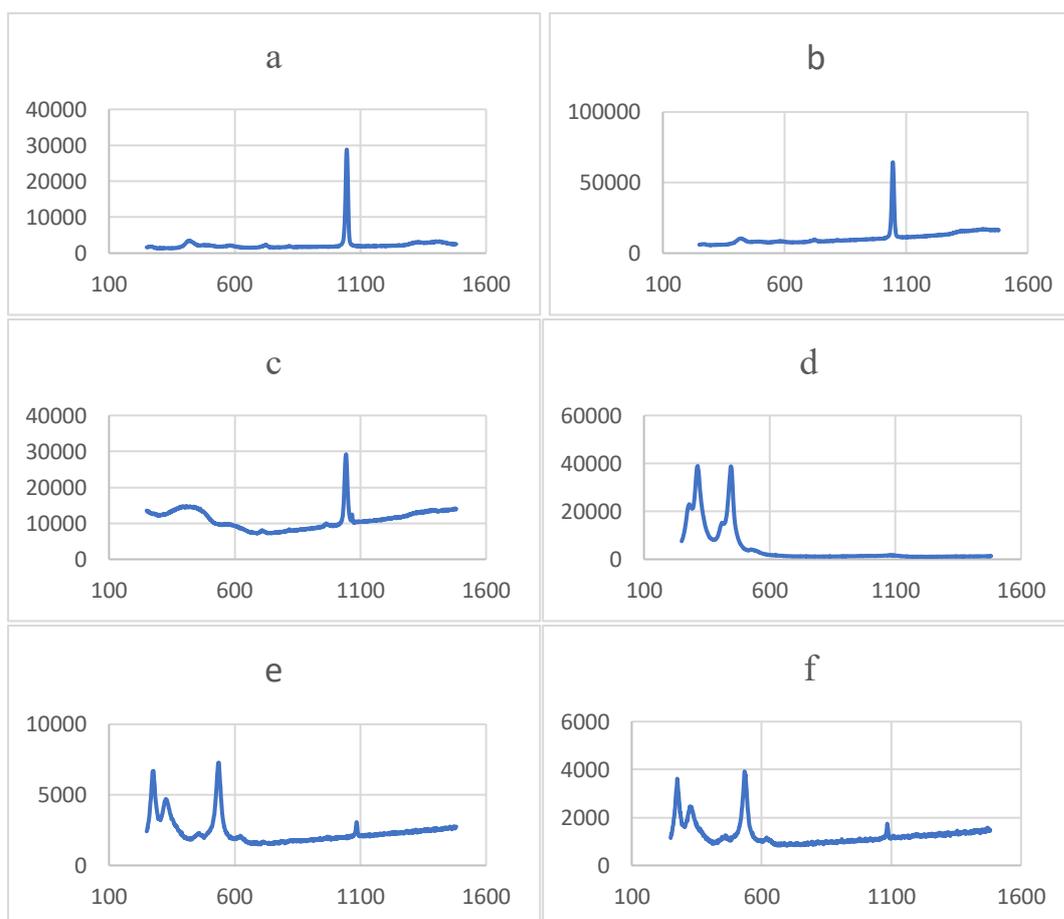


Figura 3.1 Spettri Raman dei campioni realizzati con diverse quantità di NaOH:
a) realizzato con 1 g di NaOH, b) realizzato con 1,5 g di NaOH, c) realizzato con 2 g di NaOH
d) realizzato con 4 g di NaOH, e) realizzato con 6 g di NaOH, f) realizzato con 8 g di NaOH

Nei campioni 01, 02 e 03 preparati con quantità minori di NaOH è presente un picco intorno al valore di 1040 cm^{-1} . Questo picco può essere associato al gruppo NO_3^- presente a causa dell'utilizzo di nitrato di bismuto pentaidrato nel processo di preparazione dei campioni [56]. Inoltre, è presente un picco tra i 400 e i 450 cm^{-1} , che è caratteristico degli ossidi di bismuto [57]. Pertanto, in questi casi sono stati realizzati campioni di ossinitrato di bismuto. Invece, nei campioni 04, 05 e 06 preparati con maggiori quantità di NaOH il picco presente

intorno ai 1040 cm^{-1} associato al nitrato di bismuto pentaidrato risulta essere molto attenuato rispetto ai campioni precedenti [56]. Inoltre, sono presenti 2 picchi più evidenti a circa 280 cm^{-1} e a circa 330 cm^{-1} [57]. Questi due picchi confermano la presenza di ossidi di bismuto nei campioni analizzati. Nel campione 04 è presente anche un picco intorno ai 450 cm^{-1} , che è caratteristico degli ossidi di bismuto [57]. Nei campioni 05 e 06, invece, è presente un picco caratteristico dell'ossido di bismuto intorno ai 530 cm^{-1} [58].

Si può osservare che utilizzando una maggiore quantità di NaOH nel processo di sintesi dei campioni, il picco relativo al gruppo NO_3^- tende ad attenuarsi a causa della reazione di neutralizzazione che porta alla sintesi di nitrato di sodio che viene eliminato con successo durante la fase di filtrazione sottovuoto. Inoltre, nei campioni preparati con maggiori quantità di NaOH si può osservare un numero maggiore di picchi caratteristici dell'ossido di bismuto. Pertanto, tramite l'utilizzo di maggiori quantità di NaOH, il processo di sintesi di ossido di bismuto risulta essere più efficace.

La Figura 3.2 presenta diversi spettri Raman per i campioni preparati con diverse quantità di PEG e con diversi pH. Si osservano spettri simili in base al pH dei campioni. Di conseguenza, per semplicità non vengono mostrati gli spettri Raman per ogni campione.

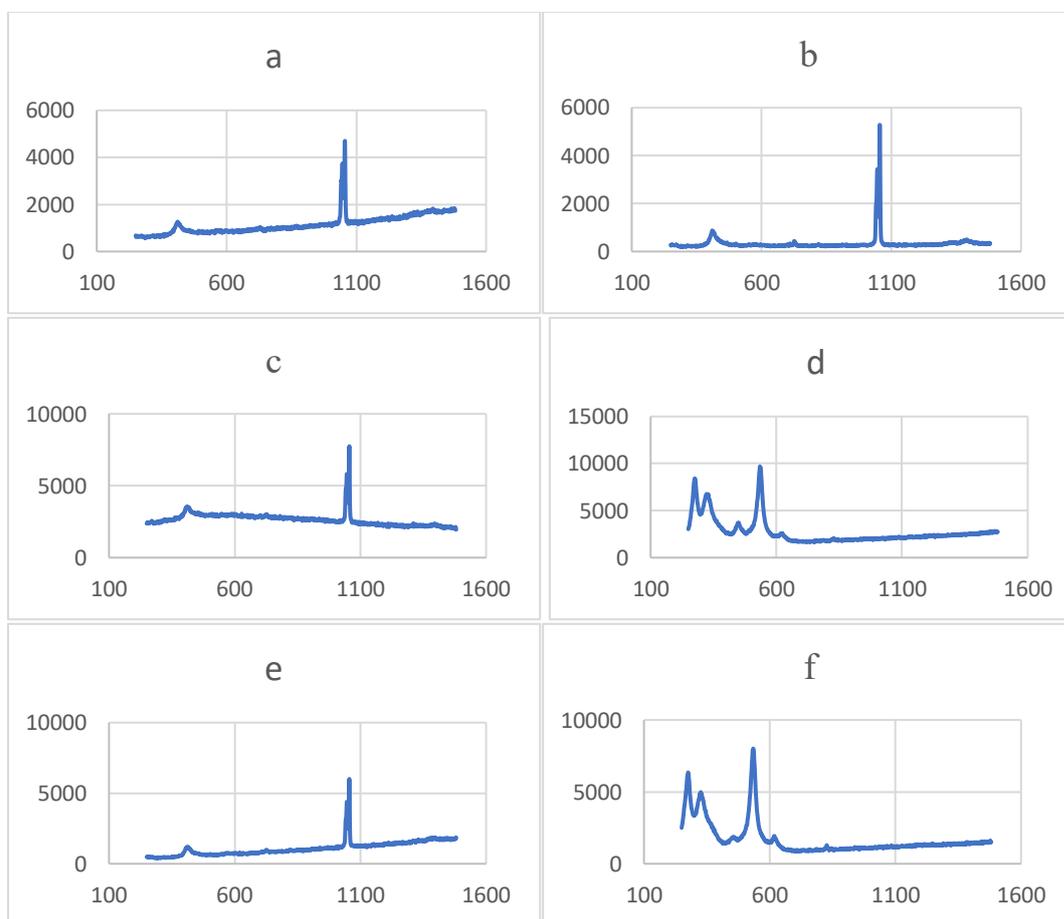


Figura 3.2 Spettri Raman dei campioni realizzati con diverse quantità di PEG e a diversi pH: a) campione con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH=8, b) campione con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH=10, c) campione con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH=12, d) campione con rapporto PEG:Bi=1:2 e pH=14, e) campione con rapporto PEG:Bi=1:1 e pH=8, f) campione con rapporto PEG:Bi=1:1 e pH=14

Nei campioni a pH=8,10 e 12 è presente un picco intorno ai 1040 cm^{-1} associabile al nitrato di bismuto pentaidrato utilizzato nella preparazione dei campioni [56]. Inoltre è presente un picco minore intorno ai 410 cm^{-1} , che è caratteristico degli ossidi di bismuto [57]. Pertanto in questi casi sono stati realizzati campioni di ossinitrato di bismuto.

A pH=14 il picco caratteristico del gruppo NO_3^- è assente mentre sono presenti dei picchi a circa 280 cm^{-1} e a 330 cm^{-1} e a circa 530 cm^{-1} [57, 58]. Questi picchi sono caratteristici degli ossidi di bismuto. Si può osservare che nei campioni a pH=14, in cui il picco caratteristico del gruppo NO_3^- risulta essere assente a causa delle maggiori quantità di NaOH utilizzati nel processo di preparazione. In questo caso si verifica una reazione di neutralizzazione che porta alla formazione di nitrato di sodio che viene eliminato nella fase di filtrazione sottovuoto.

Inoltre, in questi campioni sono presenti picchi caratteristici dell'ossido di bismuto con intensità maggiore. Pertanto, il processo di sintesi dell'ossido di bismuto risulta essere più efficace nei processi di sintesi a valori di pH maggiori.

Inoltre, si può osservare che, nei campioni preparati con maggiori quantità di PEG, i picchi caratteristici degli ossidi di bismuto risultano più attenuati. Pertanto, si può concludere che utilizzando elevate quantità di tensioattivo, il processo di sintesi dell'ossido di bismuto risulta essere meno efficace.

Capitolo 4

Conclusioni

Per questo lavoro di tesi è stata effettuata con successo la preparazione di 18 diversi campioni a base di bismuto utilizzando come elemento tensioattivo il polietilenglicole (PEG). Sono stati realizzati campioni con diverse quantità di NaOH. Successivamente sono stati realizzati campioni partendo da soluzioni con pH variabile e con diversi rapporti PEG:Bi. Tramite la spettroscopia Raman, è stato possibile verificare la presenza dell'ossido di bismuto tramite alcuni picchi caratteristici. Nei campioni preparati con minori quantità di NaOH e con valori di pH più bassi sono presenti tracce di NO_3^- a causa dell'utilizzo di nitrato di bismuto pentaidrato nel processo di sintesi. In questo caso sono stati sintetizzati ossinitrati di bismuto. I campioni sintetizzati a pH=14 risultano essere ossidi di bismuto poiché nello spettro Raman non sono presenti picchi caratteristici del gruppo NO_3^- . Tramite la voltammetria ciclica è stato osservato che i sensori modificati con i campioni preparati con diverse quantità di NaOH e con rapporto PEG:Bi=1:2 e rapporto PEG:Bi=1:4 dimostrano di avere un'efficacia superiore rispetto all'elettrodo serigrafato non modificato. Infatti, sono stati misurati picchi della corrente di ossidazione maggiore rispetto al picco della corrente di ossidazione dell'elettrodo non modificato. I sensori modificati con i campioni preparati a pH=14 risultano avere il valore più elevato del picco della corrente di ossidazione. Tra i 18 sensori modificati, il sensore realizzato con rapporto PEG:Bi=1:4 a pH=14 risulta essere quello con il valore più elevato del picco di corrente di ossidazione con un valore di $44,8 \pm 0,8 \mu\text{A}$. Tuttavia, i sensori modificati con i campioni preparati con rapporto PEG:Bi=1:4 presentano un valore di costante di velocità cinetica (k) inferiore rispetto a quello dell'elettrodo non modificato. Per tutti i sensori modificati con gli altri campioni con diversi rapporti di PEG:Bi e preparati con diverse quantità di NaOH sono stati ottenuti dei valori maggiori di costante di velocità cinetica. Pertanto, questi sensori sono stati coinvolti in reazioni più veloci. Gli elettrodi con rapporto PEG:Bi = 1:1 e con rapporto PEG:Bi=1:2 presentano i valori di differenza di potenziale più bassi. Per questi elettrodi è possibile avere una reazione reversibile con una probabilità maggiore rispetto all'elettrodo non modificato. Tutti i sensori modificati con i campioni preparati con diverse quantità di NaOH e con rapporto PEG:Bi=1:2 e rapporto PEG:Bi=1:4 presentano valori del coefficiente di diffusione maggiori rispetto a quello dell'elettrodo non modificato. L'elettrodo modificato con il campione con rapporto PEG:Bi=1:4 a pH=14 ha il valore di coefficiente di diffusione più elevato pari a $2,89 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$. Non sono stati riscontrati miglioramenti significativi nei valori della sensibilità degli elettrodi modificati. I sensori modificati con i campioni con rapporto PEG:Bi=1:2 e con rapporto PEG:Bi=1:4 a pH=14 presentano i valori maggiori di sensibilità e di limite di rilevamento. La migliore sensibilità è stata trovata per il sensore modificato con il campione con rapporto PEG:Bi=1:2 a pH=14 con un valore di $30,584 \pm 0,733 \mu\text{A}/\text{mM}$. Nonostante l'utilizzo di campioni per la modifica della superficie, non sono stati riscontrati miglioramenti nel parametro del limite di rilevamento calcolato. Infatti, l'elettrodo non modificato presenta un limite di rilevamento migliore con un valore pari a $2,249 \pm 0,051 \mu\text{M}$.

In futuro si potrebbe ottimizzare il processo di sintesi dei campioni e si potrebbe effettuare uno studio più approfondito sul ruolo del PEG per valutare i vantaggi del suo utilizzo realizzando un numero maggiore di campioni preparati con quantità diverse del tensioattivo. In alternativa si potrebbe valutare l'utilizzo di un diverso tensioattivo. Infine, si potrebbe ipotizzare di utilizzare

un metodo diverso dal drop casting per la modifica superficiale degli elettrodi in modo da ottenere errori minori sulle misurazioni effettuate con le soluzioni blank.

Bibliografia

1. Dhahi, T. S., Hashim, U. B., Ahmed, N. M., & Taib, A. M. (2010). A review on the electrochemical sensors and biosensors composed of nanogaps as sensing material. *Journal of optoelectronics and advanced materials*, 12(September 2010), 1857-1862.
2. Baranwal, J., Barse, B., Gatto, G., Broncova, G., & Kumar, A. (2022). Electrochemical sensors and their applications: a review. *Chemosensors*, 10(9), 363.
3. Hulanicki, A., Glab, S., & Ingman, F. O. L. K. E. (1991). Chemical sensors: definitions and classification. *Pure and applied chemistry*, 63(9), 1247-1250.
4. Balasubramanian, K., & Burghard, M. (2006). Biosensors based on carbon nanotubes. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 385, 452-468.
5. Anzai, J., Sakamura, K., Hasebe, Y., & Osa, T. (1993). Current awareness in biosensors & bioelectronics. *Biosens Bioelectron*, 8(6), 281.
6. Hernandez-Vargas, G., Sosa-Hernández, J. E., Saldarriaga-Hernandez, S., Villalba-Rodríguez, A. M., Parra-Saldivar, R., & Iqbal, H. M. (2018). Electrochemical biosensors: A solution to pollution detection with reference to environmental contaminants. *Biosensors*, 8(2), 29.
7. Edwards, G. A., Bergren, A. J., & Porter, M. D. (2007). Chemically modified electrodes. In *Handbook of electrochemistry* (pp. 295-327). Elsevier.
8. Blodgett, K. B. (1935). Films built by depositing successive monomolecular layers on a solid surface. *Journal of the American Chemical Society*, 57(6), 1007-1022.
9. Roberts, G. G. (1985). An applied science perspective of Langmuir-Blodgett films. *Advances in Physics*, 34(4), 475-512.
10. Hubbard, A. T. (1988). Electrochemistry at well-characterized surfaces. *Chemical Reviews*, 88(4), 633-656.
11. Das, S., Mitra, S., Khurana, S. P., & Debnath, N. (2013). Nanomaterials for biomedical applications. *Frontiers in life science*, 7(3-4), 90-98.
12. Mabrouk, M., Das, D. B., Salem, Z. A., & Beherei, H. H. (2021). Nanomaterials for biomedical applications: Production, characterisations, recent trends and difficulties. *Molecules*, 26(4), 1077.
13. Cao, Y. C. (2008). Nanomaterials for biomedical applications.
14. Park, K. S., Tae, J., Choi, B., Kim, Y. S., Moon, C., Kim, S. H., ... & Kim, S. (2010). Characterization, in vitro cytotoxicity assessment, and in vivo visualization of multimodal, RITC-labeled, silica-coated magnetic nanoparticles for labeling human cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 6(2), 263-276.
15. Liu, T., Tang, J. A., & Jiang, L. (2004). The enhancement effect of gold nanoparticles as a surface modifier on DNA sensor sensitivity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313(1), 3-7.
16. Harrison, B. S., & Atala, A. (2007). Carbon nanotube applications for tissue engineering. *Biomaterials*, 28(2), 344-353.
17. Chen, A., & Chatterjee, S. (2013). Nanomaterials based electrochemical sensors for biomedical applications. *Chemical Society Reviews*, 42(12), 5425-5438.
18. Zhou, Y., Dong, F., & Jin, S. (Eds.). (2018). *Bismuth: Advanced Applications and Defects Characterization*. BoD-Books on Demand.

19. Badrigilan, S., Heydarpanahi, F., Choupani, J., Jaymand, M., Samadian, H., Hoseini-Ghahfarokhi, M., ... & Tayebi, L. (2020). A review on the biodistribution, pharmacokinetics and toxicity of bismuth-based nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*, 7079-7096.
20. Bartoli, M., Jagdale, P., & Tagliaferro, A. (2020). A short review on biomedical applications of nanostructured bismuth oxide and related nanomaterials. *Materials*, 13(22), 5234.
21. Badrigilan, S., Choupani, J., Khanbabaei, H., Hoseini-Ghahfarokhi, M., Webster, T. J., & Tayebi, L. (2020). Bismuth-based nanomaterials: Recent advances in tumor targeting and synergistic cancer therapy techniques. *Advanced Healthcare Materials*, 9(7), 1901695.
22. Motakef Kazemi, N., & Sandalnia, M. (2020). In situ production and deposition of bismuth oxide nanoparticles on cotton fabric. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 44, 1217-1223.
23. Vivier, V., Régis, A., Sagon, G., Nedelec, J. Y., Yu, L. T., & Cachet-Vivier, C. (2001). Cyclic voltammetry study of bismuth oxide Bi₂O₃ powder by means of a cavity microelectrode coupled with Raman microspectrometry. *Electrochimica Acta*, 46(6), 907-914.
24. Gualtieri, A. F., Immovilli, S., & Prudenziati, M. (1997). Powder X-ray diffraction data for the new polymorphic compound ω -Bi₂O₃. *Powder Diffraction*, 12(2), 90-92.
25. Hardcastle, F. D., & Wachs, I. E. (1992). The molecular structure of bismuth oxide by Raman spectroscopy. *Journal of Solid State Chemistry*, 97(2), 319-331.
26. Rama, R., Meenakshi, S., Pandian, K., & Gopinath, S. C. B. (2022). Room temperature ionic liquids-based electrochemical sensors: an overview on paracetamol detection. *Critical reviews in analytical chemistry*, 52(6), 1422-1431.
27. Boumya, W., Taoufik, N., Achak, M., & Barka, N. (2021). Chemically modified carbon-based electrodes for the determination of paracetamol in drugs and biological samples. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 11(2), 138-154.
28. Tasić, Ž. Z., Mihajlović, M. B. P., Simonović, A. T., Radovanović, M. B., & Antonijević, M. M. (2021). Review of applied surface modifications of pencil graphite electrodes for paracetamol sensing. *Results in Physics*, 22, 103911.
29. Bosch, M. E., Sánchez, A. R., Rojas, F. S., & Ojeda, C. B. (2006). Determination of paracetamol: Historical evolution. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 42(3), 291-321.
30. Doğan, B., Elik, A., & Altunay, N. (2020). Determination of paracetamol in synthetic urea and pharmaceutical samples by shaker-assisted deep eutectic solvent microextraction and spectrophotometry. *Microchemical Journal*, 154, 104645.
31. Wójciak, A., Kasprzyk, H., Sikorska, E., Krawczyk, A., Sikorski, M., & Weselucha-Birczyńska, A. (2014). FT-Raman, FT-infrared and NIR spectroscopic characterization of oxygen-delignified kraft pulp treated with hydrogen peroxide under acidic and alkaline conditions. *Vibrational Spectroscopy*, 71, 62-69.
32. El-Kommos, M. E., Mohamed, N. A., & Abdel Hakiem, A. F. (2012). Selective reversed phase high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of some pharmaceutical binary mixtures containing NSAIDs. *Journal of liquid chromatography & related technologies*, 35(15), 2188-2202.
33. Madrakian, T., Afkhami, A., & Mohammadnejad, M. (2009). Second-order advantage applied to simultaneous spectrofluorimetric determination of paracetamol and mefenamic acid in urine samples. *Analytica chimica acta*, 645(1-2), 25-29.

34. Burgot, G., Auffret, F., & Burgot, J. L. (1997). Determination of acetaminophen by thermometric titrimetry. *Analytica chimica acta*, 343(1-2), 125-128.
35. Capella-Peiró, M. E., Bose, D., Rubert, M. F., & Esteve-Romero, J. (2006). Optimization of a capillary zone electrophoresis method by using a central composite factorial design for the determination of codeine and paracetamol in pharmaceuticals. *Journal of Chromatography B*, 839(1-2), 95-101.
36. Madrakian, T., Afkhami, A., & Mohammadnejad, M. (2009). Second-order advantage applied to simultaneous spectrofluorimetric determination of paracetamol and mefenamic acid in urine samples. *Analytica chimica acta*, 645(1-2), 25-29.
37. Belal, T., Awad, T., & Clark, R. (2009). Determination of paracetamol and tramadol hydrochloride in pharmaceutical mixture using HPLC and GC-MS. *Journal of chromatographic science*, 47(10), 849-854.
38. Shihana, F., Dissanayake, D., Dargan, P., & Dawson, A. (2010). A modified low-cost colorimetric method for paracetamol (acetaminophen) measurement in plasma. *Clinical toxicology*, 48(1), 42-46.
39. Sousa Pereira, A. C., Nunes da Silva, D., Sales Porto, L., & César Pereira, A. (2020). Development of electrochemical biosensor based on nanostructured carbon materials for paracetamol determination. *Electroanalysis*, 32(9), 1905-1913.
40. Cernat, A., Tertiş, M., Săndulescu, R., Bedioui, F., Cristea, A., & Cristea, C. (2015). Electrochemical sensors based on carbon nanomaterials for acetaminophen detection: A review. *Analytica Chimica Acta*, 886, 16-28.
41. Van Benschoten, J. J., Lewis, J. Y., Heineman, W. R., Roston, D. A., & Kissinger, P. T. (1983). Cyclic voltammetry experiment. *Journal of Chemical Education*, 60(9), 772.
42. Nematollahi, D., Shayani-Jam, H., Alimoradi, M., & Niroomand, S. (2009). Electrochemical oxidation of acetaminophen in aqueous solutions: Kinetic evaluation of hydrolysis, hydroxylation and dimerization processes. *Electrochimica Acta*, 54(28), 7407-7415.
43. Liu, G. Q., Zhong, H., Li, X. R., Yang, K., Jia, F. F., Cheng, Z. P., ... & Qian, H. Y. (2017). Research on nonenzymatic electrochemical sensor using HO-BiONO₃ nanocomposites for glucose detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 242, 484-491.
44. Das, R. S., & Agrawal, Y. K. (2011). Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications. *Vibrational spectroscopy*, 57(2), 163-176.
45. Rostron, P., Gaber, S., & Gaber, D. (2016). Raman spectroscopy, review. *laser*, 21, 24.
46. Mulvaney, S. P., & Keating, C. D. (2000). Raman spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 72(12), 145-158.
47. John, N., & George, S. (2017). Raman spectroscopy. In *Spectroscopic methods for nanomaterials characterization* (pp. 95-127). Elsevier.
48. Movasaghi, Z., Rehman, S., & Rehman, I. U. (2007). Raman spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 42(5), 493-541.
49. Kissinger, P. T., & Heineman, W. R. (1983). Cyclic voltammetry. *Journal of chemical education*, 60(9), 702.
50. Eckermann, A. L., Feld, D. J., Shaw, J. A., & Meade, T. J. (2010). Electrochemistry of redox-active self-assembled monolayers. *Coordination chemistry reviews*, 254(15-16), 1769-1802.
51. Bard, A. J., Faulkner, L. R., & White, H. S. (2022). *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.

52. Laviron, E. (1979). General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 101(1), 19-28.
53. Hui, N., Gao, R. F., Li, X. Q., Sun, W., & Jiao, K. (2009). Direct electrochemistry of hemoglobin immobilized in polyvinylalcohol and clay composite film modified carbon ionic liquid electrode. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20, 252-258.
54. Archer, M. D. (1989). Genesis of the Nernst equation.
55. González-Meza, O. A., Larios-Durán, E. R., Gutiérrez-Becerra, A., Casillas, N., Escalante, J. I., & Bárcena-Soto, M. (2019). Development of a Randles-Ševčík-like equation to predict the peak current of cyclic voltammetry for solid metal hexacyanoferrates. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 23, 3123-3133.
56. Fontana, M. D., Mabrouk, K. B., & Kauffmann, T. H. (2013). Raman spectroscopic sensors for inorganic salts. *Spectrosc. Prop. Inorg. Organomet. Compd*, 44, 40-67.
57. Al-Ghamdi, A. A., Al-Turki, Y., Aal, N. A., Yakuphanoglu, F., & El-Tantawy, F. (2017). Microwave—assisted hydrothermal synthesis of monoclinic bismuth trioxide nanorods: optical and photocatalytic properties. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 28, 8684-8693.
58. Franceschini, F., Bartoli, M., Tagliaferro, A., & Carrara, S. (2021). Electrodes for paracetamol sensing modified with bismuth oxide and oxynitrate heterostructures: an experimental and computational study. *Chemosensors*, 9(12), 361.