

**UNITATEA EXECUTIVĂ PENTRU
FINANȚAREA ÎNVĂȚĂMÂNTULUI
SUPERIOR, CERCETĂRII,
DEZVOLTĂRII ȘI INOVĂRII**

**PROGRAM PN-III
PN-III-P4-ID-PCE-2016-0120**

**CONTRACTOR
Institutul Național de Cercetare
Dezvoltare pentru Electrochimie și
Materie Condensată**

Nr. Contract 46/2017

**Microsenzori stocastici utilizați la determinarea
biomarkerilor specifici diabetului
SCREENSTOCDIA**

Raport științific în extenso

**Etapa 1 - Selectarea materialelor și construcția senzorilor
electrochimici - 2017**

Director de proiect
CSI, Prof. Dr. habil. RALUCA-IOANA VAN STADEN

În această etapă s-au selectat diferite materiale pentru designul senzorilor care urmează să fie utilizați la determinarea biomarkerilor specifici diabetului. Astfel, pentru matrice s-au ales materiale bazate pe matrice din carbon: grafit, diamant, grafene simple și modificate cu nanoparticule de metale, materiale textile și ceramice. Ca și materiale utilizate ca modificatori de matrice, s-au ales din clasele: porfirinelor, ftalocianinelor, dextrinelor, inulinelor. Ca și suport pentru suprafețele active s-au ales: hârtia, materialele textile, plasticul neconductor. Achiziționarea 3D-printerului a făcut posibilă obținerea primilor senzori având suprafețe active cu diametre de ordinul câtorva micrometri, suprafețe reproductibile ca formă și dimensiune. Un exemplu de senzor combinat obținut prin printare 3D este prezentat în Schema 1:



Schema 1 Senzor combinat obținut prin printare 3D

Până la terminarea Etapei 1 senzorii stocastici construiți au fost testați pentru hormonii tiroidieni, acid piruvic, acid folic, insulină, proinsulină, adiponectina, proteina C-reaktivă și zinc liber. Cele mai relevante rezultate sunt prezentate în acest raport.

Determinarea simultană a hormonilor tiroidieni în sange

Alegerea hormonilor tiroidieni ca punct de plecare în acest proiect este datorată importanței pe care aceștia îl au în șirul de reacții biochimice care au loc în corpul uman. Astfel, am propus o metodă rapidă și fiabilă pentru screening-ul sângelui pentru TSH, L-T₄, L-T₃ și D-T₄ utilizând senzori stocastici. Șase microsenzori stocastici bazați pe amestecuri de inuline: Frutafruit TEX (TEX) și inulină Inutec (IN), cu lichide ionice: L-fenilalanină-terț-butil-ester-lactat (L-PheC₄-Lac), L-Alanină-terț-butil-ester-L-lactat (L-AlaC₄-Lac) și L-alanină-terț-butil-ester-nitrat (L-AlaC₄-NO₃), fizic immobilizate în matrice de pastă de diamant.

Design-ul microsenzorilor

Matricea selectată a fost pasta de diamant modificată (DP). Lichidele ionice cum ar fi L-fenilalanină-terț-butil-ester-lactat (L-PheC₄-Lac), L-Alanină terț-butil ester L-lactat (L-AlaC₄-Lac), L-Alanină terț-butil ester nitrat (L-AlaC₄-NO₃) și inulinele TEX și IN au fost selectate ca modificatori. Pentru prepararea pastei de diamant s-a folosit pudră de diamant monocristalină naturală amestecată cu ulei de parafină. 12 μl din soluția de lichid ionic (10⁻³ moli/L) și 12 μl din soluția de inulină (10⁻³ moli/L) se adauga la 100 mg pastă de diamant pentru a realiza șase paste modificate.

Fiecare pastă modificată a fost plasată într-un tub de plastic cu diametrul interior al suprafeței active de 300 μm. Contactul electric a fost obținut utilizând un fir de Ag introdus în pasta modificată. Suprafața microsenzorului a fost reînnoită prin lustruire cu hârtie de aluminiu și spălat cu apă deionizată înainte de utilizare. Când nu se utilizează, microelectrozii au fost depozitați într-un loc uscat la temperatura camerei.

Proceduri recomandate: metoda stocastică

Toate măsurătorile stocastice au fost efectuate utilizând cronoamperometria la un potențial constant de 125mV. Celula electrochimică a fost umplută cu probe de sânge (asa cum a fost prelevat de la pacienti). Valorile t_{off} (semnături ale hormonilor tiroidieni) au fost identificate pentru TSH, f-L-T₄, f-L-T₃ și f-D-T₄ (Figura 1). Valorile de t_{on} au fost determinate și s-au obținut concentrațiile necunoscute de TSH, f-L-T₄, f-L-T₃ și f-D-T₄ prin introducerea valorii $1/t_{on}$ în ecuația de calibrare ($1/t_{on} = f(\text{conc})$).

Pregătirea probelor

Probele de sânge au fost obținute de la 9 pacienți care au fost anterior evaluați în cadrul Spitalului Universitar Elias de Urgență din București. Toate aceste experimente au fost efectuate în conformitate cu recomandarile de etica ale UE și au fost aprobate de comitetul de etică medicală de la Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București, România (aprobarea comitetului de etică nr. 11/2013). Celula aparatului a fost umplută cu probe de sânge și s-au efectuat măsurătorile. Concentrațiile necunoscute au fost determinate din graficele de calibrare descrise mai sus în secțiunea Procedură recomandată.

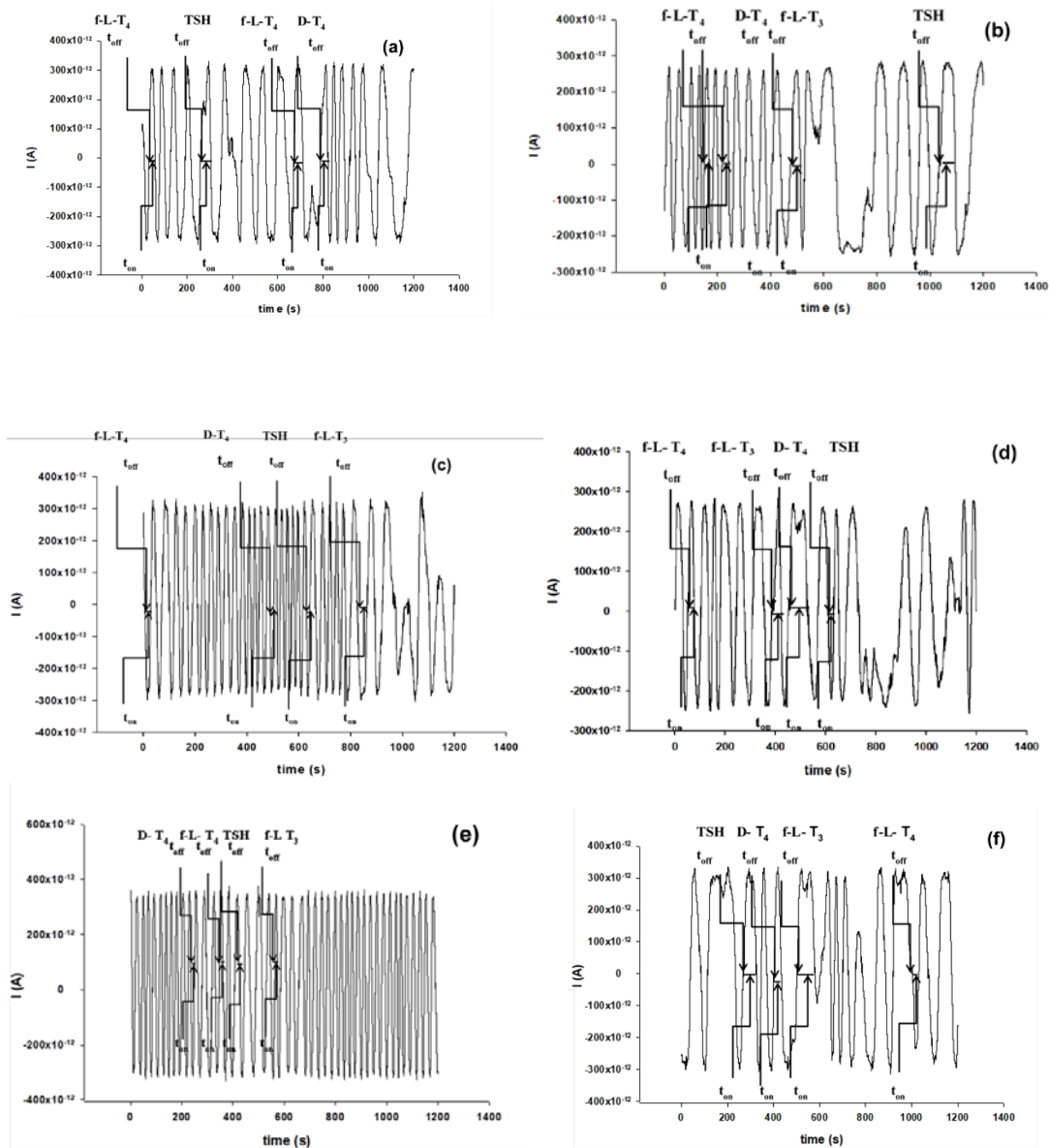


Figura 1. Screening-ul probelor de sânge pentru f-L-T₃, f-L-T₄, f-D-T₄ și TSH utilizând microsenzorul bazat pe: (a) IN-L-Ala-C₄-NO₃; (b) IN-L-Ala-L-Lac; (c) IN-L-Phe-C₄-L-Lac; (d) TEX-L-Ala-C₄-NO₃; (e) TEX-L-Ala-L-Lac; (f) TEX-L-Phe-C₄-L-LAC.

Caracteristicile de răspuns ale senzorilor stocastici

Tabelul 1 prezintă caracteristicile de răspuns ale senzorilor stocastici utilizați la determinarea TSH, f-L-T₄, f-L-T₃ și f-D-T₄. Există o diferență semnificativă între semnaturile obținute pentru TSH, f-L-T₄, f-L-T₃ și f-D-T₄ când diferiți senzori au fost testați; acest lucru demonstrează că TSH, f-L-T₄, f-L-T₃ și f-D-T₄ pot fi determinați simultan în probele de sânge. Toți senzorii au prezentat o sensibilitate ridicată pentru analiza simultană a TSH, f-L-T₄, f-L-T₃ și f-D-T₄. Cea mai mică limită de determinare obținută pentru f-L-T₃ a fost obținută pentru senzorul bazat pe IN-L-Ala-C₄-L-lac, în timp ce pentru f-L-T₄ cea mai mică limită de determinare s-a obținut când senzorul bazat pe IN-L-Phe-lac a fost utilizat. Pentru determinarea f-D-T₄ cea mai mică limită de determinare a fost dată de senzorul bazat pe TEX-L-Ala-C₄-L-lac. Pentru testarea TSH, nu s-au înregistrat diferențe în limitele de determinare obținute cu cei șase senzori stocastici. Luând în considerare semnaturile obținute pentru cei patru hormoni și caracteristicile de răspuns ale senzorilor testați, senzorul preferat pentru analiza simultană a TSH, f-L-T₄, f-L-T₃ și f-D-T₄ este cel bazat pe TEX-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac.

Senzorii au fost utilizați mai mult de 3 luni pentru măsuratori ale sângelui, timp în care variațiile valorilor sensibilităților lor nu au depășit 1,00%, dovedind că senzorii sunt stabili pentru această perioadă.

Selectivitatea senzorilor stocastici este dată de valorile semnăturilor diferitelor analiti care trebuie măsurați sau care există în matricea care trebuie analizată. Senzorii au fost testați pentru f-L-T₃, f-L-T₄, f-D-T₄, TSH valori diferite obținându-se pentru fiecare dintre aceștia când fiecare senzor a fost testat (Tabelul 1). Valorile diferite obținute pentru semnături au făcut posibilă identificarea corectă a semnalului hormonilor din diagrame (Figura 1) și, prin urmare, o analiză calitativă fiabilă urmată de analiză cantitativă.

Tabel 1. Caracteristicile de răspuns ale microsenzorilor stocastici bazați pe inuline și lichide ionice, pentru determinarea simultana a f-L-T₄, f-D-T₄, f-L-T₃ și TSH.

Microsenzori bazați pe:	Semnătură (t _{off})	Sensibilitate	Domeniul liniar de concentrație	Limită de cuantificare:	Ecuatie de calibrare; coeficient de corelare
f-L-T₃ (mol/L s⁻¹)					
IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	1	3.08x10 ¹⁰	4x10 ⁻¹³ -10 ⁻¹²	4x10 ⁻¹³	1/t _{on} =0.04+3.08x10 ¹⁰ xC; r=0.9967
IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	1	4.02x10 ⁹	8x10 ⁻¹² -4x10 ⁻¹²	8x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.02+4.02x10 ⁹ xC; r=0.9977
IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	1	3.00x10 ¹⁰	2x10 ⁻¹² -8x10 ⁻¹²	2x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.05+3x10 ¹⁰ xC; r=0.9295
TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	1.7	2.63x10 ⁹	6x10 ⁻¹² -10 ⁻¹¹	6x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.03+2.63x10 ⁹ xC; r=0.9959
TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	0.7	7.21x10 ¹⁰	10 ⁻¹² -4x10 ⁻¹³	1x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.01+7.21x10 ¹⁰ xC; r=0.9973
TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	0.7	2.28x10 ⁷	10 ⁻⁹ -10 ⁻¹¹	1x10 ⁻⁹	1/t _{on} =0.05+2.28x10 ⁷ xC; r=0.0986
f-L-T₄ (mol/L s⁻¹)					
IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	0.7	5.44x10 ⁸	8x10 ⁻¹² -10 ⁻¹⁰	8x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.03+5.44x10 ⁸ xC; r=0.9833
IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	0.7	5.93x10 ⁹	10 ⁻¹² -4x10 ⁻¹²	1x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.03+5.93x10 ⁹ xC; r=0.9833
IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	0.7	5.41x10 ⁹	8x10 ⁻¹³ -2x10 ⁻¹²	8x10 ⁻¹³	1/t _{on} =0.01+5.41x10 ⁹ xC; r=0.9561
TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	1.3	5.62x10 ⁶	10 ⁻¹⁰ -10 ⁻⁸	1x10 ⁻¹⁰	1/t _{on} =0.01+5.62x10 ⁶ xC; r=0.9985
TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	0.5	1.21x10 ⁸	8x10 ⁻¹² -10 ⁻¹⁰	8x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.03+1.21x10 ⁸ xC; r=0.9361
TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	1.1	5.97x10 ⁸	8x10 ⁻¹² -10 ⁻¹⁰	8x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.01+5.97x10 ⁸ xC; r=0.9937
D-T₄ (mol/L s⁻¹)					
IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	2.1	2.63x10 ⁴	10 ⁻⁶ -10 ⁻⁸	1x10 ⁻⁶	1/t _{on} =0.03+2.63x10 ⁴ xC; r=0.9758
IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	1.1	2.2x10 ⁹	6x10 ⁻¹² -x10 ⁻¹¹	6x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.02+2.2x10 ⁹ xC; r=0.9991
IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	0.4	3.56x10 ⁹	4x10 ⁻¹² -8x10 ⁻¹²	4x10 ⁻¹²	1/t _{on} =0.02+3.56x10 ⁹ xC; r=0.9543
TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	2.4	4.8x10 ¹⁰	4x10 ⁻¹³ -10 ⁻¹²	4x10 ⁻¹³	1/t _{on} =- 0.007+4.8x10 ¹⁰ xC; r=0.995
TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	1.0	3.14x10 ²	10 ⁻⁶ -10 ⁻⁴	1x10 ⁻⁶	1/t _{on} =0.04+3.14x10 ² xC; r=0.9411
TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	1.8	9.48x10 ⁹	8x10 ⁻¹³ -2x10 ⁻¹²	8x10 ⁻¹³	1/t _{on} =0.01+9.48x10 ⁹ xC; r=0.9981
TSH (UI/L)					
IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	0.4	2.96x10 ⁻¹	5.6x10 ⁻⁴ -5.6x10 ⁻²	5.6x10 ⁻⁴	1/t _{on} =0.02+2.96x10 ⁻¹ xC; r=0.9994
IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	1.2	5.89x10 ⁻⁴	5.6x10 ⁻¹ -5.6x10 ¹	5.6x10 ⁻¹	1/t _{on} =0.03+5.89x10 ⁻⁴ xC; r=0.9998
IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	0.6	3.52x10 ³	5.6x10 ⁻⁸ -5.6x10 ⁻⁶	5.6x10 ⁻⁸	1/t _{on} =0.03+3.52x10 ³ xC; r=0.9994
TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	0.3	4.34x10 ³	5.6x10 ⁻⁸ -5.6x10 ⁻⁶	5.6x10 ⁻⁸	1/t _{on} =0.02+4.34x10 ³ xC; r=0.9996

TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	1.2	2.24x10 ⁻¹	5.6x10 ⁻⁶ -5.6x10 ⁻⁴	5.6x10 ⁻⁶	1/t _{on} =0.03+2.24x10 ⁻¹ xC; r=0.9993
TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	0.4	7.06x10 ³	5.6x10 ⁻⁸ -5.6x10 ⁻⁶	5.6x10 ⁻⁸	1/t _{on} =0.02+7.06x10 ³ xC; r=0.9788

Aplicații analitice

Caracteristicile de răspuns, selectivitatea și fiabilitatea microsenzorilor fac posibilă analiza simultană a f-L-T₃, f-L-T₄, f-D-T₄ și TSH în probele de sânge. Probele de sânge au fost analizate imediat ce au fost colectate de la cei nouă pacienți, fara o prelucrare prealabila. Diagramele au fost înregistrate (Figura 1) și semnăturile (valorile t_{off}) identificate pentru f-L-T₃, f-L-T₄, f-D-T₄ și TSH în fiecare diagramă. După identificarea semnăturii pentru fiecare biomarker (f-L-T₃, f-L-T₄, f-D-T₄ și TSH), valoarea t_{on} corespunzătoare a fost citită (vezi Figura 1) și introdusă în ecuația de calibrare a fiecărui senzor, pentru a obține valoarea concentrației.

Tabel 2. Determinarea f-L-T₄, f-D-T₄, f-L-T₃ și TSH în probele de sânge utilizând microsenzorii stocastici.

Nr. Probă	Microsenzori bazați pe	f-L-T ₃ (ng/dL)	f-L-T ₄ (ng/dL)	f-D-T ₄ (ng/dL)	TSH (μUI/mL)
1	IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	53.99±0.21	6.99±0.01	0.16±0.01	0.056±0.003
	IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	54.05±0.20	6.00±0.05	0.14±0.01	0.061±0.002
	IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	54.21±0.19	6.81±0.05	0.14±0.02	0.060±0.003
	TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	53.93±0.20	7.08±0.03	0.17±0.02	0.067±0.003
	TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	54.28±0.18	6.06±0.02	0.13±0.03	0.049±0.002
	TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	54.10±0.10	6.78±0.01	0.19±0.02	0.046±0.002
2	IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	108.06±0.18	1.38±0.05	0.09±0.02	1.440±0.009
	IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	107.95±0.18	1.20±0.02	0.06±0.01	1.400±0.004
	IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	107.21±0.21	1.80±0.07	0.10±0.01	1.600±0.005
	TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	107.33±0.19	1.28±0.04	0.12±0.02	1.610±0.004
	TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	108.21±0.20	1.30±0.02	0.13±0.02	1.609±0.004
	TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	108.08±0.11	1.27±0.02	0.09±0.01	1.590±0.003
3	IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	143.00±0.18	1.000±0.005	0.011±0.003	2.020±0.005
	IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	143.02±0.15	1.020±0.007	0.010±0.002	1.920±0.005
	IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	145.60±0.13	0.991±0.003	0.015±0.002	2.190±0.003
	TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	145.69±0.13	0.978±0.005	0.015±0.005	2.000±0.004
	TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	143.78±0.12	0.956±0.006	0.017±0.002	1.940±0.003
	TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	142.56±0.10	0.966±0.003	0.016±0.001	1.720±0.002
4	IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	11.72±0.17	3.90±0.03	0.12±0.02	0.028±0.005
	IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	11.22±0.15	4.10±0.03	0.11±0.02	0.023±0.005
	IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	11.36±0.17	4.66±0.07	0.15±0.01	0.030±0.002
	TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	11.98±0.12	4.25±0.02	0.12±0.01	0.024±0.002
	TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	11.24±0.12	4.52±0.05	0.17±0.03	0.029±0.007
	TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	12.08±0.11	4.88±0.03	0.11±0.01	0.023±0.001
5	IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	106.21±0.20	1.38±0.02	0.05±0.01	0.330±0.012
	IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	104.96±0.18	1.37±0.02	0.05±0.02	0.390±0.012
	IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	106.00±0.18	1.37±0.03	0.06±0.01	0.330±0.015
	TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	105.92±0.22	1.27±0.05	0.06±0.01	0.360±0.013
	TEX-L-Phe-C ₄ -L-lac	105.33±0.15	1.39±0.01	0.07±0.02	0.330±0.017
	TEX-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	106.02±0.11	1.39±0.03	0.05±0.01	0.308±0.011
6	IN-L-Ala-C ₄ -L-lac	170.02±0.22	1.08±0.02	0.08±0.01	0.451±0.011
	IN-L-Phe-C ₄ -L-lac	179.21±0.15	1.31±0.04	0.07±0.02	0.414±0.012
	IN-L-Ala-C ₄ -NO ₃ -L-lac	178.24±0.15	1.13±0.03	0.08±0.01	0.482±0.012
	TEX-L-ala-C ₄ -L-lac	176.66±0.18	1.20±0.02	0.08±0.01	0.445±0.021

	TEX-L-Phe-C₄-L-lac	177.22±0.10	1.24±0.03	0.09±0.02	0.443±0.010
	TEX-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	173.23±0.12	1.27±0.02	0.08±0.01	0.453±0.010
7	IN-L-Ala-C₄-L-lac	163.34±0.18	1.25±0.05	0.09±0.02	1.410±0.008
	IN-L-Phe-C₄-L-lac	164.00±0.18	1.22±0.03	0.10±0.01	1.370±0.008
	IN-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	161.40±0.15	1.34±0.03	0.08±0.01	1.390±0.009
	TEX-L-ala-C₄-L-lac	162.50±0.17	1.21±0.05	0.08±0.01	1.430±0.007
	TEX-L-Phe-C₄-L-lac	164.06±0.11	1.30±0.02	0.09±0.02	1.360±0.007
	TEX-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	164.03±0.12	1.30±0.02	0.10±0.01	1.359±0.005
8	IN-L-Ala-C₄-L-lac	55.48±0.11	0.776±0.009	0.017±0.002	7.200±0.009
	IN-L-Phe-C₄-L-lac	55.59±0.12	0.771±0.012	0.015±0.002	7.150±0.009
	IN-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	55.62±0.12	0.771±0.011	0.014±0.003	7.610±0.011
	TEX-L-ala-C₄-L-lac	55.27±0.13	0.729±0.009	0.017±0.003	7.470±0.012
	TEX-L-Phe-C₄-L-lac	55.53±0.11	0.731±0.011	0.015±0.002	7.000±0.009
	TEX-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	54.09±0.11	0.729±0.013	0.010±0.002	7.240±0.009
9	IN-L-Ala-C₄-L-lac	59.93±0.11	1.12±0.03	0.011±0.003	2.149±0.011
	IN-L-Phe-C₄-L-lac	59.98±0.11	1.15±0.02	0.012±0.003	2.180±0.012
	IN-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	60.60±0.12	1.11±0.01	0.011±0.023	2.200±0.012
	TEX-L-ala-C₄-L-lac	60.67±0.13	1.13±0.01	0.010±0.003	2.198±0.015
	TEX-L-Phe-C₄-L-lac	60.22±0.10	1.16±0.02	0.010±0.001	2.230±0.013
	TEX-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	60.63±0.08	1.17±0.01	0.009±0.001	2.159±0.013

Rezultatele prezentate în Tabelul 2 au arătat o bună corelație între rezultatele obținute pentru analiza f-L-T₃, f-L-T₄, f-D-T₄ și TSH în probele de sânge.

Tabel 3. Testele de recovery pentru f-L-T₄, f-D-T₄, f-L-T₃ și TSH în probele de sânge.

Microsenzori bazați pe	f-L-T ₃	f-L-T ₄	f-D-T ₄	TSH
	%, Regăsire	%, Regăsire	%, Regăsire	%, Regăsire
IN-L-Ala-C₄-L-lac	98.92±0.09	98.70±0.05	99.22±0.04	99.21±0.02
IN-L-Phe-C₄-L-lac	98.72±0.09	98.99±0.05	99.05±0.04	99.20±0.02
IN-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	98.90±0.08	98.01±0.06	98.98±0.05	99.43±0.03
TEX-L-ala-C₄-L-lac	98.50±0.07	98.20±0.07	98.32±0.05	99.32±0.02
TEX-L-Phe-C₄-L-lac	99.01±0.07	99.03±0.07	99.99±0.02	99.99±0.02
TEX-L-Ala-C₄-NO₃-L-lac	99.24±0.08	99.56±0.04	99.93±0.04	99.98±0.02

Testele de recovery au fost efectuate prin compararea cantităților de f-L-T₃, f-L-T₄, f-D-T₄ și TSH determinate în probe de sânge folosind ELISA (metoda standard) și microsenzorii propuși. Valorile obținute în testele de recovery (Tabelul 3) arată pentru fiecare senzor și fiecare compus o corelație foarte bună între cantitatea de compus găsită utilizând microsenzorii propuși și cantitatea aceluiași compus găsit în proba de sânge utilizând ELISA. Toate deviațiile relative standard înregistrate au fost mai mici de 1,00%, dovedind o precizie ridicată și fiabilitatea măsurătorilor.

Recunoașterea moleculară a acidului piruvic și a acidului folic din probele de sânge

Trei microsenzori stocastici bazați pe imobilizarea α , β și γ -ciclodextrinelor (CD) într-o pastă de nanocompozit de grafenă modificată cu TiO_2Pt ($\text{TiO}_2\text{Pt/rGO}$), au fost construiți pentru recunoașterea moleculară a acidului piruvic și acidului folic din probele de sânge integral. Principalul avantaj al utilizării grafenelor față de alte materiale utilizate pentru designul senzorilor stocastici este că nanostructura lor poate susține mai bine canalul CD-lor necesare pentru măsurătorile stocastice.

Designul microsenzorilor stocastici bazați pe $\text{TiO}_2\text{Pt/rGO}$

Uleiul de parafină a fost adăugat la pulberea de $\text{TiO}_2\text{Pt/rGO}$ până când s-a format o pastă omogenă. La fiecare pastă, s-a adăugat modificatorul (soluție stoc de 10^{-3} mol/L pentru α -, β - și γ -ciclodextrine) pentru a se forma pasta modificată. Fiecare pastă modificată (obținută prin amestecul fizic dintre nanocompozitul grafenic, uleiul de parafină și soluția de CD) a fost inserată într-un tub de plastic cu un diametru al situsului activ de 250 μm . Contactul electric a fost realizat folosind un fir de Ag. Când nu se utilizează, microsenzorii stocastici sunt depozitați la temperatura camerei, într-un loc uscat.

Pentru măsurarea parametrului calitativ (t_{off}) și a parametrului cantitativ (t_{on}), s-a utilizat modul stocastic la un potențial constant (125 mV față de Ag/AgCl) și a fost utilizat atât pentru recunoașterea moleculară (analiza calitativă), cât și pentru analiza cantitativă a acizilor piruvic și folic (Figura 2). Semnăturile acizilor (valorile t_{off} prezentate în Tabelul 4) au fost utilizate pentru a identifica în fiecare diagramă acidul piruvic și acidul folic; după identificarea lor, valorile t_{on} au

fost citite și folosite pentru determinarea concentrațiilor de acid piruvic și folic din probele de sânge integral, utilizând ecuația: $1 / \text{ton} = a + b \times \text{Conc}$.

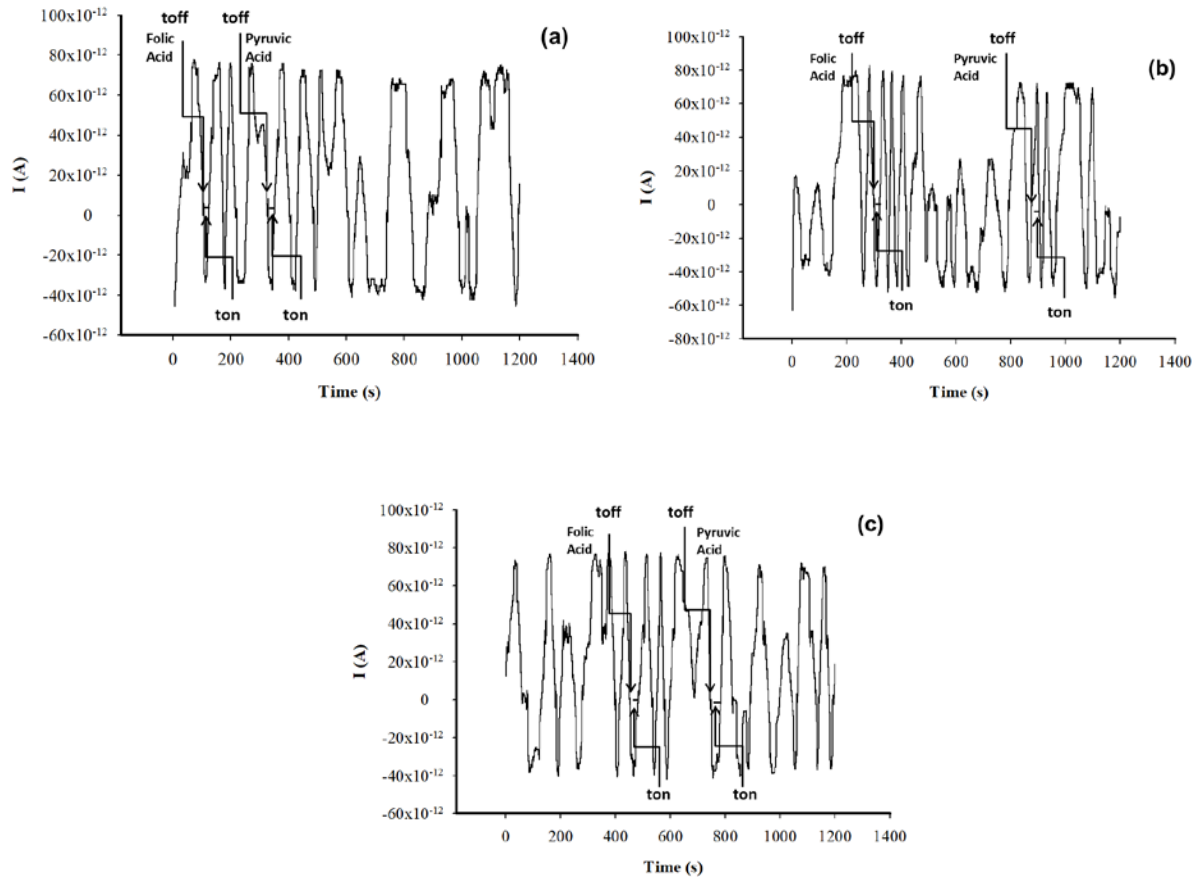


Figura 2 Diagramele obținute pentru testul de screening al sângelui folosind senzorii bazați pe pastă de $\text{Pt-TiO}_2/\text{rGO}$ și (a) α -CD, (b) β -CD și (c) γ -CD.

Probele de sange

16 probe de sânge au fost colectate de la pacienții internați în cadrul Spitalului Universitar din București (prin aprobarea Comitetului de Etică nr. 75/2015). Probele au fost testate folosind senzorii multimod, fără nici un tratament de prelucrare anterioară.

Analiza TEM-EDS a compozitului TiO₂Pt/rGO

O imagine TEM reprezentativă a compozitului TiO₂Pt/rGO este prezentată în Figura 3a. Foile de grafene sunt foarte subțiri fiind compuse din 2-3 straturi și sunt decorate cu nanoparticule de TiO₂Pt (cu dimensiuni sub 50 nm). Suprafața grafenului ondulat, precum și prezența nanoparticulelor de TiO₂Pt conduc la creșterea suprafeței active a pastei de electrod. Hărțile elementare ale Ti, Pt și O din probă pot fi observate în Figura 3b-e. Un număr mic de nanoparticule de Pt au fost identificate prin cartografierea EDS (Figura 3d) datorită concentrației scăzute de acid hexacloroplatinic utilizat pentru sinteza compozitului de TiO₂Pt.

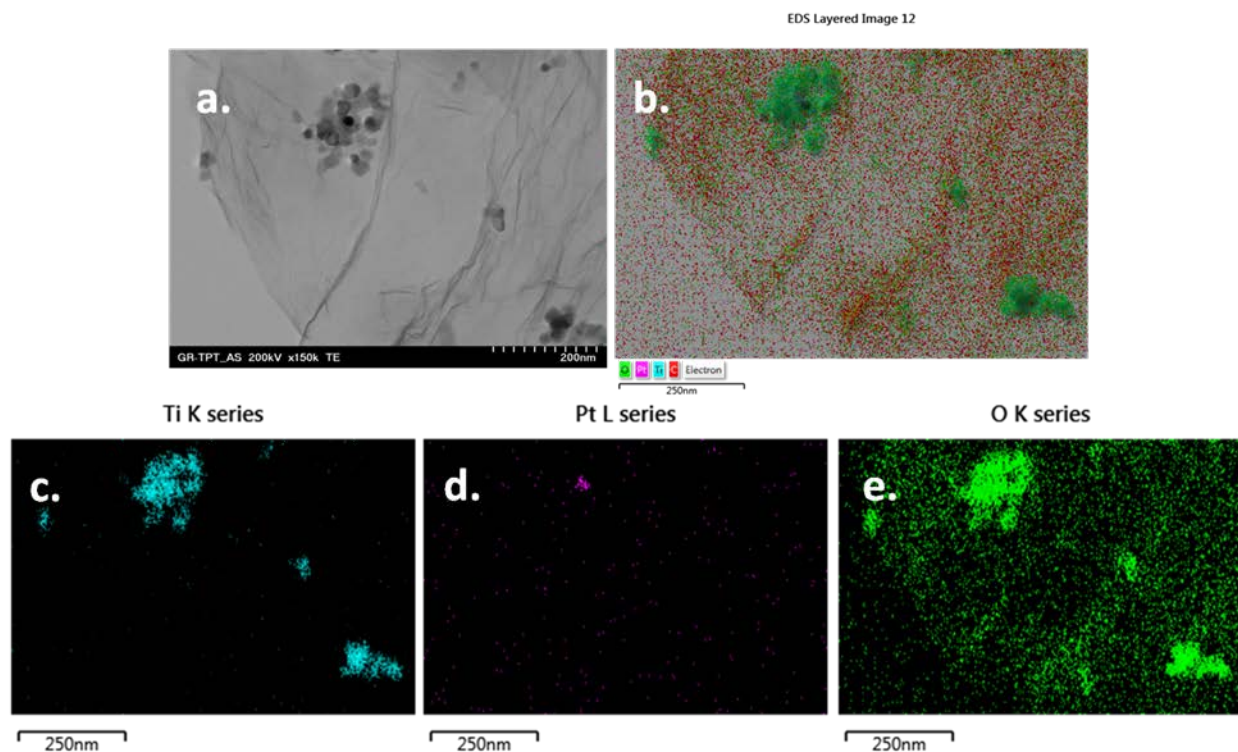


Figura 3 Imaginea TEM reprezentativă a probei de TiO₂Pt/rGO (a) – pe scara de 200 nm; hărți elementare ale Ti, Pt și O în aceeași probă (b-e).

Caracteristicile de răspuns ale microsenzorilor stocastici utilizați pentru analiza acizilor folic și piruvic

În Tabelul 4 sunt prezentate caracteristicile de răspuns ale microsenzorilor stocastici construiți pentru analiza acizilor folic și piruvic. Semnăturile acidului piruvic și acidului folic (valorile t_{off}) sunt diferite pentru același microsenzor; în consecință, acești acizi pot fi determinați simultan din aceeași probă, cu microsenzorul propus.

Tabelul 1. Caracteristicile de răspuns ale senzorilor stocastici utilizați pentru determinarea acizilor piruvic și folic.

Microsenzor pe bază de pastă de Pt-TiO ₂ /rGO, modificați cu	Ecuatia de calibrare* și coeficientul de corelare (r)	Domeniul liniar de concentrații (mol/L)	t_{off} (s)	Sensibilitatea (s ⁻¹ /mol mL ⁻¹)	Limita de determinare (mol/L)
Acidul piruvic					
α-CD	$1/t_{on}=0.04 + 3.86 \times 10^6 \times C$ r=0.9995	$1.0 \times 10^{-10} - 1.0 \times 10^{-8}$	1.8	3.86×10^6	1.0×10^{-10}
β-CD	$1/t_{on}=0.05 + 3.47 \times 10^5 \times C$ r=0.9999	$1.0 \times 10^{-9} - 1.12 \times 10^{-7}$	1.2	3.47×10^5	1.0×10^{-9}
γ-CD	$1/t_{on}=0.05 + 5.42 \times 10^6 \times C$ r=0.9999	$1.00 \times 10^{-10} - 1.00 \times 10^{-8}$	1.2	5.42×10^6	1.00×10^{-10}
Acidul folic					
α-CD	$1/t_{on}=0.05 + 3.44 \times 10^7 \times C$ r=0.9999	$1.00 \times 10^{-11} - 1.00 \times 10^{-9}$	2.5	3.44×10^7	1.00×10^{-11}
β-CD	$1/t_{on}=0.02 + 3.21 \times 10^7 \times C$ r=0.9999	$1.00 \times 10^{-11} - 1.00 \times 10^{-9}$	1.5	3.21×10^7	1.00×10^{-11}
γ-CD	$1/t_{on}=0.03 + 2.24 \times 10^4 \times C$ r=0.9999	$1.00 \times 10^{-11} - 1.00 \times 10^{-6}$	2.0	2.24×10^4	1.00×10^{-11}

* $\langle 1/t_{on} \rangle = s^{-1}$; $\langle C \rangle = mol/L$

Cel mai mare domeniu de concentrație liniară pentru analiza acidului folic a fost obținut cu microsenzorul bazat pe γ-CD. Cele mai bune sensibilități pentru analiza acidului piruvic s-au

obținut cu ajutorul microsenzorilor bazați pe α și γ -CD (ambele au aceeași ordine de mărime), în timp ce pentru analiza acidului folic cea mai bună sensibilitate a fost obținută atunci când a fost folosit microsensorul bazat pe α -CD. Limitele de determinare înregistrate pentru acidul folic au fost aceleași pentru cei trei microsenzori, în timp ce pentru analiza acidului piruvic, cele mai scăzute valori au fost obținute atunci când au fost utilizați microsenzorii bazați pe α - și γ -CD. Caracteristicile de raspuns ale senzorilor au evidențiat faptul ca pentru analiza simultană a acizilor folic și piruvic, cel mai bun senzor este cel bazat pe α -CD. Senzorii stocastici propuși acopera domeniile de concentrații pentru acidul folic (4,5-45,3 nmol/L) și pentru acidul piruvic (8-160 nmol/L) pentru pacienții sănătoși, precum și intervale mai mici și mai mari de concentrații favorizând de asemenea determinarea acizilor piruvic și folic din probele de sânge integral provenite de la indivizi bolnavi.

Au fost verificate interferențele față de neurotransmițători precum dopamina, epinefrina, norepinefrina. Au fost obținute semnături diferite (valori t_{off}) pentru interferențele propuse și, în consecință, microsenzorii propuși sunt selectivi. Acest lucru s-a întâmplat deoarece nu are loc reactivitatea încrucișată prin utilizarea acestei metode, mecanismul răspunsului senzorilor stocastici fiind bazat pe evenimentele singulare care au loc la un moment dat - fiecare moleculă intră în canal într-o ordine dată de mărime, geometrie, conformația, viteza de desfășurare (pentru structurile 2D / 3D) și viteza de a intra în canal, toți acești parametri fiind independenți de natura și complexitatea matricei de unde se determină principalul marker / substanță. Acest lucru explică de asemenea diferitele valori obținute pentru semnăturile diferite ale markerilor / substanțelor.

Aplicații analitice

Caracteristicile de răspuns ale microsenzorilor propuși (tabelul 4) arată că acizii folic și piruvic pot fi determinați simultan folosind microsenzorii propuși din probele de sânge.

Testele de recovery au fost efectuate după cum urmează: pentru diferite probe de sânge integral s-au determinat concentrațiile de acid folic și piruvic și s-au adăugat volume diferite de concentrații cunoscute de acid folic și piruvic. Diferențele dintre cantitatea găsită și cantitatea inițială de acid folic și respectiv acid piruvic au fost comparate cu cantitățile adăugate de acid folic și piruvic și au fost exprimate în procente de regăsire. Testele de regăsire (Tabelul 5) efectuate față de metodele standard (metode de analiză spectrometrice) indică grade de regăsire mai mari de 98,00% pentru ambii acizi utilizând microsenzorii propuși și valori RSD mai mici de 1,00%, dovedind o acuratețe ridicată și o precizie bună a măsurătorilor.

Tabelul 5. Teste de recovery ale acizilor folic și piruvic din probele de sânge integral (N = 10).

Microsenzor pe bază de pastă de Pt-TiO ₂ /rGO, modificați cu	%, Gradul de regăsire al	
	Acidului piruvic	Acidului folic
α-CD	99.98±0.02	99.95±0.01
β-CD	98.89±0.05	98.72±0.03
γ-CD	98.20±0.08	98.35±0.07

Probele de sânge au fost plasate în celule de măsurare și diagramele au fost înregistrate (Figura 2); acidul piruvic și acidul folic sunt identificate din diagrame în conformitate cu semnăturile lor (Tabelul 4) și după aceea se măsoară valorile t_{on} (Figura 2) care se utilizează pentru analiza cantitativă a acizilor din probele de sânge integral.

Tabelul 6. Determinarea acizilor folic și piruvic din probele de sânge integral (N = 3).

Proba Nr.	Microsenzor pe bază de pastă de Pt-TiO ₂ /rGO, modificați cu	Acidul piruvic (nmol/L)		Acidul folic (nmol/L)	
		Senzor stocastic	Metoda standard*	Senzor stocastic	Metoda standard *
1	α -CD	2.08±0.03	2.43	4.67±0.02	4.52
	β -CD	2.50±0.02		4.82±0.03	
	γ -CD	2.71±0.05		5.00±0.07	
2	α -CD	5.03±0.01	4.57	0.95±0.01	1.40
	β -CD	4.70±0.03		1.43±0.04	
	γ -CD	4.23±0.07		1.50±0.06	
3	α -CD	8.38±0.02	8.40	2.00±0.01	2.00
	β -CD	8.66±0.05		2.10±0.04	
	γ -CD	7.56±0.08		2.15±0.07	
4	α -CD	2.78±0.01	2.85	0.86±0.03	1.05
	β -CD	2.80±0.07		1.04±0.05	
	γ -CD	2.95±0.05		1.32±0.05	
5	α -CD	1.87±0.02	1.40	0.89±0.01	1.11
	β -CD	1.42±0.01		1.20±0.01	
	γ -CD	1.83±0.07		1.32±0.05	
6	α -CD	2.78±0.03	2.75	1.12±0.02	1.70
	β -CD	2.74±0.05		1.73±0.06	
	γ -CD	2.70±0.08		1.96±0.05	
7	α -CD	102.80±0.03	103.00	1.01±0.03	1.05
	β -CD	103.50±0.07		1.23±0.05	
	γ -CD	103.45±0.08		1.20±0.08	
8	α -CD	101.50±0.04	101.14	0.86±0.02	0.90
	β -CD	101.20±0.02		0.89±0.06	
	γ -CD	101.71±0.07		1.04±0.09	
9	α -CD	43.30±0.02	42.35	5.02±0.01	4.90
	β -CD	42.20±0.07		4.92±0.05	
	γ -CD	42.30±0.09		5.00±0.05	
	α -CD	153.40±0.04		1.66±0.03	

10	β -CD	153.00 \pm 0.02	153.23	1.49 \pm 0.02	1.50
	γ -CD	153.87 \pm 0.07		1.90 \pm 0.08	
11	α -CD	1.62 \pm 0.01	1.60	0.90 \pm 0.01	1.80
	β -CD	1.67 \pm 0.03		1.76 \pm 0.04	
	γ -CD	1.35 \pm 0.08		1.07 \pm 0.09	
12	α -CD	17.20 \pm 0.02	17.00	1.63 \pm 0.03	1.65
	β -CD	17.00 \pm 0.02		1.60 \pm 0.05	
	γ -CD	17.27 \pm 0.07		1.59 \pm 0.04	
13	α -CD	47.20 \pm 0.01	48.20	2.10 \pm 0.01	2.40
	β -CD	48.30 \pm 0.05		2.38 \pm 0.04	
	γ -CD	48.00 \pm 0.08		2.63 \pm 0.08	
14	α -CD	105.34 \pm 0.04	105.72	0.86 \pm 0.03	1.00
	β -CD	106.70 \pm 0.07		0.95 \pm 0.07	
	γ -CD	105.40 \pm 0.09		1.59 \pm 0.09	
15	α -CD	22.65 \pm 0.01	23.23	1.19 \pm 0.02	1.20
	β -CD	23.47 \pm 0.03		1.26 \pm 0.06	
	γ -CD	24.00 \pm 0.07		1.90 \pm 0.08	
16	α -CD	13.23 \pm 0.01	13.52	1.88 \pm 0.02	2.12
	β -CD	13.58 \pm 0.05		2.13 \pm 0.04	
	γ -CD	14.00 \pm 0.07		1.90 \pm 0.08	

*Metoda UV-Vis pe bază de kit comercial.

Rezultatele prezentate în Tabelul 6 arată o bună concordanță între rezultatele înregistrate cu senzorii stocastici propuși și metodele standard (kituri comerciale utilizate) și valori scăzute pentru măsurătorile RSD (%) efectuate cu senzori stocastici. În consecință, concentrațiile de acid folic și piruvic pot fi determinate fiabil din probele de sânge.

Determinarea insulinei, proinsulinei-C-peptidei, leptinei, adiponectinei și CRP

Design-ul senzorilor stocastici

Pudrele de grafena și diamant au fost amestecate cu ulei de parafina până s-a format o pasta omogenă. 25 μ L modificator (protoporfirina PIX, ftalocianina-BODIPY, inulină cum ar fi TEX și lichide ionice ca L-alanine-tert-butil-ester-L-lactat (L-AlaC₄-Lac)) soluție 10⁻³ mol/L au fost adăugate la paste pentru a obține pastele modificate de: (a) PIX/Au-TiO₂/GR, (b) MEG107/Au-

TiO₂/GR, (c) TEX/DP si (d) TEX-L-Ala-C₄-Lac/DP. Fiecare pasta a fost pusa in tuburi de plastic cu diametrul interior de 250µm. Un fir din Ag a fost utilizat ca si contact electric.

Caracteristicile de raspuns ale senzorilor sunt aratate in Tabelul 7. Domeniul linear de concentratie al senzorului bazat pe TEX/DP acopera domeniul leptinei in sange pentru toate tipurile de pacienti (1×10^{-8} - 1.41×10^{-7} ng/mL). Senzorul acesta poate detecta si proinsulina-C-peptida in domeniul normal (0.27×10^{-9} - 1.28×10^{-9} mol/L) si CRP in copii sub 15 ani (1×10^{-7} - 2.8×10^{-6} g/mL). De asemenea, utilizare senzorilor bazati pe PIX/Au-TiO₂/GR poate deecta si riscul la arteroscleroza.

Senzorii stocastici propusi sunt capabili sa detecteze 5 biomarkeri specifici diabetului, diferite semnaturi inregistrandu-se pentru fiecare dintre acestia. Senzorii sunt foarte sensibili si au limite de determinare foarte mici. Senzorii au fost folositi la determinari peste 6 luni, cand valorile RSD(%) ale sensibilitatii au variat cu mai putin de 1.00%.

Tabelul 7. Caracteristicile de raspuns ale senzorilor sctocastici.

Microsenzor	Semnatura t_{off} (s)	Sensibilitatea (s/conc. units)	Domeniul linear de concentratie	Limita de determinare	Ecuatia de calibrare, R
Insulin(U/mL)					
PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.8	1.49×10^8	5.28×10^{-13} - 5.28×10^{-12}	5.28×10^{-13}	$1/ton=0.01+1.49 \times 10^8 xC$; R=0.9904
MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.9	9.11×10^2	5.28×10^{-10} - 5.28×10^{-8}	5.28×10^{-10}	$1/ton=0.03+4.047 \times 10^2 xC$ R=0.9992
TEX/DP	0.7	1.04×10^5	5.28×10^{-9} - 5.28×10^{-7}	5.28×10^{-9}	$1/ton=0.04+1.04 \times 10^5 xC$; R=0.9981
TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	1	0.599	5.28×10^{-3} - 5.28×10^{-1}	5.28×10^{-3}	$1/ton=0.04+0.599 xC$; R=0.9997
C-peptide (mol/L)					
PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.7	1.24×10^9	1.84×10^{-13} - 1.84×10^{-11}	1.84×10^{-13}	$1/ton=0.01+1.24 \times 10^9 xC$; R=0.9991
MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.7	$7,2 \times 10^{10}$	1.84×10^{-11} - 1.84×10^{-9}	1.84×10^{-11}	$1/ton=0.035+7,2 \times 10^{10} xC$; R=0.9999
TEX/DP	1	7.65×10^5	1.84×10^{-10} - 1.84×10^{-8}	1.84×10^{-10}	$1/ton=0.005+7.65 \times 10^5 xC$; R=0.9991

TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.8	2.25x10 ⁸	1.84x10 ⁻¹⁵ -1.84x10 ⁻¹³	1.84x10 ⁻¹⁵	1/ton=0.05+2.25x10 ⁸ xC; R=0.9981
Leptin (g/ml)					
PIX/Au-TiO ₂ /GR	1.4	4.09x10 ⁹	1.25x10 ⁻¹³ -1.25x10 ⁻¹¹	1.25x10 ⁻¹³	1/ton=0.25+4.09x10 ⁹ xC; R=0.9933
MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	1.1	2.15x10 ¹²	1.25x10 ⁻¹⁶ -1.25x10 ⁻¹⁴	1.25x10 ⁻¹⁶	1/ton=0.01+2.15x10 ¹² xC; R=0.9970
TEX/DP	1.7	3.94x10 ⁴	1.25x10 ⁻⁸ -1.25x10 ⁻⁶	1.25x10 ⁻⁸	1/ton=0.01+3.94x10 ⁴ xC; R=0.9973
TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.7	4.09x10 ⁹	1.25x10 ⁻¹² -1.25x10 ⁻¹⁰	1.25x10 ⁻¹²	1/ton=0.25+4.09x10 ⁹ xC; R=0.9933
Adiponectin (g/ml)					
PIX/Au-TiO ₂ /GR	2.1	1.14x10 ⁵	2.5x10 ⁻⁹ -2.5x10 ⁻⁷	2.5x10 ⁻⁹	1/ton=0.01+1.14x10 ⁵ xC; R=0.9999
MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	1.4	1.49x10 ⁸	2.5x10 ⁻¹² -2.5x10 ⁻¹⁰	2.5x10 ⁻¹²	1/ton=0.02+1.49x10 ⁸ xC; R=0.9981
TEX/DP	1.4	1.07x10 ⁸	2.5x10 ⁻¹² -2.5x10 ⁻¹⁰	2.5x10 ⁻¹²	1/ton=0.01+1.07x10 ⁸ xC; R=0.9994
TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	1.4	1.5x10 ⁹	2.5x10 ⁻¹³ -2.5x10 ⁻¹¹	2.5x10 ⁻¹³	1/ton=0.012+1.5x10 ⁹ xC; R=0.9993
CRP (g/ml)					
PIX/Au-TiO ₂ /GR	1.2	1.27x10 ⁶	1.28x10 ⁻⁹ -3.2x10 ⁻⁸	1.28x10 ⁻⁹	1/ton=0.04+1.27x10 ⁶ xC; R=0.9912
MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	1	1.6x10 ⁸	1.02x10 ⁻¹¹ -2.5x10 ⁻¹⁰	1.02x10 ⁻¹¹	1/ton=0.034+1.6x10 ⁸ xC; R=0.9999
TEX/DP	1.8	3.09x10 ³	1.6x10 ⁻⁷ -4x10 ⁻⁶	1.6x10 ⁻⁷	1/ton=0.01+3.09x10 ³ xC; R=0.9999
TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.5	5.16x10 ⁴	3.2x10 ⁻⁸ -8x10 ⁻⁷	3.2x10 ⁻⁸	1/ton=0.03+5.16x10 ⁴ xC; R=0.9863

Aplicatii analitice

Teste de recovery au fost efectuate. Rezultatele sunt prezentate in Tabelul 8.

Tabelul 8. Testele de recovery pentru insulina, proinsulina-C-peptida, adiponectina, leptina si CRP in probe de ser (N=3).

Microsenzori bazati pe	%, Recovery				
	Proinsulina-C-peptida	Insulina	CRP	Adiponectina	Leptina
PIX/Au-TiO ₂ /GR	97.87±0.05	98.20±0.02	99.50±0.05	99.82±0.03	97.98±0.05
MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	98.21±0.04	98.98±0.05	99.07±0.03	99.90±0.02	97.97±0.03
TEX/DP	99.98±0.01	99.03±0.01	99.23±0.02	99.00±0.01	99.98±0.02
TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	98.99±0.02	99.02±0.03	99.15±0.03	99.21±0.02	98.92±0.04

Rezultatele obtinute pentru testul de recovery au aratat ca este posibila determinarea celor cinci biomarkeri simultan.

Zece probe de ser au fost scanate utilizand senzorii stocastici noi construiti. Rezultatele sunt prezentate in Tabelul 9.

Tabelul 9. Determinarea insulinei, proinsulinei-C-peptidei, adiponectinei, leptinei si CRP in probe de ser (N=3).

No.	Microsensor bazat pe	Proinsulina-C-peptida (pmol/L)	Insulina (μ UI/mL)	CRP (mg/L)	Adiponectina (μ g/mL)	Leptina (ng/mL)
1	PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.017±0.002	2.28±0.02	2.15±0.03	2.35±0.03	82.30±0.03
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.013±0.002	2.61±0.03	2.87±0.02	2.21±0.02	80.92±0.02
	TEX/DP	0.018±0.003	2.27±0.01	2.88±0.02	2.09±0.01	80.52±0.01
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.020±0.001	2.68±0.02	2.15±0.01	2.09±0.02	80.49±0.01
2	PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.050±0.002	4.33±0.01	5.78±0.02	1.40±0.01	42.90±0.02
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.043±0.003	4.18±0.02	5.33±0.03	1.47±0.03	43.30±0.02
	TEX/DP	0.049±0.001	4.05±0.02	5.76±0.01	1.59±0.02	43.10±0.01
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.047±0.002	4.90±0.03	6.02±0.03	1.31±0.02	42.84±0.03
3	PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.032±0.002	1.79±0.02	6.53±0.02	1.38±0.03	8.92±0.03
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.040±0.001	1.47±0.02	6.30±0.02	1.37±0.02	9.48±0.01
	TEX/DP	0.037±0.003	1.98±0.01	6.41±0.01	1.36±0.01	9.26±0.01
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.031±0.001	1.89±0.03	6.39±0.03	1.41±0.02	8.81±0.02
4	PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.052±0.002	2.87±0.03	3.20±0.02	2.28±0.03	2.28±0.03
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.048±0.002	2.15±0.02	3.20±0.03	2.20±0.02	2.20±0.02
	TEX/DP	0.050±0.003	2.62±0.01	3.17±0.02	2.30±0.01	2.21±0.01
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.051±0.001	2.08±0.03	3.30±0.01	2.09±0.02	2.30±0.04
5	PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.013±0.002	3.32±0.04	5.15±0.02	1.13±0.05	1.14±0.03
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.015±0.002	3.12±0.03	5.23±0.04	1.23±0.04	1.17±0.03
	TEX/DP	0.011±0.001	3.20±0.02	5.45±0.02	1.10±0.01	1.20±0.01
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.010±0.004	3.18±0.01	5.33±0.03	1.15±0.02	1.15±0.02
6	PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.017±0.003	3.58±0.05	4.28±0.02	1.92±0.02	51.52±0.03
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.020±0.004	3.07±0.03	4.32±0.02	1.87±0.03	51.73±0.03
	TEX/DP	0.015±0.002	3.20±0.03	4.20±0.01	1.80±0.03	52.20±0.02
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.015±0.001	3.65±0.02	4.65±0.03	1.85±0.02	52.00±0.02
7	PIX/Au-TiO ₂ /GR	0.073±0.003	1.41±0.01	12.43±0.02	1.37±0.02	5.30±0.05
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	0.075±0.002	1.43±0.03	12.20±0.01	1.23±0.02	5.32±0.03
	TEX/DP	0.070±0.002	1.24±0.02	12.60±0.02	1.20±0.01	5.58±0.01
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	0.070±0.003	1.10±0.03	12.13±0.03	1.31±0.02	5.60±0.02
8	PIX/Au-TiO ₂ /GR	1.780±0.003	7.94±0.04	25.60±0.03	20.23±0.03	22.00±0.04
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	1.890±0.002	7.93±0.02	25.78±0.02	20.20±0.02	21.09±0.03
	TEX/DP	1.260±0.002	7.39±0.03	25.60±0.02	20.14±0.01	22.20±0.02
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	1.700±0.004	7.36±0.03	25.78±0.01	20.00±0.01	21.94±0.02
9	PIX/Au-TiO ₂ /GR	1.420±0.002	8.21±0.01	1.10±0.03	2.93±0.03	6.54±0.02
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	1.400±0.003	8.43±0.03	1.11±0.02	2.11±0.02	6.70±0.03
	TEX/DP	1.910±0.002	8.50±0.02	1.00±0.01	2.65±0.02	6.70±0.01
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	1.936±0.003	8.32±0.02	1.07±0.02	2.02±0.02	6.51±0.02
10	PIX/Au-TiO ₂ /GR	5.670±0.002	7.13±0.02	8.53±0.03	4.61±0.03	4.16±0.02
	MEG 107/ Au-TiO ₂ /GR	6.10±0.002	7.20±0.03	8.49±0.01	5.06±0.03	4.20±0.03
	TEX/DP	5.650±0.001	7.15±0.01	8.52±0.02	4.92±0.02	4.18±0.01
	TEX-L-Ala-C ₄ -Lac/DP	5.480±0.001	7.30±0.03	8.50±0.03	4.90±0.01	4.05±0.02

Rezultatele din Tabelul 9 arata ca senzorii propusi pot sa fie utilizati pentru determinarea simultana a celor 5 biomarkeri in probele de ser.

Articole publicate (ISI):

1. Fast screening of whole blood samples for early detection and monitoring of thyroid diseases
RI Stefan-van Staden, G Mitrofan
RSC Adv., 7, 43567-43573, 2017 (IF=3.108) <http://dx.doi.org/10.1039/C7RA08724A>
2. Molecular recognition of pyruvic acid and folic acid in whole blood
R.I. Stefan-van Staden, A.G. Diaconeasa, L. A. Gugoasa, M.C. Rosu, S. Pruneanu
RSC Adv., 7, 50072-50078, 2017 (IF=3.108) <http://dx.doi.org/10.1039/C7RA09260A>