



ACADEMIA ROMÂNĂ
Școala de Studii Avansate a Academiei Române
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”, Iași
Centru de Cercetări Avansate pentru Bionanoconjugate și
Biopolimeri

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

SENZORI ELECTROCHIMICI CU APLICAȚII BIOMEDICALE

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

C.S. I Dr. **MARIANA PINTEALĂ**

DOCTORAND:

Drd. Oana-Elena RĂCHITĂ
(casătorită CARP)

2023

CUPRINS

LISTA CU ABREVIERI ȘI SIMBOLURI	1
I. INTRODUCERE	2
II. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	7
II.1. Tehnici electrochimice utilizate în electroanaliză (voltametria ciclică, amperometria și voltametria în puls diferențial)	7
II.1.1. Considerații generale	7
II.1.2. Celula Electrochimică	9
II.1.3. Procese de electrod (Stratul dublu electric, Proces Faradaic și Proces Capacitiv)	14
II.1.3.1. Stratul dublu electric	14
II.1.3.2. Proces Faradaic și Proces Capacitiv.....	16
II.1.4. Tehnici electrochimice.....	19
II.1.4.1. Voltametria Ciclică.....	19
II.1.4.2. Voltametria în Puls Diferențial.....	23
II.1.4.3. Amperometria.....	25
II.1.4.3.1. Electrozii modificați chimic (CME).....	27
II.1.5. Biomarkerii de interes	30
II.1.6. Strategii actuale privind senzorii/biosenzorii utilizați în determinarea biomarkerilor	33
III. CONTRIBUȚII PERSONALE	37
III.1. Determinarea electrochimică a Colesterolului	37
III.1.1. Considerații generale	37
III.1.2. Materiale și metode	40
III.1.2.1. Prelucrarea probelor reale.....	41
III.1.3. Rezultate și discuții	42
III.1.3.1. Teste preliminare de Voltametrie ciclică – Comportamentul redox al colesterolului.....	42
III.1.3.2 Teste amperometrice.....	43

III.1.3.3. Influența potențialului aplicat.....	46
III.1.3.4. Influența concentrației de acid.....	47
III.1.3.5. Curba de Calibrare.....	47
III.1.3.6. Interferenții.....	49
III.1.3.7. Reproductibilitatea metodei.....	52
III.1.3.8. Detecția colesterolului din probele de sânge.....	54
III.1.4. Concluzii.....	55
III.2. Analiza antioxidantilor utilizând tehnici electrochimice.....	56
III.2.1. Generalități.....	56
III.2.2. Parte experimentală.....	59
III.2.2.1. Reactivii utilizați.....	59
III.2.2.2. Metode implicate și aparate.....	59
III.2.3. Rezultate și discuții.....	61
III.2.3.1. Comportamentul electrochimic al piperinei și capsaicinei comparativ cu cel al antioxidantilor control.....	61
III.2.3.2. Neutralizarea radicalului 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH).....	65
III.2.3.3. Neutralizarea radicalului 2,2,6,6-tetrametilpiperidinil-1-oxi (TEMPO).....	71
III.2.3.4. Reducerea electrochimică a ionului feric (Fe^{3+}).....	75
III.2.3.5. Reducerea electrochimică a peroxidului de hydrogen.....	77
III.2.4. Concluzii.....	79
III.3. Electrodepunerea comparativă a nanoparticulelor de aur pe materiale bidimensionale. Aplicații pentru detecția nitritului.....	81
III.3.1. Generalități.....	81
III.3.2. Parte Experimentală.....	83
III.3.2.1. Reactivii utilizați.....	83
III.3.2.2. Metode implicate și aparate.....	84
III.3.3. Rezultate și discuții.....	86
III.3.3.1. Electrodepunerea AuNPs pe diferite materiale 2D.....	86
III.3.3.2. Caracterizarea morfologică a electrozilor modificați.....	87
III.3.3.3. Caracterizarea electrochimică a AuNPs electrodepuse pe diferite substraturi...90	90

III.3.3.4. Oxidarea nitritului la electrozii rezultați în urma electrodepunerii a AuNPs pe diferite substraturi	92
III.3.3.5. Optimizarea detecției nitritului - Influența potențialului aplicat.....	93
III.3.3.6. Optimizarea detecției nitritului - Influența concentrației de acid.....	94
III.3.3.7. Curba de Calibrare.....	95
III.3.3.8. Interferenții.....	98
III.3.4. Concluzii.....	98
IV. CONCLUZII GENERALE.....	100
DISEMINAREA REZULTATELOR.....	102
REFERINȚE BIBLIOGRAFICE.....	104

I. INTRODUCERE

Electrochimia este o știință multidisciplinară care explorează interfața dintre electricitate și chimie, concentrându-se pe reacțiile chimice care implică transferul de sarcină între un compus (analit) și conductorii de electroni (electrod). Acest domeniu complex are numeroase aplicații în viața noastră de zi cu zi. Un exemplu notabil este în realizarea de baterii și acumulatori, inima multor dispozitive moderne precum telefoane, laptopuri și mașini electrice. Electrochimia permite transformarea energiei chimice în electrică, facilitând funcționarea acestor aparate. În plus, electrochimia are un impact major asupra mediului înconjurător, fiind esențială în analiza, tratarea și purificarea apei, eliminând poluanții și substanțele toxice. În domeniul medical, aplicațiile electrochimiei au un rol important în diagnosticarea și monitorizarea afecțiunilor prin intermediul senzorilor electrochimici (ex: senzori pentru glucoză sau colesterol).

Senzorii și biosenzorii electrochimici sunt esențiali în mediu, industrie și medicină pentru detectarea precisă și rapidă a analiților importanți. Această tehnologie a cunoscut progrese rapide, senzorii electrochimici pot detecta analiți în probe biologice și chimice, oferind avantaje precum simplitatea și viteza analizelor, uneori fără a necesita o prelucrare anterioară a probei. Până în 2023, peste 100.000 de rapoarte de cercetare despre senzori electrochimici sunt înregistrate în baza de date "Web of Science," subliniind importanța și interesul crescând în comunitatea științifică.

Pornind de la aceste considerente, obiectivul general al tezei de doctorat a fost proiectarea, dezvoltarea și optimizarea de noi metode și senzori electrochimici pentru determinarea și cuantificarea unor analiți de interes și care să ofere o alternativă fiabilă la metodele clasice.

Structurarea tezei

Teza de doctorat intitulată "**Senzori electrochimici cu aplicații biomedicale**" este structurată în patru părți distincte, însumând șase capitole.

Partea I - cuprinde motivația care a stat la baza alegerii temei de cercetare, subliniind importanța, noutatea, provocările și actualitatea acesteia realizându-se o legătură între tema de cercetare și preocupările științifice ale comunității de cercetare. În plus, se oferă o prezentare sintetică și concisă a conținutului lucrării, evidențiindu-se rezultatele obținute.

Partea II - se concentrează asupra unui studiu teoretic detaliat, care aduce în discuție bazele teoretice și conceptuale esențiale pentru înțelegerea funcționării celulei electrochimice și a principalelor tehnici utilizate în analiza electrochimică.

- **Capitolul II.1** oferă o perspectivă asupra structurii și componentelor celulei electrochimice, precum și asupra proceselor și mecanismelor electrochimice de transfer de electroni de la interfața electrod/lichid. Prezintă în detaliu tehnici electrochimice utilizate în partea experimentală: voltametria cíclică, voltametria în puls diferențial și amperometria.

Partea III – este structurată în trei capitole (Capitolele III.2-III.4) și cuprinde contribuțiile originale privind dezvoltarea, optimizarea și caracterizarea unor noi metode și senzori electrochimici pentru determinarea și caracterizarea biomarkerilor de interes, și anume colesterolul, piperina și nitritul.

- **Capitolul III.2** tratează dezvoltarea și optimizarea unei metode electrochimice inovative pentru determinarea colesterolului în mediu acid, utilizând reacția Liebermann-Buchard adaptată pentru condițiile electrochimice.
- **Capitolul III.3** cuprinde analiza electrochimică a doi alcaloizi naturali, piperina și capsaicina, utilizând tehnici voltametrice în combinație cu diferite teste chimice, cu scopul de a obține o corelație între comportamentul redox al acestora și activitatea antioxidantă. Comportamentul redox al alcaloizilor studiați a fost comparat cu cel al unor antioxidanți cunoscuți, utilizați ca grup de control și anume acidul ascorbic, acidul protocatecic, acidul siringic și tirozina. Evaluarea posibilelor proprietăți antioxidante utilizând tehnici electrochimice, s-a realizat prin intermediul a patru teste specifice: (i) captarea radicalului liber DPPH•; (ii) captarea radicalului TEMPO; (iii) reducerea Fe^{3+} ; (iv) reducerea H_2O_2 .
- **Capitolul III.4** cuprinde un studiu privind depunerea AuNPs pe materiale bidimensionale (2DM) folosite ca substrat: Grafenul (Gr) și MoS_2 . Diferențele obținute în particulele electrodepuse au fost evidențiate și evaluate față de oxidarea nitritului (NO_2^-);

Partea IV cuprinde concluziile generale desprinse din rezultatele obținute în urma studiilor efectuate pe parcursul studiilor doctorale.

Rezultatele obținute și prezentate în cadrul tezei de doctorat “Senzori electrochimici cu aplicații biomedicale”, au făcut până în prezent subiectul a două lucrări științifice publicate în

jurnale cotate ISI și un al treilea trimis spre publicare, precum și a patru comunicări (orale sau poster) la manifestări științifice internaționale și naționale.

III. Contribuții personale

III.1. Determinarea electrochimică a Colesterolului

În acest capitol am dezvoltat și optimizat o metodă electrochimică simplă și robustă pentru determinarea și cuantificarea colesterolului din ser, utilizând într-un mod inovativ reacția Liebermann-Burchard (LB) și oferind astfel, o alternativă fiabilă la metodele colorimetrice.

Teste preliminare de voltametrie ciclică – Comportamentul redox al colesterolului

Comportamentul electrochimic al colesterolului a fost studiat în amestecul de reactivi LB (cloroform, anhidridă acetică și H_2SO_4 concentrat) la care s-a adăugat și tetrabutilamoniu perclorat (TBAP) pe post de electrolit necesar reacției electrochimice, utilizând voltametria ciclică. Curba curent-potențial reprezentativă pentru amestecul LB în prezență de colesterol prezintă o creștere a curentului anodic la potențiale mai mari de 1,4 V, indicând posibila oxidare a colesterolului (figura 1.A.b). Ca și experiment control, am efectuat voltametria ciclică pentru amestecul de reactivi Liebermann-Burchard în absența colesterolului, fără a fi observată o creștere a curentului de oxidare (figura 1.A.a).

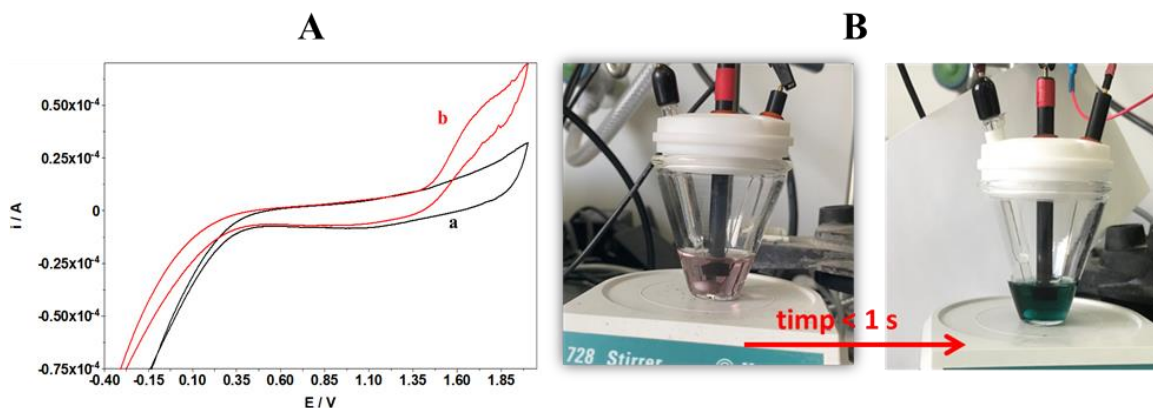


Figura 1. (A) Voltametrie ciclică a amestecului format din: 2 mL Cloroform-TBAP, 1 mL anhidridă acetică și 40 μ L H_2SO_4 concentrat: (a) în absența și (b) în prezența a 0,64 mM colesterol, utilizând electrodul GC.

(B) Variația de culoare a soluției LB cu colesterol în celula electrochimică în momentul aplicării unui potențial.

Reacția chimică este lentă (aprox 30 minute) însă când această reacție este plasată în mediul electrochimic și cuplată cu aplicarea unui potențial, reacția este mult accelerată, și acest lucru este ușor vizibil deoarece culoarea se schimbă instantaneu în verde [1, 2] (figura 1.B) când se atinge pragul de 1,4 V.

Testele amperometrice

Pentru a stabili mecanismul de reacție, s-a evaluat răspunsul amperometric obținut pentru oxidarea colesterolului în amestecul Lieberman–Burchard, aplicând un potențial constant de 1,5 V. În experimentul de amperometrie, se înregistrează linia de bază pentru amestecul cloroform-TBAP, anhidridă acetică și H_2SO_4 concentrat, iar la adăugarea colesterolului, curentul de oxidare crește rapid (figura 2.A) iar virajul culorii de la violet/roz la verde închis este foarte rapid.

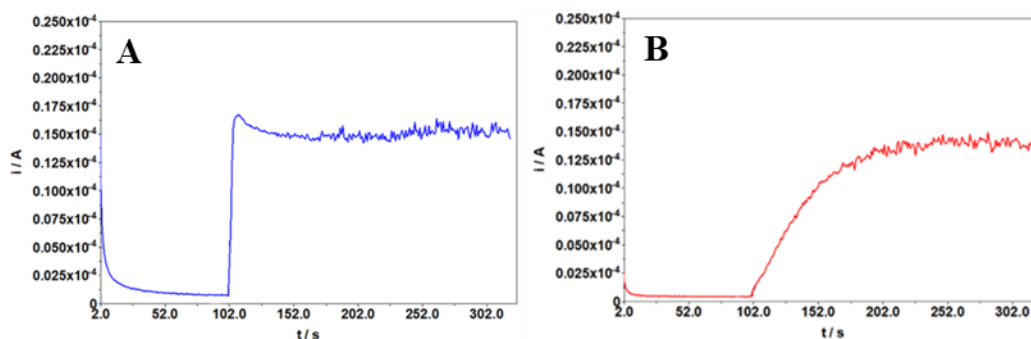
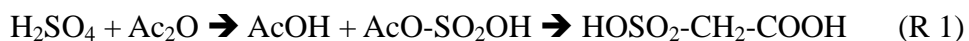


Figura 2. (A) Răspunsul amperometric pentru 0,64 mM colesterol adăugat în amestecul 2 ml cloroform-TBAP, 1 ml anhidridă acetică și 40 μL H_2SO_4 concentra); (B). Răspunsul amperometric pentru 40 μL H_2SO_4 concentrat adăugat în amestecul 2 mL cloroform-TBAP, 1 mL anhidridă acetică și 0,64 mM colesterol.

Deoarece oxidarea colesterolului în condiții puternic acide implică mai mult decât un mecanism electrochimic, am explorat detecția colesterolului printr-o abordare inversă, adăugând reactivii într-o ordine diferită și anume: colesterolul aflat inițial în mediul de reacție când s-a înregistrat linia de bază, apoi a fost adăugat acidul sulfuric (figura 2.B). În acest caz, curentul de oxidare crește relativ lent, atingând un răspuns constant după aproximativ 100 s. După cum era de

așteptat, și variația culorii soluției a fost mai lentă. Evoluția lentă a reacției (creșterea lentă a curentului de oxidare și variația lentă a culorii) indică un transfer electronic îngreunat demonstrând astfel că mecanismul electrochimic este precedat de unul chimic. Și anume, reacția chimică dintre anhidrida acetică și acidul sulfuric (R 1) are o importanță critică pentru reacția electrochimică [3].



Acid Acetilsulfuric Acid sulfoacetic

Acidul sulfoacetic rezultat din reacția chimică reacționează cu colesterolul, acesta fiind primul pas în derivatizarea colesterolului (**mecanismul chimic**), astfel formând colestadiene [1, 4, 5]. Acestea din urmă sunt apoi implicate în transferul electronic cu suprafața electrodului sub influența potențialului aplicat (**mecanismul electrochimic**). Pentru optimizarea condițiilor de lucru și a sensibilității metodei, au fost evaluați o serie de parametri implicați.

Influența potențialului aplicat

În cadrul acestui studiu, am testat 6 valori ale potențialului aplicat: 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,5 și 1,6 V pentru a vedea influența asupra curentului de oxidare înregistrat pentru oxidarea colesterolului. Semnalul obținut crește odată cu valoarea potențialului aplicat, iar valoarea maximă a curentului a fost înregistrată pentru potențialul de 1,6 V. Având în vedere că răspunsul curentului înregistrat pentru potențialul de 1,6 V nu este foarte stabil și este destul de zgomotos s-a ales pentru experimentele ulterioare valoarea de 1,5 V ca fiind optimă pentru determinarea în aceste condiții.

Influența concentrației de acid

În cadrul acestui studiu, am testat răspunsul amperometric pentru oxidarea a 1 mM colesterol, variind volumul de H₂SO₄ concentrat din amestecul de reacție Lieberman–Burchard. Semnalul analitic crește odată cu volumul de acid prezent în celula electrochimică, însă cu cât volumul de acid sulfuric este mai mare (200 μL), cu atât curentul înregistrat este mai instabil și zgomotos, probabil din cauza degradării treptate a produșilor de reacție care pasivează suprafața electrodului. Prin urmare, volumul de 100 μL acid a fost folosit în experimentele următoare.

Curba de Calibrare

Pentru a determina sensibilitatea metodei și domeniul de liniaritate a răspunsului amperometric, a fost studiat răspunsul (curentul de oxidare) pentru concentrații diferite de colesterol adăugate în amestecul de reacție LB, în condițiile optimizate anterior și prezentate în

figura 3.A. Au fost testate soluții standard de colesterol cu concentrații cuprinse între 0,025 și 7 mM, aplicând un potențial de 1,5 V. Metoda dezvoltată prezintă sensibilitatea de 14,959 $\mu\text{A}/\text{mM}$ calculată din curba de calibrare (figura 3.B.) și o limită de detecție de 19,78 nM colesterol, cu un răspuns linear pe domeniul 0,025-3 mM ($R^2 = 0.99$).

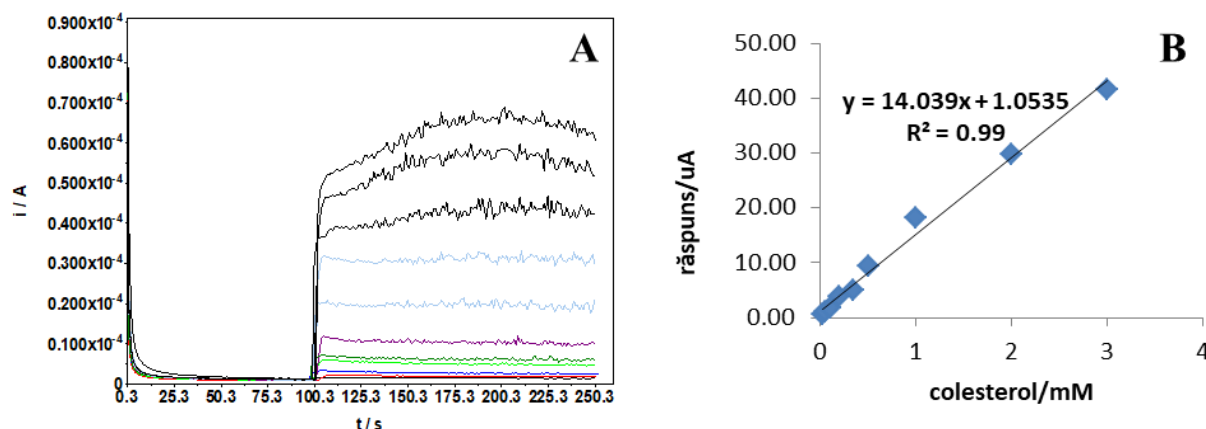


Figura 3. (A) Răspunsul amperometric pentru diferite concentrații de colesterol, aplicând un potențial constant de 1,5 V. (B) Curba de calibrare a răspunsului amperometric.

Interferenții

Pentru a evalua selectivitatea metodei, o serie de compuși care pot coexista alături de colesterol în probele biologice, cum ar fi acidul ascorbic, acidul uric, KCl, NaCl și glucoza, au fost testați atât individual, cât și împreună cu colesterolul, utilizând condițiile de lucru optimizate anterior. *Compușii testați în acest studiu nu interferă în oxidarea colesterolului. Prin urmare, această metodă prezintă un grad ridicat de specificitate.*

Reproductibilitatea metodei s-a evaluat prin repetarea unor măsurători amperometrice consecutive ale aceleiași concentrații de colesterol sau repetarea în zile diferite (tabelul 1). Metoda dezvoltată pentru determinarea specifică a colesterolului prezintă o bună reproductibilitate.

Tabelul 1. *Reproductibilitatea determinării electrochimice a colesterolului.*

	Test	Media curentului de oxidare (μA)	RSD
Precizie Intra-test	3 determinări consecutive ale aceleiași concentrații	10.56	1.97%
Precizie Inter-test	10 determinări în zile diferite ale aceleiași concentrații	10.37	4.07%

Detecția colesterolului din probele de sânge

Validarea analitică a metodei dezvoltată în acest studiu a fost realizată comparând datele obținute prin teste electrochimice cu datele furnizate de un laborator acreditat (Top Medical Grup, Iași, România), analizând probe de sânge de la aceiași subiecți implicați în studiu. Rezultatele prezentate în tabelul 2 arată valori apropiate ale concentrației de colesterol pentru determinările efectuate prin metoda electrochimică optimizată comparativ cu cele furnizate de laboratorul medical, demonstrând astfel că metoda dezvoltată este exactă. Mai mult, tot din tabelul 2 se poate observa că metoda de extracție utilizată este mai eficientă când se utilizează un volum de 200 μ L ser comparativ cu 100 μ L ser. *Metoda dezvoltată este simplă, rapidă și ar putea fi adaptată pentru a fi utilizată în analizele de rutină.*

Tabelul 2. Rezultatele obținute analizând probele de ser prin metoda electrochimică dezvoltată și comparate cu datele furnizate de laboratorul medical.

Număr eșantion	Concentrția Colesterolului (mg/dL)		Diferența (A-B)/B*100
	Metoda Electrochimică (A)	Laborator Medical (B)	
1a	140.68	156.1	-9.87
1b	150.13		-3.82
2a	295.69	318.2	-7.07
2b	308.94		-2.91
3a	146.76	160.4	-8.5
3b	153.17		-4.5
4a	204.51	221.3	-7.58
4b	208.64		-5.72
5a	247.06	273.4	-9.63
5b	273.99		0.21
6a	209.07	226.7	-7.77
6b	219.27		-3.27
7a	213.63	223.54	-8.11
7b	221.55		-5.92

a = probă obținută din 100 μ L ser

b = probă obținută din 200 μ L ser

III.2. Analiza antioxidanților utilizând tehnici electrochimice

În acest capitol este prezentată analiza electrochimică a celor doi alcaloizi naturali, piperina și capsaicina, utilizând tehnici voltametrice cuplate cu diferite teste chimice pentru a înțelege mai bine comportamentul redox și activitatea antioxidantă a acestora. Comportamentul redox al alcaloizilor studiați a fost comparat cu cel al unor antioxidanți cunoscuți, folosiți drept **control**, și anume: **acidul ascorbic, acidul siringic, acidul protocatecic și tirozina**.

Comportamentul electrochimic al piperinei și capsaicinei comparativ cu cel al antioxidanților control

Determinarea potențialelor de oxidare ale compușilor studiați în această teză (piperina, capsaicina comparativ cu antioxidanții control) este primul pas în evaluarea activității antioxidante a unei molecule. O valoare scăzută a potențialului de oxidare reflectă înclinația unei anumite molecule de a dona ușor electroni și, prin urmare se poate considera că prezintă o puternică activitate antioxidantă. Pentru majoritatea antioxidanților fenolici, reacția implică transformarea unei grupări fenolice într-o chinonă, printr-un proces de oxidare care în general are loc pe intervalul de potențial +300 mV și +700 mV. Figurile 4. A și B prezintă voltamogramele obținute pentru antioxidanții control, acidul ascorbic și siringic, care se oxidează într-o singură etapă formând chinonele corespunzătoare, la potențiale pozitive relativ scăzute în mediu acid. Valoarea potențialului este influențată de numărul de grupări hidroxil prezente în structura acestora [6].

Figura 4.C prezintă voltamograma capsaicinei pentru două cicluri repetitive. Inițial, capsaicina suferă o oxidare ireversibilă la 0,45 V, cedând doi electroni, cu formarea de *orto*-benzochinonă și metanol ca produs secundar. Benzochinona formată este redusă în timpul scanării catodice la *orto*-hidroxifenol (catecol) rezultând picul de reducere la 0,2 V [7]. În timpul celui de-al doilea ciclu, are loc re-oxidarea catecolului la *orto*-benzochinonă, generând un al doilea pic anodic la 0,26 V, concomitent cu scăderea celui de la 0,45 V.

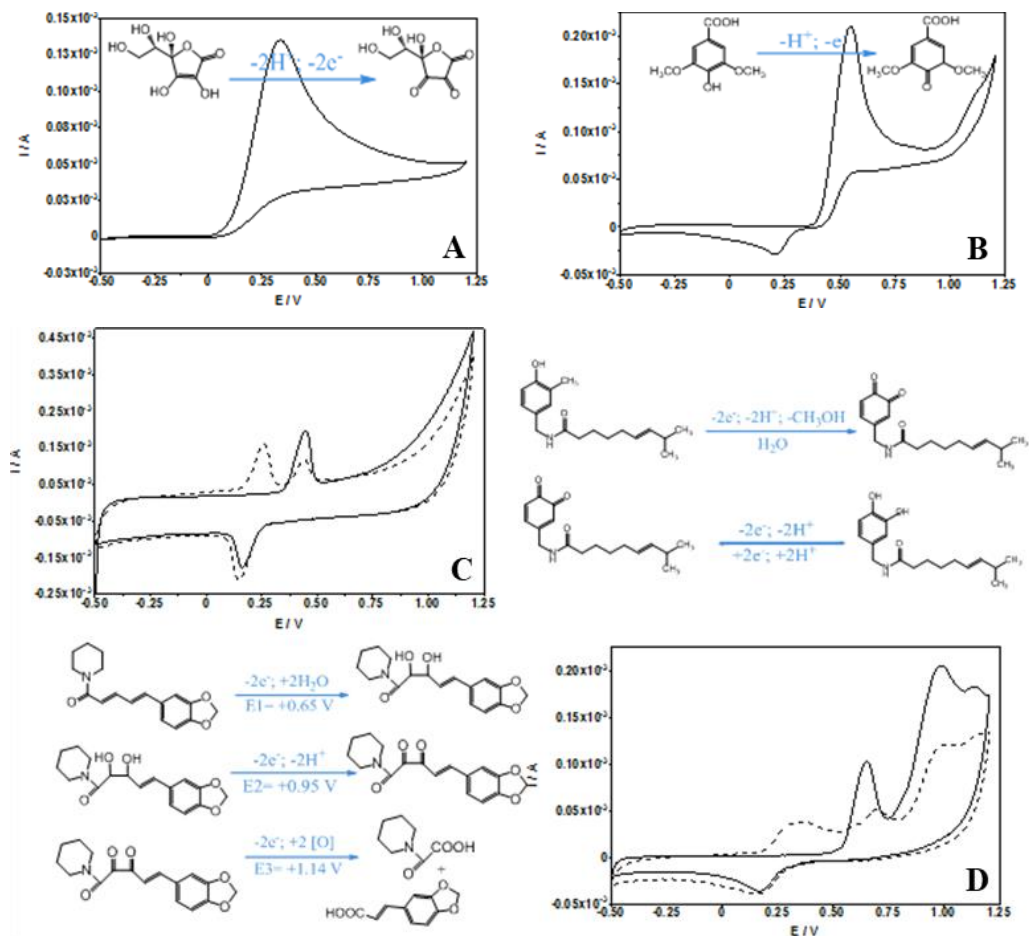


Figura 4. Voltamogramele ciclice a 0,5 mM (A) acid ascorbic, (B) acid siringic, (C) capsaicina și (D) piperina în $HClO_4$ 0,1 M, și reacțiile de oxidare care au loc.

Electrooxidarea piperinei implică un proces de transfer electronic în trei etape. În primul transfer (0,65 V) are loc formarea diolului piperin, urmat de o oxidare ulterioară la un compus dionic (0,95 V). În continuare, oxidarea compusului dionic rezultat conduce la ruperea legăturii dintre doi atomi de carbon cu formarea a doi acizi carboxilici (1,14 V) [157]. La baleierea potențialului în direcția opusă, are loc o reacție de reducere, urmată de dimerizarea și pasivarea suprafeței electrodului, după cum este sugerat de scăderea puternică a picurilor la baleieri repetate (ciclu doi - linie punctată) (figura 4.D).

Potențialul relativ scăzut la care apare picul de oxidare al acidului ascorbic demonstrează că dintre cei șase compuși studiați acesta se oxidează cel mai ușor. La polul opus se află tirozina având cea mai mare valoare a potențialului de oxidare, și cel mai mic număr de grupări $-OH$. Cu toate acestea, numărul de grupări $-OH$ fenolice prezente în structura unei molecule nu este

întotdeauna singurul factor care determină activitatea sa antioxidantă. Pozițiile grupărilor –OH fenolice, prezența altor grupări funcționale, cum ar fi legăturile duble și conjugarea lor, joacă de asemenea, un rol important în activitatea antioxidantă.

Activitatea antioxidantă a piperinei și capsaicinei a fost evaluată *in vitro* prin intermediul a patru teste ce se utilizează pe scară largă în evaluarea activității antioxidante a compușilor bioactivi, și anume: testele de neutralizare a radicalilor DPPH•, TEMPO, testul de captare a radicalilor hidroxil și reducerea ionului Fe³⁺. Acizii ascorbic, siringic, protocatecuic împreună cu tirozina au fost utilizați pentru comparație ca antioxidanți control.

Neutralizarea radicalului 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH•)

Activitatea redox remanentă a radicalului DPPH• în urma interacțiunii cu un antioxidant [8] este determinată electrochimic după incubarea acestora timp de 45 de minute.

Figura 5.A prezintă răspunsul voltametric inițial al radicalului DPPH• (linia neagră) și al piperinei (linia albastră) comparativ cu răspunsul obținut pentru soluția de amestec DPPH• + piperină în 0,1 M HClO₄ după incubare (linia roșie). Scăderea picurilor în cazul amestecului indică un consum parțial al speciei radicalice DPPH• în reacția cu piperina.

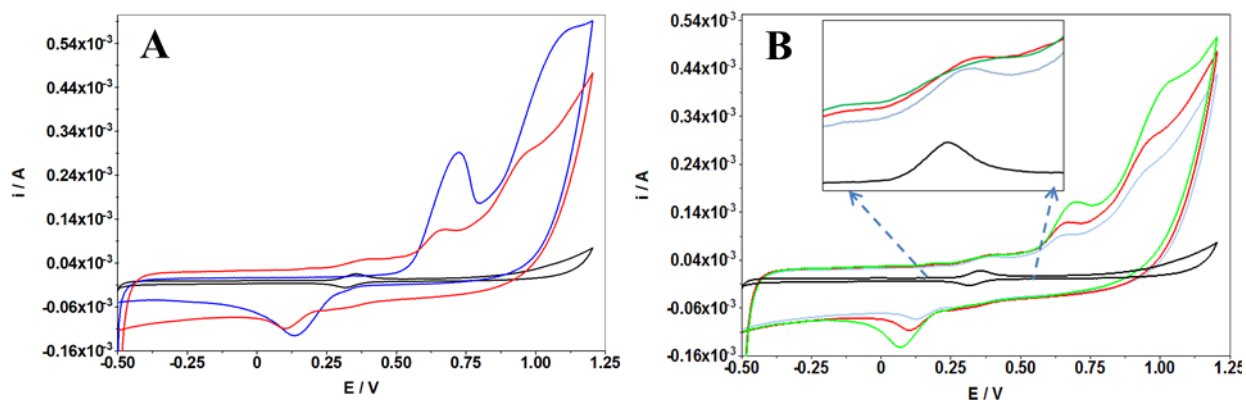


Figura 5. (A) Voltametria ciclică a 0.5 mM DPPH• (negru), 0.5 mM piperină (albastru) și a amestecului: 0.5 mM DPPH• + 0.5 mM piperină (roșu). (B) Voltametria ciclică a 0.5 mM DPPH• (negru) și a amestecului: 0,5 mM DPPH• + 0,25 mM piperină (albastru); 0,5 mM DPPH• + 0,5 mM piperină (roșu) și 0,5 mM DPPH• + 1 mM piperină (verde).

Această concluzie a fost susținută și de rezultatele obținute în urma incubării DPPH•-ului cu diferite concentrații de piperină (figura 5.B) unde se observă cum picul de oxidare specific DPPH• scade proporțional cu concentrația de piperină.

Metoda DPPH a fost utilizată și pentru a evalua activitatea antioxidantă a **capsaicinei**. Figura 6.A prezintă picurile bine definite ale DPPH• (linia neagră) și ale capsaicinii (linia albastră) comparativ cu răspunsul obținut pentru amestecul acestora în urma incubării timp de 45 de minute (linia roșie). Din voltamograma amestecului se poate observa cum picurile de oxidare specifice capsaicinii sunt puternic diminuate în urma incubării cu DPPH•, precum și o dispariție completă a picurilor caracteristice radicalului DPPH•, demonstrând activitatea capsaicinii de a neutraliza radicalul DPPH•.

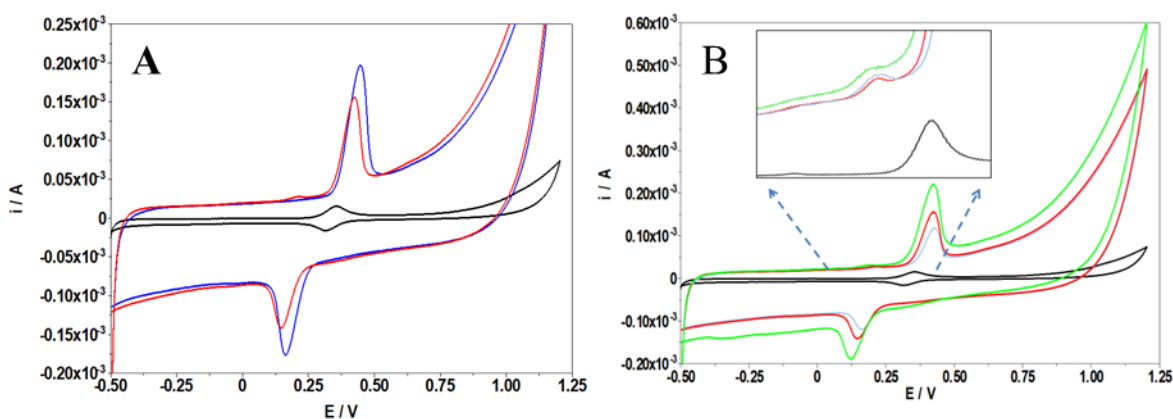


Figura 6. (A) Voltametrie ciclică a 0,5 mM DPPH• (negru), 0,5 mM capsaicină (albastru) și a amestecului: 0,5 mM DPPH• + 0,5 mM capsaicină (roșu). (B) Voltametrie ciclică a 0,5 mM DPPH• (negru) și a amestecului: 0,5 mM DPPH• + 0,25 mM capsaicină (albastru); 0,5 mM DPPH• + 0,5 mM capsaicină (roșu) și 0,5 mM DPPH• + 1 mM capsaicină (verde).

La fel ca și în cazul piperinei, s-a studiat variația picului specific DPPH• pentru mai multe concentrații de capsaicină. În imaginea inserată în figura 6.B se observă cum oxidarea DPPH-ului are loc la valori de potențial mai mici, iar înălțimea picului este influențată de concentrația de capsaicină.

Pentru a confirma efectul antioxidantilor studiați (piperina și capsaicina) asupra DPPH•-ului, același test a fost realizat în condiții similare utilizând **antioxidanții control (acidul ascorbic, acidul protocatecuic – figura 7.A și B) și s-a constatat că în toate cazurile picul de oxidare al DPPH• scade sau chiar dispare în urma incubării cu antioxidantul, iar activitatea compușilor fenolici de a neutraliza radicalul DPPH• depinde în mare măsură de structura și natura acestora.**

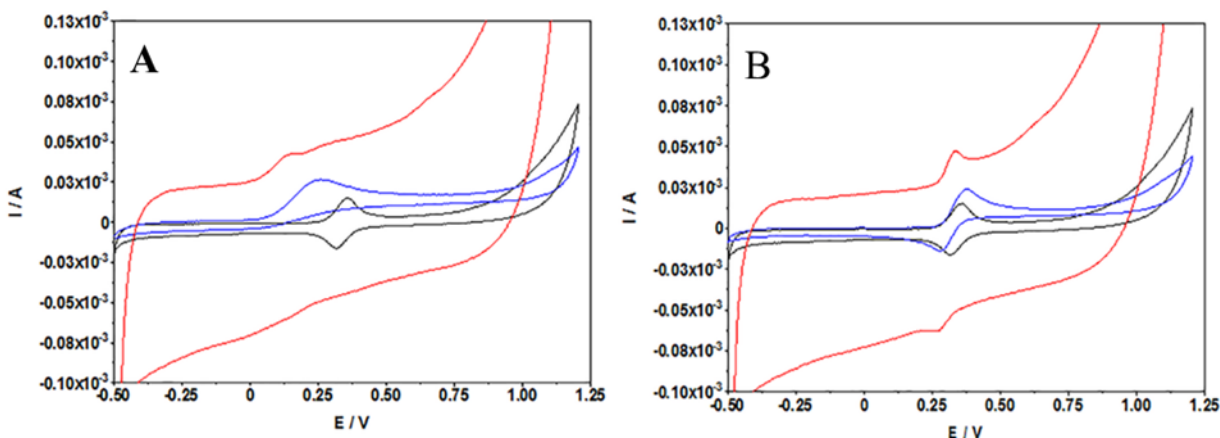


Figura 7. Voltametrie ciclică a 0,5 mM DPPH• (negru), 0,5 mM antioxidant (albastru) și a amestecului 0,5 mM DPPH• + 0,5 mM antioxidant (roșu; figura (A) pentru acidul ascorbic și (B) pentru acidul protocatecuic, în 0,1 M HClO₄.

În cadrul acestui experiment, am demonstrat că și moleculele care nu conțin grupări hidroxil (piperina) posedă capacitatea de a neutraliza radicali liberi, în funcție de structura lor și de aranjamentul legăturilor duble [9].

Neutralizarea radicalului 2,2,6,6-tetrametilpiperidinil-1-oxi (TEMPO)

Capacitatea piperinei și a antioxidanților control de a neutraliza radicalul TEMPO a fost studiată electrochimic în soluții apoase de 0,1 M HClO₄, utilizând tehnica voltametrie în puls diferențial (DPV).

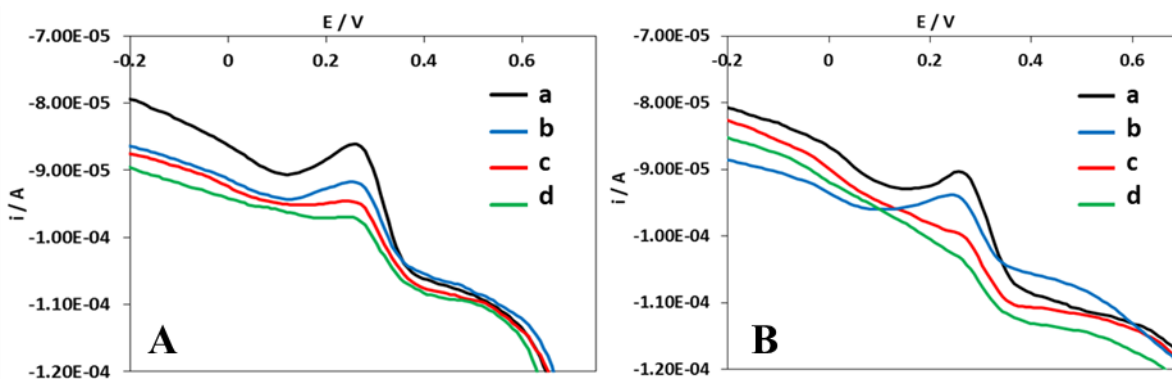


Figura 8. (A) DPV pentru 2 mM TEMPO după incubarea cu 0 mM (a), 0,25 mM (b), 0,5 mM (c) și 1 mM piperină (d); (B) DPV pentru 2 mM TEMPO după incubarea cu 0 mM (a), 0,25 mM (b), 0,5 mM (c) și 1 mM acid ascorbic (d).

Figura 8.A prezintă curbele DPV obținute pentru radicalul TEMPO în forma sa inițială (linia a) și după incubarea timp de 45 de minute cu diferite concentrații de piperină (liniile b, c și d). Intensitatea picului anodic specific radicalului TEMPO scade odată cu creșterea concentrației de piperină, demonstrând capacitatea acesteia de a neutraliza radicalul TEMPO [10-12].

Un efect similar a fost obținut și pentru antioxidanții control în urma incubării cu TEMPO. Figura 8.B prezintă comparativ cazul acidului ascorbic: cu cât concentrația de acid ascorbic este mai mare, cu atât scade intensitatea picului anodic pentru TEMPO.

Măsurătorile realizate folosind radicalul TEMPO au arătat că piperina prezintă proprietăți antioxidante similare cu cele ale antioxidanților control studiați. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu cele furnizate de testele cu radicalul DPPH•.

Reducerea electrochimică a ionului feric (Fe^{3+})

Pe baza comportamentului electrochimic al compușilor studiați, în această teză se propune monitorizarea interacțiunii dintre ionul Fe^{3+} și un antioxidant utilizând voltametria ciclică, în scopul de a urmări modificările picurilor redox specifice tranziției $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ [13].

Figura 9.A prezintă voltamogramele individuale ale fiecărui reactant: $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ - linia neagră și piperina - linia albastră, comparativ cu răspunsul obținut pentru amestecul acestora - linia roșie. Din voltamograma amestecului, se poate observa o diminuare a picurilor redox caracteristice procesului $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ în urma interacțiunii cu piperina, sugerând că o parte din ionul Fe^{3+} a fost deja redus de piperină. De asemenea, și o deplasare a picurilor caracteristice piperinei indicând că procesul de oxidare al acesteia este îngreunat în prezența Fe^{3+} .

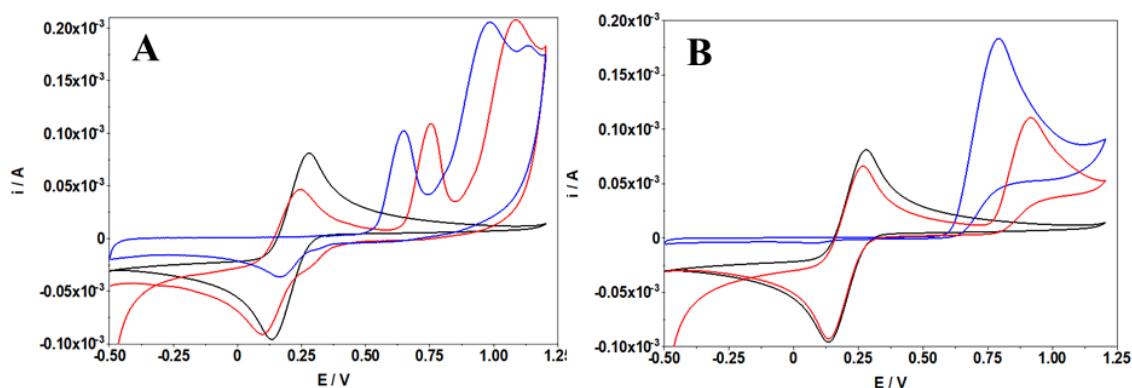


Figura 9. (A) Voltametria ciclică a $0,5 \text{ mM } \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (negru), $0,5 \text{ mM}$ piperină (albastru) și a amestecului de $0,5 \text{ mM } \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + 0,5 \text{ mM}$ piperină (roșu); (B) Voltametria ciclică a $0,5 \text{ mM } \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (negru), $0,5 \text{ mM}$ tirozină (albastru) și amestec $0,5 \text{ mM } \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 + 0,5 \text{ mM}$ tirozină (roșu);.

Același comportament asupra transferului Fe^{3+}/Fe^{2+} a fost observat și pentru antioxidanții control testați. Cazul tirozinei este prezentat pentru comparație (figura 9.B). *Efectul tirozinei este similar cu cel al piperinei, demonstrând capacitatea acesteia de a reduce ionul Fe^{3+} , respectiv activitatea antioxidantă.*

Reducerea electrochimică a peroxidului de hidrogen

Oxidarea anodică a peroxidului de hidrogen este utilizată pe scară largă pentru studierea reactivității moleculelor, evaluarea capacității antioxidante a diferiților compuși, investigarea efectelor oxidative asupra biomoleculelor, etc. [14-16]. Figura 10.A prezintă curbele CV obținute pentru o concentrație inițială a radicalul $OH\cdot$ (linia a) și după adăugarea a diferite concentrații de piperină (liniile b, c, d și e). Adăugarea antioxidantului face ca picul anodic specific H_2O_2 să scadă, sugerând scăderea concentrației acestuia datorită interacției cu antioxidantul. Picul de oxidare specific H_2O_2 scade proporțional cu concentrația de antioxidant.

Figura 10.B prezintă curbele pentru radicalul $OH\cdot$ în urma adăugării a diferite concentrații de capsaicină, iar rezultatele obținute indică același efect de consum al H_2O_2 de către capsaicină. Același efect a fost observat și pentru acidul siringic folosit ca și control (figura 10.C), demonstrând capacitatea antioxidantă a compușilor studiați.

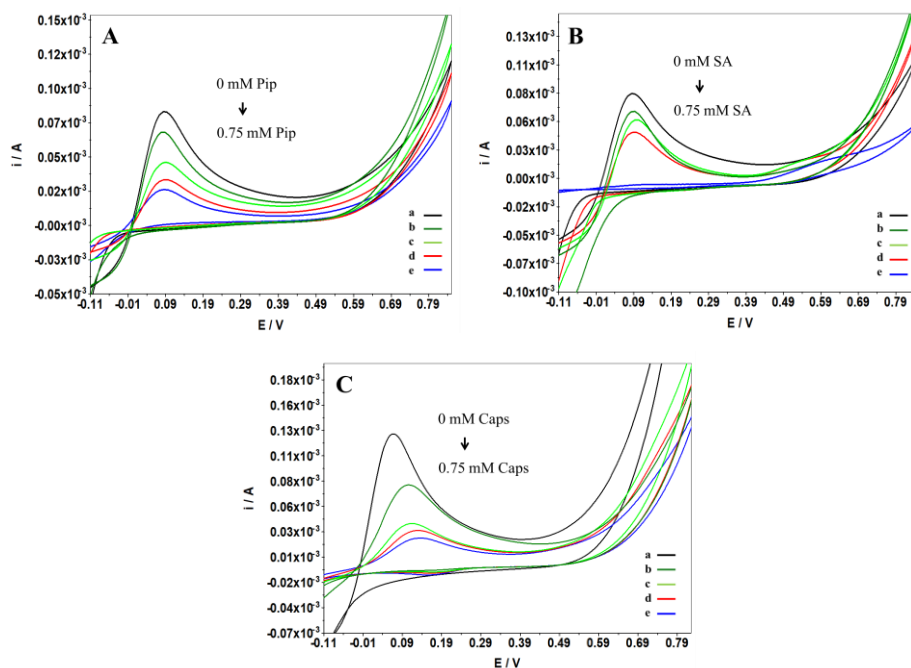


Figura 10. Voltametria ciclică pentru 5 mM H_2O_2 (a) și a diferite concentrații de (A) piperină, (B) capsaicină și (C) acid siringic: 0.125 mM (b), 0.25 mM (c), 0.375 mM (d) și 0.75 mM (e), în 0.1 M KCl .

III.3. Electrodepunerea comparativă a nanoparticulelor de aur pe materiale bidimensionale. Aplicații pentru detecția nitritului.

Acest capitol prezintă o analiză comparativă a nanoparticulelor de Au electrodepute pe diferite materiale 2D folosite ca substraturi (Gr și MoS₂) sau codepuse cu materialul 2D metalic MoS₂. Activitatea electrocatalitică a particulelor de aur obținute în aceste configurații a fost evaluată față de oxidarea nitritului (NO₂⁻) în vederea obținerii unui senzor electrochimic cât mai sensibil pentru deteminarea acestui analit.

Electrodepunerea AuNPs pe diferite materiale 2D

Electrodepunerea AuNPs pe cele două tipuri de materiale 2D s-a realizat prin Voltametrie Ciclică (figura 11). Aceasta presupune formarea de nucleii prin reducerea directă a cationilor metalici la suprafața electrodului dintr-o soluție de electrolit prin aplicarea unui potențial corespunzător și creșterea particulelor pe suprafața nucleilor formați, controlând timpul și potențialul aplicat. În figura 11 (și evidențiat în figura inserată) se observă picurile catodice caracteristice procesului de reducere al ionilor de aur (Au³⁺) la aur metallic (Au⁰) conform reacției R1 [17, 18]. Aceste picuri catodice apar în intervalul de potențial 0,39 V - 0,47 V, în funcție de natura materialului folosit ca substrat pe electrod.

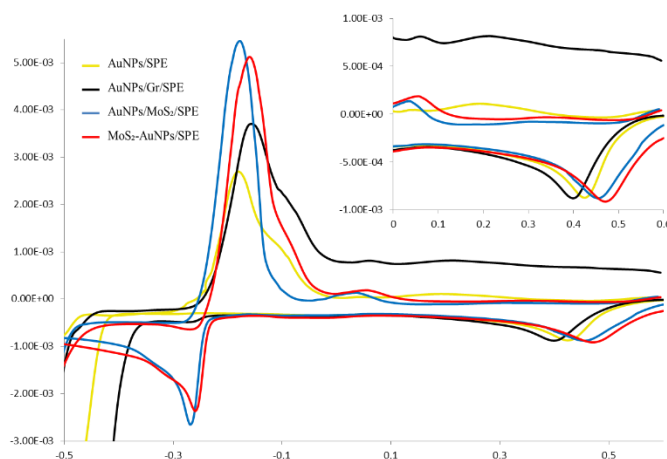
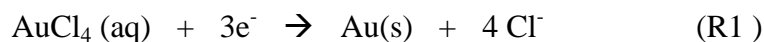


Figura 11. Voltametrie ciclică pentru HAuCl₄ 10 mM pe diferite substraturi: SPE nemodificat (linia galbenă), Gr/SPE (linia neagră), MoS₂/SPE (linia albastră), codepunere HAuCl₄ 10 mM + MoS₂ 2 mg/mL (linia roșie).

În condițiile codepunerii AuNPs cu MoS₂, prezența lamelor MoS₂ în soluția de depunere oferă o suprafață de contact mai mare cu ionii Au³⁺, facilitând procesul de nucleație. [19, 20] Electrozi modificați rezultați din cele trei configurații au fost denotați: AuNPs/Gr/SPE, AuNPs/MoS₂/SPE și MoS₂-AuNPs/SPE.

Caracterizarea morfologică a electrozilor modificați

Figura 12 prezintă comparativ imaginea SEM a electrodului de aur nemodificat SPE (figura 12.A) și imaginea electrodului cu AuNPs electrodepuse direct pe acesta (figura 12.B), folosit ca și control.

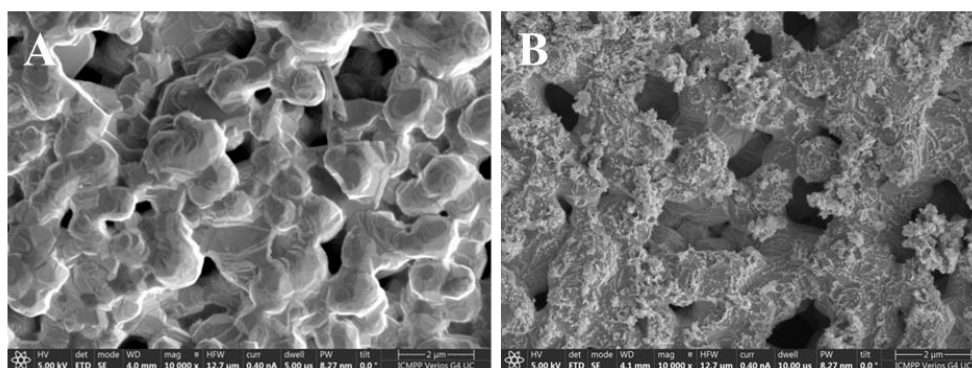


Figura 12. Imaginile SEM pentru electrodul A) SPE și B) AuNPs/SPE.

Figurile 13.A, B și C evidențiază prezența structurilor stratificate lamelare de MoS₂ și, respectiv, grafen cu dimensiuni variate, de la zeci de nanometri la câțiva micrometri, care sunt stivuite împreună crescând porozitatea suprafețelor. Aceste structuri stratificate, oferă o suprafață mai mare cu mai multe situri favorabile pentru nucleație și creștere a nanoparticulelor de aur.

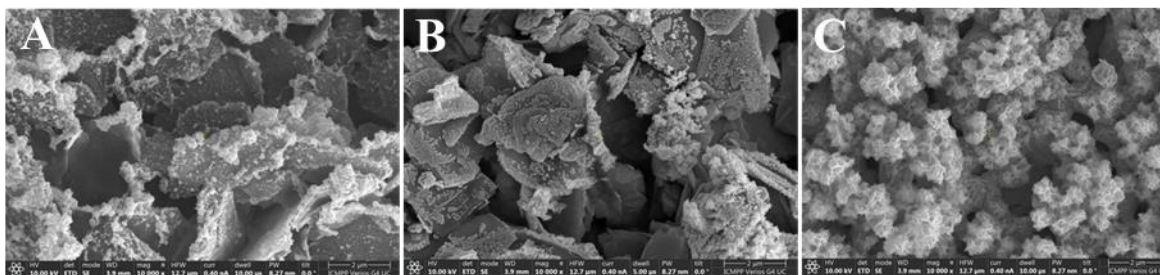


Figura 13. Imaginile SEM pentru electrodul A) AuNPs/Gr/SPE, B) AuNPs/MoS₂/SPE și C) MoS₂-AuNPs/SPE.

Analiza SEM evidențiază eficiența procesului de electrodepunere și preferința AuNPs pentru anumite situri de atașare.

Caracterizarea electrochimică a AuNPs electrodepuse pe diferite substraturi

Activitatea electrochimică a AuNPs electrodepuse în cele trei configurații denotate: AuNPs/Gr/SPE, AuNPs/MoS₂/SPE și MoS₂-AuNPs/SPE, a fost evaluată utilizând voltametria ciclică în electrolit H₂SO₄ 0,1 M și comparată cu activitatea AuNPs electrodepuse direct pe electrodul nemodificat de aur (SPE), utilizat ca și control (figura 14). Voltamogramele prezintă picurile anodice specifice procesului de oxidare al aurului electrodepus conform reacțiilor (R 2) și (R 3) [21-23]:

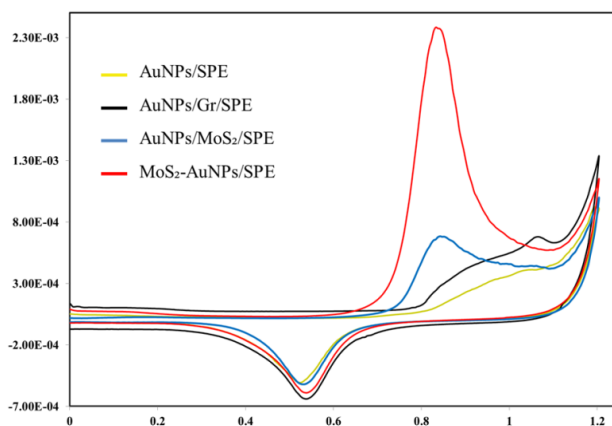
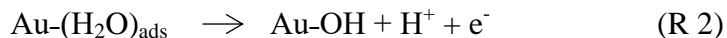


Figura 14. Raspunsul voltametric pentru AuNPs/SPE (linia galbenă), AuNPs/Gr/SPE (linia neagră), AuNPs/MoS₂/SPE (linia albastră) și MoS₂-AuNPs/SPE (linia roșie) în 0.1 M H₂SO₄.

Se poate observa că diferențele de înălțime ale picurilor anodice indică un transfer electronic accentuat în cazul nanoparticulelor de aur co-depuse cu MoS₂ față de nanoparticulele de aur electrodepuse pe Gr sau MoS₂, fenomen datorat existenței unui număr mai mare de particule de aur codepuse cu MoS₂ pe suprafața electrodului, fapt confirmat și de imaginile SEM.

Oxidarea nitritului la electrozii rezultați în urma electrodepunerii AuNPs pe diferite substraturi

Activitatea electrocatalitică a electrozilor modificați chimic și denotați: AuNPs/Gr/SPE, AuNPs/MoS₂/SPE și MoS₂-AuNPs/SPE a fost studiată față de oxidarea nitritului prin tehnici de

voltametrie ciclică. Figura 15 prezintă voltamogramele obținute pentru soluția de NaNO_2 0,2 mM în H_2SO_4 0,1 M, utilizând cele trei configurații de electrozi modificați, și comparate cu răspunsul la nitrit pe electrodul cu particule de aur fără material 2D (AuNPs/SPE) utilizat ca și control.

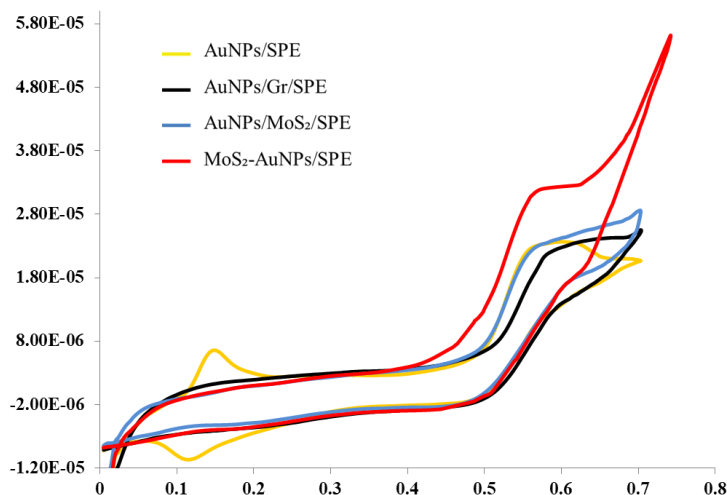


Figura 15. Răspunsul voltametric pentru NaNO_2 0.2 mM la electrozii modificați chimic: AuNPs/SPE (linia galbenă), AuNPs/Gr/SPE (linia neagră), AuNPs/MoS₂/SPE (linia albastră) și MoS₂-AuNPs/SPE (linia roșie) în 0.1 M H_2SO_4 .

Activitatea electrocatalitică a nanoparticulelor de aur co-depuse cu MoS₂ este superioară comparativ cu cea a AuNPs electrodepuse fie pe electrodul nemodificat, fie pe materialele 2D (Gr și MoS₂), ceea ce este în concordanță cu experimentele anterioare în care s-a evidențiat un număr mai mare de particule de Au codepuse cu MoS₂. Prin urmare doar configurația MoS₂-AuNPs/SPE a fost folosită în continuare pentru a optimiza detecția electrocatalitică a nitritului în scopul dezvoltării unui senzor electrochimic.

Optimizarea detecției nitritului - Influența potențialului aplicat

Influența potențialului aplicat a fost studiată pe MoS₂-AuNPs/SPE în scopul îmbunătățirii performanței senzorului dezvoltat pentru determinarea cât mai sensibilă a nitritului. Pentru a investiga această relație, am efectuat un studiu în care am testat patru valori diferite ale potențialului aplicat: 0,5; 0,6; 0,7 și 0,8 V și am măsurat curentul de oxidare obținut ca semnal al procesului de oxidare al nitritului. Conform rezultatelor obținute, semnalul înregistrat pentru 0,1 mM nitrit crește proporțional cu creșterea valorii potențialului aplicat până la atingerea pragului de

0,7 V, după care la un potențial mai mare (0,8 V) semnalul înregistrat scade, prin urmare potențialul de 0,7 V a fost folosit în experimentele următoare.

Otimizarea detecției nitritului - Influența concentrației de acid

Folosind potențialul optim aplicat de 0,7 V, am investigat influența concentrației de H_2SO_4 asupra reacției de oxidare electrochimică a nitritului (NO_2^-) pe electrodul $\text{MoS}_2\text{-AuNPs/SPE}$. Răspunsul amperometric obținut pentru oxidarea a 0,1 mM nitrit a fost înregistrat utilizând concentrații diferite ale acidului folosit ca electrolit. S-a observat că semnalul analitic crește odată cu concentrația electrolitului până la 0,25 M. Prin urmare, această concentrație a acidului sulfuric s-a utilizat în experimentele următoare pentru determinarea electrochimică a nitritului.

Curba de Calibrare

Pentru a evalua performanța analitică a electrozilor modificați chimic cu AuNPs și materiale 2D pentru determinarea nitritului, s-a realizat calibrarea acestora prin amperometrie, măsurând semnalul analitic (curent) pentru adii successive de nitrit (NO_2^-) într-o soluție de H_2SO_4 0,25 M, aplicând un potențial constant de 0,7 V, sub agitare continuă. În figura 16.A se poate observa curentul de oxidare a nitritului înregistrat în timp pentru electrodul $\text{MoS}_2\text{-AuNPs/SPE}$ (curba b) și comparat cu semnalul înregistrat pentru AuNPs/SPE (curba a) utilizat drept control. În ambele cazuri, pentru fiecare adie de nitrit în celula electrochimică curentul de oxidare crește brusc în 2-3 secunde până atinge o valoarea stabilă.

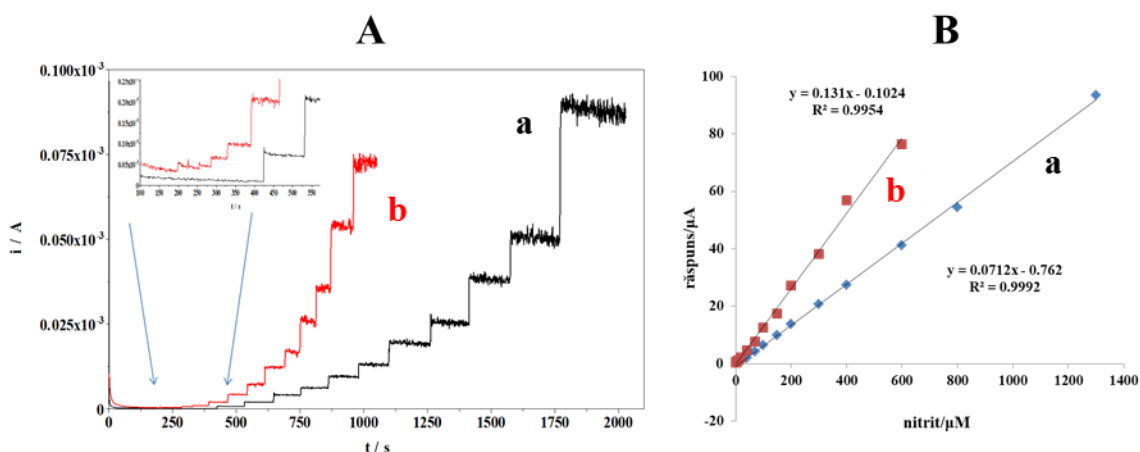


Figura 16. (A) Răspunsul amperometric pentru adii successive de nitrit, potențialul aplicat 0,7 V. (B) Curba de calibrare a răspunsului amperometric pentru electrozii: a) AuNPs/SPE și b) $\text{MoS}_2\text{-AuNPs/SPE}$.

Tabelul 3. Parametrii analitici pentru determinarea nitritului extrași din curbele de calibrare.

Electrodul modificat chimic	Domeniul de concentrații (μM)	Sensibilitatea ($\mu\text{A}/\mu\text{M}$)	Limita de detecție (μM)
AuNPs/SPE	20-1300	0,071	0,34
MoS₂-AuNPs/SPE	0,5-600	0,131	0,16

Interferenții

Pentru a evalua selectivitatea electrodului MoS₂-AuNPs/SPE față de nitrit, s-au testat câteva substanțe care, în mod obișnuit, pot coexista cu ionul nitrit (NO₂⁻) în probele reale, cum ar fi KCl, MgCO₃, CaCl₂, NaNO₃, MgSO₄, glucoza, și NaCl și care ar putea fi oxidați la potențialul aplicat pentru detecția nitritului, interferând în determinarea acestuia prin metoda amperometrică. S-a demonstrat experimental că modificările cauzate de adăugarea acestor interferenți sunt neglijabile, indicând o detecție extrem de selectivă a NaNO₂ utilizând electrozii MoS₂-AuNPs/SPE optimizați.

IV. CONCLUZII GENERALE

Rezultatele obținute în cadrul tezei de doctorat “Senzori electrochimici cu aplicații biomedicale” conduc la o serie de concluzii generale, înglobând fiecare capitol din partea de contribuții personale, după cum urmează:

Capitolul III.1 Determinarea electrochimică a colesterolului

În cadrul acestui capitol, s-au explorat tehnicile electrochimice în combinație cu reacția Liebermann-Buchard ca o abordare inovatoare și simplă pentru determinarea cantitativă a colesterolului, cu sensibilitate și selectivitate ridicată. Metoda electrochimică dezvoltată a reprezentat o alternativă fiabilă și robustă la metodele convenționale colorimetrice sau cromatografice, care sunt mai costisitoare și necesită personal specializat.

Pentru optimizarea procesului de oxidare a colesterolului prin metode electrochimice, au fost evaluate: reacțiile implicate, potențialul aplicat, volumul de acid și posibili interferenți în condițiile amestecului Liebermann – Burchard. Metoda dezvoltată este sensibilă și selectivă, demonstrând că alți compuși biologici nu interferă în răspunsul colesterolului și prezintă bună reproductibilitate. Metoda optimizată a fost aplicată cu succes în determinarea conținutului de colesterol din probe reale, și validată cu rezultate obținute printr-o metoda spectrofotometrică certificată.

Capitolul III.2 Analiza antioxidanților utilizând tehnici electrochimice

Un alt aspect al acestei teze a fost explorarea aplicabilității tehnicilor electrochimice pentru evaluarea proprietăților antioxidante ale piperinei și capsaicinei. Studiul a arătat că metodele electrochimice, în combinație cu teste de neutralizare a radicalilor liberi, pot fi utilizate pentru a evalua comportamentul redox și posibilele proprietăți antioxidante ale acestor compuși. Comparând comportamentul redox al piperinei și capsaicinei cu cel al unor antioxidanți control cunoscuți, rezultatele obținute atestă faptul că atât piperina cât și capsaicina pot funcționa ca antioxidanți.

Experimentele realizate în vederea investigării posibilelor proprietăți antioxidante ale compușilor studiați, au condus la o serie de concluzii care evidențiază câțiva factori determinanți pentru activitatea antioxidantă: (i) configurația și numărul total de grupări hidroxil; (ii) potențialul

redox și capacitatea de a transfera electroni; (iii) prezența sau absența unei legături nesaturate. Rezultatele obținute au dezvăluit, de asemenea, că numărul de grupări fenolice -OH prezente în structura moleculei nu este singurul factor care influențează activitatea antioxidantă. Piperina deși nu are grupări -OH în structura sa, prezintă o activitate similară cu antioxidanții deja cunoscuți și utilizați ca referințe în acest studiu. Poziția grupărilor fenolice -OH și prezența altor grupări funcționale, precum legăturile duble și conjugările, joacă, de asemenea, un rol semnificativ în determinarea activității antioxidante.

Capitolul III.3 Electrodepunerea comparativă a nanoparticulelor de aur pe materiale bidimensionale. Aplicații pentru detecția nitritului.

În cadrul acestui capitol s-a realizat o analiză comparativă a nanoparticulelor de aur electrodepusse pe diverse materiale 2D (Grafen și MoS₂) utilizând două protocoale de lucru, și anume: electrodepunerea AuNPs pe Gr și MoS₂ și co-depunerea AuNPs cu materialul 2D metalic MoS₂, obținându-se trei configurații de electrod denotate: AuNPs/Gr/SPE, AuNPs/MoS₂/SPE și MoS₂-AuNPs/SPE.

Electrodepunerea nanoparticulelor de aur în cele 3 configurații a fost realizată cu succes utilizând Voltametria Ciclică. Voltamogramele rezultate prezintă picurile de reducere caracteristice procesului de nucleație = transformarea ionilor de aur (Au³⁺) în aur metalic (Au⁰), iar diferențele de potențial ale acestor picuri au evidențiat influența dată de natura materialului depus ca substrat pe electrod.

Analiza morfologică și electrochimică a demonstrat eficiența procesului de electrodepunere și preferința AuNPs pentru anumite situri de atașare în funcție de natura materialului folosit ca substrat și metoda de depunere utilizată.

Electrozii modificați chimic rezultați au fost testați pentru oxidarea nitritului. Picul de oxidare al nitritului apare la un potențial mic, aproximativ 0,5 V. Activitatea electrocatalitică a nanoparticulelor de aur co-depuse cu MoS₂ este superioară comparativ cu cea a nanoparticulelor de aur depuse fie pe electrodul gol, fie pe materialele 2D (Gr și MoS₂). Ca rezultat, doar această configurație (MoS₂-AuNPs/SPE) a fost optimizată în ceea ce privește dezvoltarea unui senzor electrochimic sensibil și selectiv pentru determinarea nitritului.

Senzorul electrochimic dezvoltat este suficient de sensibil pentru a determina concentrații mici de nitrit și suficient de selectiv, demonstrând că alți compuși biologici nu interferă în răspunsul nitritului.

DISEMINAREA REZULTATELOR

Lucrări publicate în jurnale științifice cotate ISI ale căror rezultate au făcut subiectul tezei de doctorat:

1. **Carp, O. E.**, Moraru, A., Pinteala, M., & Arvinte, A. Electrochemical behaviour of piperine. Comparison with control antioxidants. *Food Chemistry* 339, 128110 (2021). (IF 9.231)
2. **Carp, O. E.**, Pinteala, M., & Arvinte, A. Innovative Non-Enzymatic Electrochemical Quantification of Cholesterol. *Sensors* 22(3), 828 (2022). (IF 3.874)

Lucrări publicate în reviste cotate ISI (rezultate care nu sunt incluse în teză)

1. Sardaru, M. C., Morariu, S., **Carp, O. E.**, Ursu, E. L., Rotaru, A., & Barboiu, M. Dynameric G-quadruplex–dextran hydrogels for cell growth applications. *Chemical Communications* 59(21), 3134-3137 (2023). (IF 6.065)
2. Sardaru, M. C., **Carp, O.**, Ursu, E. L., Craciun, A. M., Cojocaru, C., Silion, M., & Rotaru, A. Cyclodextrin encapsulated pH sensitive dyes as fluorescent cellular probes: self-aggregation and in vitro assessments. *Molecules* 25(19), 4397 (2020). (IF 4.927)

În perioada studiilor de doctorat, doctorandul a făcut parte din echipa de implementare a următoarelor proiecte:

- **(DynaCoPlat)**, PN-III-P1-1.1-TE-2016-1180.
- **(TM-Vector)**, PN-III-P4-ID-PCE-2020-1523, Nr. contract: PCE161/2021.

Mobilități pe perioada studiilor de doctorat

Stagiu de practică - schimb de experiență la Scientific Services Company Otava Ltd, Kiev, Ucraina pentru o lună în perioada 12.09.2020-11.10.2020, în cadrul Proiectului H2020-MSCA-RISE-2019, NoBiasFluors No 872331.

Participări la manifestări științifice internaționale / naționale:

Comunicări orale

- 1.** Evaluation of antioxidant properties using Electrochemistry combined with in vitro peroxidation and reducing assays; **Oana Elena Carp**, Mariana Pinteala, Adina Arvinte; la cel de-al 6-lea Congres Internațional de Biomateriale și Biosenzori (BIOMATSEN), la Muğla, Turcia.
- 2.** Electrochemical assays applied for evaluation of antioxidant properties; **Oana Elena Carp**, Mariana Pinteala, Adina Arvinte; a XXVII-a Sesiune de Comunicări Științifice a Institutului de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” Iași, PROGRESSE ÎN ȘTIINȚA COMPUȘILOR ORGANICI ȘI MACROMOLECULARI, organizată în cadrul Zilelor Academice Ieșene.

Postere

- 1.** Cyclodextrin inclusion complex of indolizinyl-pyridinium salt as fluorescent probes for cell components staining; **Oana Carp**, Monica Sardaru, Ramona Danac, Corneliu Cojocaru, Alexandru Rotaru; International conference Materials, Methods & Technologies, Septembrie 2020, Burgas, Bulgaria,
- 2.** Electrochemical Study of Piperine and Comparison to Reference Antioxidants, **Oana Elena Rachita**, Aurelian Moraru, Mariana Pinteala, Adina Arvinte; International conference of Euroanalysis, XX – Edition, Istanbul, Turkey 2019

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. Burke, R.; Diamondstone, B.; Velapoldi, R.; Menis, O., Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak color reactions for cholesterol. *Clinical chemistry* **1974**, 20, (7), 794-801.
2. Adu, J. K.; Amengor, C. D.; Kabiri, N.; Orman, E.; Patamia, S. A. G.; Okrah, B. K., Validation of a Simple and Robust Liebermann–Burchard Colorimetric Method for the Assay of Cholesterol in Selected Milk Products in Ghana. *International journal of food science* **2019**, 2019.
3. Tanghe, L. J.; Brewer, R. J., Equilibrium between sulfuric and acetylsulfuric acids in acetic acid-acetic anhydride. *Analytical Chemistry* **1968**, 40, (2), 350-353.
4. Zuman, P., A review of reactions of some sterols in strongly acidic media. *Microchemical journal* **1991**, 43, (1), 10-34.
5. NIIYA, T.; GOTO, Y.; ONO, Y.; UEDA, Y., Study on the Correspondence of Color Change with Polyenyl Cation Formation of Cholesterol in Strong Acids. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1980**, 28, (6), 1747-1761.
6. Ziyatdinova, G. K.; Budnikov, H. C., Evaluation of the antioxidant properties of spices by cyclic voltammetry. *Journal of Analytical Chemistry* **2014**, 69, (10), 990-997.
7. Yardım, Y.; Şentürk, Z., Electrochemical evaluation and adsorptive stripping voltammetric determination of capsaicin or dihydrocapsaicin on a disposable pencil graphite electrode. *Talanta* **2013**, 112, 11-19.
8. Bukman, L.; Martins, A. C.; Barizão, É. O.; Visentainer, J. V.; Almeida, V. d. C., DPPH assay adapted to the FIA system for the determination of the antioxidant capacity of wines: optimization of the conditions using the response surface methodology. *Food Analytical Methods* **2013**, 6, 1424-1432.
9. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* **1995**, 28, (1), 25-30.
10. Nutting, J. E.; Rafiee, M.; Stahl, S. S., Tetramethylpiperidine N-Oxyl (TEMPO), Phthalimide N-Oxyl (PINO), and Related N-Oxyl Species: Electrochemical Properties and Their Use in Electrocatalytic Reactions. *Chemical Reviews* **2018**, 118, (9), 4834-4885.
11. Tsunaga, M.; Iwakura, C.; Tamura, H., Electrode reactions of nitroxide radicals at platinum in acetonitrile. *Electrochimica Acta* **1973**, 18, (3), 241-245.

12. Barhdadi, R.; Comminges, C.; Doherty, A.; Nédélec, J.; O'Toole, S.; Troupel, M., The electrochemistry of TEMPO-mediated oxidation of alcohols in ionic liquid. *Journal of applied electrochemistry* **2007**, *37*, 723-728.
13. Gülçin, İ., Fe³⁺–Fe²⁺ Transformation Method: An Important Antioxidant Assay. In *Advanced Protocols in Oxidative Stress III*, Armstrong, D., Ed. Springer New York: New York, NY, 2015; pp 233-246.
14. Alam, M. W.; Najeeb, J.; Naeem, S.; Usman, S. M.; Nahvi, I.; Alismail, F.; Abuzir, A.; Farhan, M.; Nawaz, A., Electrochemical Methodologies for Investigating the Antioxidant Potential of Plant and Fruit Extracts: A Review. *Antioxidants* **2022**, *11*, (6), 1205.
15. Ivanova, A.; Gerasimova, E.; Gazizullina, E., Study of Antioxidant Properties of Agents from the Perspective of Their Action Mechanisms. **2020**, *25*, (18).
16. Brainina, K. Z.; Shpigun, L. K., State-of-the-art electrochemistry for the assessment of oxidative stress and integral antioxidant activity of biological environments. *Electrochemical Science Advances* **2022**, e2100219.
17. Hezard, T.; Fajerweg, K.; Evrard, D.; Collière, V.; Behra, P.; Gros, P., Gold nanoparticles electrodeposited on glassy carbon using cyclic voltammetry: Application to Hg (II) trace analysis. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2012**, *664*, 46-52.
18. O'Mullane, A. P.; Ippolito, S. J.; Sabri, Y. M.; Bansal, V.; Bhargava, S. K., Premonolayer Oxidation of Nanostructured Gold: An Important Factor Influencing Electrocatalytic Activity. *Langmuir* **2009**, *25*, (6), 3845-3852.
19. Govinda Rao, B.; Matte, H. R.; Rao, C., Decoration of few-layer graphene-like MoS₂ and MoSe₂ by noble metal nanoparticles. *Journal of Cluster Science* **2012**, *23*, 929-937.
20. Chu, X.; Yao, G.; Wee, A. T. S.; Wang, X.-S., Size-tunable Au nanoparticles on MoS₂ (0001). *Nanotechnology* **2012**, *23*, (37), 375603.
21. Wang, Y.; Laborda, E.; Crossley, A.; Compton, R. G., Surface oxidation of gold nanoparticles supported on a glassy carbon electrode in sulphuric acid medium: contrasts with the behaviour of 'macro'gold. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2013**, *15*, (9), 3133-3136.
22. Angerstein-Kozłowska, H.; Conway, B.; Hamelin, A.; Stoicoviciu, L., Elementary steps of electrochemical oxidation of single-crystal planes of Au—I. Chemical basis of processes involving geometry of anions and the electrode surfaces. *Electrochimica Acta* **1986**, *31*, (8), 1051-1061.

- 23.** Saldan, I.; Dobrovetska, O.; Sus, L.; Makota, O.; Pereviznyk, O.; Kuntiyi, O.; Reshetnyak, O., Electrochemical synthesis and properties of gold nanomaterials. *Journal of Solid State Electrochemistry* **2018**, 22, 637-656.