Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Хемијског факултета

Молим Наставно-научно веће Универзитета у Београду - Хемијског факултета да ми одобри пријаву теме докторске дисертације под називом:

“Development of voltammetric methods for the detection and quantification of xanthine alkaloids using disposable printed sensors”

“Развој волтаметријских метода за детекцију и квантфикацију ксантинских алкалоида применом једнократних штампаних сензора”

1. Образложење теме:

Научна област: Хемија
Ужа научна област: Аналитичка хемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет научног истраживања предложене докторске дисертације заснивaће се на развоју волтаметријских метода за детекцију и квантификацију ксантинских алкалоида (кофеина, теобромина и теофилина) помоћу штампаних сензора са бором допованом дијамантском радном електродом и радном електродом од вишезидних угљеничних наноцеви. Истраживање ће обухватити оптимизацију услова снимања и параметара техника ради добијања брзе, прецизне, високо сензитивне и селективне методе одређивања присуства и концентрације ксантинских алкалода у реалним узорцима прехрамбених производа (за кофеин и теобромин) и лекова (за теофилин).

3. **Основне хипотезе**

Ксантински алкалоиди, познати и као пурински алкалоиди, састоје се од метилксантина и метилуричне киселине и њихове структуре су засноване на структурама ксантина и мокраћне киселине [1].

Кофеин (1,3,7-триметилксантин) је природни алкалоид у преко 60 биљака, укључујући зрна кафе, листове чаја и кола орахе. Његова концентрација варира у зависности од врсте производа, агрономских фактора и фактора животне средине. Уобичајени производи који садрже промењиве количине кофеина укључују кафу, чај, безалкохолна, и енергетска пића. Кофеин је постао најраспрострањенији лек на свету и има много важних фармаколошких ефеката у лечењу главобоље и бола; користи се као диуретик и има утицај на кардиоваскуларни систем[2]. Предозирање кофеином изазива анксиозност, жгаравицу, повишен крвни притисак, губитак коштане масе и кардиоваскуларне болести [3].

Теобромин (3,7-диметилксантин) је алкалоид који се природно појављује у разним прехрамбеним производима, као што су какао за прављење чоколаде и производи од чоколаде који су његови примарни извори у исхрани[4]. Теобромин делује као диуретик релаксант глатких мишића, стимуланс миокарда и представља заштиту површине глеђи зуба. Теобромин је такође класификован и као стимуланс централног нервног система[5,6].

Теофилин (3-dimethyl-1H-purine-2), иако има нека од стимулативних ефеката кофеина и диуретичких својстава теобромина, његово бронходилататорно дејство је од највеће важности у савременој медицини. Теофилин опушта глатке мишиће дисајних путева и има широку примену код лечења астме [1].

Дијамант допован бором представља атрактиван материјал због одличних електроаналитичких перформанси, хемијске и физичке инертности и високе селективности, и сматра се зеленим електрохемијским сензором[7]. Штампани сензори са бором допованом дијамантском електродом садрже троелектродни систем на једној платформи, где су радна и помоћна електрода израђене од истог материјала - дијаманта допираног бором, а квазиреферентна је сребро/сребро-хлоридна штампана електрода[8]. Овакви сензори су изузетни због своје издржљивости, слабог степена адсорпције на електродној површини и стабилних електрохемијских својстава, што их чини идеалним за одређивање једињења у сложеним системима. Њихов широк потенцијални опсег и ниска позадинска струја омогућавају високо осетљиву и стабилну детекцију широког спектра аналита. Поред тога, ови сензори су лако доступни и лако преносиви, потребна је врло мала количина раствора за анализу са њима, што их чини погодним за примену у једнократним и анализама на лицу места уз минималан утицај на животну средину[9].

Вишезидне угљеничне наноцеви (енг. *multi-walled carbon nanotubes*, MWCNTs) захваљујући својој изузетној електропроводљивости, великој специфичној површини и хемијској стабилности MWCNTs се све чешће користе као функционални наноматеријали у области електрохемијских сензора. Када се користе за модификацију електрода, MWCNTs омогућавају побољшање преноса електрона, убрзавање редокс реакција и повећање сензитивности и селективности, што их чини посебно погодним за примену у високоосетљивим методама као што су волтаметрија и амперометрија. Штампани сензори садрже троелектродни систем интегрисан на једној платформи, где је радна електрода угљенична електрода модификована карбоксил-функционализованим вишеслојним угљеничним наноцевчицама (MWCNT-COOH), помоћна електрода је угљенична, док је квазиреферентна електрода израђена од сребра. Такав дизајн омогућава компактну и поуздану електрохемијску конфигурацију, погодну за *in situ* мерења, са значајно побољшаном селективношћу и осетљивошћу према циљаним аналитима[10].

У савременој електрохемији, анализа трагова биолошки активних супстанци представља изазов, нарочито када се ради о компликованим системима као што су прехрамбени производи и лекови. Јавља се потреба за развојем брзих, економичних и једноставних

метода за одређивање присуства и концентрације биолошки активних супстанци које се могу примењивати на лицу места употребом прецизних, високо сензитивних и селективних сензора.

4. Циљ истраживања и очекивани резултати

У оквиру научноистраживачке активности кандидата, планиран је развој метода за детекцију и квантификацију одабраних ксантинских алкалоида (кофеина, теобромина и теофилина) штампаним бором допованом сензором са дијамантском радном електродом, и примена развијене методе на реалним узорцима.

Главни циљеви предложене докторске дисертације ће бити:

- Морфолошка и микроструктурална карактеризација површина електрода уз помоћ скенирајућег електронског микроскопа (енг. *scanning electron microscope*, SEM).

- Испитивање електрохемијске активности електродних површина штампаних сензора.

- Оптимизација метода у погледу одабира помоћних електролита и волтаметријских техника.

- Оптимизација параметара волтаметријских техника.

- Аналитичка карактеризација метода и примењених штампаних сензора (линеарни концентрациони опсег, граница детекције, граница квантификације, репродуцибилност, поновљивост, тачност и прецизност) применом волтаметријских техника.

- Испитивање потенцијалних ометајућих једињења за сваки одабрани алкалоид понаособ.

- Примена развијених метода за одређивање одабраних алкалоида у узорцима неалкохолних пића, прехрамбених и фармацеутских производа.

Очекује се да ће исход ове студије бити добијање брзих, прецизних, високо сензитивних и високо селективних метода које би представљале ефикасно решење за одређивање присуства и концентрације ксантинских алкалоида штампаним сензорима са бором допованом дијамантском електродом и вишезидним угљеничним наноцевима као радним електродама, и њихову примену на реалне узорке у прехрамбеној и фармацеутској индустрији.

5. Методе истраживања

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације ће се одвијати у неколико фаза.

У оквиру почетне фазе, кандидат ће се бавити испитивањем електрохемијског понашања штампаних сензора са бором допованом дијамантском електродом и вишезидним угљеничним наноцевима у присуству одабраних ксантинских алкалоида, понаособ, применом цикличне волтаметрије (енг. *cyclic voltammetry*, CV). Након тога ће бити одабрани помоћни електролити за сваки ксантински алкалоид, понаособ.

Штампани сензор са бором допованом дијамантском електродом и вишезидним угљеничним наноцевима ће бити анализиран скенирајућом електронском микроскопијом (енг. *scanning electron microscope*, SEM) у циљу добијања информација о морфолошкој и микроструктури површине радних електрода и референтних квазиреверзибилних сребрних електрода. Такође ће бити испитивана електрокаталитичка својства штампаног сензора, снимањем електрохемијског одговора $K_4[Fe(CN)_6]$ у 0.1 M KCl при различитим брзинама скенирања.

Наредна фаза ће обухватити избор одговарајуће волтаметријске технике, диференцијалне пулсне волтаметрије (енг. *differential pulse voltammetry*, DPV) или скенирајуће волтаметрије са правоугаоним таласима (енг. *square wave voltammetry*, SWV) за сваки ксантински алкалоид понаособ. Потом оптимизацију радних параметара одабране волтаметријске технике са штампаним сензорима, у електрохемијском одређивању. Испитаће се линеарни концентрациони опсег за овај сензор и понаособ све ксантинске алкалоиде. На основу добијених података израчунаће се границе детекције и квантификације, одредиће се репродуцибилност и поновљивост сензора.

У последњој фази биће испитана могућност примене развијене методе, са штампаним сензором, за одређивање ксантинских алкалоида у узорцима различитих неалкохолних пића за кофеин, узорцима чоколаде за теобромин и узорцима лекова за теофилин. Затим ће се урадити поређење добијених резултата са стандардним методама за њихово одређивање анализирањем истог сета узорака тим методама.

6. Литература

(1) Ashihara, H.; Mizuno, K.; Yokota, T.; Crozier, A. *Xanthine Alkaloids: Occurrence, Biosynthesis, and Function in Plants*; 2017; Vol. 105.

(2) Group, B. M. J. P. Coffee Consumption and Health: Umbrella Review of Meta-Analyses of Multiple Health Outcomes. *BMJ* **2018**, *360*, k194. https://doi.org/10.1136/bmj.k194.

(3) Elvira Gonzalez de Mejia; Marco Vinicio Ramirez-Mares. Impact of Caffeine and Coffee on Our Health. *Trends Endocrinol. Amp Metab.* **2014**, *25* (10), 489–492. https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.07.003.

(4) Eva Martínez Pinilla; Ainhoa Oñatibia-Astibia; Rafael Franco. The Relevance of Theobromine for the Beneficial Effects of Cocoa Consumption. *Front. Pharmacol.* **2015**. https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00030.
(5) Hendrik J. Smit.; Rachel J. Blackburn. Reinforcing Effects of Caffeine and Theobromine as Found in Chocolate. *Psychopharmacology (Berl.)* **2005**, *101–106*. https://doi.org/10.1007/s00213-005-2209-3.
(6) Mitsugu Yoneda; Naotoshi Sugimoto; Masanori Katakura; Kentaro Matsuzaki; Hayate Tanigami; Akihiro Yachie; Takako Ohno-Shosaku; Osamu Shido. Theobromine Up-Regulates Cerebral Brain-Derived Neurotrophic Factor and Facilitates Motor Learning in Mice. *J. Nutr. Biochem.* **2017**. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.10.002.
(7) Yasuaki Einaga. Boron-Doped Diamond Electrodes: Fundamentals for Electrochemical Applications. *Acc. Chem. Res.* **2022**, *55* (24), 3605–3615. https://doi.org/10.1021/acs.accounts.2c00597.
(8) Matvieiev, O.; Šelešovská, R.; Vojs, M.; Marton, M.; Michniak, P.; Hrdlička, V.; Hatala, M.; Janíková, L.; Chýlková, J.; Skopalová, J.; Cankař, P.; Navrátil, T. Novel Screen-Printed Sensor with Chemically Deposited Boron-Doped Diamond Electrode: Preparation, Characterization, and Application. *Biosensors* **2022**, *12* (4), 241. https://doi.org/10.3390/bios12040241.
(9) Kateryna Muzyka; Jianrui Sun; Tadesse Haile Fereja; Yixiang Lan; Wei Zhang; Guobao Xu. Boron-Doped Diamond: Current Progress and Challenges in View of Electroanalytical Applications. *R. Soc. Chem.* **2018**, *11*, 397–414. https://doi.org/10.1039/C8AY02197J.
(10) Mazloum-Ardakani, M.; Sheikh-Mohseni, M. A.; Mazloum-Ardakani, M.; Sheikh-Mohseni, M. A. Carbon Nanotubes in Electrochemical Sensors. In *Carbon Nanotubes - Growth and Applications (Book)*; IntechOpen, 2011. https://doi.org/10.5772/20604.