

Sviluppo di un aptasensore elettrochimico per la determinazione di acetamiprid

Nicola Flore

Relatore: Giovanna Marrazza, giovanna.marrazza@unifi.it

Correlatore: Ilaria Palchetti, ilaria.palchetti@unifi.it

Lo scopo di questa tesi ha riguardato lo sviluppo di un aptasensore elettrochimico monouso per la determinazione dell'acetamiprid, un insetticida neonicotinoide.

L'aptasensore è un particolare tipo di biosensore in cui il sistema di bioriconoscimento molecolare, accoppiato al trasduttore di segnale, è costituito da una sequenza oligonucleotidica di DNA o RNA chiamato aptamero che è in grado di riconoscere con elevata efficienza e specificità l'analita mediante una reazione di affinità.

L'aptasensore realizzato prevede l'impiego di una cella elettrochimica stampata con tecnica serigrafica, utilizzando inchiostri polimerici commercialmente disponibili. Le celle elettrochimiche prodotte possono essere utilizzate come trasduttori monouso perché sono riproducibili e possono essere prodotte in grande quantità ed a basso costo. La cella è costituita da un elettrodo di lavoro di grafite, da un elettrodo di pseudo-riferimento di Ag/AgCl e da un elettrodo ausiliare di grafite.

Selezionando un aptamero con alta affinità per l'acetamiprid, è stato studiato e sviluppato un aptasensore basato su un saggio competitivo. La superficie dell'elettrodo di lavoro è stata dapprima modificata con un polimero conduttore, l'acido poliantranilico, a cui è stata legata covalentemente la streptavidina. Successivamente una sequenza oligonucleotidica biotinilata, complementare all'aptamero, è stata immobilizzata sulla superficie elettrodica utilizzando il legame di affinità streptavidina-biotina. L'aptamero modificato con un gruppo tiolo è stato immobilizzato su nanoparticelle d'oro, sintetizzate in laboratorio, tramite la formazione di un forte legame S-Au. Per la realizzazione del saggio competitivo, nella soluzione del campione è stata aggiunta quindi una quantità fissa di nanoparticelle d'oro modificate con l'aptamero. Le molecole di acetamiprid competono con la sequenza oligonucleotidica, immobilizzata sulla superficie del sensore, per il legame con l'aptamero. La quantità di aptamero ibridato sarà quindi inversamente proporzionale alla quantità di acetamiprid presente nel campione. Sfruttando la capacità delle nanoparticelle d'oro di catalizzare la riduzione di un sale d'argento da parte dell'idrochinone, sono state formate nanoparticelle bimetalliche Au-Ag sulla superficie del sensore. Infine, la quantità d'argento formatasi è stata misurata tramite voltammetria di stripping anodico. Tale grandezza è stata correlata alla concentrazione di acetamiprid del campione. Le varie fasi della procedura sono state studiate ed ottimizzate. L'aptasensore realizzato risulta essere sensibile, specifico, economico e permette di effettuare analisi di screening veloci.