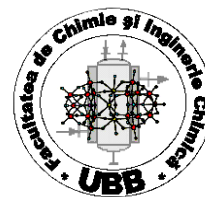




**Universitatea Babeş-Bolyai**  
**Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică**



**Rezumatul tezei de doctorat**

**Electrozi modificați cu nanoparticule de metale nobile  
funcționalizate cu molecule organice**

**Conducător doctorat,  
Prof. Dr. Liana Maria MUREȘAN**

**Doctorand,  
Adriana-Elena VULCU  
INCDTIM Cluj-Napoca**

**Cluj-Napoca  
2015**

**Comisia de doctorat:**

**Președinte:**

Prof. dr. Luminita Silaghi-Dumitrescu,      Universitatea Babeș-Bolyai, Facultatea de  
Chimie și Inginerie Chimică, Cluj- Napoca

**Conducător științific:**

Prof.Dr. Liana Maria Mureșan      Universitatea Babeș-Bolyai, Facultatea de  
Chimie și Inginerie Chimică, Cluj-Napoca

**Referenți:**

Prof. Dr. Carmen Socaciu,      Universitatea de Științe Agricole și Medicină  
Veterinară, Facultatea de Agricultură, Cluj-  
Napoca

Prof. Dr. Robert Săndulescu,      Universitatea de Medicină și Farmacie  
Iuliu Hațieganu, Facultatea de Farmacie,  
Cluj-Napoca

Conf. Dr. Ing. Graziella Turdean,      Universitatea Babeș'-Bolyai, Facultatea  
de Chimie și Inginerie Chimică Cluj-Napoca

## CUPRINS

<b>CUPRINS</b> .....	<b>3</b>
<b>INTRODUCERE</b> .....	<b>4</b>
<b>CONTRIBUȚII ORIGINALE</b> .....	<b>6</b>
<b>OBIECTIVELE TEZEI</b> .....	<b>6</b>
<b>CAPITOLUL 2</b> .....	<b>7</b>
<b>METODE EXPERIMENTALE GENERALE</b> .....	<b>7</b>
<b>2.2. Sinteza nanoparticulelor de aur</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3. Caracterizarea nanoparticulelor de aur</b> .....	<b>7</b>
2.3.1. Microscopie electronică de transmisie (TEM).....	7
2.3.2. Spectroscopie UV-Vis .....	8
<b>2.4. Prepararea electrozilor modificați cu molecule organice și nanoparticule de aur</b> .....	<b>9</b>
<b>2.5. Caracterizarea electrozilor modificați</b> .....	<b>9</b>
2.5.1. Voltametrie ciclică (CV).....	9
2.5.2. Spectroscopia de impedanță electrochimică (SIE).....	10
2.5.3. Microscopia de forță atomică (AFM) .....	11
<b>CAPITOLUL 3</b> .....	<b>13</b>
<b>ELECTROZI MODIFICAȚI CU TIOCITOZINĂ/ GUANINĂ ȘI NANOPARTICULE DE AUR PENTRU DETECȚIA ACIDULUI URIC, ȘI DOPAMINEI ÎN PREZENȚA INTERFERENTULUI ACID ASCORBIC</b> .....	<b>13</b>
<b>3.2. Electrozi modificați cu tiocitozină/ guanină și nanoparticule de aur pentru <i>detecria acidului uric</i> în prezența interferentului acid ascorbic</b> .....	<b>13</b>
<b>3.2.3. Studii electrochimice</b> .....	<b>14</b>
3.2.3.1. Voltametrie ciclică.....	14
3.2.3.2. Spectroscopia de impedanță electrochimică (SIE).....	17
<b>3.3. Electrozi modificați cu tiocitozină și nanoparticule de aur pentru <i>detecria dopaminei</i> în prezența interferențelor acid uric și acid ascorbic</b> .....	<b>18</b>
<b>3.3.1. Studii electrochimice – voltametrie cu puls diferențial (DPV)</b> .....	<b>18</b>
<b>CAPITOLUL 4</b> .....	<b>22</b>
<b>BIOSENZOR MODIFICAT CU LEUCIN DEHIDROGENAZĂ PENTRU DETECȚIA IONULUI AMONIU IMPLICAT ÎN AMINAREA REDUCTIVĂ A ACIDULUI <math>\alpha</math>-CETOIZOCAPROIC</b> .....	<b>22</b>
<b>4.2. Prepararea biosenzorului modificat cu leucin dehidrogenază</b> .....	<b>22</b>
<b>4.4. Studii electrochimice</b> .....	<b>22</b>
4.4.1. Voltametrie ciclică .....	23
4.4.2. Cronoamperometrie .....	24
4.4.3. Regenerarea in situ a NADH-ului utilizând biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDH.....	25
4.4.5. Validarea metodei cronoamperometrice utilizând reacția Berthelot.....	26
<b>CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE</b> .....	<b>27</b>
CONCLUZII GENERALE.....	27
PERSPECTIVE .....	28
<b>ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ</b> .....	<b>29</b>

## INTRODUCERE

Biomoleculele sunt elemente de bază ale materiei vii de aceea dezvoltarea unor metode de detecție a biomoleculelor este importantă, în special pentru aplicații clinice. Dintre metodele utilizate în scopuri analitice, se remarcă metodele de detecție electrochimice care sunt intens utilizate pentru detecția de biomolecule datorită selectivității, sensibilității, simplității, rapidității și prețului de cost relativ mic.

Pe de altă parte, în ultimii ani o atenție deosebită este acordată preparării de nanomateriale funcționalizate cu proprietăți chimice și fizice specifice care să poată fi utilizate pentru prepararea unor sisteme analitice, capabile să detecteze specii chimice de interes biomedical.

În acest context, în cadrul acestei teze s-a urmărit detecția a trei biomolecule: acidul uric, acidul ascorbic și dopamina prin utilizarea unor metode electrochimice. De asemenea, s-a urmărit conversia ionului amoniu implicat în reacția de aminare reductivă a acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic la L-leucină. Astfel, s-au preparat electrozi de aur modificați cu molecule organice (tiocitozină, guanină) și nanoparticule de aur și un biosenzor pe bază de nanoparticule de aur și leucin dehidrogenază. Electrozii modificați cu nanoparticule de aur și tiocitozină/ guanină au fost testați ca senzori pentru detecția acidului uric în prezența interferențelor acid ascorbic, respectiv pentru detecția dopaminei în prezența interferențelor acid uric și acid ascorbic. Biosenzorul modificat a fost utilizat atât pentru detecția indirectă a ionului amoniu implicat în reacția de aminare reductivă a acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic la L-leucină, cât și ca substrat pentru imobilizarea enzimei.

Elementele de noutate introduse de această lucrare sunt:

- ✓ Utilizarea moleculelor de guanină și tiocitozină pentru autoasamblarea nanoparticulelor pe suprafața electrozilor; tiocitozina a mai fost utilizată doar pentru obținerea de monostraturi;
- ✓ Utilizarea electrozilor modificați cu multistraturi pentru detecția acidului uric și acidului ascorbic;
- ✓ Utilizarea pentru prima dată a leucin dehidrogenazei pentru modificarea electrozilor pe bază de tiocitozină și nanoparticule de aur;
- ✓ Urmărirea conversiei ionului amoniu implicat în reacția de aminare reductivă a acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic la L-leucină;
- ✓ Regenerarea electrochimică a NADH-ului utilizând biosenzorul modificat.

Lucrarea este structurată pe patru capitole.

**Primul capitol** prezintă o scurtă trecere în revistă a literaturii științifice cu privire la electrozii modificați chimic pe bază de nanoparticule de aur. Este introdusă o scurtă descriere a metodelor de preparare a nanoparticulelor de aur și aplicațiile lor în prepararea de electrozi modificați. Sunt prezentate câteva aspecte cu privire la amino acid dehidrogenaze și utilizarea lor pentru obținerea de biosenzori modificați.

În **capitolul 2** sunt descrise metodele experimentale de sinteză (utilizând 3 metode) și caracterizare (UV-Vis și TEM) a nanoparticulelor de aur utilizate pentru modificarea suprafeței electrozilor de aur. De asemenea, este prezentată metoda de preparare a electrozilor modificați și caracterizarea electrozilor obținuți din punct de vedere morfologic prin microscopie de forță atomică și electrochimic prin voltametrie ciclică și spectroscopie de impedanță electrochimică.

**Capitolul 3** prezintă rezultatele unei cercetări axate pe două direcții: (1) detecția acidului uric în prezența interferențului acid ascorbic; (2) detecția dopaminei în prezența interferențelor acid ascorbic și acid uric. S-au preparat electrozi de aur modificați cu tiocitozină/ guanină și nanoparticule de aur. Electrozii modificați prezintă activitate electrochimică pentru detecția acidului uric în prezența interferențului acid ascorbic, respectiv pentru detecția dopaminei în prezența interferențelor acid uric și ascorbic.

În cadrul **capitolului 4** s-a preparat un biosenzor modificat cu nanoparticule de aur și leucin dehidrogenază prin autoasamblarea nanoparticulelor de aur cu tiocitozină, urmată de imobilizarea enzimei. Biosenzorul a fost utilizat atât ca senzor indirect de amoniu cât și ca substrat pentru enzima imobilizată chimic necesară pentru reacția de aminare electrochimică de sinteză a L-leucinei. De asemenea, biosenzorul a fost utilizat pentru regenerarea electrochimică (*in situ*) a NADH-ului.

Menționez că în cadrul rezumatului numerotarea capitolelor/ subcapitolelor, figurilor și tabelor este cea din teza de doctorat.

**Cuvinte cheie:** electrozi modificați, nanoparticule de aur, tiocitozină, guanină, leucin dehidrogenază, acid uric, acid ascorbic, dopamină.

## CONTRIBUȚII ORIGINALE

### OBIECTIVELE TEZEI

**Obiectivul general** al acestei teze este prepararea, caracterizarea și testarea de noi electrozi modificați cu nanoparticule de aur și molecule organice în vederea utilizării lor ca senzori pentru detecția diferitelor tipuri de molecule organice sau anorganice.

Pentru realizarea acestui obiectiv general au fost stabilite o serie de **obiective specifice**:

- ✓ Prepararea nanoparticulelor de aur prin metoda Turkevich, metoda Turkevich-Frens și prin metoda reducerii sării metalice cu amestec de citrat de sodiu și borohidruură de sodiu;
- ✓ Caracterizarea nanoparticulelor de aur preparate prin microscopie electronică de transmisie (TEM) și spectroscopie UV-Vis;
- ✓ Prepararea de electrozi modificați cu tiocitozină/ guanină și nanoparticule de aur, respectiv a unui electrod (biosenzor) modificat cu tiocitozină, nanoparticule de aur și leucin dehidrogenază;
- ✓ Caracterizarea electrozilor modificați preparați prin microscopie de forță atomică (AFM) și spectroscopie de infraroșu cu transformată Fourier prin reflexie speculară (FTIR-RAS);
- ✓ Testarea electrozilor modificați cu molecule organice (tiocitozină/ guanină) și nanoparticule de aur ca senzori pentru detecția acidului uric în prezența interferentului acidul ascorbic, respectiv pentru detecția dopaminei în prezența interferenților acid uric și acid ascorbic;
- ✓ Testarea biosenzorului modificat cu tiocitozină, nanoparticule de aur și leucin dehidrogenază ca senzor indirect pentru detecția ionului amoniu implicat în reacția de aminare reductivă a acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic la L-leucină.

## CAPITOLUL 2

### METODE EXPERIMENTALE GENERALE

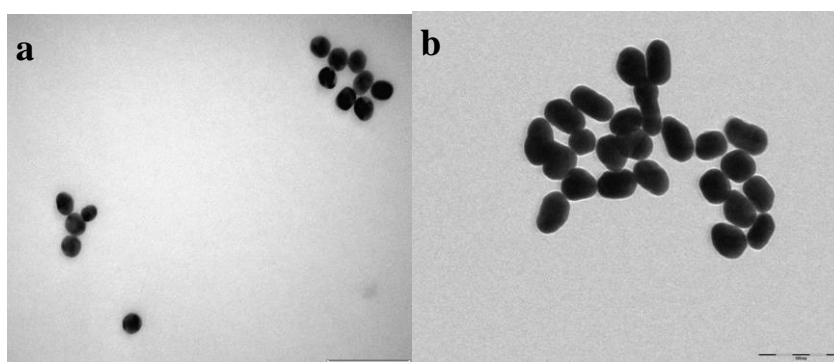
#### 2.2. Sinteza nanoparticulelor de aur

Nanoparticulele de aur (AuNPs) au fost sintetizate prin trei metode: metoda Turkevich (**AuNPs-T**), metoda Turkevich-Frens o modificare a metodei clasice Turkevich (**AuNPs-F**) și o metodă de sinteză cu citrat de sodiu și borohidrua de sodiu (**AuNPs-B**). S-au obținut AuNPs cu diametre cuprinse între 30-40 nm prin metoda Turkevich, respectiv 40-45 nm prin metoda Turkevich-Frens, și 35-40 nm prin metoda cu amestec de citrat de sodiu și borohidrua de sodiu.

#### 2.3. Caracterizarea nanoparticulelor de aur

##### 2.3.1. Microscopie electronică de transmisie (TEM)

Dimensiunea și forma AuNPs au fost examinate prin TEM. În **figura 2.1** sunt ilustrate imaginile TEM ale nanoparticulelor sintetizate prin metoda Turkevich și metoda Turkevich-Frens (**figura 2.1.a** – imaginile TEM ale **AuNPs – T**; **figura 2.1.b** – imaginile TEM ale **AuNPs – F**). Imaginile TEM pun în evidență faptul că AuNPs sintetizate au formă aproape sferică (metoda Turkevich), respectiv ovoidală (metoda Turkevich-Frens) cu diametre cuprinse între 30 și 40 nm, respectiv 40-45 nm. Toate probele au fost diluate cu apă bidistilată în raport 1:4 (AuNPs:H<sub>2</sub>O).



**Figura 2.1.** Imaginile TEM ale nanoparticulelor sintetizate: **a** – imaginile TEM ale AuNPs obținute prin metoda Turkevich (**AuNPs-T**); **b** – imaginile TEM ale AuNPs obținute prin metoda Turkevich-Frens (**AuNPs-F**)

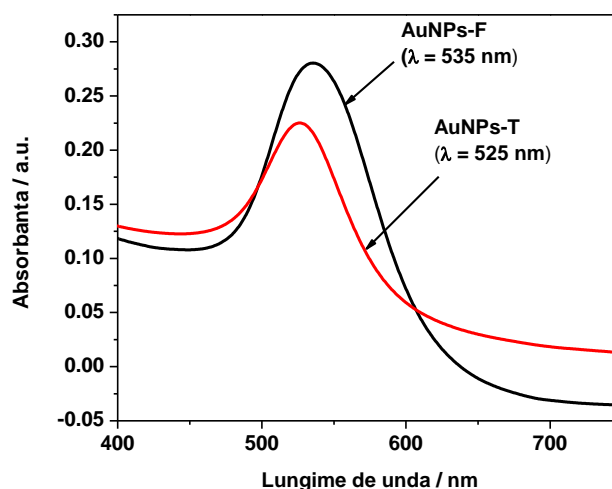
### 2.3.2. Spectroscopie UV-Vis

Nanoparticulele de aur preparate prin reducerea soluției de aur cu citrat de sodiu sunt încărcate negativ la suprafață (înveliș de citrat). În **figura 2.2.** este prezentată variația culorii pentru nanoparticulele de aur cu diferiți liganzi.



**Figura 2.2.** Variația culorii pentru nanoparticulele de aur cu diferiți liganzi

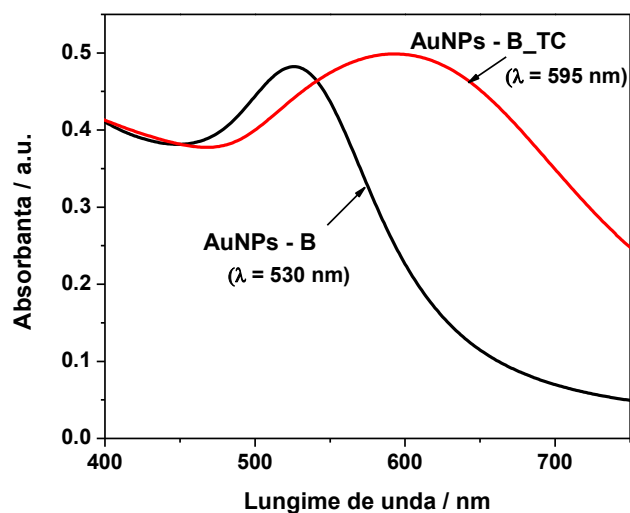
**Figura 2.3.** prezintă spectrul de absorbție UV-Vis al nanoparticulelor obținute prin reducerea cu citrat a acidului tetracloroauric. Pentru AuNPs obținute prin metoda Turkevich maximul de absorbție este 525 nm, iar pentru cele sintetizate prin metoda Turkevich-Frens este 535 nm.



**Figura 2.3.** Spectrul de absorbție UV-Vis al AuNPs-T și AuNPs-F (1:4 AuNPs:H<sub>2</sub>O)

În **figura 2.6.** sunt prezentate spectrele de absorbție ale nanoparticulelor de aur obținute prin metoda reducerii cu citrat și borohidruță (AuNPs – B) și AuNPs – B funcționalizate cu tiocitozină. Picul de absorbție pentru nanoparticulele de aur funcționalizate cu tiocitozină este deplasat la lungimi de undă mai mari, de la 530 nm la 595 nm, ca urmare a formării de agregate de dimensiuni mai mari.





**Figura 2.6.** Spectrul de absorbție al AuNPs obținute prin metoda cu citrat și borohidruță (AuNPs – B și AuNPs – B\_TC (1:0.3 AuNPs – B : TC))

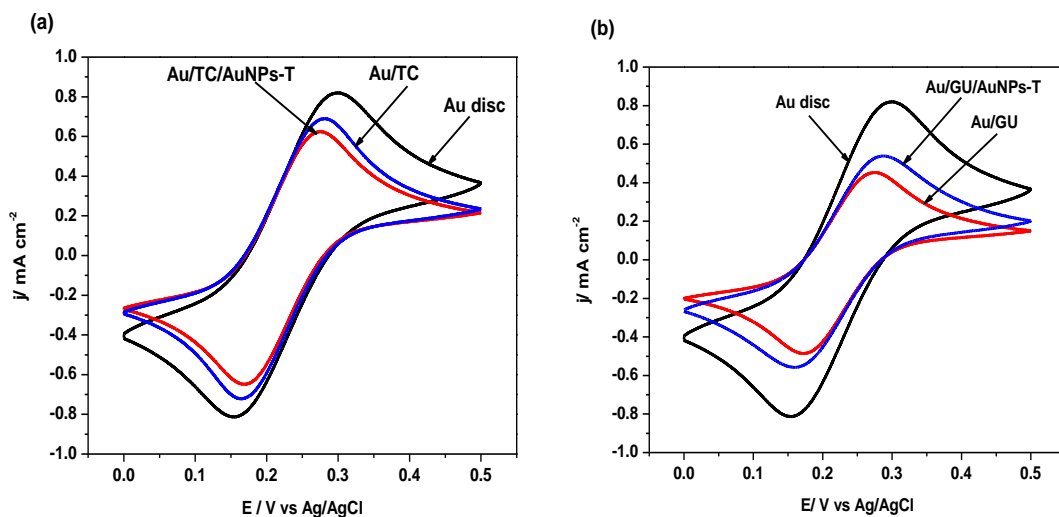
## 2.4. Prepararea electrozilor modificați cu molecule organice și nanoparticule de aur

Electrozii modificați cu diferite straturi au fost preparați utilizând o celulă de teflon închisă. Electrocul de aur disc se fixează în celulă și fiecare strat a fost obținut, în prezența a: 2 mL soluție alcoolică  $10^{-3}$ M de tiocitozină sau guanină pentru primul strat, respectiv 2 mL soluție de nanoparticule de aur pentru cel de al doilea strat.

## 2.5. Caracterizarea electrozilor modificați

### 2.5.1. Voltametrie ciclică (CV)

S-a investigat comportamentul electrochimic al electrozilor **Au disc**, **Au/TC**, **Au/GU**, **Au/TC/AuNPs-T** și **Au/GU/AuNPs-T** cu ajutorul voltametriei ciclice. În **figura 2.10. a și b** sunt prezentate voltamogramele tipice înregistrate pentru electrozii Au disc, Au/TC, Au/GU, Au/TC/AuNPs-T, Au/GU/AuNPs-T în soluție Zobell.



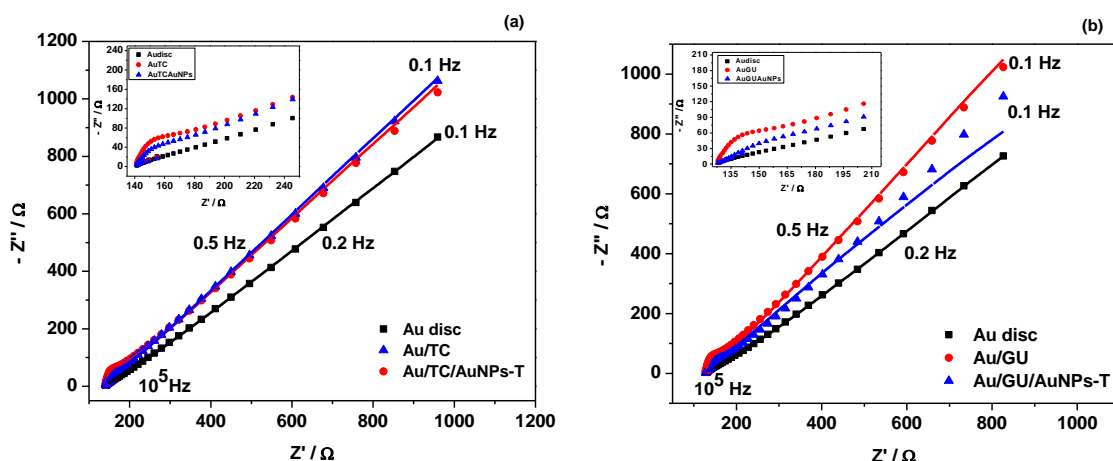
**Figura 2.10.** Voltamogramele ciclice pentru electrozii (a) **Au disc**, **Au/TC**, **Au/TC/AuNPs-T** și (b) **Au disc**, **Au/GU**, **Au/GU/AuNPs-T** în soluție Zobell (0.003M  $K_3Fe(CN)_6$  și 0.003M  $K_4Fe(CN)_6$  în 0.1M KCl), viteza de baleiaj 50 mV/s

Aceste rezultate demonstrează faptul că straturile depuse pe suprafața de aur nu blochează total transferul de electroni, diminuând parțial contactul între aur și electrolit.

### 2.5.2. Spectroscopia de impedanță electrochimică (SIE)

Spectroscopia de impedanță electrochimică este o metodă importantă pentru studierea proceselor care au loc la interfața electrod/electrolit. Electrozii de aur modificați fie doar cu tiocitozină, respectiv guanină (**Au/TC**, **Au/GU**) fie cu tiocitozină, respectiv guanină și nanoparticule de aur (**Au/TC/AuNPs-T**, **Au/GU/AuNPs-T**) au fost investigați prin spectroscopie de impedanță electrochimică (SIE). Fitarea datelor s-a realizat utilizând soft-ul Nova 1.8 (EcoChemie-Netherlands).

În **figura 2.15.** (a și b) sunt prezentate diagramele Nyquist pentru electrodul de aur disc, electrodul modificat cu tiocitozină, respectiv guanină și electrodul modificat cu tiocitozină și nanoparticule de aur, respectiv guanină și nanoparticule de aur. Se poate observa că după fiecare etapă de preparare a electrozilor diagramele Nyquist se modifică, indicând faptul că la interfața electrodului sunt immobilizate moleculele de tiocitozină/ guanină și nanoparticulele de aur.

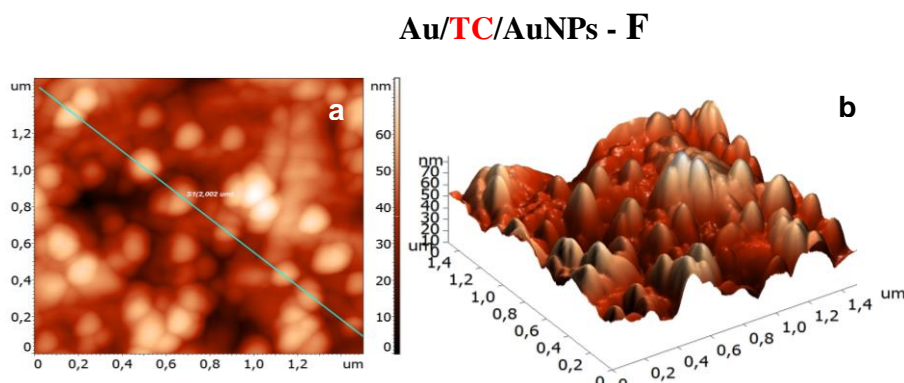


**Figura 2.15. (a și b)** Diagramele Nyquist pentru: electrodul de aur disc (**Au disc**), electrodul de aur modificat cu tiocitozină (**Au/TC**), respectiv cu guanină (**Au/GU**) și electrodul de aur modificat cu tiocitozină și nanoparticule de aur (**Au/TC/AuNPs-T**), respectiv guanină și nanoparticule de aur (**Au/GU/AuNPs-T**). Experimentele s-au realizat în soluție Zobell (0.003 M  $K_3Fe(CN)_6$  și 0.003 M  $K_4Fe(CN)_6$  în 0.1 M KCl), potențialul aplicat + 0.3 V vs Ag/AgCl; liniile continue reprezintă fitarea pe baza circuitului echivalent.

### 2.5.3. Microscopia de forță atomică (AFM)

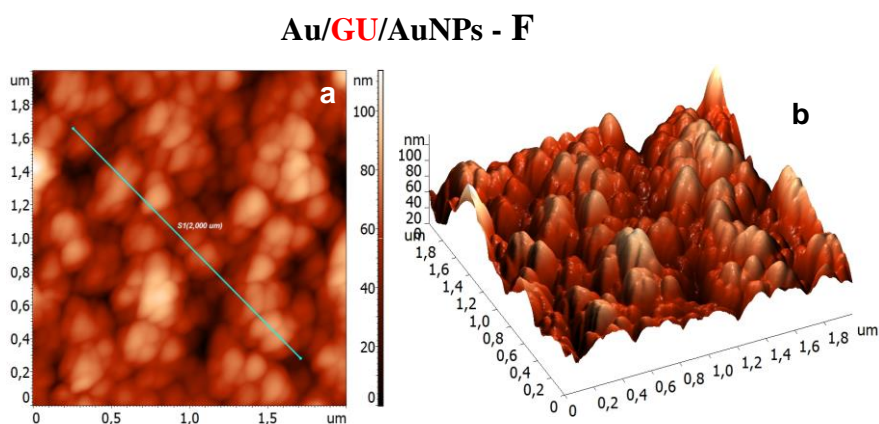
Electrozii de aur modificați cu tiocitozină, respectiv guanină și nanoparticule de aur (obținute prin metoda Turkevich Frens: AuNPs-F și metoda reducerii cu citrat și borohidruă: AuNPs-B) au fost caracterizați din punct de vedere morfologic prin microscopie de forță atomică.

În **figura 2.17. (a)** sunt prezentate imaginile 2D ale electrodului de aur modificat cu tiocitozină și nanoparticule de aur obținute prin metoda Turkevich-Frens (**Au/TC/AuNPs-F**). Se pot observa structuri ovoide, orientate paralel, cu înălțimi de aproximativ 60-70 nm (imaginea 3D – **b**).



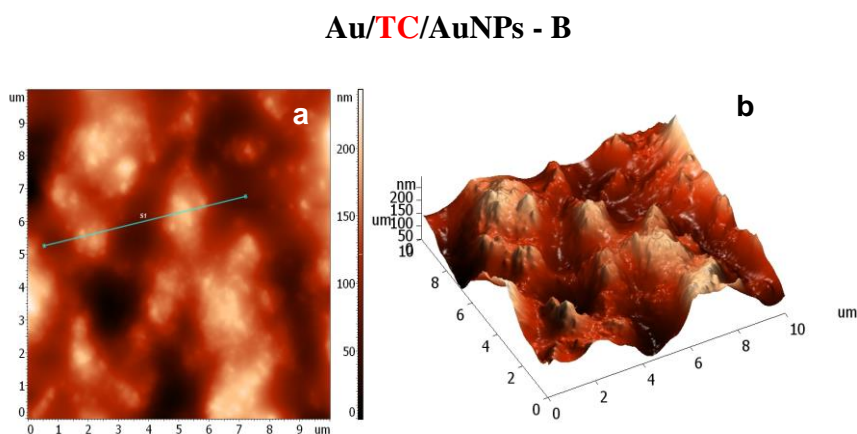
**Figura 2.17.** Imaginile AFM ale electrodului modificat cu tiocitozină și nanoparticule de aur (**Au/TC/AuNPs - F**): **(a)** – imaginea height 2D; **(b)** – imaginea 3D.

În cazul electrodului modificat cu guanină și nanoparticule de aur obținute prin metoda Turkevich-Frens (**figura 2.18. a**) din imaginile 2D se observă structuri piramidale, orientate paralel, cu înălțimi de 60-80 nm (imaginea 3D – **b**).



**Figura 2.18.** Imaginile AFM ale electrodului modificat cu guanină și nanoparticule de aur (**Au/GU/AuNPs - F**): (a) imaginea height 2D; (b) – imaginea 3D

Imaginile AFM înregistrate pentru electrozii de aur modificați cu tiocitozină și nanoparticule de aur obținute prin metoda reducerii cu citrat și borohidruță (**Au/TC/AuNPs-B**) sunt prezentate în **figura 2.19**. Analiza suprafeței indică înălțimea maximă a protuberanțelor suprafeței 243.454 nm, media înălțimilor 113.68 nm (imaginea 3D – **b**).



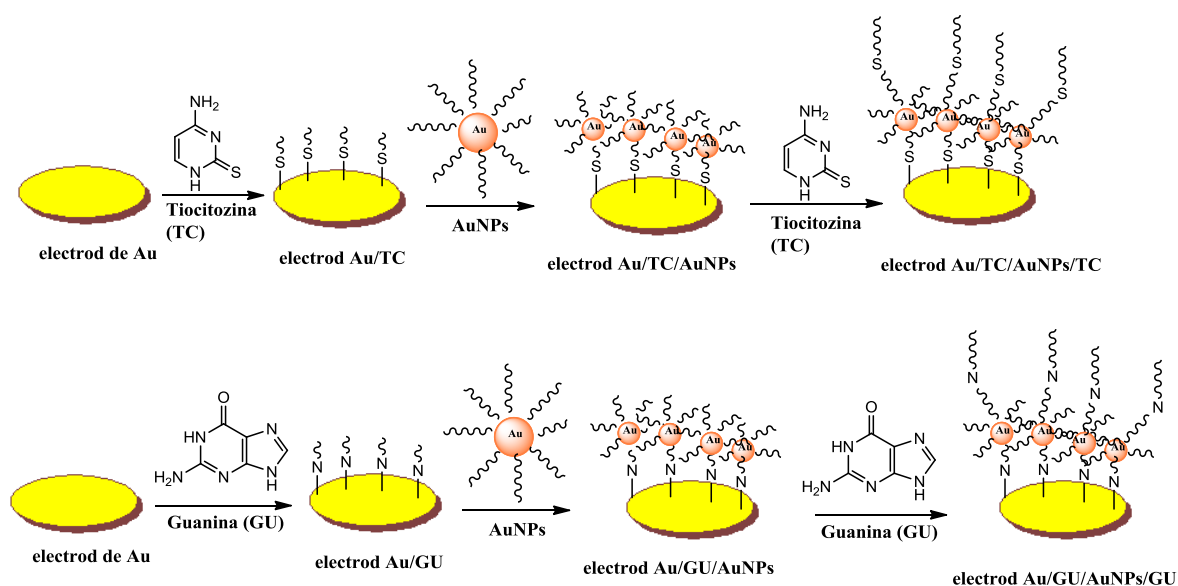
**Figura 2.19.** Imaginile AFM ale electrodului modificat cu tiocitozină și nanoparticule de aur (**Au/TC/AuNPs - B**): (a) imaginea height 2D; (b) – imaginea 3D

## CAPITOLUL 3

**ELECTROZI MODIFICAȚI CU TIOCITOZINĂ/ GUANINĂ ȘI  
NANOPARTICULE DE AUR PENTRU DETECȚIA ACIDULUI URIC, ȘI  
DOPAMINEI ÎN PREZENȚA INTERFERENTULUI ACID ASCORBIC**

**3.2. Electrozi modificați cu tiocitozină/ guanină și nanoparticule de aur pentru *detectia acidului uric* în prezența interferentului acid ascorbic**

S-au preparat și testat electrozi modificați cu tiocitozină (**Au/TC**), respectiv cu guanină (**Au/GU**), electrozi modificați cu tiocitozină și nanoparticule de aur (**Au/TC/AuNPs-T**), respectiv cu guanină și nanoparticule de aur (**Au/GU/AuNPs-T**) și electrozi modificați cu multistrat **Au/TC/ AuNPs-T/ TC**, respectiv **Au/GU/AuNPs-T/GU**.



**Figura 3.1.** Reprezentare schematică preparare electrozi modificați: **Au/TC/AuNPs-T/TC** și **Au/GU/AuNPs-T/GU**

### 3.2.3. Studii electrochimice

Comportamentul electrochimic al electrozilor de aur modificați cu diferite straturi a fost studiat prin voltametrie ciclică și prin spectroscopie de impedanță electrochimică.

Electrozii de aur au fost testați ca senzori pentru detecția acidului uric (AU) și acidului ascorbic (AA), atât în soluții conținând doar una dintre biomolecule, cât și în amestec.

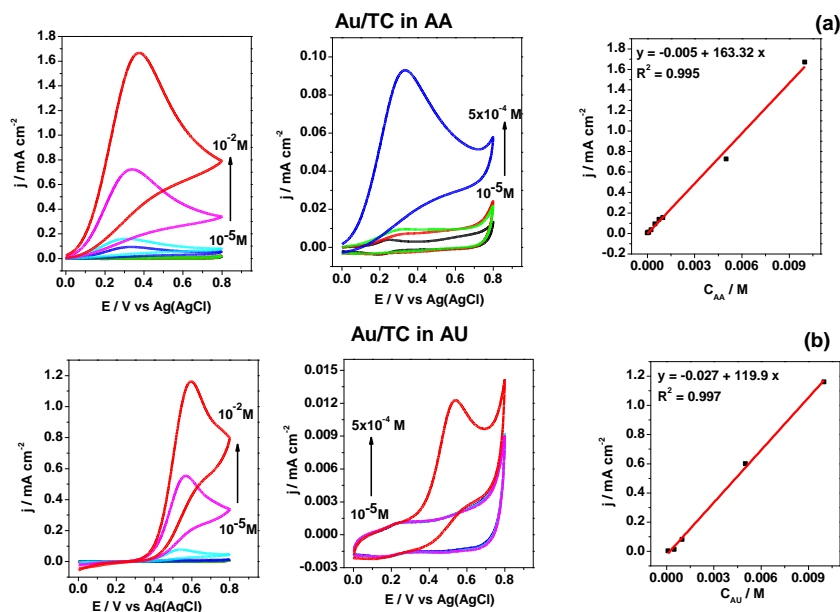
Măsurătorile au fost realizate în tampon fosfat (PBS) pH 7.2, în domeniul de concentrații de acid uric și ascorbic  $10^{-5}$  –  $10^{-2}$  M. S-a ales acest domeniu deoarece concentrația normală, la o persoană sănătoasă, de acid uric este 2-5 mg/ 100 ml în ser respectiv 1.4 - 4.4 mM în urină, iar pentru acidul ascorbic este 0.6 – 2 mg/dl în ser respectiv 20 – 40 mg/dl în urină.

#### 3.2.3.1. Voltametrie ciclică

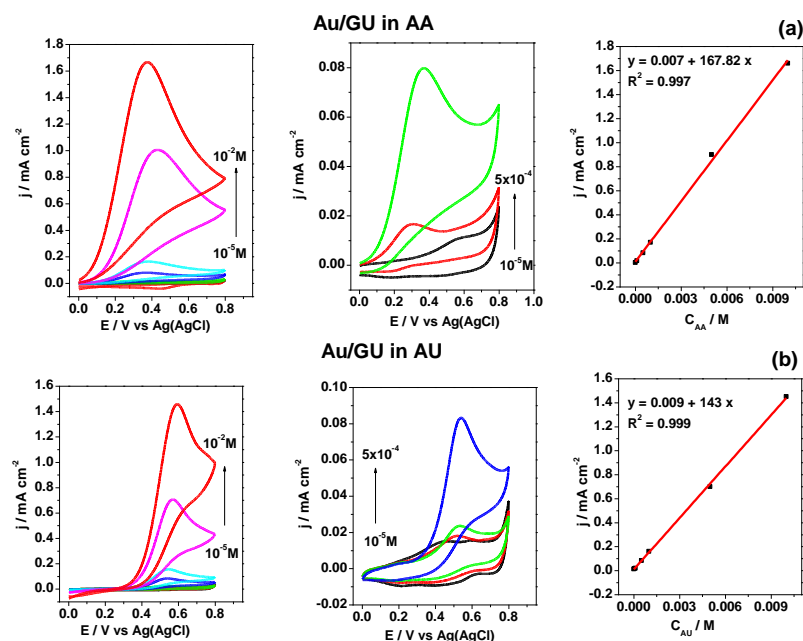
A fost testat răspunsul electrochimic al electrozilor de aur nemodificați (**Au disc**) și modificați cu diferite straturi (**Au/TC**, **Au/GU**, **Au/TC/AuNPs**, **Au/GU/AuNPs**, **Au/TC/AuNPs/TC**, **Au/GU/AuNPs/GU**) în soluții conținând concentrații diferite de acid uric și acid ascorbic. Dintre electrozii testați cei mai buni pentru detecția AA și AU sunt: Au/TC și Au/GU. Prezența AuNPs aduce o separare a picurilor, dar nu la fel de bună ca în cazul electrozilor modificați cu monostrat. Cel de al doilea strat de TC/GU nu aduce îmbunătățiri comparativ cu stratul de AuNPs.

În **figura 3.5** sunt prezentate voltamogramele ciclice înregistrate pentru electrodul **Au/TC** în soluții de acid ascorbic (**figura 3.5. a**), respectiv acid uric (**figura 3.5. b**). În acest caz se obține o separare bună a semnalelor de oxidare de aproximativ 0.2 V, ca urmare a deplasării potențialului de oxidare al acidului uric spre valori mai mici (de la ~0.5 la ~0.35 V).

Un comportament similar se poate observa și în cazul electrozilor de aur modificați cu guanină (**Au/GU**). În **figura 3.6** sunt prezentate voltamogramele ciclice înregistrate pentru electrodul Au/GU în soluții de acid ascorbic (**figura 3.6. a**), respectiv acid uric (**figura 3.6.b**). Și în acest caz se obține o separare bună a semnalelor de oxidare de aproximativ 0.2 V, ca urmare a deplasării potențialului de oxidare al acidului uric spre valori mai mici (~0.35 V). Comparativ cu electrodul Au/TC în caz se observă o creștere a intensității picurilor de oxidare atât în cazul AA acid ascorbic, cât și în cazul AU.



**Figura 3.5.** Voltamogramele ciclice pentru electrozii de aur modificați cu tiocitozină (Au/TC) în soluții de acid ascorbic (a), respectiv acid uric (b) și curbele de calibrare corespunzatoare; viteza de baleiaj 50 mV/s

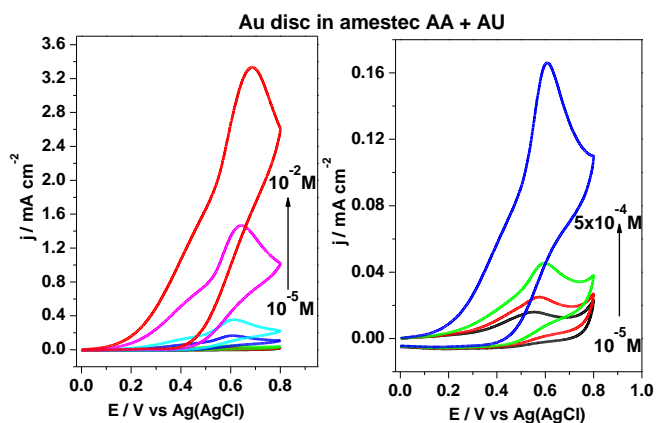


**Figura 3.6.** Voltamogramele ciclice pentru electrozii de aur modificați cu guanină (Au/GU) în soluții de acid ascorbic (a), respectiv acid uric (b) și curbele de calibrare corespunzatoare; viteza de baleiaj 50 mV/s

Din dreptele de calibrare (**figura 3.5** și **3.6**) se poate observa că electrozii de aur modificați cu monostrat (Au/TC și Au/GU) răspund liniar în domeniul de concentrații  $10^{-5}$  –  $10^{-2}$  M atât în soluții de acid ascorbic, cât și în soluții de acid uric.

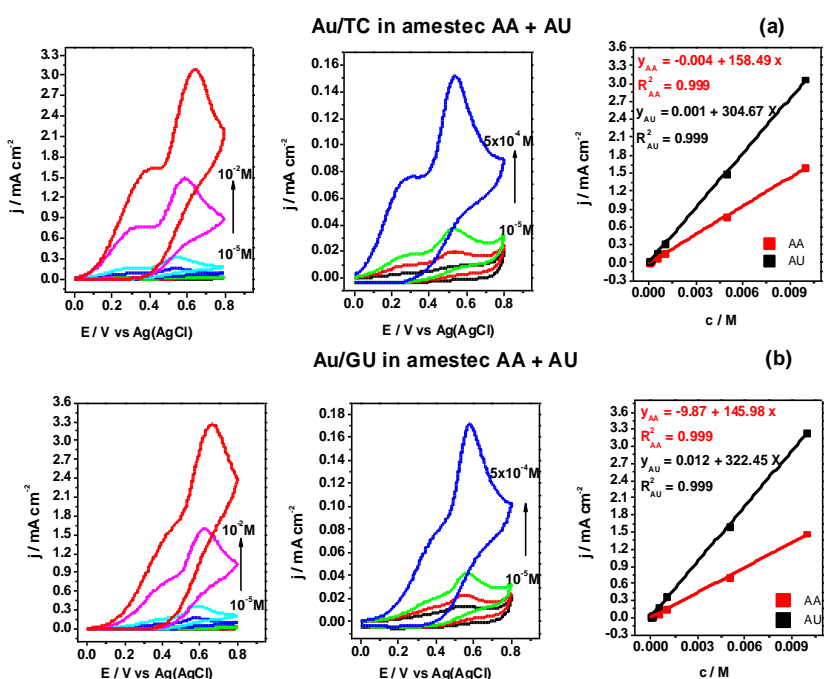
S-a testat răspunsul electrochimic al electrozilor de aur disc, respectiv modificați cu monostrat (Au/TC și Au/GU) în soluții conținând amestec de acid uric și acid ascorbic.

În **figura 3.11** este prezentat răspunsul electrochimic al electrozilor de aur nemodificați (**Au disc**) în soluții amestec de acid ascorbic și acid uric, în domeniul de concentrații  $10^{-5}$  –  $10^{-2}$  M, respectiv un detaliu în domeniul  $10^{-5}$  –  $5 \times 10^{-4}$  M.



**Figura 3.11.** Voltamogramele ciclice pentru electrozii de aur nemodificați (**Au disc**) în amestec de acid ascorbic și acid uric; viteza de baleiaj 50 mV/s

Utilizând electrozii de aur nemodificați am obținut un singur pic de oxidare la  $\sim 0.65$  V care cuprinde atât picul de oxidare al AA cât și cel al AU.



**Figura 3.12.** Voltamogramele ciclice pentru electrozii de aur modificați cu (a) tiocitozină (**Au/TC**), respectiv cu (b) guanină (**Au/GU**) în amestec de acid ascorbic și acid urici dreptele de calibrare corespunzatoare; viteza de baleiaj 50 mV/s

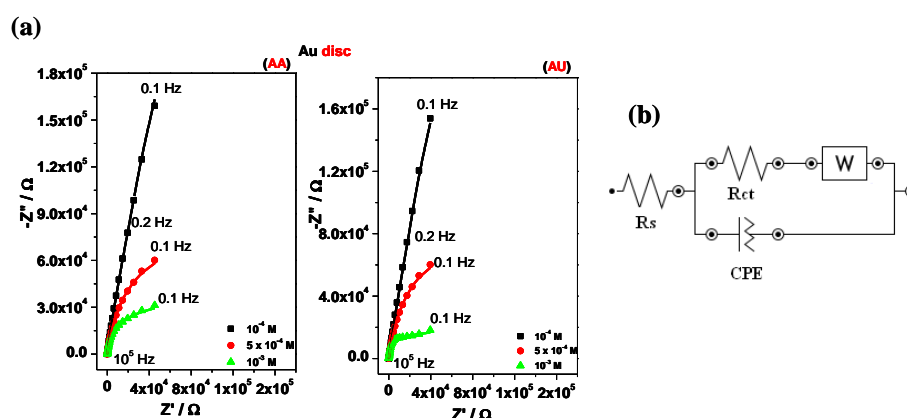


În **figura 3.12** este prezentat răspunsul electrochimic al electrozilor modificați cu tiocitozină (**figura 3.12 a**), respectiv guanină (**figura 3.12 b**) în soluții amestec AA și AU. În cazul ambilor electrozi se obține o separare foarte bună a potențialelor de oxidare a celor două biomelecule: 0.270 V pentru Au/TC, respectiv 0.240 V pentru Au/GU.

### 3.2.3.2. Spectroscopie de impedanță electrochimică (SIE)

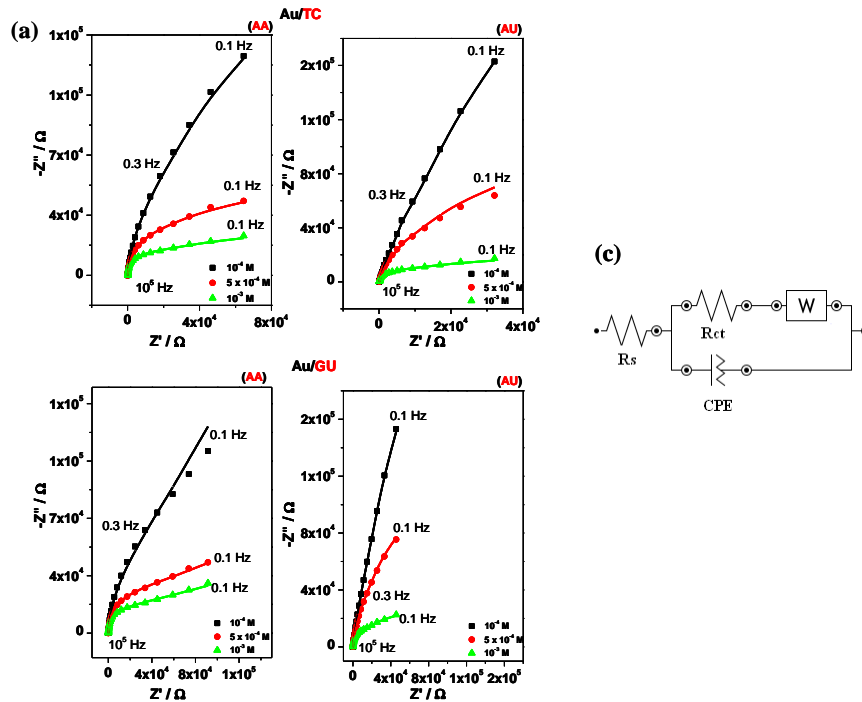
Am studiat comportamentul impedimetric al electrozilor de aur nemodificați (Au disc) și modificați cu monostrat (Au/TC, Au/GU) în soluții de acid ascorbic și acid uric. Potențialul aplicat este +0.35 V vs Ag/AgCl în soluțiile de acid ascorbic, respectiv +0.55 V vs Ag/AgCl în soluțiile de acid uric. Fitarea datelor s-a realizat utilizând soft-ul Nova 1.8 (EcoChemie Netherlands).

În **figura 3.13** sunt prezentate diagramele Nyquist pentru electrodul de aur nemodificat (Au disc). Se poate observa că electrodul Au disc se comportă la fel în soluții conținând acid uric sau acid ascorbic, fără a exista diferențe semnificative la rezistenței soluției și rezistenței de transfer de sarcină. Odată cu creșterea concentrației,  $R_{ct}$  se micșorează (scade diametrul buclei corespunzătoare transferului de sarcină).



**Figura 3.13.** (a) Diagramele Nyquist pentru: electrodul de aur disc (**Au disc**) în PBS (pH 7.2) conținând concentrații diferite de AA, respectiv AU; liniile continue reprezintă fitarea pe baza circuitului echivalent (b)

După modificarea suprafeței electrozilor de aur (cu tiocitozină/ guanină), s-a testat comportamentul lor în PBS (pH 7.2) conținând diferite concentrații de acid ascorbic, respectiv acid uric ( $10^{-4}$  -  $10^{-3}$  M). Diagramele Nyquist (**figura 3.14 a și b**) arată o variație a  $R_{ct}$  cu creșterea concentrației de AA, respectiv AU.



**Figura 3.14.** Diagramele Nyquist pentru: electrozii modificați **a** – Au/TcB – Au/GU în PBS (pH 7.2) conținând concentrații diferite de AA, respectiv AU; liniile continue reprezintă fitarea pe baza circuitului echivalent **(b)**

Cu creșterea concentrației se observă o scădere a  $R_{ct}$ ; această scădere a rezistenței de sarcină poate fi atribuită faptului că la concentrații mari de acid uric, respectiv acid ascorbic viteza procesului de oxidare este mai mare.

### 3.3. Electrozi modificați cu tiocitozină și nanoparticule de aur pentru detectia dopaminei în prezența interferențelor acid uric și acid ascorbic

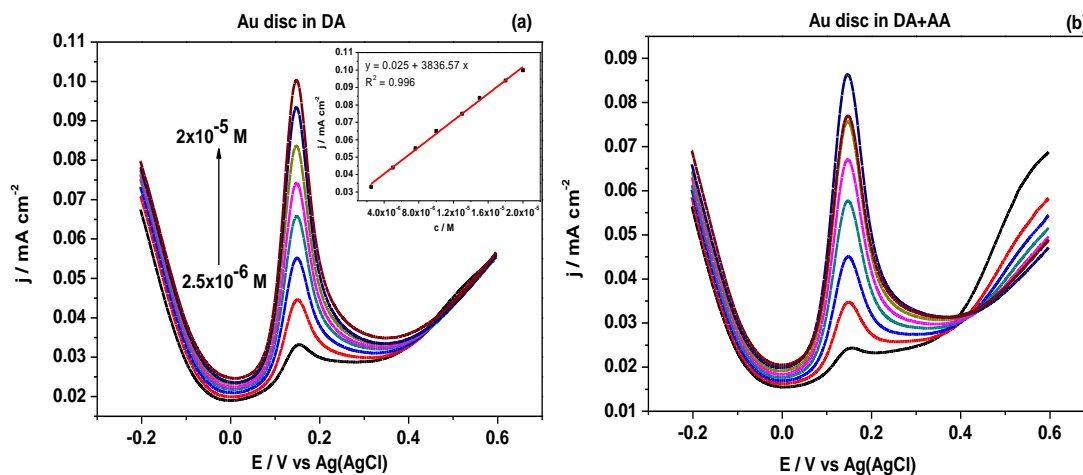
#### 3.3.1. Studii electrochimice – voltametrie cu puls diferențial (DPV)

Am testat electrozii modificați pentru detectia dopaminei în prezența interferențelor (AA și AU) utilizând voltametria cu puls diferențial.

Detecția dopaminei (DA) în prezența acidului ascorbic/ascorbatului (AA) reprezintă o problemă, deoarece acidul ascorbic se oxidează la un potențial apropiat de cel al dopaminei. În plus, ascorbatul se găsește în cantități mult mai mari decât dopamina atât în ser cât și în urină (valori normale: AA – ser 60-80  $\mu\text{M}$ , urină 95-270  $\mu\text{M}$ , DA – ser sub 0.0001  $\mu\text{M}$ , urină 0.34-3.139  $\mu\text{M}/24\text{h}$ ).

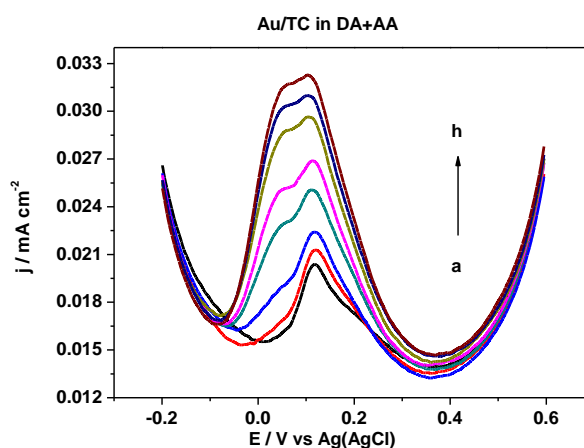
În **figura 3.15** sunt prezentate voltamogramele cu puls diferențial obținute folosind electrodul de aur nemodificat (**Au disc**). Se observă că deși răspunsul electrodului de aur față

de dopamină este bun (**figura 3.15 a**) și răspunde liniar în domeniul de concentrații  $2.5 \times 10^{-6}$  –  $2.6 \times 10^{-5}$  M (**inset**), acesta nu poate decela între dopamină și ascorbatul dintr-un amestec (**figura 3.15 b**). De aceea se impune modificarea suprafeței electrodului cu diverse materiale.



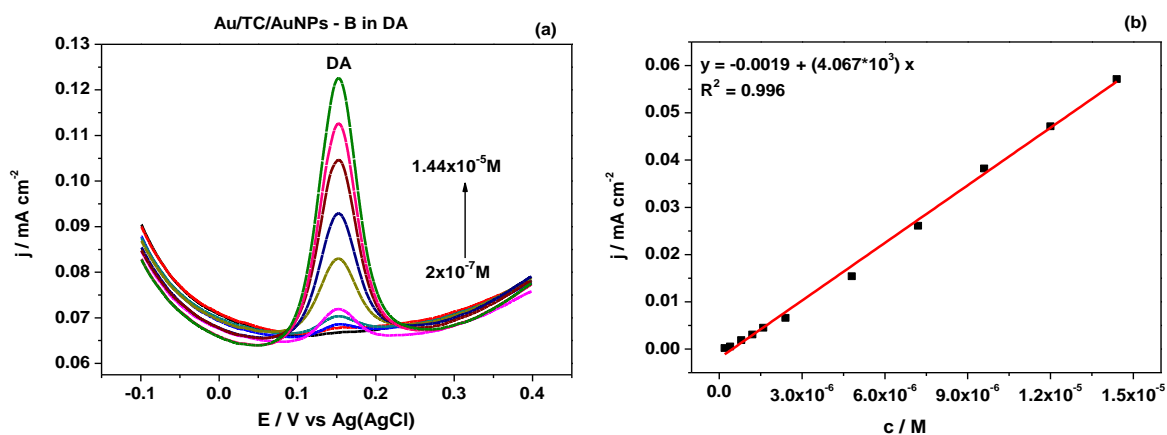
**Figura 3.15.** (a) Voltamogramele cu puls diferențial obținute pentru electrodul de aur disc în PBS (pH 7.2) conținând DA:  $2.5 \times 10^{-6}$  M –  $2 \times 10^{-5}$  M, **inset**: răspunsul liniar în domeniul de concentrații  $2.5 \times 10^{-6}$  M –  $2 \times 10^{-5}$  M; (b) Voltamogramele cu puls diferențial înregistrate pentru electrodul Au disc în soluții conținând DA (adaos succesiv  $2.5 \mu\text{M}$ ) și AA (adaos succesiv  $6.5 \mu\text{M}$ )

În **figura 3.16** este prezentat răspunsul electrochimic al electrozilor modificați cu tiocitozină (Au/TC) în soluții amestec DA și AA. Utilizarea electrozilor modificați Au/TC nu au adus schimbări esențiale în ceea ce privește detecția selectivă a dopaminei dintr-un amestec dopamină – ascorbat, totuși se poate observa o despicare a picului voltametric datorită suprapunerii parțiale a picurilor corespunzătoare celor doi componenți ai amestecului.



**Figura 3.16.** Voltamogramele cu puls diferențial înregistrate pentru electrodul Au/TC în soluții de PBS (pH 7.2) conținând DA ( $5 \mu\text{M}$ ) și AA - adaos succesiv: a) 0, b) 5, c) 5, d-h)  $10 \mu\text{M}$

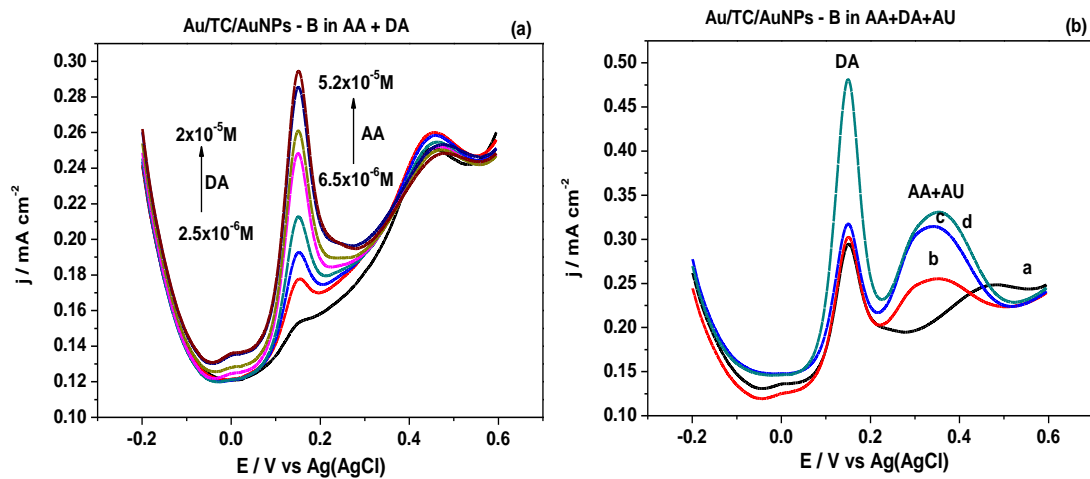
Pentru a modifica potențialul de oxidare al acestor biomolecule, în vederea detecției simultane a dopaminei și ascorbatului, în continuare s-au testat electrozii de aur modificați cu tiocitozină și nanoparticule de aur obținute prin metoda reducerii sării metalice cu citrat și borohidruură de sodiu (**Au/TC/AuNPs – B**). Răspunsul electrochimic al electrodului modificat **Au/TC/AuNPs – B** în PBS (pH 7.2) conținând diferite concentrații de dopamina soluții este prezentat în **figura 3.18**.



**Figura 3.18.** (a) Voltamogramele cu puls diferențial înregistrate pentru electrodul **Au/TC/AuNPs-B** în PBS (pH 7.2) conținând DA:  $2 \times 10^{-7} \text{ M}$  –  $1.44 \times 10^{-5} \text{ M}$ ; (b) dreapta de calibrare în domeniul de concentrații  $2 \times 10^{-7} \text{ M}$  –  $1.44 \times 10^{-5} \text{ M}$

Răspunsul electrochimic al electrodului **Au/TC/AuNPs – B** în soluții amestec dopamină și ascorbat este prezentat în **figura 3.19 a**. Utilizând acest electrod modificat potențialul de oxidare al celor două biomolecule este modificat obținându-se două picuri de oxidare distincte. Potențialul de oxidare al ascorbatului este deplasat la valori mai pozitive.

În soluții conținând amestec de dopamină, ascorbat și acid uric electrodul **Au/TC/AuNPs – B** se comportă diferit. Se obțin doar două picuri de oxidare: unul pentru dopamină ( $+0.15 \text{ V vs Ag/AgCl}$ ) și unul pentru ascorbat și acid uric ( $+0.35 \text{ V vs Ag/AgCl}$ ). Se observă că picul corespunzător oxidării dopaminei nu este influențat de prezența mai multor interferenți în amestec, nici chiar când aceștia se găsesc la concentrații duble față de dopamină. O limitare a folosirii electrodului modificat **Au/TC/AuNPs-B** constă în faptul că acesta nu poate decela între picul de oxidare al ascorbatului și cel al acidului uric în condițiile folosite (**figura 3.19 b**).



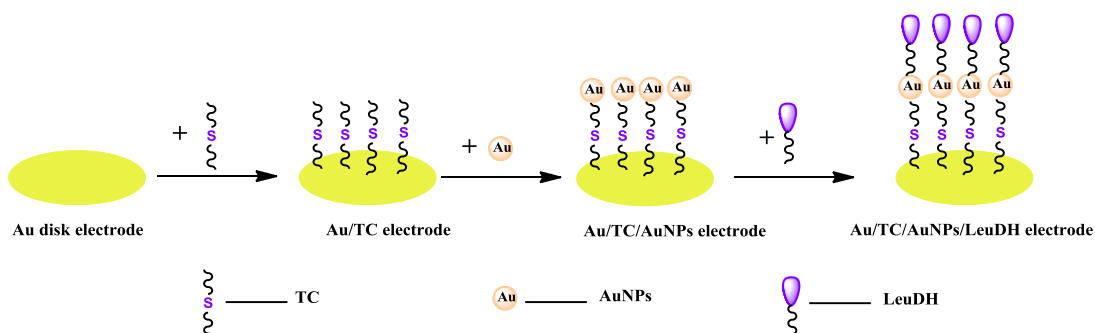
**Figura 3.19.** (a) Voltamogramele cu puls diferențial înregistrate pentru electrodul Au/TC/AuNPs-B în soluții conținând DA (adaos succesiv  $2.5 \mu\text{M}$ ) și AA (adaos succesiv  $6.5 \mu\text{M}$ ); (b) Voltamogramele cu puls diferențial înregistrate pentru electrodul Au/TC/AuNPs-B în soluții conținând DA: a-c)  $20 \mu\text{M}$ , d)  $50 \mu\text{M}$ ; AA: a-d)  $52 \mu\text{M}$  și AU: a) 0, b)  $50$ , c-d)  $100 \mu\text{M}$

## CAPITOLUL 4

**BIOSENZOR MODIFICAT CU LEUCIN DEHIDROGENAZĂ PENTRU  
DETECȚIA IONULUI AMONIU IMPLICAT ÎN AMINAREA  
REDUCTIVĂ A ACIDULUI  $\alpha$ -CETOIZOCAPROIC**

#### 4.2. Prepararea biosenzorului modificat cu leucin dehidrogenază

S-a preparat un biosenzor modificat cu tiocitozină, nanoparticule de aur și leucindehidrogenază. Procedura de preparare a biosenzorului este reprezentată schematic în figura 4.1.



**Figura 4.1.** Reprezentare schematică – preparare biosenzor modificat cu leucin dehidrogenază (Au/TC/AuNPs-F/LeuDH)

#### 4.4. Studii electrochimice

Determinarea ionului amoniu implicat în aminarea reductivă a acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic s-a realizat utilizând biosenzorul modificat cu leucin dehidrogenază prin măsurători de cronoamperometrie. Biosenzorul este utilizat atât ca senzor de amoniu (indirect) cât și ca substrat pentru enzima imobilizată chimic necesară sintezei L-leucinei prin reacția de aminare electrochimică. Ionul amoniu este utilizat ca sursă de amoniac pentru biosinteza L-leucinei. De asemenea, biosenzorul modificat a fost utilizat pentru regenerarea *in situ* a NADH-ului.

Reacția de aminare reductivă a acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic la L-leucină a fost condusă electrochimic utilizând biosenzorul modificat (Au/TC/AuNPs-F/LeuDH). Trebuie subliniat faptul că pentru reacția de aminare reductivă condusă electrochimic nu mai este necesară cea de a doua enzimă (GlcDH), NADH-ul fiind regenerat *in situ*.

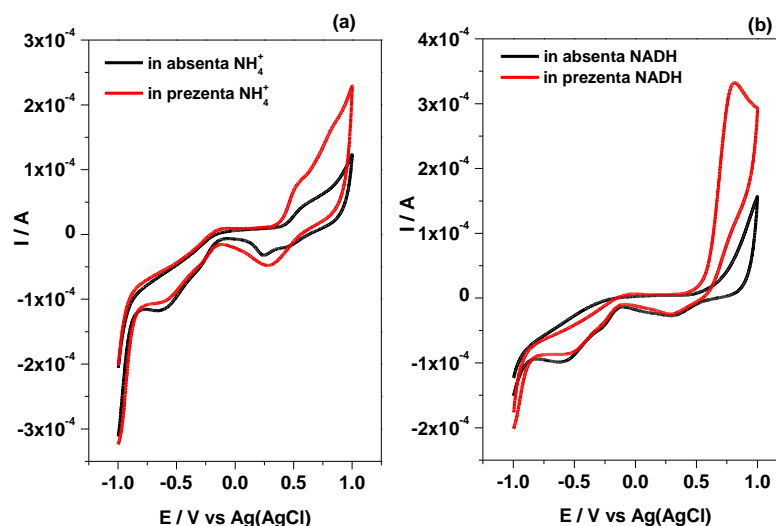
#### 4.4.1. Voltametrie ciclică

În prezența ionului amoniu, leucin dehidrogenaza catalizează conversia acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic în L-leucină, utilizând NADH-ul ca și cofactor. În timpul reacției enzimatice, NADH-ul este oxidat la  $\text{NAD}^+$  și generează doi electroni care conduc la creșterea curentului, proporțional cu concentrația ionului amoniu. Oxidarea electrocatalitică a NADH-ului este utilizată pentru cuantificarea concentrației ionului amoniu.

Pentru a stabili potențialul optim de lucru al biosenzorului Au/TC/AuNPs-F/LeuDH s-au realizat două experimente (**figura 4.7a, b**).

În primul experiment, biosenzorul este imersat într-o soluție de PBS (pH 8) care conține acid  $\alpha$ -cetoizocaproic 60 mM și NADH 7.2 mM. S-au înregistrat voltamogramele ciclice înainte (**figura 4.7a** – linia neagră) și după adăugarea ionului amoniu 60 mM (**figura 4.7a** – linia roșie). Peak-ul de oxidare la aproximativ +0.5 V poate fi atribuit oxidării NADH-ului, care crește ușor după adăugarea ionului amoniu.

În cel de al doilea experiment, biosenzorul este imersat într-o soluție de PBS (pH 8) care conține acid  $\alpha$ -cetoizocaproic 60 mM și ion amoniu 60 mM. S-au înregistrat voltamogramele ciclice înainte (**figura 4.7b** – linia neagră) și după adăugarea NADH-ului 7.2 mM (**figura 4.7b** – linia roșie). În acest caz se observă o deplasare (la aproximativ +0.8 V vs. Ag/AgCl) și o creștere semnificativă a peak-ului de oxidare a NADH-ului, ceea ce conduce la concluzia că biosenzorul răspunde direct la NADH și indirect la ionul amoniu.



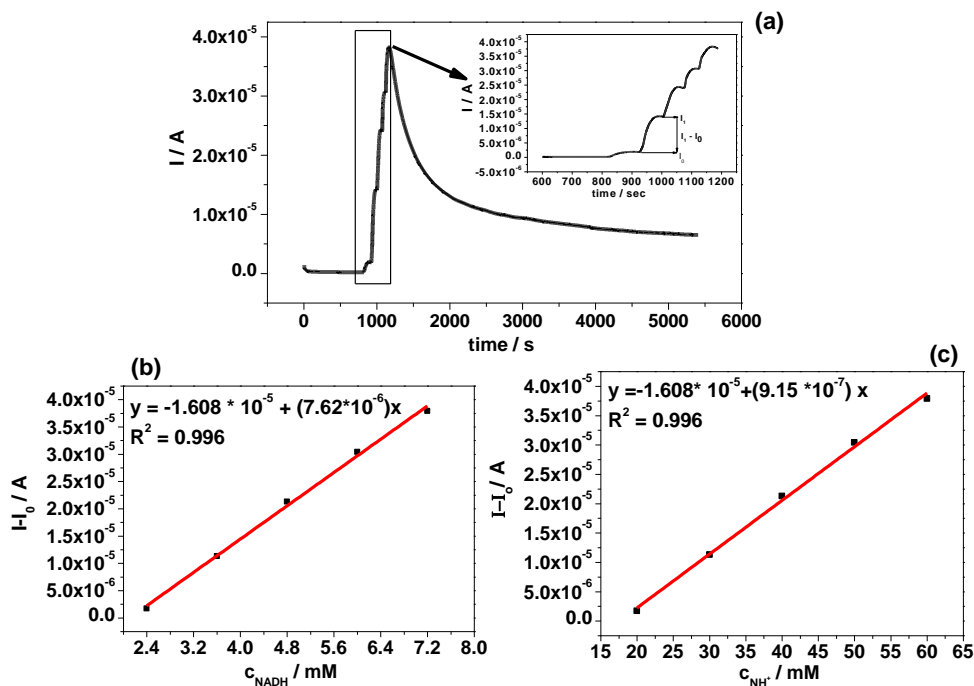
**Figura 4.7.** Voltamogramele ciclice înregistrate cu biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDH în absența și în prezența ionului amoniu 60 mM (**a**) și în absența și în prezența NADH-ului 7.2 mM (**b**) la pH 8, viteza de baleiaj 50 mV/s

Din rezultatele de mai sus s-a tras concluzia că potențialul optim de lucru al biosenzorului Au/TC/AuNPs-F/LeuDh este + 0.8 V vs. Ag/AgCl.

#### 4.4.2. Cronoamperometrie

Performanțele biosenzorului Au/TC/AuNPs-F/LeuDh au fost evaluate utilizând cronoamperometria. Astfel, s-a urmărit răspunsul biosenzorului în timp față de ionul amoniu (indirect) la potențialul de +0.8 V vs. Ag/AgCl. Pentru măsurători s-a utilizat o celulă electrochimică clasică cu 3 electrozi: biosenzorul modificat – electrod de lucru, electrod de Ag/AgCl – electrod de referință și electrod de platină – contraelectrod. Celula a fost termostată pe o baie de apă, cu ajutorul unui agitator magnetic prevăzut cu termostat.

În **figura 4.8.** este prezentată o cronoamperogramă înregistrată cu biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDh la aditii succesive de NADH 1.2 mM unui amestec de reacție conținând acid  $\alpha$ -cetoizocaproic 60 mM și clorură de amoniu 60 mM (**figura 4.8a**). Sunt prezentate și curbele de calibrare atât pentru concentrația de NADH (**figura 4.8b**), cât și pentru concentrația ionului amoniu (concentrația ionului amoniu consumată la un anumit timp de reacție), determinată indirect (**figura 4.8c**).



**Figura 4.8.** Cronoamperograma obținută cu biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDh: (a) aditii succesive de NADH 1.2 mM; (b) răspunsul linear în domeniul de concentrații 2.4 – 7.2 mM NADH; (c) curba de calibrare indirectă pentru  $NH_4^+$  în domeniul de concentrații 10 – 40 mM;  $I_0$  – curentul de fond (curentul înregistrat înainte de aditja NADH-ului)



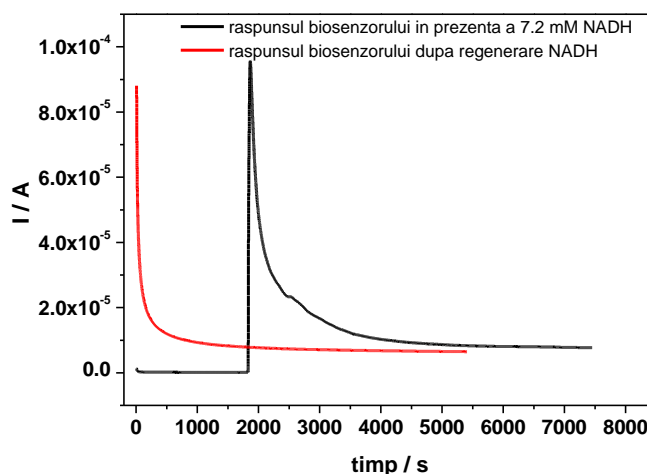
În continuare au fost realizate mai multe reacții de aminare reductivă a acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic utilizând biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDh. În acest sens s-a utilizat o celulă electrochimică termostată la 30 °C, conținând acid  $\alpha$ -cetoizocaproic 60 mM, clorură de amoniu 60 mM în 35 ml PBS pH 8, iar după stabilizarea curentului s-a adăugat întreaga cantitate de NADH (7.2 mM)

#### 4.4.3. Regenerarea *in situ* a NADH-ului utilizând biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDh

În această lucrare, regenerarea *in situ* a NADH-ului de la  $\text{NAD}^+$  a fost realizată utilizând biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDh. S-a utilizat o metodă electrochimică directă de regenerare (cronoamperometria), leucin dehidrogenaza imobilizată pe electrod facilitând transferul de electroni și adăugarea unui atom de hidrogen la  $\text{NAD}^+$ .

Experimentele au fost realizate astfel: după terminarea unui ciclu de reacție (după 7500 sec) se modifică potențialul de lucru (de la +0.8 V vs Ag/AgCl – potențialul de oxidare al NADH la -0.6 V vs Ag/AgCl – potențialul de reducere al  $\text{NAD}^+$ ) și timpul (la 2000 sec) și se repornește cronoamperometria.

În **figura 4.12** sunt prezentate cronoamperogramele obținute cu biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDh în prezența a 7.2 mM NADH și după regenerarea NADH-ului.



**Figura 4.12.** Cronoamperogramele obținute cu biosenzorul Au/TC/AuNPs-F/LeuDh în prezența a 7.2 mM NADH (linia neagră) și după regenerarea NADH-ului (linia roșie)

După terminarea reacției s-a recalculat conversia ionului amoniu și s-a observat o creștere cu 20 %. Astfel, după două cicluri de reacție și unul de regenerare conversia totală a ionului amoniu este 80 %.

**4.4.5. Validarea metodei cronoamperometrice utilizând reacția Berthelot**

Rezultatele obținute prin cronoamperometrie au fost comparate cu cele obținute utilizând metoda spectrofotometrică Berthelot.

Principiul metodei: ionii de amoniu reacționează cu hipocloritul sau hipobromitul de sodiu, în mediu alcalin, formând monocloramina, respectiv monobromamina. Aceasta reacționează apoi cu fenolul în prezența nitroprusiatului de sodiu cu formarea unui produs de reacție albastru: indofenolul. În cadrul acestei lucrări am folosit hipobromitul de sodiu. Concentrația de amoniac este determinată spectrofotometric la 625 nm.

În **tabelul 4.3.** sunt prezentate datele comparative obținute prin metoda cronoamperometrică și prin metoda Berthelot.

**Tabelul 4.3.** Rezultate comparative pentru determinarea concentrației ionului amoniu utilizând metoda cronoamperometrică și metoda Berthelot

Experiment	Concentrația ionului amoniu		Eroare [%]
	[mM]		
	Metoda cronoamperometrică	Metoda Berthelot	
1	24.50	24.00	+ 2.08
2	28.90	28.00	+ 3.21
3	29.00	30.00	- 3.33

Se poate observa faptul că rezultatele obținute prin cele două metode sunt comparabile și nu există diferențe semnificative.

## CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE

### CONCLUZII GENERALE

Cercetările realizate în cadrul acestei teze au fost axate pe două direcții: (1) dezvoltarea de noi electrozi modificați cu molecule organice și nanoparticule de aur pentru detecția unor biomolecule și (2) dezvoltarea unui biosenzor nou pe bază de nanoparticule de aur și leucin dehidrogenază pentru detecția indirectă a ionului amoniu implicat în reacția de aminare reductivă a acidului  $\alpha$ -cetoizocaproic la L-leucină.

Principalele rezultate obținute pe parcursul tezei sunt următoarele:

- ✓ S-au preparat nanoparticule de aur prin metoda Turkevich (**AuNPs-T**), Turkevich-Frens (**AuNPs-F**) și metoda reducerii sării metalice cu amestec de citrat de sodiu și borohidruură de sodiu (**AuNPs-B**);
- ✓ Nanoparticulele de aur preparate au fost caracterizate prin TEM și spectroscopie UV-Vis;
- ✓ S-au preparat electrozi de aur modificați cu:
  - molecule organice: **Au/TC**, **Au/GU**;
  - molecule organice și nanoparticule de aur: **Au/TC/AuNPs-T**, **Au/GU/AuNPs-T**, **Au/TC/AuNPs-F**, **Au/TC/AuNPs-B**;
  - multistraturi: **Au/TC/AuNPs-T/TC**, **Au/GU/AuNPs-T/GU**;
- ✓ Electrozii preparați au fost caracterizați prin microscopie de forță atomică și spectroscopie de infraroșu cu transformată Fourier prin reflexie speculară;
- ✓ Electrozii modificați (**Au/TC**, **Au/GU**, **Au/TC/AuNPs-T**, **Au/GU/AuNPs-T**, **Au/TC/AuNPs-T/TC**, **Au/GU/AuNPs-T/GU**) au fost testați ca senzori pentru detecția acidului uric în prezența interferențelor acidului ascorbic;
- ✓ Cele mai bune rezultate s-au obținut cu electrozii **Au/TC**, respectiv **Au/GU** și rezultate satisfăcătoare cu electrozii **Au/TC/AuNPs-T**, respectiv **Au/GU/AuNPs-T**;
- ✓ Electrozii modificați (**Au/TC**, **Au/TC/AuNPs-F**, **Au/TC/AuNPs-B**) au fost testați ca senzori pentru detecția dopaminei în prezența interferențelor acidului uric și acidului ascorbic;
- ✓ Electrozii modificați **Au/TC/AuNPs-B** prezintă activitate catalitică pentru oxidarea DA, nu numai în absența interferențelor ci și în prezența acestora. Totuși acest electrod

nu poate decela între picul de oxidare al ascorbatului și cel al acidului uric în condițiile folosite;

- ✓ Electrozii modificați preparați prezintă reproductibilitate, stabilitate și sensibilitate bune;
- ✓ S-a preparat un biosenzor amperometric pe bază de nanoparticule de aur și leucin dehidrogenaza: **Au/TC/AuNPs-F/LeuDH**;
- ✓ Biosenzorul a fost utilizat atât ca senzor de amoniu cât și ca substrat pentru enzima imobilizată chimic necesară pentru reacția de aminare electrochimică de sinteză a L-leucinei;
- ✓ Utilizând biosenzorul **Au/TC/AuNPs-F/LeuDH** reacția de aminare reductivă a fost condusă cu o singură enzimă (leucin dehidrogenaza) și în același timp NADH-ul a fost regenerat electrochimic *in situ*;
- ✓ Rezultatele obținute prin metoda cronoamperometrică cu biosenzorul dezvoltat sunt comparabile cu cele obținute prin metoda spectrofotometrică Berthelot;
- ✓ Biosenzorul prezintă stabilitate, reproductibilitate și performanțe analitice bune;

## **PERSPECTIVE**

Cercetările viitoare vor fi conduse în următoarele direcții:

- optimizarea condițiilor experimentale, respectiv testarea metodei adaosului standard, pentru detecția simultană a dopaminei, acidului uric și acidului ascorbic utilizand electrodul modificat **Au/TC/AuNPs-B**. Modificarea condițiilor experimentale poate determina o deplasare a potențialului de electrod a speciilor analizate și în consecință, o separare a acestor specii.
- îmbunătățirea performanțelor biosenzorului modificat **Au/TC/AuNPs-F/LeuDH** în vederea utilizării lui pentru biosinteza L-leucinei marcate izotopic cu  $^{15}\text{N}$ . Pentru marcarea izotopică se utilizează  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  ca sursă de  $^{15}\text{N}$ , de aceea trebuie îmbunătățit gradul de conversie al ionului amoniu.

## ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

### Articole ISI publicate

1. **Adriana Vulcu**, Camelia Berghian Grosan, Maria Chiriac, Valer Almasan, “*Biosynthesis of <sup>15</sup>N Labelled L-Glutamic Acid: Experimental and Computational Studies*”, **Revue Roumaine de Chimie**, **2011**, 56(6), 667-674.
2. Camelia Berghian Grosan, Codruta Varodi, **Adriana Vulcu**, Liliana Olenic, Stela Pruneanu, Valer Almasan, *Structural and Electrochemical Characterization of Novel Leucine-Gold Nanoparticles Modified Electrode*, **Electrochimica Acta**, **2012**, 63, 146-152.
3. **Adriana Vulcu**, Camelia Grosan, Liana Maria Muresan, Stela Pruneanu, Liliana Olenic, “*Modified Gold Electrodes Based On Thiocytosine/Guaninegold Nanoparticles For Uric And Ascorbic Acid Determination*”, **Electrochimica Acta**, **2013**, 88, 839-846.
4. Maria Crisan, Luminita David, Bianca Moldovan, **Adriana Vulcu**, Simina Dreve, Maria Perde-Schrepler, Corina Tatomir, Adriana Gabriela Filip, Pompei Bolfa, Marcela Achim, Ioana Chiorean, Irina Kacso, Camelia Berghian Grosan, Liliana Olenic, *New Nanomaterials for the Improvement of Psoriatic Lesions*, **J. Mater. Chem. B**, **2013**, 1, 3152-3158.
5. L. David, B. Moldovan, **A. Vulcu**, L. Olenic, M. Perde-Schrepler, E. Fischer-Fodor, A. Florea, M. Crisan, I. Chiorean, S. Clichici G. A. Filip, *Green synthesis, characterization and anti-inflammatory activity of silver nanoparticles using European black elderberry fruits extract*, **Colloids and Surfaces B**, **2014**, 122, 767-777.
6. C. Berghian-Grosan, L. Olenic, G. Katona, M. Perde-Schrepler, **A. Vulcu**, *L-Leucine for gold nanoparticles synthesis and their cytotoxic effects evaluation*, **Amino Acids**, **2014**, 46, 2545-2552.

### În volumele unor conferințe

1. **A. Vulcu**, S. Pruneanu, C. Berghian-Grosan, L. Olenic, L.M. Muresan, L. Barbu-Tudoran, *Impedimetric Investigation of Gold Nanoparticles – Guanine Modified Electrode*, **AIP Conference Proceedings**, 1565, 2013, 273-277 (indexată ISI)

### Participări la conferințe științifice

1. **Adriana Vulcu**, Camelia Berghian Grosan, Maria Chiriac, Valer Almasan, **Biosynthesis of <sup>15</sup>N Labelled L-Glutamic Acid: Experimental and Computational Studies**, RomCat 2010, 23-26 June, **2010**, Iasi, Romania
2. **Adriana Vulcu**, Camelia Grosan, Liliana Olenic, Ioan Bratu, Diana Bogdan, Liana Muresan, Lucian Barbu-Tudoran, “**Determination of Uric Acid using Gold Nanoparticles Modified Interfaces**”, 5th International Conference “Biomaterials, Tissue Engineering & Medical Devices”, 29 august – 1 septembrie **2012**, Constanta, Romania
3. **Adriana Vulcu**, S. Pruneanu, C. Berghian-Grosan, L. Olenic, L.M. Muresan, L. Barbu-Tudoran, **Impedimetric Investigation of Gold Nanoparticles – Guanine Modified Electrode**, PIM 2013, 25.09 – 27.09.2013, Cluj-Napoca, Romania

## **Mulțumiri**

*Pe această cale doresc să adresez mulțumiri doamnei prof. dr. Liana Maria Mureșan, conducătoarea tezei mele de doctorat pentru sprijinul și ajutorul acordat pe toată durata cercetărilor și fără de care nu ar fi fost posibilă realizarea acestei teze de doctorat.*

*De asemenea, le adresez alese mulțumiri membrilor Comisiei de Evaluare a tezei de doctorat și anume: dnei prof. dr. Carmen Socaciu, dnei conf. dr. ing. Graziella Turdean, d-lui prof. dr. Robert Săndulescu și nu în ultimul rând Președintelui comisiei: D-na Prof. dr. Luminita Silaghi-Dumitrescu.*

*Membrilor Comisiei de Îndrumare din cadrul Facultății de Chimie și Inginerie Chimică le mulțumesc pentru sugestiile și sfaturile acordate pe durata cercățărilor și anume: dnei conf. dr. ing. Graziella Turdean, d-lui. Prof. emerit. dr. Cătălin Ionel Popescu și d-lui. lect.dr.ing. Adrian Nicoară.*

*Mulțumiri speciale conducerii Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice, Cluj-Napoca, pentru sprijinul financiar acordat.*

*Calde mulțumiri le aduc colegelor mele dna. dr. Liliana Olenic și dna. dr. Groșan Camelia pentru sprijinul, amabilitatea, îndrumarea și încurajările acordate.*

*Mulțumesc tuturor colegilor de la INCDTIM Cluj-Napoca pentru sprijinul acordat. De asemenea, sincere mulțumiri tuturor celor care direct, sau indirect m-au sprijinit în efectuarea și finalizarea acestei teze.*

*Nu în ultimul rând, adresez mulțumiri din tot sufletul mamei mele, pentru permanenta susținere, căreia îi dedic această teză.*