

**UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI CLUJ-NAPOCA**



**FACULTATEA DE CHIMIE ȘI  
INGINERIE CHIMICĂ**

**Școala Doctorală de Chimie**



**Noi electrozi modificați cu proprietăți electroanalitice**

## **REZUMAT TEZĂ**

**Conducător de doctorat,  
Dr. Liana Maria Mureșan**

**Doctorand,  
Codruța Mihaela Varodi**

**Cluj-Napoca**

**2016**

# CUPRINS

|  |     |
|--|-----|
| INTRODUCERE.....   | 1   |
| I. CONSIDERAȚII TEORETICE.....   | 4   |
| I.1. Zeoliți.....  | 4   |
| I.1.1. Clasificare .....   | 4   |
| I.1.2. Proprietăți generale .....  | 5   |
| I.1.3. Aplicații.....  | 7   |
| I.2. Electrozi modificați cu zeoliți (EMZ).....  | 7   |
| I.2.1. Metode de obținere a EMZ .....  | 7   |
| I.2.2. Aplicații ale EMZ .....   | 10  |
| I.2.2.1. Detecția H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....  | 15  |
| I.2.2.2. Detecția NADH.....  | 18  |
| I.2.2.3. Detecția acidului ascorbic (AA).....  | 21  |
| I.3. Albastrul de metilen (MB).....  | 25  |
| I.4 Biosenzori.....  | 29  |
| II. CONTRIBUȚII ORIGINALE .....  | 33  |
| II.1. Electrozi compoziți pe bază de zeoliți (EMZ).....  | 33  |
| II.1.1. Condiții experimentale .....   | 34  |
| II.1.1.1. Materiale .....  | 34  |
| II.1.1.2. Metode și aparatură .....  | 35  |
| II.1.1.3 Prepararea electrozilor .....   | 36  |
| II.1.2. Rezultate și discuții.....   | 38  |
| II.1.2.1 Caracterizarea EMZ prin metode neelectrochimice (EDS, SEM, FTIR etc.) .....                               | 38  |
| II.1.2.2. Caracterizarea electrochimică a EMZ prin voltametrie ciclică .....                                       | 41  |
| II.1.2.3. Parametrii electrochimici ai EMZ .....   | 42  |
| II.1.2.3.1. Electrozi din pastă de cărbune conținând zeoliți modificați cu MB.....                                 | 42  |
| II.1.2.3.2. Electrozi din pastă de cărbune conținând zeoliți modificați cu calciu și MB.....                       | 43  |
| II.1.2.3.3. Electrozi din pastă de cărbune conținând zeoliți modificați cu cupru și fier..                         | 44  |
| II.1.2.4. Influența vitezei de baleiaj.....  | 47  |
| II.1.2.5. Influența pH-ului .....  | 54  |
| II.1.2.6. Stabilitatea EMZ.....  | 57  |
| II.1.2.3. Aplicații electrocatalitice ale EMZ.....   | 62  |
| II.1.2.3.1. Electroreducerea H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....   | 62  |
| II.1.2.3.2. Electrooxidarea NADH .....   | 77  |
| II.1.2.3.3. Electrooxidarea acidului ascorbic (AA).....  | 85  |
| II.2. Electrozi de grafit modificați cu derivați fenotiazinici (G/BPhM) și nanotuburi de carbon (G/BPhM-CNT) ..... | 103 |
| II.2.1. Condiții experimentale .....   | 104 |
| II.2.1.1. Materiale .....  | 104 |
| II.2.1. 2. Prepararea electrozilor .....   | 105 |
| II.2.1. 3. Măsurători fizico-chimice și electrochimice .....   | 106 |
| II.2.2. Rezultate și discuții.....   | 106 |
| II.2.2.1. Caracterizarea electrozilor modificați .....   | 106 |

|   |     |
|---|-----|
| II.2.2.2. Oxidarea NADH pe electrozii G/BPhM si G/BPhM-CNT .....  | 112 |
| II.2.2.3. Senzori amperometrici pentru NADH .....   | 115 |
| II.2.3. Concluzii la capitolul II.2 .....   | 117 |
| II.3. Biosenzori amperometrici pentru detecția AA .....   | 118 |
| II.3.1. Obiective.....  | 119 |
| II.3.2. Obținerea biosenzorilor. Studiu de optimizare. ....   | 120 |
| II.3.3. Determinarea parametrilor cinetici ai biosenzorilor amperometrici.....  | 121 |
| II.3.4. Determinarea caracteristicilor electroanalitice ale biosenzorilor amperometrici .....   | 124 |
| II.3.5. Stabilitatea biosenzorilor .....  | 126 |
| II.3.6. Determinarea AA din probe sintetice cu biosenzorul amperometric .....   | 127 |
| II.3.7. Determinarea acidului ascorbic din probe reale (vinuri, sucuri) cu ajutorul biosenzorilor realizați .....   | 128 |
| II.3.8. Concluzii și perspective la capitolul II.3 .....  | 134 |
| II.4. Material compozit nou pe bază de pastă de cărbune și eter coroană pentru detecția selectivă a potasiului .....  | 136 |
| II.4.1. Obiective.....  | 137 |
| II.4.2. Partea experimentală.....   | 138 |
| II.4.3. Rezultate și discuții.....  | 140 |
| II.4.3.1 Investigațiile UV-VIS .....  | 140 |
| II.4.3.2 Studiul de fluorescență .....  | 141 |
| II.4.3.3 Studiul comportamentului electrochimic.....  | 142 |
| II.4.3.4 Studiul de potențiometrie.....   | 143 |
| II.4.4. Concluzii la capitolul II.4 .....   | 145 |
| II.5. Electrozi de aur modificați cu nanoparticule de aur funcționalizate cu L-leucină sau cu citrat. Caracterizare morfologică, structurală și electrochimică..... | 146 |
| II.5.1. Introducere.....  | 146 |
| II.5.2. Partea experimentală.....   | 147 |
| II.5.3. Rezultate și discuții.....  | 150 |
| II.5.3.1. Investigația morfologică a nanoparticulelor de aur și a electrodului de Au modificat cu AuNPs .....   | 150 |
| II.5.3.2. Voltametrie ciclică și spectroscopie de impedanță electrochimică .....  | 151 |
| II.5.4. Concluzii la capitolul II.5 .....   | 158 |
| Concluzii finale .....  | 159 |
| BIBLIOGRAFIE .....  | 162 |

## INTRODUCERE

În ultimii ani, *electrozii modificați* (EM), obținuți prin modificarea deliberată a materialelor de electrod convenționale, sunt folosiți în multe domenii ce includ electrocataliza, electroanaliza și electrosinteza, deoarece posedă numeroase avantaje față de electrozii convenționali [1-6]. Una din cele mai importante proprietăți ale EM o constituie abilitatea acestora de a cataliza oxidarea sau reducerea unor specii chimice de interes practic, procese care, din cauză că pe electrozii convenționali se desfășoară cu suprapotențiale mari, sunt susceptibile la interferențe. Această caracteristică conferă EM o largă aplicabilitate îndeosebi în domeniul detecției amperometrice a unor specii cu importanță biologică [7-13].

Pe de altă parte, compușii redox imobilizați pe suprafața electrodului modificat facilitează cuplajul redox dintre acesta și centrul activ din numeroși compuși biologici cu rol important în diverse procese biochimice. Aceasta explică în parte și interesul declanșat de introducerea EM în bioelectrochimie, interes exemplificat și prin utilizarea acestora ca interfețe electrochimice pentru realizarea de biosenzori [14-20].

Se observă că apariția EM a dinamizat cercetările orientate spre realizarea de sisteme miniaturizate pentru analiza simultană a mai multor specii chimice, sisteme caracterizate printr-un consum redus de reactivi și energie.

O categorie aparte de electrozi modificați o constituie cea a electrozilor modificați cu zeoliți (EMZ), materiale ce pot fi utilizate cu succes ca suporturi pentru imobilizarea unor mediatori organici (fenoxazine, fenotiazine, flavine, viologeni, fluorenone, derivați ai chinonelor, etc.) în scopul creșterii stabilității electrozilor modificați. În 1999, Walcarius a făcut un rezumat excelent al ultimilor 10 ani de investigații în acest domeniu [21]. Principalele avantaje ale utilizării zeoliților pentru prepararea de electrozi sunt: stabilitate mecanică și termică ridicate, inerție chimică, proprietăți schimbătoare de ioni, proprietăți de adsorbție bune și selectivitate după dimensiuni și formă față de diferite specii chimice (joacă rol de site moleculare).

Pe de altă parte, pasta de cărbune (PC) este un material bun conductor, capabil să formeze compozite cu materialul sensibil al electrodului. Iată și câteva din caracteristicile fizico-chimice ale PC: heterogenitate (caracter compozit), lipofilicitate (hidrofobicitate), rezistență ohmică mică (conductivitate mare). Pe lângă aceste avantaje, PC prezintă și unele dezavantaje: instabilitate în soluții neapoase (dezintegrare), efecte de îmbătrânire (timp de

viață limitat) [92]. De aici rezultă și proprietățile electrozilor de cărbune pastă (ECP): curent de fond foarte mic (raportul semnal/ zgomot favorabil), polarizabilitate individuală (cu fereastra variabilă de potential), cinetică de reacție specifică (afectată de ambii constituenți ai pastei de cărbune), activitate electrodică atât la suprafață cât și în volum, variabilitate în utilizare (electroliza, cataliza, adsorbție, extracție, etc și combinații ale acestora.)

Alte materiale bune conductoare utilizabile la fabricarea electrozilor compoziți sunt nanotuburile de carbon (CNT). Acestea au atras atenția pentru stabilitatea lor chimică, suprafața mare, proprietățile electronice unice, și proprietățile mecanice relativ bune. Proprietățile fizice și chimice ale CNT le fac materiale nano-structurate bune pentru diferite aplicații într-o gamă largă de domenii tehnologice, inclusiv chimie, biologie, medicină, electronică, știința materialelor și inginerie [22-24]. În comparație cu alte forme de electrozi de carbon, cum ar fi grafitul și electrozii de cărbune sticlos, electrozii modificați pe bază de CNT prezintă performanțe mai bune, conductivitate mai bună și capacitatea de a promova reacții de transfer de electroni. Datorită structurii materialului (canalele inerente existente în tuburi), structurii electronice, precum și defectelor topologice prezente pe suprafața tubului, acestea sunt folosite cu succes ca material de electrod în reacții electrochimice [25-27].

Prepararea de nanostructuri hibride compuse din nanoparticule metalice cum ar fi cele din platină, aur sau argint și molecule organice au fost subiectul cercetărilor științifice din ultimii ani datorita îmbunătățirii răspunsului electrocatalitic al senzorilor.

O altă categorie de electrozi utilizabili la determinarea unor specii chimice de interes o reprezintă biosenzorii. Aceștia sunt senzori fizico-chimici clasici pe care se imobilizează un element biologic care transformă informația chimică într-un semnal electric. Aceștia aduc un plus de selectivitate față de electrozii modificați chimic, care au semnalul influențat de componenții matricei în care se poate afla analitul de interes (probele reale).

În acest context, **scopul tezei** este prezentarea câtorva rezultate originale obținute cu noi electrozi modificați compoziți aplicabili la detecția unor specii chimice importante.

**Obiectivele tezei** sunt:

- (i) Obținerea și caracterizarea unor noi EMZ aplicabili în detecția unor specii chimice importante în domeniul biomedical ( $H_2O_2$ , NADH, acid ascorbic etc.)
- (ii) Realizarea unor electrozi de grafit modificați cu mediatori redox și nanotuburi de carbon pentru detecția amperometrică a NADH
- (iii) Prepararea și optimizarea unui biosenzor amperometric pentru detecția acidului ascorbic

- (iv) Obținerea unor electrozi compoziți pe bază de cărbune pastă și eteri coroană pentru detecția selectivă a potasiului
- (v) Elaborarea unui electrod de Au modificat cu nanoparticule de Au funcționalizate cu leucină pentru detecția ionilor de cupru

Teza este structurată în două părți: prima trece în revistă câteva considerații teoretice referitoare la materiale de electrod și nanomateriale compozite, mediatori redox, senzori și biosenzori, dar și tehnici de lucru electrochimice, iar a doua descrie contribuțiile originale în obținerea, caracterizarea și aplicațiile unor noi materiale de electrod compozite cu proprietăți electrocatalitice. Contribuțiile originale sunt structurate în cinci capitole care abordează: (i) electrozi compoziți modificați cu zeoliți pentru detecția  $H_2O_2$ , NADH și acidului ascorbic; (ii) electrozi de grafit modificați cu mediatori redox și nanotuburi de carbon pentru detecția amperometrică a NADH; (iii) un biosenzor amperometric pentru detecția acidului ascorbic; (iv) electrozi compoziți pe bază de pastă de cărbune și eteri coroană pentru detecția selectivă a potasiului; și (v) un electrod de Au modificat cu nanoparticule de Au funcționalizate cu leucină pentru detecția cuprului. Toți electrozii au fost caracterizați și testați pentru determinarea unor specii chimice de interes.

**Cuvinte cheie:** electrozi modificați, biosenzor,  $H_2O_2$ , NADH, acid ascorbic, nanotuburi de carbon, nanoparticule de aur, zeoliți , pasta de cărbune, eter coroană

## II. CONTRIBUȚII ORIGINALE

### II.1. Electrozi compoziți pe bază de zeoliți (EMZ).

Materialele compozite sunt amestecuri eterogene de două sau mai multe faze omogene legate împreună. Principalul avantaj al acestor materiale constă în posibilitatea combinării optime a proprietăților fizico-chimice ale componentilor în scopul obținerii unor proprietăți structurale și funcționale noi. Pe lângă faptul că fiecare component contribuie în mod specific la formarea proprietăților ansamblului, sistemele compozite posedă avantajul manifestării unor efecte sinergetice între componentele lor, ceea ce, în final, conferă ansamblului proprietăți superioare celor ale componentilor individuali.

Materialele compozite sunt alcătuite din două elemente principale: *matricea* (metalică, polimerică, pe bază de cărbune etc.) și *materialul de ranforsare*. Constituit din particule inerte (ex. particule de ceramică, sticlă, oxizi, zeoliți / argile etc.) materialul de ranforsare este destinat să confere compozitului în principal rezistență mecanică.

În cazul materialelor compozite pentru electrozi, utilizarea materialelor pe bază de carbon asigură o bună conductivitate electrică, încorporarea unor polimeri conferă o rezistență mecanică ridicată, prezența mediatorilor redox facilitează transferul de sarcină electrică, includerea unor adsorbenți cu suprafața mare de adsorbție determină creșterea stabilității electrochimice etc.

Deși proprietățile catalitice ale zeoliților sunt cunoscute de mai mult timp, preocupările pentru utilizarea acestor materiale în scopul obținerii de electrozi compoziți datează doar din anii '90 [241]. **Electrozii modificați cu zeoliți (EMZ)** combină capacitatea de schimb ionic, stabilitatea termică și chimică, proprietățile de site moleculare și pe cele electrocatalitice de excepție ale zeoliților, cu sensibilitatea ridicată a metodelor electrochimice, rezultând astfel electrozi cu proprietăți îmbunătățite care își găsesc numeroase aplicații electroanalitice.

În acest context, **obiectivele** urmărite în cadrul părții experimentale a tezei au fost:

- **Prepararea mai multor electrozi compoziți pe baza de zeoliți (EMZ)** prin încorporarea acestora în pastă de cărbune, în scopul detecției unor specii chimice de larg interes pentru controlul calității mediului înconjurător sau al proceselor biotehnologice. În cadrul tezei s-au testat mai multe tipuri de zeoliți:

(i) zeoliti mezoporosi sintetici (13X și 4A Aldrich, Germania) modificați cu

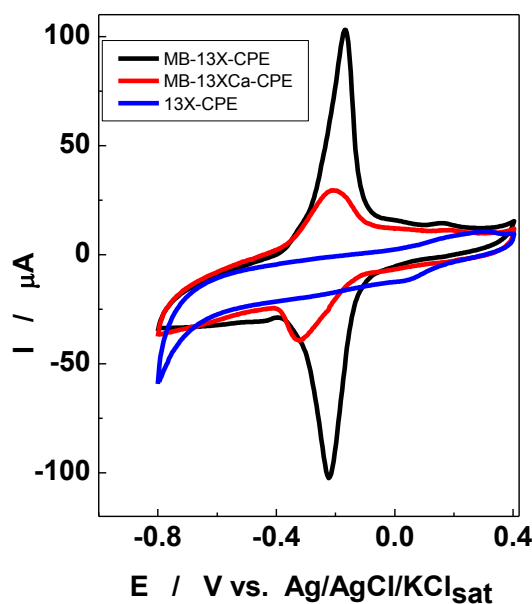
Albastru de metilen (MB), și/sau ioni  $\text{Ca}^{2+}$  ;

(ii) tufuri vulcanice conținând zeoliți naturali CV (Cepari- Vultureni) modificați cu  $\text{Cu}^{2+}$

(iii) tufuri vulcanice conținând un zeolit natural M (Mârșid) modificat cu  $\text{Fe}^{3+}$ , în diferite condiții experimentale (pH, prezența ionilor de  $\text{Ca}^{2+}$  etc.)

Varianta constructivă care utilizează pastă de cărbune îmbină avantajul încorporării facile a unor ioni metalici sau a unei rezerve de mediator (datorată proprietăților schimbătoare de ioni, de intercalare și/sau porozității zeolitului) cu simplitatea procedurii de imobilizare a zeoliților în matricea electrodică. Pentru prepararea pastei de cărbune s-a folosit fie grafit, fie nanotuburi de carbon.

- *Caracterizarea electrozilor modificați cu zeoliți prin metode electrochimice și fizico-chimice*
- *Realizarea unor senzori/biosenzori amperometrici pentru detecția unor specii chimice de interes ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , NADH și acid ascorbic) având la bază EMZ.*



**Figura II.1.8.** Voltamogramele ciclice pentru electrozi modificați cu zeoliți sintetici 13X-CPE (—), MB-13X-CPE (—) și MB-13XCa-CPE (—). Condiții experimentale: potențial de start, -800 mV vs. Ag|AgCl/KCl<sub>sat</sub>; viteza de baleiaj, 10 mV s<sup>-1</sup>; electrolitul suport, 0.1 M tampon tris, pH 7.0.



**Tabelul 6.** Electrozii modificați cu zeoliți obținuți

| Nr. crt. | Denumirea electrodului | Zeolit                      | Modificator              | Metoda de modificare     | Cărbune utilizat in CPE      |
|----------|------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|
| 1        | 13X-CPE                | sintetic 13X (Aldrich)      | -                        | -                        | grafit                       |
| 2.       | MB-13X-CPE             | sintetic 13X (Aldrich)      | Albastru de metilen (MB) | adsorbție                | grafit                       |
| 3.       | MB-4A-CPE              | sintetic 4A (Aldrich)       | Albastru de metilen (MB) | adsorbție                | grafit                       |
| 4        | MB-13XCa -CPE          | sintetic 13X (Aldrich)      | ioni $\text{Ca}^{2+}$    | schimb ionic + adsorbție | grafit                       |
| 5.       | M-G-CNT-CPE            | natural de Mârșid           | -                        | -                        | Grafit+ nanotuburi de carbon |
| 6        | M-Cu-G-CNT-CPE         | natural de Mârșid           | ioni $\text{Cu}^{2+}$    | schimb ionic             | Grafit+ nanotuburi de carbon |
| 7        | M-Cu-CPE               | natural de Mârșid           | ioni $\text{Cu}^{2+}$    | schimb ionic             | grafit                       |
| 8        | CV-Fe-CPE              | natural de Cepari-Vultureni | ioni $\text{Fe}^{2+}$    | schimb ionic             | grafit                       |

**Tabelul 7.** Parametrii electrochimici corespunzători electrozilor modificați cu zeoliți. Condiții experimentale: viteza de baleiaj,  $10 \text{ mV s}^{-1}$ ; electrolitul suport, soluție tampon fosfat  $0,1 \text{ M}$  pH 7 ( pH 3 în cazul electrodului CV-Fe-CPE)

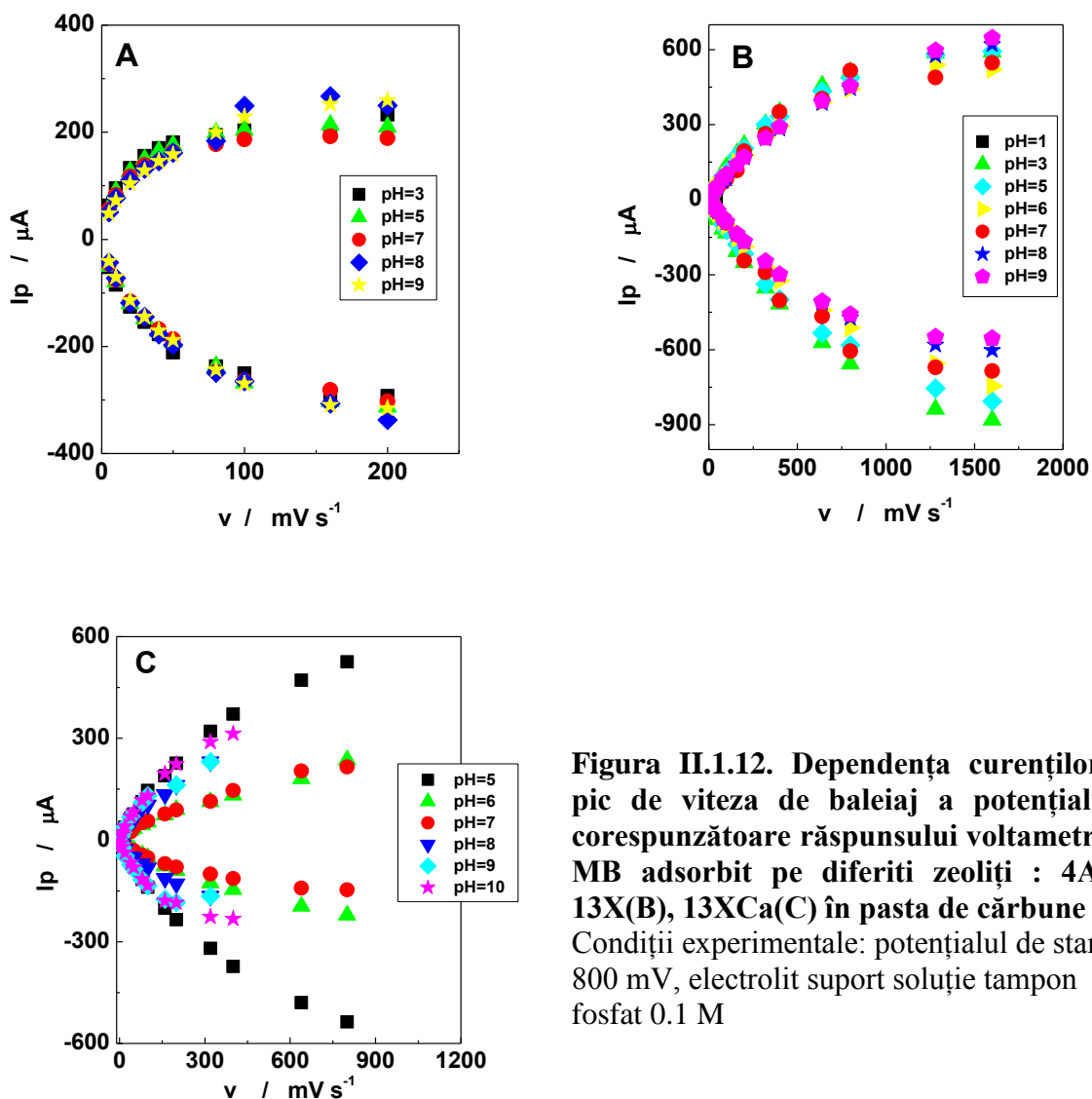
| Electrodul                 | $E_{pa}^*$ | $E_{pc}^*$ | $E^{0'}$ * | $\Delta E_p^*$ | $I_{pc}/I_{pa}$ | $\Gamma$ ( $\text{mol cm}^{-2}$ ) |
|----------------------------|------------|------------|------------|----------------|-----------------|-----------------------------------|
| <b>CPEs, MB în soluție</b> | -207       | -240       | -223       | 33             | 0.95            | $1.3 \cdot 10^{-8}$               |
| <b>MB-4A-CPE</b>           | -124       | -262       | -193       | 138            | 0.97            | $2.3 \cdot 10^{-7}$               |
| <b>MB-13X-CPE</b>          | -170       | -223       | -197       | 53             | 1.0             | $8.8 \cdot 10^{-8}$               |
| <b>MB-13XCa-CPE</b>        | -215       | -322       | -269       | 107            | 1.3             | $3.4 \cdot 10^{-8}$               |
| <b>M-Cu-CPE</b>            | 0          | -0.284     | -142       | 284            | 3.0             | $2.2 \cdot 10^{-7}$               |
| <b>M-Cu-G-CNT-CPE</b>      | -8         | -318       | -163       | 310            | 1.2             | $2.6 \cdot 10^{-7}$               |
| <b>CV-Fe-CPE (pH 3)</b>    | 155        | 27         | 91         | 128            | 1.0             | $3.1 \cdot 10^{-9}$               |

\* mV vs.  $\text{Ag}|\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$

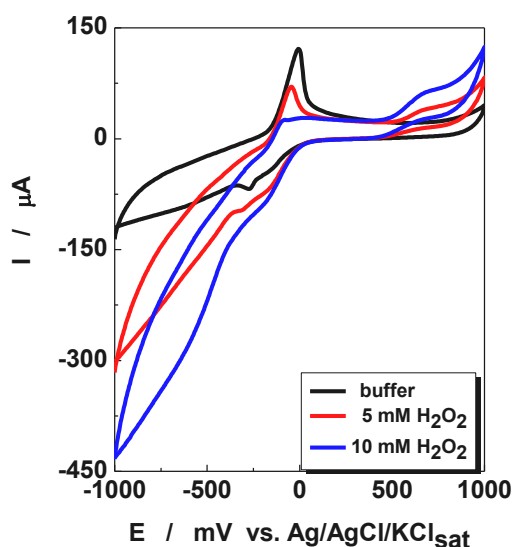
Pentru speciile redox adsorbite, dependența curentului de pic ( $I_p$ ) de viteza de baleiaj ( $v$ ) este redată de ecuația următoare [252]:

$$I_p = \frac{n^2 F^2}{4RT} \Gamma A v \quad (4)$$

unde:  $I_p$  = curentul de pic (A);  $n$  = numărul de electroni;  $F$  = numărul lui Faraday (C/mol);  $R$  = constanta universală a gazelor (J/mol K);  $T$  = temperatura absolută (K);  $v$  = viteza de baleiaj (V/s),  $A$  = aria electrodului ( $\text{cm}^2$ );  $\Gamma$  = gradul de acoperire (concentrația superficială activă) ( $\text{mol}/\text{cm}^2$ ).



**Figura II.1.12.** Dependența curentilor de pic de viteza de baleiaj a potențialului, corespunzătoare răspunsului voltametric al MB adsorbit pe diferiți zeoliți : 4A(A), 13X(B), 13XCa(C) în pasta de cărbune  
 Condiții experimentale: potențialul de start - 800 mV, electrolit suport soluție tampon fosfat 0.1 M



**Figure II.1.27. Activitatea electrocatalitică a electrodului M-Cu-G-CNT-CPE pentru reducerea  $\text{H}_2\text{O}_2$ , în absența și în prezența  $\text{H}_2\text{O}_2$ .** Condiții experimentale: potențial de start,  $-1000 \text{ mV vs. Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$ ; viteza de baleiaj,  $10 \text{ mVs}^{-1}$ ; electrolit suport,  $0,1 \text{ M}$  tampon fosfat ( $\text{pH } 7.0$ ).

O îmbunătățire a activității electrocatalitice se constată și în cazul electrozilor cu zeolit natural de Mârșid îmbogățit cu Cu în comparație cu electrozii conținând zeoliți nemodificați. Comparând voltamogramele ciclice înregistrate în tampon fosfat ( $\text{pH} = 7$ ) pentru un electrod M-Cu-G-CNT-CPE, în absența și în prezența a  $5 \text{ mM}$  și  $10 \text{ mM}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  (figura II.1.27), se constată o activitate electrocatalitică bună pentru reducerea  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Electrozii M-Cu-G-CNT-CPE prezintă o eficiență electrocatalitică semnificativă, caracterizată prin:

- Scăderea potențialului la reducere a  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $\sim 200 \text{ mV}$ , estimat ca diferența dintre potențialele de pic catodic observate pe electrodul M-Cu-G-CNT-CPE și pe electrodul M-G-CNT-CPE);
- Eficiența electrocatalitică este îmbunătățită când se folosește zeolitul modificat cu Cu ( $63,2 \%$  pentru M-Cu-G-CNT-CPE și  $34,7\%$  pentru M-G-CNT-CPE, estimate ca raport  $(I_{[\text{H}_2\text{O}_2]=5\text{mM}} - I_{[\text{H}_2\text{O}_2]=0}) \times 100 / I_{[\text{H}_2\text{O}_2]=0}$ , la un potențial aplicat de  $-400 \text{ mV vs. Ag/AgCl/KCl}_{\text{sat}}$ .

## Determinarea constantei $k_{obs}$ din măsurători de EDR

### Modelul Koutecky-Levich

Expresia generală a curentului total,  $I$ , este dată de relația:

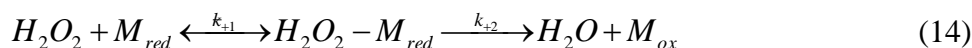
$$\Gamma^{-1} = \Gamma_{lim}^{-1} + \Gamma_{cin}^{-1} \quad [A^{-1}]$$

În condițiile limită specificate anterior, prin inversarea ecuației (12) se obține ecuația Koutecky-Levich specifică reacției catalitice care are loc pe un electrod disc-rotitor modificat cu mediator [267-268]:

$$\frac{1}{I} = \underbrace{\frac{1}{nFAk_{obs}\Gamma[S]}}_A + \underbrace{\frac{1}{0.62nFA\nu^{1/6}D^{2/3}[S]}}_B \cdot \frac{1}{\omega^{1/2}} \quad [A^{-1}] \quad (13)$$

Ecuația Koutecky-Levich poate fi utilizată pentru determinarea constantei de viteză aparente de ordin II ( $k_{obs}$ ), pentru reacția catalitică dintre mediator și  $H_2O_2$ . Astfel, din ordonata la origine a reprezentării  $1/I_{cat}$  vs.  $\omega^{-1/2}$ , cunoscând valorile experimentale pentru  $\Gamma$  și concentrația de  $H_2O_2$ , se poate calcula constanta  $k_{obs}$ .

Pe de altă parte, s-a stabilit că mecanismul reacției dintre  $H_2O_2$  și electrozii modificați cu mediator decurge prin formarea unui complex intermediar de transfer de sarcină [269]. Ecuația 1 poate fi detaliată în următoarea schemă cinetică:



Acest tip de reacție este asemănător cu cel propus pentru cinetica enzimatică de către Michaelis-Menten, pentru care expresia constantei aparente tip Michaelis-Menten ( $K_M$ ) este dată de următoarea relație :

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} \quad (15)$$

unde :  $k_{+2}$  este constanta de viteză pentru disocierea intermediarului în produși de reacție (“turnover number”).

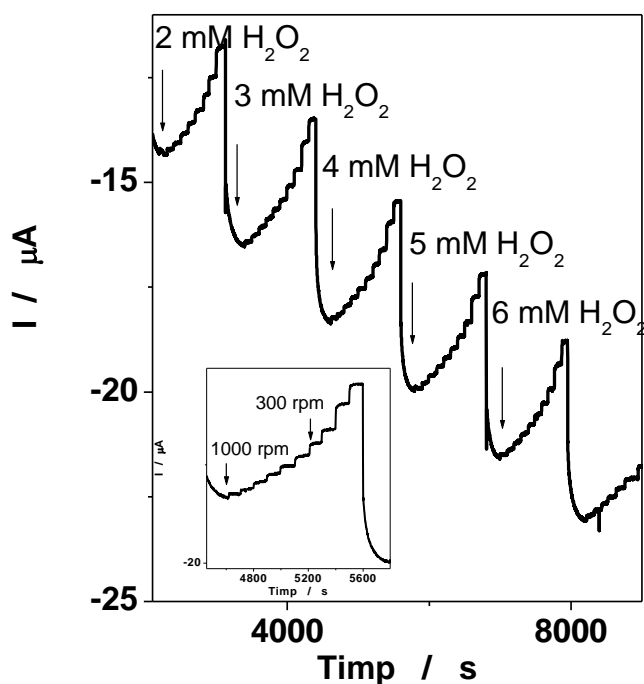
Combinarea celor două reacții permite obținerea constantei de viteză aparentă de ordin II ( $k_{obs}$ ) ca funcție de  $K_M$  :

$$k_{obs} = \frac{k_{+2}}{K_M + [S]} \quad [M^{-1}s^{-1}] \quad (16)$$

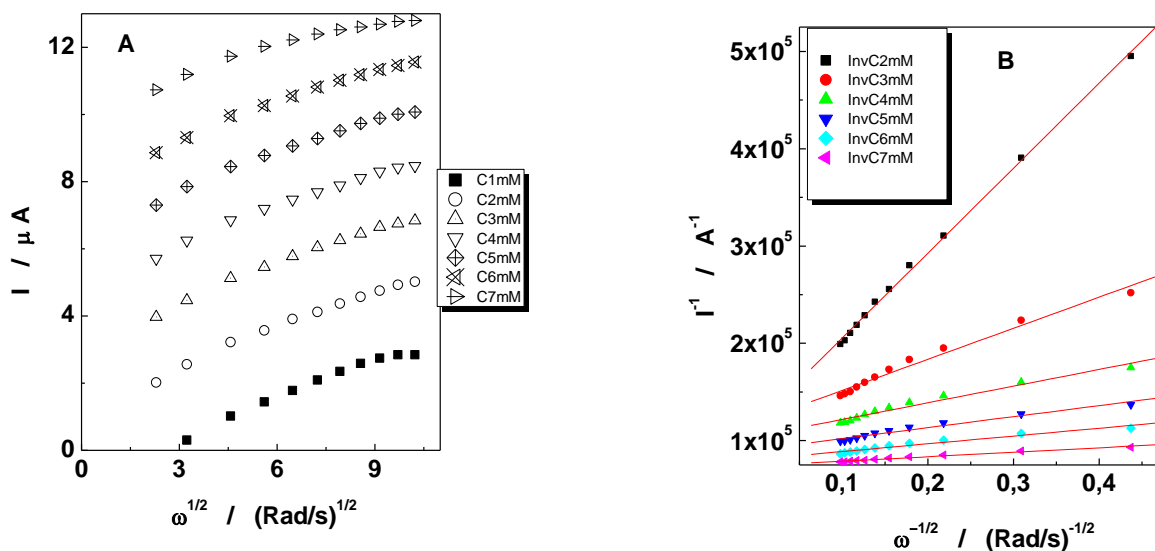
Prin inversarea acestei ecuații se obține:

$$\frac{1}{k_{obs}} = \frac{K_M}{k_{+2}} + \frac{[S]}{k_{+2}} \quad [Ms] \quad (17)$$

Ultima ecuație arată că reprezentarea  $1/k_{\text{obs}}$  vs.  $[\text{H}_2\text{O}_2]$  va fi o dreaptă, dacă formarea unui complex este implicată în desfășurarea reacției dintre  $\text{H}_2\text{O}_2$  și mediator.



**Figura II.1.28. Variația intensității de curent la mărirea concentrației de  $\text{H}_2\text{O}_2$  și a vitezei de rotație (inset) pentru electrodul disc rotitor MB- 13X-CPE. Condiții experimentale: potențialul aplicat  $-400$  mV vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$ , electrolitul suport, soluție tampon fosfat  $0.1$  M,  $\text{pH}=7$**



**Figura II.1.29. Reprezentările Levich (A) și Koutecky-Levich (B) pentru reducerea electrocatalitică a  $\text{H}_2\text{O}_2$  pe electrozi disc rotitori MB-13X- CPE. Condiții experimentale: potențialul aplicat  $-400$  mV vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$ , electrolitul suport, soluție tampon fosfat  $0.1$  M,  $\text{pH}=7$**

**Tabelul 12.** Parametrii cinetici obținuți la electroreducerea catalitică a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pe EMZ pe bază de MB

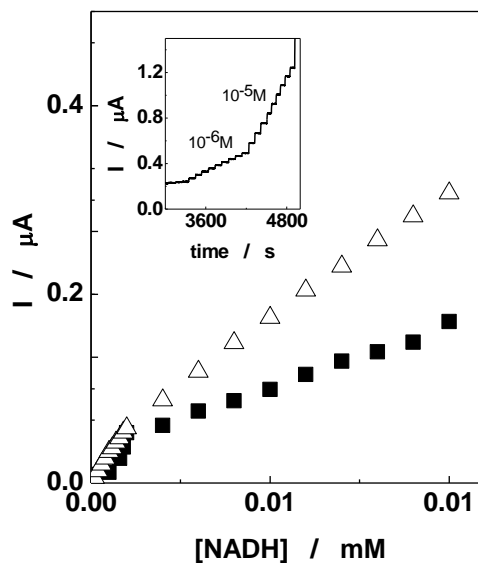
| Electrod   | $k_{obs} [H_2O_2]=0$<br>(M <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ) | $k_{+2}$<br>(s <sup>-1</sup> ) | $K_M$<br>(M) | R/N     |
|------------|--|--------------------------------|--------------|---------|
| MB-13X-CPE | 1,64·10 <sup>3</sup>                                       | 0,018                          | 0,011        | 0,995/5 |
| MB-4A-CPE  | 5,49·10 <sup>3</sup>                                       | 0,081                          | 0,014        | 0,997/5 |

Rezultatele obținute cu diferiți electrozi modificați cu zeoliți au fost comparate cu datele de literatură existente (Tabelul 14).

**Tabelul 14.** O comparație a parametrilor analitici obținuți cu diferiți electrozi modificați cu zeoliți pentru detecția electrocatalitică a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> din literatură

| Electrodul                              | Condiții experimentale<br>(electrolit support, potențial aplicat/ Ag/AgCl/KCl <sub>sat</sub> ) |         | Limita de detecție<br>(μM) | Domeniul liniar<br>(mM) | Bibliografie                   |
|---|--|---------|----------------------------|-------------------------|--------------------------------|
| MG-HRP-<br>montmorilonit-<br>BSA-GA/GCE | 0,1M TF; pH 6,5  | -250 mV | 0,6                        | 0,005- 2,2              | [272]                          |
| MG-HRP-<br>Z/GCE                        | 0,1M TF; pH 6,5  | -200 mV | 0,3                        | 0,0025- 4               | [273]                          |
| Cyt C-NaY/GCE                           | 0,1M TF; pH 7  | -200 mV | 0,32                       | 0,008- 0,128            | [274]                          |
| Cyto-c/nano-<br>LTL-zeolit/ITO          | 0,02M TF; pH 7   | -250 mV | 0,0032                     | 0,015- 0,54             | [275]                          |
| Film<br>LbL(zeolit/Hb) <sub>n</sub>     | 0,1M TF; pH 7  | 0 mV    | 5                          | 0,05- 1                 | [276]                          |
| MG-NZE/CPE                              | 0,1M TF; pH 7  | -180 mV | 500                        | 0,0015- 1               | [277]                          |
| MB-Z-CPE                                | 0,1M TF; pH 6  | -400 mV | 130                        | 0,08- 1                 | Rezultate proprii<br>[278-280] |
| MB-13X-CPE                              | 0,1M TF; pH 6  | -400 mV | 130                        | 0,1-100                 |                                |
| Z-Fe-SCPE                               | 0,1M TF; pH 7  | -200 mV | 60                         | 0,060- 100              |                                |
| M-Cu-CNT-CPE                            | 0,1M TF; pH 7  | -400 mV | 240                        | 0,24-10                 |                                |
| CV-Fe-CPE                               | 0,1M TF; pH 7  | -150 mV | 20                         | 0,02- 1,1               |                                |
| M-Cu- CPE                               | 0,1M TF; pH 7  | -150 mV | 10                         | 0,01- 30                |                                |
| M-Cu- CPE                               | 0,1M TF; pH 3  | -50 mV  | 10                         | 0,05 - 5                |                                |

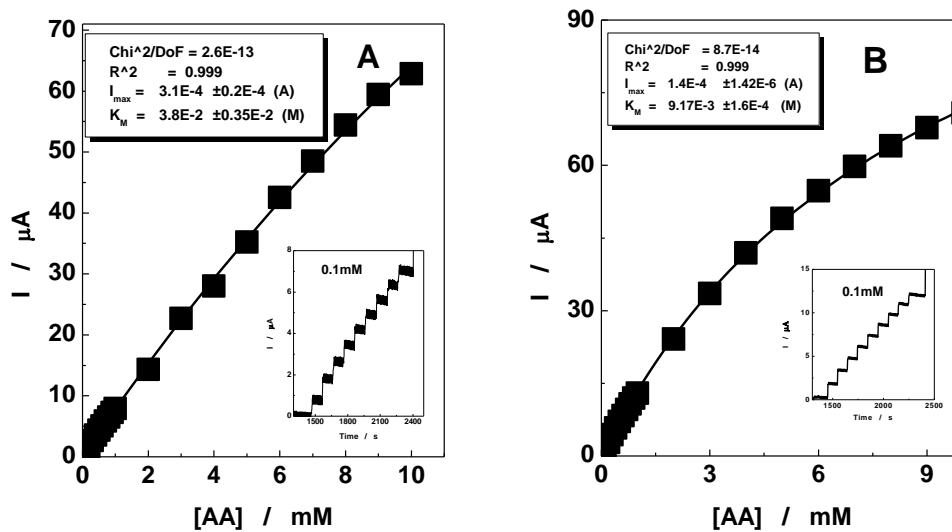
MG- verde de metilen, HRP- peroxidaza hreanului, montmorilonit-specie de zeolit, BSA- albumina serica bovina, GA- glutaraldehida, GCE- electrod de carbune sticlos, Cyt C-citocrom c, NaY- zeolit de tip NaY, LTLzeolit- zeolit nanometric de tip Lde provenienta Linder, ITO- oxid de indiu , film LbL-film strat cu strat, NZE- electrod din zeolit natural, CPE- electrod din pasta de carbune, MB- albastru de metilen, 13X- zeolit de tip 13X, Z-Fe- zeolit modificat cu fier, SCPE- electrod de pasta de carbune solid, M-Cu- zeolit de Marsid modificat cu cupru, CNT- nanotuburi de carbon, CV-Fe- zeolit Cepari-Vultureni modificat cu fier, TF- tampon fosfat



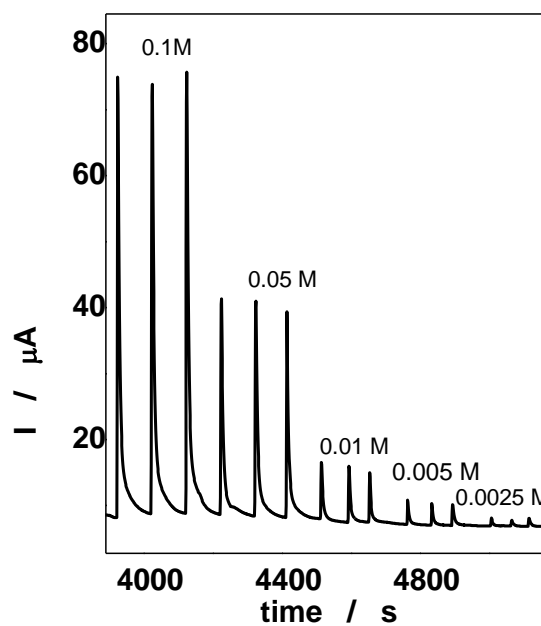
**Figura II.1.44.** Curbele de calibrare ale MB-13X-CPEs (■) și MB-13XCa-CPE (Δ) și răspunsul amperometric la adăugarea succesivă a câte 1 μM NADH pentru MB-13XCa-CPE (inset). Condiții experimentale: potențial aplicat, 0 mV vs. Ag|AgCl/KCl<sub>sat</sub>; viteza de rotație, 1000 rpm; electrolitul suport, 0.1 M tampon fosfat, pH 7.0.

**Tabelul 16.** Parametrii analitici corespunzători senzorilor amperometrici pentru NADH. Condiții experimentale: potențial aplicat, 0 mV vs. Ag|AgCl/KCl<sub>sat</sub>; viteza de rotație, 1000 rpm; electrolitul suport, 0.1 M tampon fosfat, pH 7.0.

| Electrodul    | L.D.<br>(μM) | Sensibilitate<br>(A/M) | Domeniul<br>liniar (M)                | R/N      | Log I vs. Log c |           |
|---------------|--------------|------------------------|---------------------------------------|----------|-----------------|-----------|
|               |              |                        |                                       |          | panta           | R/N       |
| MB-13X-CPEs   | 4,3          | 0,012                  | 10 <sup>-6</sup> - 10 <sup>-4</sup>   | 0,999/23 | 0,79            | 0,9903/22 |
| MB-13XCa-CPEs | 0,8          | 0,031                  | 10 <sup>-7</sup> - 3·10 <sup>-5</sup> | 0,995/19 | 0,74            | 0,9978/17 |



**Figura II.1.49.** Curbele de calibrare ale electrozilor MB-13X-CPE (A) și MB-4A-CPE (B) și răspunsul amperometric la adăugarea succesivă a 0.1 mM AA (inset). Condiții experimentale: potențial aplicat, -50 mV vs. Ag|AgCl/KCl<sub>sat</sub>; viteza de rotație, 500 rpm; electrolit suport, 0.1 M tampon fosfat, pH 7.0.



**Figura II.1.55.** Amperograma înregistrată în regim FIA cu electrodul din pastă de cărbune înglobând zeolit modificat cu Albastru de Metilen în prezența de concentrații diferite de AA. Condiții experimentale: potențial de lucru 0 V, debit 1.25 ml/min, distanța electrod-injector 3mm



## CONCLUZIILE CAPITOLULUI II.1

Concluziile care se desprind în cadrul părții experimentale a capitolului II.1 al tezei au fost următoarele:

- ***S-au preparat noi electrozi compoziți*** prin încorporarea în pastă de cărbune a unor zeoliți naturali sau sintetici, modificați cu un colorant (Albastrul de metilen) sau cu metale tranziționale. Materialele de electrod pe bază de pastă de cărbune și zeolit sunt ușor de preparat, ieftine, cu fereastră largă de potențial și pot îngloba diferite specii cu rol de mediator/catalizator pentru reacții redox de interes.
- ***S-au caracterizat electrochimic și electrocatalitic electrozii*** obținuți cu: (i) zeoliți mezoporosi (13X și 4A Aldrich, Germania) modificați cu Albastru de metilen, sau cu  $\text{Ca}^{2+}$  și Albastru de metilen; (ii) zeoliți naturali CV (Cepari- Vultureni) modificați cu  $\text{Cu}^{2+}$ ; și (iii) zeolit natural M (Mârșid) modificat cu  $\text{Fe}^{3+}$ , în diferite condiții experimentale (pH, prezența ionilor de  $\text{Ca}^{2+}$  etc.).

S-au obținut electrozi pentru care potențialul  $E^0$  nu variază cu pH-ul (MB-13X-CPE și MB-4A-CPE), ceea ce este de un real folos în cazul detecției analiților prezenți în diferite matrici a căror aciditate/bazicitate variază.

Aplicațiile electrocatalitice ale acestor noi electrozi includ oxidarea/reducerea unei game largi de analiți ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , NADH și acid ascorbic), toți electrozii obținuți prezentând caracteristici electrocatalitice cu valori foarte bune.

Electrozii noi obținuți s-au remarcat printr-o stabilitate electrochimică bună, ceea ce le conferă posibilitatea de a fi recomandați pentru a fi utilizați ca senzori amperometrici.

- ***S-au realizat senzori amperometrici pentru detecția unor specii chimice de interes ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , NADH și acid ascorbic)*** având la bază EMZ. Prezența ionilor  $\text{Ca}^{2+}$  imobilizați în zeoliți au același efect de îmbunătățire a detecției NADH ca și ionii de  $\text{Ca}^{2+}$  prezenți în soluție. Parametrii electroanalitici ai senzorilor obținuți sunt comparabili cu cei raportați în literatură pentru sisteme asemănătoare. Senzorii obținuți pe baza noilor electrozi compoziți prezintă limită de detecție și sensibilitate bune, ceea ce poate să-i recomande pentru aplicații practice în controlul calității mediului înconjurător sau al proceselor biotehnologice și biomedicale.

## II.2. Electrozi de grafit modificați cu derivați fenotiazinici (G/BPhM) și nanotuburi de carbon (G/BPhM-CNT)

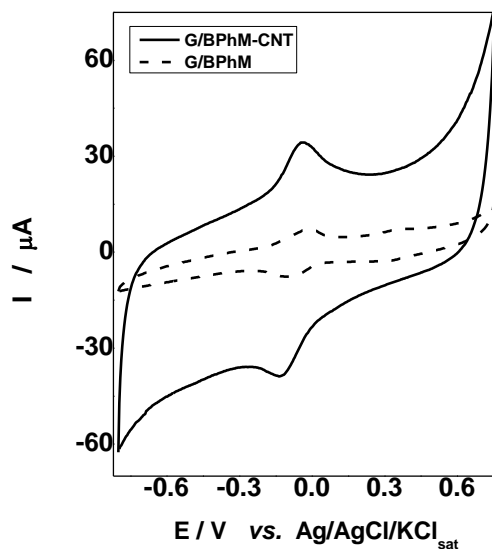
Derivații fenotiazinici pot fi utilizați cu succes ca modificatori de suprafețe de electrozi datorită caracteristicilor lor: sunt insolubili în apă și pot fi ușor adsorbiți pe suprafața grafitului, prezintă parametrii cinetici buni pentru transferul eterogen de electroni și pentru oxidarea electrocatalitică a NADH și pot fi utilizați ca mediatori redox în traductori pentru biosenzori amperometrici.

În acest context, acest capitol al tezei și-a propus următoarele **obiective**:

- prepararea unui nou tip de electrod modificat pentru detecția NADH obținut prin imobilizarea nanotuburilor de carbon cu un singur perete (SWCNT-“single wall carbon nanotube”) pe un electrod de grafit, modificat cu un nou derivat de fenotiazină (bis-fenotiazin-3-il metan)
- testarea comportamentului electrochimic al electrodului în condiții experimentale diferite (viteze de baleiaj și valori diferite ale pH-ului), testarea stabilității electrochimice și a comportamentului electrodului față de oxidarea electrocatalitică a NADH
- determinarea performanțelor analitice și cinetice ale senzorului amperometric pentru detecția NADH cu ajutorul amperometriei

**Tabelul 25.** Parametrii electrochimici ai electrozilor G/BPhM-CNT și G/BPhM

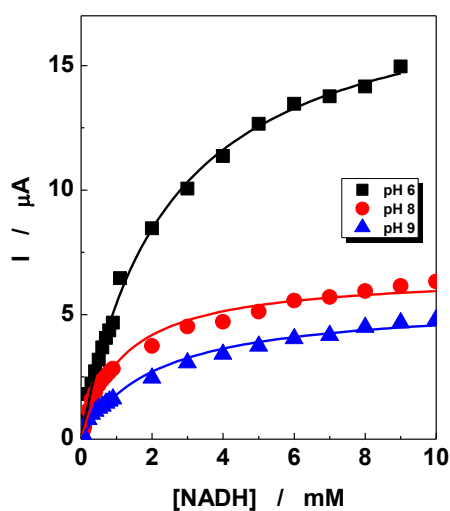
| pH | Electrodul        | E <sub>pa</sub> (V) | E <sub>pc</sub> (V) | E <sup>0'</sup> (V) | ΔE <sub>p</sub> (V) | I <sub>pa</sub> (A) | I <sub>pc</sub> (A) | I <sub>pa</sub> /I <sub>pc</sub> |
|----|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------------------|
| 1  | <b>G/BPhM-CNT</b> | 0.382               | 0.139               | 0.2605              | 0.243               | 3.96e-5             | -7.312e-5           | 0.54                             |
| 2  |                   | 0.354               | 0.090               | 0.222               | 0.264               | 3.911e-5            | -6.644e-5           | 0.58                             |
| 3  |                   | 0.308               | 0.028               | 0.168               | 0.28                | 4.944e-5            | -5.627e-5           | 0.87                             |
| 4  |                   | 0.218               | -0.034              | 0.092               | 0.252               | 3.947e-5            | -3.227e-5           | 1.22                             |
| 5  |                   | 0.160               | -0.096              | 0.032               | 0.256               | 4.913e-5            | -3.540e-5           | 1.38                             |
| 6  |                   | 0.110               | -0.153              | -0.0215             | 0.263               | 5.586e-5            | -3.503e-5           | 1.59                             |
| 7  |                   | 0.040               | -0.227              | -0.0935             | 0.267               | 5.286e-5            | -3.029e-5           | 1.74                             |
| 8  |                   | -0.001              | -0.289              | -0.145              | 0.288               | 4.317e-5            | -2.337e-5           | 1.84                             |
| 9  |                   | -0.071              | -0.380              | -0.2255             | 0.309               | 3.061e-5            | -1.469e-5           | 2.46                             |
| 10 |                   | -0.001              | -0.396              | -0.1985             | 0.395               | 2.176e-5            | -1.088e-5           | 2.0                              |
| 7  | G/BPhM            | 0.032               | -0.145              | -0.0565             | 0.177               | 3.217e-5            | -2.659e-5           | 1.209                            |



**Figura II.2.2.** Voltamogramele ciclice obținute cu electrozii de grafit modificați G/BPhM-CNT (—) și G/BPhM (---). Condiții experimentale: potențial de pornire  $-800$  mV vs. Ag|AgCl/KCl<sub>sat</sub>; viteza de baleiaj a potențialului  $5$  mV s<sup>-1</sup>, electrolitul suport  $0,1$  mol L<sup>-1</sup> tampon fosfat de pH 7.

**Tabelul 29.** Parametrii electroanalitici corespunzatori electrozilor modificați. Condițiile experimentale ca în figura II.2.9.

| Electrod   | pH | LD/ μM | DL/ mol L <sup>-1</sup>       | S/ mA mol <sup>-1</sup> | Chi <sup>2</sup>      | R <sup>2</sup> |
|------------|----|--------|-------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------|
| G/BPhM     | 7  | 50     | $5 \cdot 10^{-4}$ - $10^{-2}$ | $0,55 \pm 0,002$        | $1,3 \cdot 10^{-14}$  | 0,996          |
| G/BPhM-CNT | 6  | 8      | $10^{-5}$ - $10^{-3}$         | $8,3 \pm 0,9$           | $5,6 \cdot 10^{-14}$  | 0,998          |
|            | 7  | 10     | $10^{-5}$ - $10^{-3}$         | $6,9 \pm 0,6$           | $36,9 \cdot 10^{-14}$ | 0,989          |
|            | 8  | 16     | $5 \cdot 10^{-5}$ - $10^{-3}$ | $5,6 \pm 0,9$           | $4,1 \cdot 10^{-14}$  | 0,992          |
|            | 9  | 34     | $2 \cdot 10^{-5}$ - $10^{-3}$ | $2,6 \pm 0,7$           | $3,0 \cdot 10^{-14}$  | 0,989          |



**Figura II.2.9.** Curbele de calibrare a NADH-ului cu electrodul G/BPhM-CNT. Condiții experimentale: potențialul aplicat  $+100$  mV vs. Ag|AgCl/KCl<sub>sat</sub>, electrolitul suport  $0,1$  mol L<sup>-1</sup> tampon fosfat (pH 6,8,9), viteza de rotație  $500$  rpm.

### II.2.3. Concluzii la capitolul II.2

S-a preparat un nou tip de electrod modificat pentru detecția NADH prin imobilizarea nanotuburilor de carbon cu un singur perete pe un electrod de grafit, modificat cu un nou derivat de fenotiazină (bis-fenotiazin-3-il metan). S-a pus în evidență fixarea CNT de suprafața electrodului cu ajutorul imaginilor SEM.

S-a testat comportamentul electrochimic al noului electrod în condiții experimentale diferite (viteze de baleiaj și valori diferite ale pH-ului), stabilitatea electrochimică și comportamentul electrodului față de oxidarea electrocatalitică a NADH. S-a constatat deplasarea spre valori mai negative ale potențialului de pic anodic și creșterea semnalului de curent în cazul electrozilor modificali G/BPhM-CNT față de electrozii de grafit modificali doar cu fenotiazină, G/BPhM. Potențialul formal standard  $E^{0'}$  se modifică cu  $61 \text{ mV}/\Delta\text{pH}$ , dovedind existența unui proces redox care implică un număr egal de protoni și electroni. Noul electrod realizat prezintă o bună stabilitate electrochimică, dovedită printr-o variație foarte mică în timp a gradului de acoperire cu mediator a suprafeței electrodului ( $10^{-12} \text{ mol cm}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ). Eficiența electrocatalitică față de oxidarea NADH este mai mare pentru electrodul cu CNT față de cel realizat fără CNT.

S-au determinat performanțele analitice și cinetice ale senzorului amperometric pentru detecția NADH. Performanțele optime ale senzorilor de NADH bazați pe electrozii G/BPhM-CNT au fost obținute la pH-ul 6, la  $+100 \text{ mV}$ , în domeniul liniar  $10^{-5}$ - $10^{-3} \text{ M}$ , cu limita de detecție  $8 \text{ }\mu\text{M}$ , sensibilitatea de  $8 \text{ mA/mol}$  și cu un timp de răspuns de 10 secunde. Valorile constantei de viteză de reacție de oxidare a NADH  $k_{\text{obs, [NADH]=0}}$  în tampon fosfat de pH 7 au fost  $51.63 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  pentru G/BPhM și  $856.32 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  pentru G/BPhM-CNT.

Rezultatele detaliate mai sus demonstrează capacitatea de cuplare a CNT cu un derivat de fenotiazină nou, ca un mijloc de îmbunătățire a performanțelor pentru oxidarea electrocatalitică a NADH: un potențial de oxidare scăzut și constante de viteză electrocatalitice mari  $k_{\text{obs, [NADH]=0}}$ . Electrocul pe baza de CNT este stabil și poate fi folosit ca senzor amperometric cu caracteristici îmbunătățite pentru detectarea NADH.

## II.3. Biosenzori amperometrici pentru detecția AA

Obiectivele urmărite în acest capitol sunt următoarele:

- obținerea unor biosenzori amperometrici pentru determinarea acidului L-ascorbic (AA) prin imobilizarea ascorbat-oxidazei (AOx) pe membrana unui electrod de oxigen Clark cu ajutorul glutaraldehidei (GA) și a albuminei serice bovine (BSA);

- optimizarea biosenzorilor amperometrici prin studiul influenței concentrației de glutaraldehydă (GA) și a concentrației de enzimă asupra caracteristicilor biosenzorilor

- determinarea caracteristicilor electroanalitice și a parametrilor cinetici ai biosenzorilor obținuți

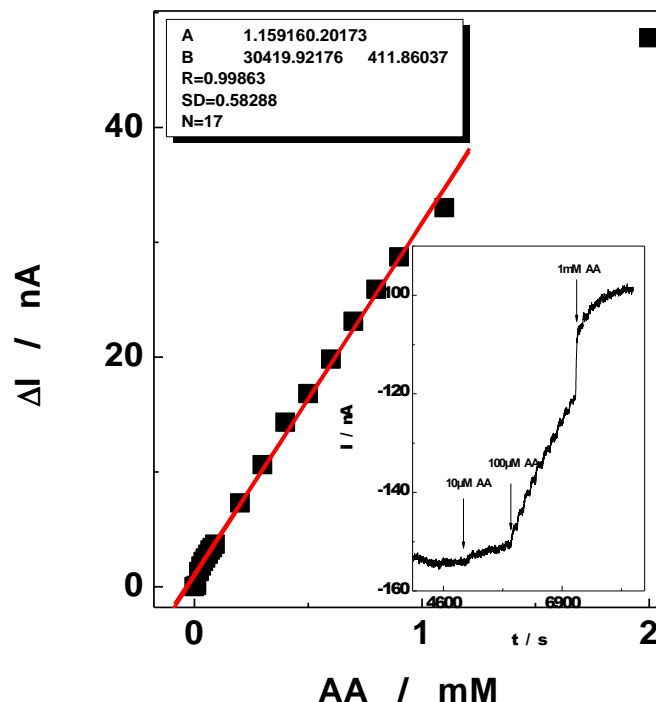
- testarea biosenzorilor pentru determinarea AA din probe sintetice și reale prin metoda adaosului standard

**Tabelul 30.** Parametrii cinetici ai biosenzorilor. Condiții experimentale: soluție agitată magnetic cu 650 rpm, potențial aplicat -650 mV vs. Ag/AgCl, electrolitul suport: soluție tampon fosfat 0,1 M (pH 7)

| Biosenzor | AOx<br>(U/cm <sup>2</sup> ) | GA<br>Conc<br>(%) | Fitare Michaelis-Menten  |                                       |                | Liniarizare Hanes-Woolf  |                                       |            |
|-----------|-----------------------------|-------------------|--------------------------|---------------------------------------|----------------|--------------------------|---------------------------------------|------------|
|           |                             |                   | I <sub>max</sub><br>(nA) | K <sub>M</sub> <sup>app</sup><br>(mM) | R <sup>2</sup> | I <sub>max</sub><br>(nA) | K <sub>M</sub> <sup>app</sup><br>(mM) | R/N        |
| 1         | 630                         | 2,5               | 65 ± 1,3                 | 1,17 ± 0,08                           | 0,991          | 67 ± 2,1                 | 1,3 ± 0,2                             | 0,9971/ 27 |
| 2         |                             | 1,25              | 110 ± 2,3                | 0,85 ± 0,06                           | 0,990          | 105 ± 3,1                | 0,63 ± 0,02                           | 0,9990 / 7 |
| 3         | 315                         | 2,5               | 139 ± 3,6                | 0,90 ± 0,08                           | 0,983          | 130 ± 4,1                | 0,70 ± 0,01                           | 0,9984/ 14 |
| 4         |                             | 1,25              | 158 ± 4,8                | 0,65 ± 0,07                           | 0,973          | 151 ± 4,7                | 0,46 ± 0,02                           | 0,9992/ 10 |
| 5         | 157                         | 2,5               | 152 ± 3,6                | 0,65 ± 0,06                           | 0,984          | 167 ± 2,2                | 0,49 ± 0,01                           | 0,9895 / 9 |
| 6         |                             | 1,25              | 181 ± 10                 | 0,55 ± 0,08                           | 0,963          | 194 ± 3,1                | 0,45 ± 0,08                           | 0,9993/ 16 |

### II.3.4. Determinarea caracteristicilor electroanalitice ale biosenzorilor amperometrici

S-a determinat domeniul liniar al biosenzorilor (Figura II.3.4), iar parametrii analitici ai acestora sunt prezentați în Tabelul 31, calculându-se sensibilitatea (μA/M) cu ajutorul parametrilor obținuți din fitarea Michaelis–Menten (MM).

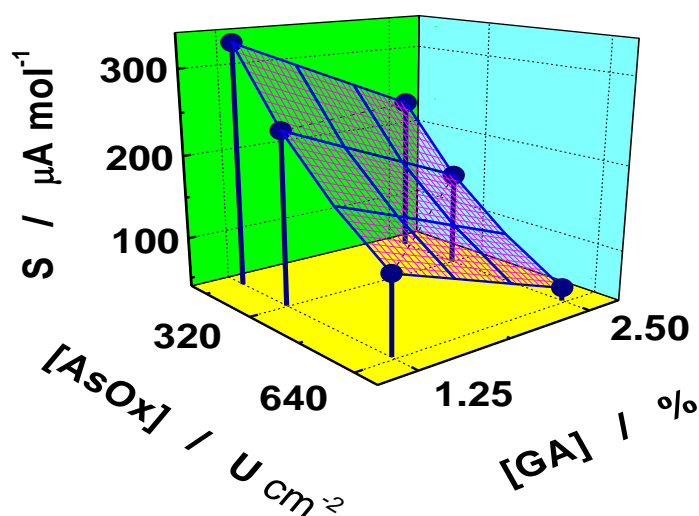


**Figura II.3.4. Răspunsul amperometric și domeniul linear al biosenzorului 1.** Condiții experimentale: soluție agitată magnetic cu 650 rpm, potențial aplicat -650 mV vs. Ag/AgCl, electrolitul suport: soluție tampon fosfat 0,1 M (pH 7)

**Tabelul 31.** Parametrii analitici ai biosenzorilor realizați. Condiții experimentale: soluție agitată magnetic cu 650 rpm, potențial aplicat -650 mV vs. Ag/AgCl, electrolitul suport: soluție tampon fosfat 0,1 M (pH 7)

| Bios. | Conc. AOx (U/cm <sup>2</sup> ) | Conc. GA (%) | LD (M)             | DL (M)                                  | Sensibilitate (μA/M) |          | R/N       |
|-------|--------------------------------|--------------|--------------------|---|----------------------|----------|-----------|
|       |                                |              |                    |   | M-M                  | Panta    |           |
| 1     | 630                            | 2,5          | 4·10 <sup>-5</sup> | 4·10 <sup>-5</sup> - 10 <sup>-3</sup>   | 55,21±4,90           | 32±0,41  | 0,9981/17 |
| 2     |                                | 1,25         | 5·10 <sup>-5</sup> | 5·10 <sup>-5</sup> - 7·10 <sup>-4</sup> | 129,64±11,92         | 73 ±1,06 | 0,9983/17 |
| 3     | 315                            | 2,5          | 5·10 <sup>-5</sup> | 5·10 <sup>-5</sup> - 6·10 <sup>-4</sup> | 154,11±17,67         | 95±2,03  | 0,9966/16 |
| 4     |                                | 1,25         | 5·10 <sup>-5</sup> | 5·10 <sup>-5</sup> - 5·10 <sup>-4</sup> | 242,92±33,52         | 133±1,95 | 0,9989/17 |
| 5     | 157                            | 2,5          | 5·10 <sup>-5</sup> | 5·10 <sup>-5</sup> - 5·10 <sup>-4</sup> | 233,53±27,08         | 150±5,96 | 0,9890/16 |
| 6     |                                | 1,25         | 5·10 <sup>-5</sup> | 5·10 <sup>-5</sup> - 4·10 <sup>-4</sup> | 328,36±66,60         | 203±8,35 | 0,9786/12 |

**Sensibilitatea** biosenzorilor este influențată atât de concentrația de AOx cât și de concentrația de GA. După cum se poate observa din Tabelul 31 sensibilitatea cea mai bună o au biosenzorii cu concentrația cea mai mică de enzimă, respectiv de glutaraldehidă. Figura II.3.5 conține reprezentarea 3D a sensibilității în funcție de cei doi parametri care o influențează.



**Figura II.3.5. Dependența sensibilității biosenzorilor de concentrația de  $AO_x$ , respectiv concentrația de GA.** Condiții experimentale: soluție agitată magnetic cu 650 rpm, potențial aplicat -650 mV vs. Ag/AgCl, electrolitul suport: soluție tampon fosfat 0,1 M (pH 7)

**Tabelul 32.** Concentrații de AA din probe sintetice determinate cu biosenzorul 3.

| <b>Biosenzor 1</b> | <b>[AA] mg/100 ml determinată cu biosenzorul</b> | <b>[AA] mg/100 ml din proba sintetica</b> |
|--------------------|--|---|
| Măsurătoarea A     | 34,44 (98.4%)                                    | 35  |
| Măsurătoarea B     | 34,14 (97.54%)                                   | 35  |

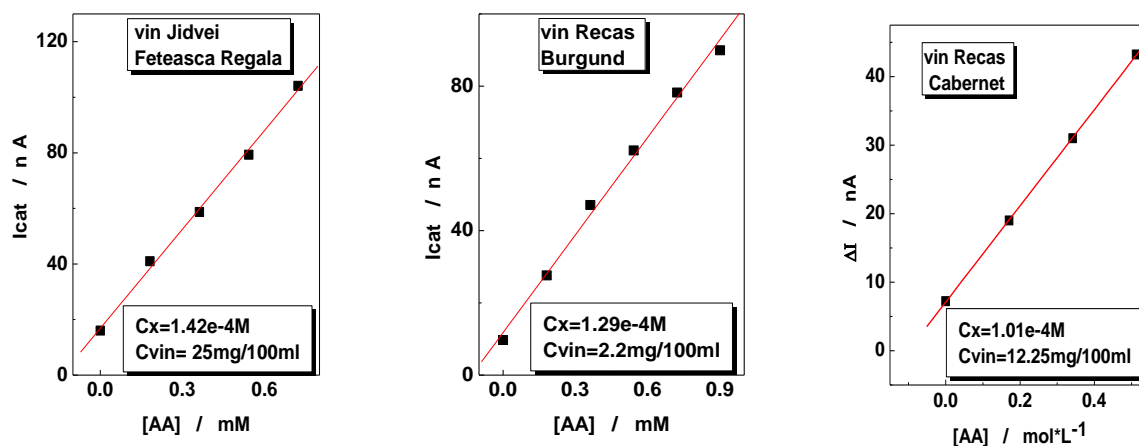
Pentru validarea metodei electrochimice de determinare a acidului L-ascorbic, rezultatele au fost comparate cu cele obținute printr-o metodă standard.

### **Determinarea AA din probe de vinuri**

Vinurile utilizate pentru determinarea concentrației de AA au fost: un vin alb (Feteasca Regala de Jidvei) și două vinuri roșii (Cabernet Sauvignon și Burgund de Recas).

Din calculele efectuate rezultă că: (i) vinul alb (Feteasca Regala) conține 25 mg AA/100 ml; (ii) vinul roșu Cabernet conține 12.25 mg AA/100 ml vin; (iii) vinul roșu Burgund conține 2.2 mg AA/100 ml. Deoarece producătorul nu menționează conținutul de AA din vinurile analizate, aceste rezultate au fost comparate cu cele obținute cu o metoda standardizată (metoda titrimetrică cu 2,6 diclorofenolindofenol).

Rezultatele obținute pentru cele trei tipuri de probe analizate sunt reprezentate în figura II.3.9.



**Figura II.3.9. Determinarea AA din probe reale de vinuri cu biosenzorul amperometric (electrod de oxigen/AOx-BSA-GA-TP).** Condiții experimentale: potențial aplicat -650 mV vs. Ag/AgCl, electrolit suport tampon fosfat 0,1 M (pH7)

### II.3.8. Concluzii și perspective la capitolul II.3

Studiul realizat cu privire la determinarea amperometrică a acidului ascorbic din probe sintetice cu ajutorul unor biosenzori pe bază de ascorbat oxidază, conduce la următoarele concluzii:

- Biosenzorii realizați prezintă stabilitate și reproductibilitate bune;
- Biosenzorii obținuți prezintă o sensibilitate bună ( $328,36 \mu\text{A/M}$ ), o limită de detecție coborâtă ( $5 \cdot 10^{-5}\text{M}$ ) și un răspuns rapid, în soluție tampon fosfat pH 7, la un potențial aplicat de - 650 mV vs. Ag/AgCl;
  - Sensibilitatea cea mai bună o au biosenzorii cu concentrația cea mai mică de enzimă ( $157 \text{ U/cm}^2$ ), respectiv de glutaraldehidă (1,25 %);
  - Compararea rezultatelor obținute cu biosenzorul amperometric și cu metoda standard (titrarea cu DCPI) arată faptul ca biosenzorul funcționează bine în probe sintetice de AA și poate fi recomandat pentru testare în probe reale (vinuri și sucuri de fructe).
  - Determinarea acidului ascorbic din probe reale cu ajutorul biosenzorilor necesită în perspectivă un studiu al interferențelor care pot influența răspunsul biosenzorilor în probele de sucuri de fructe și vinuri.



## II.4. Material compozit nou pe bază de pastă de cărbune și eter coroană pentru detecția selectivă a potasiului

Sistemele macrociclice cum ar fi eterii coroană, criptanzii, calixarenele și porfirinele s-au dovedit a fi gazde active pentru diferiți cationi generând complecși prin interacțiune electrostatică [393].

Eterii coroană au câștigat o atenție considerabilă în ultimul deceniu datorită unei game largi de aplicații în diferite domenii, cum ar fi medicina [395], senzorii chimici [409] și separarea selectivă a metalelor prin extracție [410]. Determinarea de molecule organice, respectiv a diferiților cationi metalici se realizează cel mai frecvent cu electrozi modificați chimic pe bază de compuși macrociclici [411, 412].

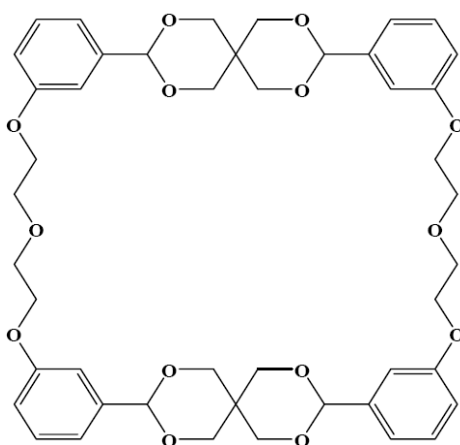
Cercetările din capitolul de față și-au propus următoarele **obiective**:

- realizarea unui material de electrod compozit nou, sensibil la ionul potasiu (PSM).  
Noul material propus, se bazează pe un ionofor nou sintetizat de tip eter-coroană [399], încorporat într-o matrice conductivă de pastă de cărbune (PSM-CP).

- evaluarea proprietăților de legare (complexare) ale ionoforului cu cationi de potasiu prin metode spectroscopice UV-VIS și fluorescență și prin metode electrochimice.

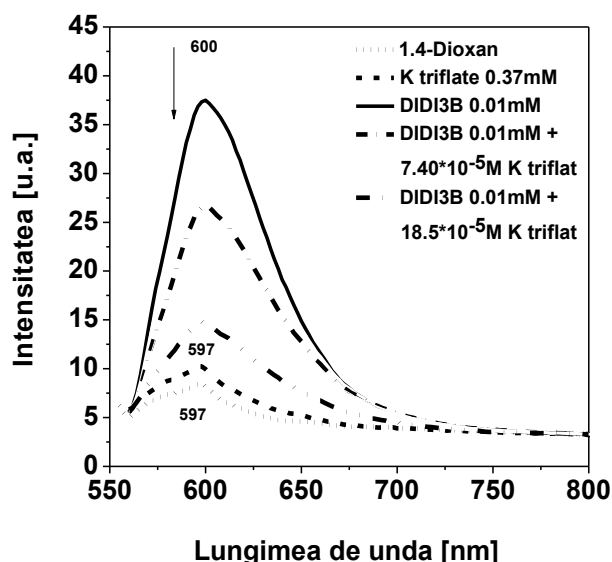
- optimizarea materialului de electrod și a soluției de electrolit utilizată la construcția unui senzor pentru ionul potasiu

- determinarea parametrilor electroanalitici ai noului senzor pentru detecția potasiului cu ajutorul măsurătorilor potențimetrice



**Schema 4. Bis(3,9-dibenzo-2,4,8,10- tetraoxo[5.5]undecan)-40-coroana-6, (notat BDBTU40C6).**

Scăderea sistematică a intensității fluorescenței confirmă rezultatele obținute în investigațiile UV și poate fi atribuită complexării ionului de potasiu de către eterul coroană BDBTU40C6. În Fig. II.4.2 sunt prezentate spectrele de fluorescență înregistrate pentru BDBTU40C6 (0,01 mM) și 1,4 triflat de potasiu (0,37 mM), ambele în dioxan, la lungimea de undă de emisie de 600 nm.



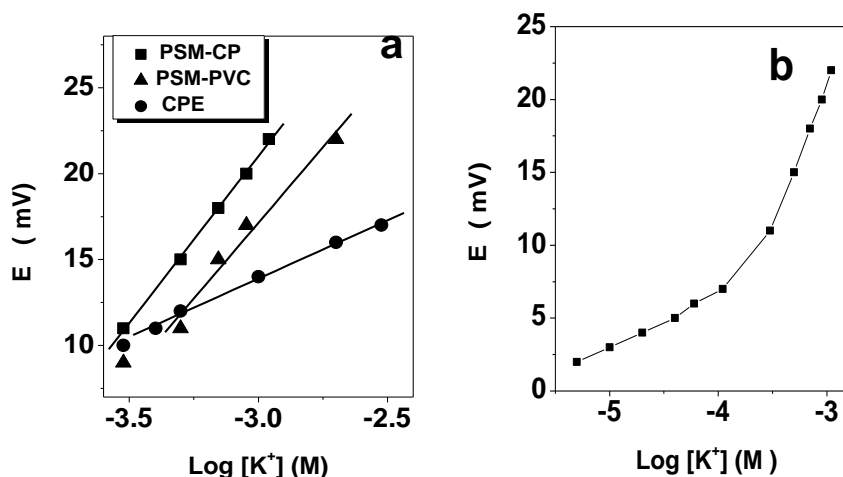
**Figura II.4.2.** Scăderea intensității fluorescenței soluției de compus BDBTU40C6 în soluție 1,4 - dioxan (0,01 mM) în prezența triflatului de potasiu în intervalul de concentrații 0-0,185 mM.

$\lambda_{ex} = 274 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 600 \text{ nm}$

Răspunsul electrozilor modificați din pastă de cărbune la ionul de potasiu a fost comparat cu cel al unui electrod clasic cu membrană PVC. S-a lucrat în condiții experimentale identice, cu excepția matricii pentru dispersia ionoforului. Astfel, sensibilitatea pentru potasiu a senzorului modificat PSM-CP este comparabilă cu cea a senzorului clasic PSM-PVC, chiar dacă panta nu este una nernstiană (fig. II.4.4a).

**Tabelul 37.** Compararea performanțelor electrozilor sensibili la potasiu.

| tipul electrodului | Electrolit                           | Panta (mV/decada) | R/N       |
|--------------------|--------------------------------------|-------------------|-----------|
| PSM-CP             | TEAC                                 | 14.79±0.26        | 0.9953/29 |
|                    | LiClO <sub>4</sub>                   | 11.05±1.04        | 0.9867/5  |
|                    | Cd(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 19.95±0.40        | 0.9990/5  |
| PSM-PVC            | Cd(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 19.38±2.01        | 0.9894/5  |
| CPE                | Cd(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> | 6.94±0.23         | 0.9986/5  |



**Figura II.4.4. Dependența liniară a potențialului electrozilor PSM-CP, CPE și PSM-PVC de concentrația ionilor de potasiu (a); grafic de calibrare pentru PSM - CP în soluție de KCl (b).**

În continuare am determinat și ceilalți parametri electroanalitici ai senzorului modificat PSM-CP. Timpul de răspuns a fost de 10 secunde, domeniul linear cuprins între  $10^{-4}$  și  $5 \cdot 10^{-2}$  M, iar limita de detecție de  $1,3 \cdot 10^{-4}$  M, limită care reprezintă activitatea analitului aflată la intersecția extrapolărilor porțiunilor liniare ale curbei de calibrare (figura II.4.4b).

#### II.4.4. Concluzii la capitolul II.4

- S-a realizat un material compozit nou, sensibil la potasiu (PSM). Noul material propus, se bazează pe un ionofor nou sintetizat de tip eter-coroană, încorporat în matrice conductivă de pastă de cărbune (PSM-CP) spre deosebire de matricile pe bază de PVC utilizate frecvent în literatura de specialitate.

- S-a demonstrat complexarea ionoforului cu cationi de potasiu prin metode spectroscopice UV-VIS și fluorescența, dar și prin metode electrochimice.

- S-a stabilit că soluția de electrolit care poate fi utilizată în cea de-a doua joncțiune a electrodului de referință este acetatul de cadmiu

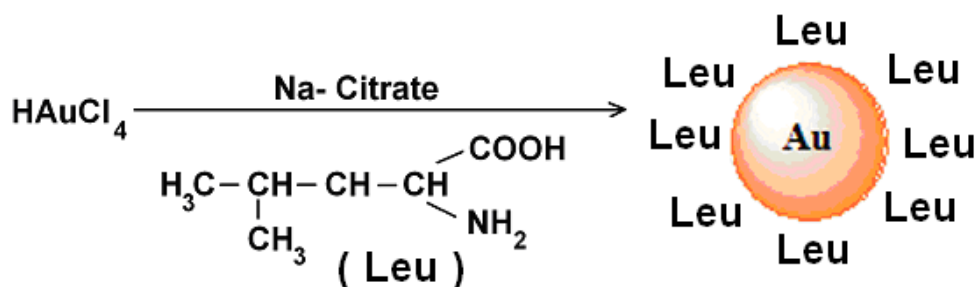
- S-au determinat parametrii electroanalitici ai noului senzor pentru detecția potasiului cu ajutorul măsurătorilor potențimetrice

Noul material din pastă de cărbune modificat cu derivatul eter- coroană prezintă o suprafață regenerabilă fiind adecvat pentru detectarea rapidă și eficientă a ionilor de potasiu în medii apoase. Eficiența detecției potasiului cu acest nou material este comparabilă cu cea a unui electrod clasic pe bază de membrana PVC, în condițiile utilizării aceluiași ionofor. Materialul obținut, sensibil la potasiu, este simplu, versatil, rapid și ușor de realizat, solid și mai puțin costisitor decât PSM-PVC.

## II.5. Electrozi de aur modificați cu nanoparticule de aur funcționalizate cu L-leucină sau cu citrat. Caracterizare morfologică, structurală și electrochimică

**Obiectivele** urmărite în cadrul acestei părți experimentale a tezei de doctorat au fost:

- Obținerea unor electrozi de Au nanostructurați, prin modificarea suprafeței Au cu nanoparticule de Au funcționalizate cu L-leucină sau cu citrat, folosind 1,3-propandiol (PDT) ca agent de legătură
- Caracterizarea morfologică a nanoparticulelor de Au funcționalizate cu L-leucina sau cu citrat, cu ajutorul microscopiei electronice de transmisie (TEM) și caracterizarea morfologică a suprafeței electrozilor nanostructurați prin microscopie de forță atomică (AFM)
- Testarea electrozilor nanostructurați la detecția cuprului folosind tehnici electrochimice (voltametrie ciclica-CV și spectroscopie de impedanță electrochimică-EIS).



**Schema 5.** Reprezentarea schematică a preparării de nanoparticule de aur funcționalizate cu L-leucină

Curbele de calibrare pentru electrodul de aur nemodificat și respectiv modificat (cu AuNPs-Leu și AuNPs-citrat) au fost obținute prin reprezentarea intensității maximului de curent în funcție de concentrația ionilor Cu(II) (Fig. II.5.5). Pentru electrodul modificat cu AuNPs-Leu, domeniul liniar a fost între  $10^{-6}$  și  $10^{-4}$  M. Acest electrod prezintă cea mai mare sensibilitate  $21,78 \pm 2,06$  mA/M (față de  $12,01 \pm 0,50$  mA/M pentru electrodul Au și  $7,21 \pm 0,51$  mA/M pentru electrodul Au-AuNPs-citrat), cu o limită de detecție (LD) de  $5,4 \times 10^{-7}$  M (LD =  $3\sigma / b$ , în cazul în care  $\sigma$  este deviația standard a fondului și  $b$  este panta dreptei de calibrare).

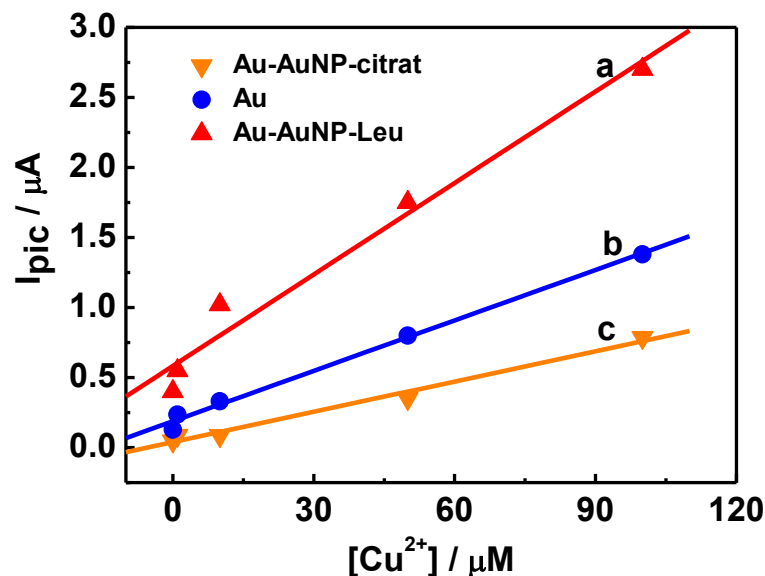


Figura II.5.5. Dreptele de calibrare ale electrodului de aur nemodificat și respectiv modificat: Au-AuNPs-Leu (a); Au (b); Au-AuNPs-citrat (c).

*Metoda spectroscopiei de impedanță electrochimică* este o metodă de studiu în curent alternativ a proceselor de electrod. Perturbarea sistemelor electrochimice se realizează aplicând un semnal alternativ de mică amplitudine (5-10mV) (pentru a obține un răspuns linear) și se observă modul în care electrodul revine la starea staționară. Schimbările legate de modificarea suprafeței electrodului au fost în mod clar puse în evidență de spectrele de impedanță obținute (fig. II.5.6).

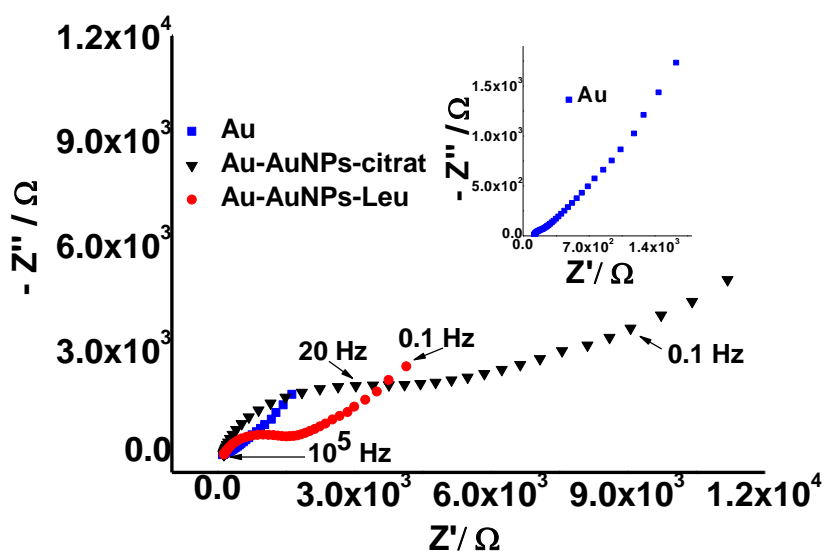
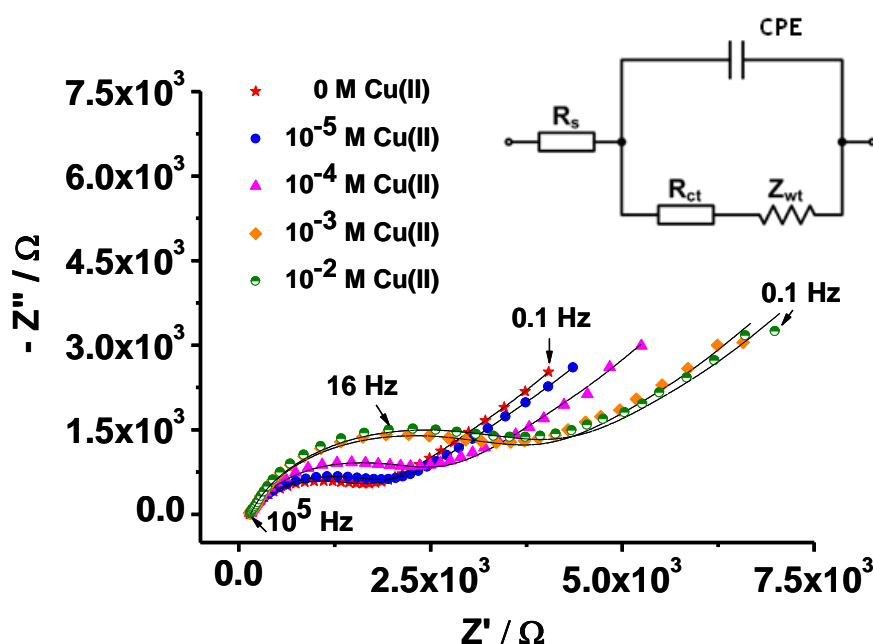


Figura II.5.6. Spectrele de impedanță ale electrodului de aur curat (■); modificat cu AuNPs-citrat (▼); și modificat cu AuNPs-Leu (●); electrolitul conține 1 mM K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] în 0.1 M KNO<sub>3</sub>; potențialul aplicat + 0.25 V vs. Ag/AgCl

S-a testat interacțiunea dintre moleculele de L-leucină atașate la AuNPs și ionii de Cu(II) (în domeniul  $10^{-5}$  -  $10^{-2}$  M, în soluție de 0,1 M  $\text{KNO}_3$ ). Prin urmare, electrodul modificat a fost imersat timp de 15 min în soluții de Cu(II) de concentrații diferite și apoi a fost înregistrat spectrul de impedanță în soluție 1 mM  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , la un potențial aplicat de 0,25 V față de referința Ag/AgCl (Fig. II.5.7). Circuitul electric echivalent (a se vedea insetul din Fig. II.5.7) folosit pentru a modela datele experimentale EIS, conține rezistența soluției ( $R_s$ ), rezistența de transfer de sarcină ( $R_{ct}$ ), impedanța Warburg ( $Z_{wt}$ ) și un element de fază constantă (CPE), ce modelează comportamentul capacității stratului dublu electric. Elementul de fază constantă este în general folosit pentru a modela răspunsul capacitiv neideal al interfeței [446-448].



**Figura II.5.7. Reprezentarea Nyquist obținută după 15 minute de imersie a electrodului modificat cu AuNPs-Leu în fiecare soluție de Cu(II) din domeniul  $10^{-5}$ - $10^{-2}$  M; măsurătorile au fost înregistrate în 1 mM  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  la un potențial de + 0,25 V vs Ag/AgCl; linia continuă reprezintă fitarea datelor experimentale, pe baza circuitului electric echivalent (în inset)**

## II.5.4. Concluzii la capitolul II.5

În concluzie, s-a arătat că nanoparticulele de aur funcționalizate cu L-Leucină sau cu citrat pot fi atașate de suprafața unui electrod de aur, prin intermediul unui monostrat de 1,3-propandiol. Aceste ansambluri nanostructurate au fost testate pentru detecția ionilor de Cu (II), folosind voltametria ciclică ca tehnică de investigație. Substratul de aur modificat cu AuNPs-Leu s-a dovedit a avea cel mai bun efect electrocatalitic pentru detecția ionilor de Cu

(II). În comparație cu electrodul de aur nemodificat sau electrodul modificat cu nanoparticule funcționalizate cu citrat, acest electrod prezintă cea mai mare sensibilitate față de determinarea Cu (II), respectiv  $21,78 \pm 2,06$  mA/M. Limita de detecție obținută în acest caz a fost de  $5,4 \times 10^{-7}$  M.

În plus, spectroscopia de impedanță electrochimică a fost folosită pentru a caracteriza electrodul modificat cu AuNPs-Leu. Datele experimentale au fost fitate cu circuitul electric echivalent care conține rezistența soluției ( $R_s$ ), rezistența de transfer de sarcină ( $R_{ct}$ ), impedanța Warburg ( $Z_{wt}$ ), și un element de fază constantă (CPE), care modelează răspunsul neideal al capacității de la interfața soluție/electrod.

## Concluzii finale

1. S-au obținut cinci tipuri noi de electrozi modificați prin mai multe metode de preparare:

- **Electrozi modificați pe baza de zeoliți (EMZ) naturali și sintetici prin încorporarea acestora în pastă de cărbune:**

(i) zeoliti mezoporosi sintetici (13X și 4A Aldrich, Germania) modificați cu Albastru de metilen (MB), și/sau ioni  $Ca^{2+}$ ;

(ii) tufuri vulcanice conținând zeoliți naturali CV (Cepari- Vultureni) modificați cu  $Cu^{2+}$

(iii) tufuri vulcanice conținând un zeolit natural M (Mârșid) modificat cu  $Fe^{3+}$ ,

în diferite condiții experimentale (pH, prezența ionilor de  $Ca^{2+}$  etc.)

- **Electrozi de grafit modificați cu mediatori și nanotuburi de carbon prin adsorbție**

S-a preparat un nou tip de electrod modificat prin imobilizarea nanotuburilor de carbon cu un singur perete pe un electrod de grafit, modificat cu un nou derivat de fenotiazină (bis-fenotiazin-3-il metan).

- **Electrozi de oxigen modificați cu enzime pentru obținere de biosenzori**

Prin imobilizarea ascorbat-oxidazei (AOx) pe membrana unui electrod de oxigen Clark cu ajutorul glutaraldehidei (GA) și a albuminei serice bovine (BSA) s-au

realizat biosenzori amperometrici specifici pentru determinarea acidului L-ascorbic (AA).

- **Electrozi din pastă de cărbune modificați cu compuși supramoleculari capabili de formare a unor complecși de tip „oaspete- gazdă”**

S-a obținut un material compozit nou, sensibil la ioni potasiu (PSM). Noul material propus, se bazează pe un ionofor nou de tip eter-coroană, încorporat în matrice conductivă de pastă de cărbune (PSM-CP), în loc de matricile pe bază de PVC utilizate frecvent în literatura de specialitate.

- **Electrozi de Au modificați cu nanoparticule de Au funcționalizate cu aminoacizi prin autoasamblare**

2. Materialele de electrod astfel obținute au fost testate cu succes pentru detecția unor compuși de interes în domeniul biomedical, pentru controlul calității mediului înconjurător sau al proceselor biotehnologice :  $H_2O_2$ , NADH, AA,  $K^+$ ,  $Cu^{2+}$ :

- S-au realizat senzori amperometrici pentru detecția unor specii chimice de interes ( $H_2O_2$ , NADH și acid ascorbic) având la bază EMZ. Prezența ionilor  $Ca^{2+}$  imobilizați în zeoliți au același efect de îmbunătățire a detecției NADH ca și ionii de  $Ca^{2+}$  prezenți în soluție. Parametrii electroanalitici ai senzorilor obținuți sunt comparabili cu cei raportați în literatură pentru sisteme asemănătoare. S-au obținut electrozi pentru care potențialul  $E^0$  nu variază cu pH-ul (MB-13X-CPE și MB-4A-CPE), ceea ce este de un real folos în cazul detecției analiților prezenți în diferite matrici a căror aciditate/bazicitate variază. Aplicațiile electrocatalitice ale acestor noi electrozi includ oxidarea/reducerea unei game largi de analiți ( $H_2O_2$ , NADH și acid ascorbic), toți electrozii obținuți prezentând caracteristici electrocatalitice cu valori foarte bune. Electrozii noi obținuți s-au remarcat printr-o stabilitate electrochimică bună, ceea ce le conferă posibilitatea de a fi recomandați la fabricarea de senzori amperometrici. Senzorii obținuți pe baza noilor electrozi compoziți prezintă limită de detecție și sensibilitate bune, ceea ce poate să-i recomande pentru aplicații practice în controlul calității mediului înconjurător sau al proceselor biotehnologice și biomedicale.
- Electrozii de grafit modificați cu bis-fenotiazin-3-il metan (BPhM) și nanotuburi de carbon (CNT) sunt stabili și pot fi folosiți ca senzori amperometrici cu caracteristici



îmbunătățite pentru detecția NADH. Performanțele cele mai bune ale senzorilor de NADH bazați pe electrozii G/BPhM-CNT au fost obținute la pH-ul 6, la +100 mV, în domeniul liniar  $10^{-5}$ - $10^{-3}$  M, cu limita de detecție 8  $\mu$ M, sensibilitatea de 8 mA/mol și cu un timp de răspuns de 10 secunde.

- Biosenzorii realizați pe bază de ascorbat oxidază pot fi utilizați cu succes pentru detecția acidului ascorbic din soluții apoase. Prezintă stabilitate și reproductibilitate bune, o sensibilitate bună la acidul L- ascorbic (328,36  $\mu$ A/M), o limită de detecție coborâtă ( $5 \cdot 10^{-5}$ M) și un răspuns rapid, în soluție tampon fosfat pH 7, la un potențial aplicat de - 650 mV vs. Ag/AgCl. Compararea rezultatelor obținute cu biosenzorul amperometric și cu metoda standard (titrarea cu DCPI) arată faptul că biosenzorul funcționează bine în probe sintetice de AA și poate fi recomandat pentru testare în probe reale (vinuri și sucuri de fructe). Determinarea acidului ascorbic din probe reale cu ajutorul biosenzorilor necesită în perspectivă un studiu al interferențelor care pot influența răspunsul biosenzorilor în probele de sucuri de fructe și vinuri.
- Noul material din pastă de cărbune modificat cu derivatul eter- coroană prezintă o suprafață regenerabilă, fiind adecvat pentru detecția rapidă și eficientă a ionilor de potasiu în medii apoase. Eficiența detecției potasiului cu acest nou material este comparabilă cu cea a unui electrod clasic pe bază de membrană PVC, în condițiile utilizării aceluiași ionofor. Parametrii electroanalitici ai senzorului modificat PSM-CP sunt timpul de răspuns de 10 secunde, domeniul liniar cuprins între  $10^{-4}$  și  $5 \cdot 10^{-2}$  M, iar limita de detecție este de  $1,3 \cdot 10^{-4}$  M. Materialul obținut, sensibil la potasiu, este simplu, versatil, rapid și ușor de realizat, solid și mai puțin costisitor decât PSM-PVC.
- Ansamblurile nanostructurate de nanoparticule de aur funcționalizate cu L-Leucină care au fost atașate de suprafața unui electrod de aur, prin intermediul unui monostrat de 1,3-propanditiol prezintă sensibilitate față de determinarea Cu (II), respectiv  $21,78 \pm 2,06$  mA/M, limita de detecție obținută fiind de  $5,4 \times 10^{-7}$  M.

## BIBLIOGRAFIE SELECTIVA

1. J. Zak, Th. Kuwana, "Chemically Modified Electrodes and Electrocatalysis", *J. Electroanal. Chem*, 150 (1983) 645
2. R.W. Murray, "Chemically Modified Electrodes", In "Electroanalytical Chemistry", A.J. Bard (ed.), M. Dekker, N. York, (1983), vol. 13, p.191-368
3. H.D. Abruña, "Coordination Chemistry in Two Dimensions: Chemically Modified Electrodes", *Coordin. Chem. Rev.*, 86 (1988) 135
4. A. Merz, "Chemically Modified Electrodes", *Topics Current Chem.*, 152 (1990) 49
5. J. Labuda, "Chemically Modified Electrodes as Sensors in Analytical Chemistry", *Selective Electrode Rev.*, 14 (1992), 33-86
6. R.W. Murray (ed.), "Molecular Design of Electrode Surface", Wiley, N. York, (1992)
7. T.E. Edmonds (ed.), "Chemical Sensors", Blackie, Glasgow, (1989)
8. J. Janata, M. Josovicz, P. Vanysek, D.M. DeVaney "Chemical Sensors", *Anal. Chem.*, 70 (1998) 179R
9. W. Gopel, J. Hesse, J.N. Zemel (ed.), "Sensors", VCH, Weinheim, (1995)
10. J. Janata, M. Josowicz si D.M. DeVaney, "Chemical Sensors", *Anal. Chem.*, 66 (1994) 207R
11. J. Janata, "Chemical Sensors", *Anal. Chem.*, 64 (1992) 196R
12. J. Janata, "Chemical Sensors", *Anal. Chem.*, 62 (1990) 33R
13. J. Janata si A. Bezegh, "Chemical Sensors", *Anal. Chem.*, 60 (1988) 196R
14. A.P.F. Turner, I. Karube, G.S. Wilson, (ed.), "Biosensors: Fundamentals and Applications", Oxford Univ. Press, Oxford, (1987)
15. A.E.G. Cass, "Biosensors: A Practical Approach", IRL Press, (1990)
16. E.A.H. Hall, "Biosensors", Open Univ. Press, Buckingham, (1990)
17. F.W. Scheller *et al.*, "Biosensors", Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, (1992)
18. D.G. Buerk, "Biosensors. Theory and applications", Technomic Publ., Lancaster, (1993)
19. B.R. Eggins, "Biosensors: an Introduction", Willey-Teubner, Chichester, (1996)
20. F.W. Scheller, F. Schubert and J. Fedrowitz, "Frontiers in Biosensorics. I. Fundamental Aspects", Birkhauser Verlag, Basel, vol. 1, (1997)
21. A. Walcarius, *Anal. Chim. Acta*, 384 (1999) 1-16.

22. Valentini, F., Orlanducci, S., Terranova, M. L., Amine, A., Palleschi, G., *Sens. Actuators B* 100 (2004) 117.
23. Rivas, G. A., Rubianes, M. D., Pedano, M. L., Ferreyra, N. F., Luque, G. L., Rodriguez M. C., Miscoria, S. A., *Electroanalysis* 19 (2007) 823.
24. Guzmán, C., Orozco, G., Verde, Y., Jiménez, S., Godínez, L.A., Juaristi, E., Bustos, E., *Electrochim. Acta* 54 (2009) 1728.
25. Wang, J., Li, M., Shi, Z., Li, N., Gu, Z., *Anal. Chem.* 74 (2002) 1993.
26. Yun, Y., Dong, Z., Shanov, V., Heineman, W. R., Halsall, H. B., Bhattachary, A., Conforti, L., Narayan, R. K., Ball, W. S., Schulza, M. J., *Nanotoday* 2 (2007) 30.
27. Qui, J.-D., Zhou, W.-M., Guo, J., Wang, R., Liang, R.-P., *Anal. Biochem.* 385 (2009) 264.
241. A. Walcarius, *Anal. Chim. Acta* 388 (1999) 79-91
252. A. J. Bard., L. R. Faulkner, *Electrochemical methods. Fundamentals and applications*, Wiley-VCH, Singapore 1980, 524
278. C.Varodi, D. Gligor și L. M. Mureșan, *Rev. Roumaine Chim.*, 52(1-2) (2007) 81
279. D. Gligor, C. Varodi, A. Măicăneanu, L. M.Mureșan, *Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Chemia XLV 2 TOM II* (2010) 293
280. A.Maicaneanu, C.Varodi, H.Bedelean, D.Gligor, *Chemie Der Erde-Geochemistry*, 74 (4) (2014) 653
393. J. L. Atwood, J. W. Steed, G. W. Gockel, *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*, CRC Press, Taylor&Francis Group (2004)
395. T. D. Mody, J. Porphyr. Phthalocyan. 4, (2000) 362
409. G. W. Gokel, W. M. Leevy, M. E. Weber, *Chem. Rev.* 104, (2004) 2723
410. H. J. Buschmann, L. Mutihac, *Anal. Chim. Acta* 466, (2002) 101
411. V. S. Ijeri, P. V. Jaiswal, A. K. Srivastava, *Anal. Chim. Acta* 439, (2001) 291
412. V. S. Ijeri, A. K. Srivastava, *Anal. Sci.* 17, (2001) 605