

## **Raport stiintific**

*privind implementarea proiectului in perioada ianuarie – decembrie 2012*

Pe parcursul acestui an s-au realizat activitatile prevazute in planul de lucru pentru indeplinirea obiectivului general al proiectului, un sistem electronic pe baza de senzori chimici si biosenzori pentru analiza aminelor biogene. In cele ce urmeaza se vor descrie activitatile realizate, obiectivele atinse si activitatile de diseminare realizate in acest prim an din proiect.

**1. Studiile de modelare si simulare a interactiunilor dintre aminele biogene si receptorul senzorilor sau biosenzorilor** s-au realizat folosind programele Hyperchem respectiv Matlab. Din studiile de modelare s-a determinat mecanismul de interactiune dintre aminele biogene si substantele sensibile, in cazul senzorilor, si respectiv enzimele din elementul receptor, in cazul biosenzorilor.

Aminooxidazele interactioneaza cu aminele biogene prin intermediul ionilor metalici situati in centrul activ al enzimei scindand gruparile amino. In urma reactiei enzimatice se formeaza un compus carbonilic, amoniac si  $H_2O_2$ . Monoaminooxidazele si diaminooxidazele au o selectivitate ridicata, acest lucru datorandu-se naturii si structurii chimice a centrului activ precum si conformatiei lantului proteic.

Atunci cand enzima este putrescinoxidaza, reactia biocatalitica are loc prin interactiunea dintre gruparea amino din putrescina si centrul activ al enzimei cu formarea unui compus aldehyd-aminic, amoniac si  $H_2O_2$ .  $H_2O_2$  este detectata electrochimic prin oxidare la nivelul suprafetei biosenzorului aplicand un potential adecvat, care depinde de natura electrodului si de prezenta unor mediatori de electroni.

In cazul peroxidazei din hrean, o enzima la care centrul activ este in exteriorul moleculei proteice, interactiunea nu se realizeaza direct cu molecula de amina ci cu  $H_2O_2$  generata in urma actiunii unei aminooxidaze (diaminooxidaza, de exemplu) prin intermediul ionului Fe(III) situat in centrul activ al enzimei. Prin urmare, peroxidaza poate fi utilizata pentru construirea de biosenzori bi-enzimatici, care sa contina o aminooxidaza si peroxidaza.

Tirosinaza poate fi utilizata ca biocatalizator pentru detectarea aminelor biogene care contin in molecula grupari fenolice. Mecanismul de interactiune este diferit pentru monofenoli (de exemplu tiramina) si difenoli (de exemplu dopamina). Interactia are loc intre zona din molecula unde exista gruparea fenolica si centrul activ al enzimei care contine doi ioni de Cu. In urma reactiei catalitice are loc intai o hidroxilare in pozitia orto (pentru monofenoli) urmata de oxidarea difenolului la o-chinona. Orto-chinona este redusa electrochimic la un potential care depinde de natura electrodului si a mediatorilor de electroni.

In toate cazurile studiate prin modelare, mecanismul de detectie al biosenzorului este guvernat de schimbul de electroni (etapa cea mai lenta), iar aplicarea unui potential conduce la o accelerare a reactiei datorita transformarii electrochimice a produsilor de reactie rezultati in urma reactiei enzimatice.

Simularile in Matlab s-au realizat considerand ca biosenzorul electrochimic are o geometrie plana, stratul de enzima este depus pe aceasta suprafata iar apoi este acoperita cu o membrana semipermeabila pentru ioni, reactivi si produși de reactie. S-a determinat influenta pH-ului si a temperaturii asupra raspunsului biosenzorului. Pe de alta parte s-a determinat influenta factorului limitant al vitezei de reactie, difuzia sau schimbul de electroni, asupra domeniului de liniaritate (dependenta liniara dintre raspunsul biosenzorului si concentratia analitului) si a timpului de raspuns al biosenzorului. S-a demonstrat ca difuzia are o influenta foarte mare asupra domeniului de liniaritate (variatii ale ordinului de marime) si una mai redusa asupra raspunsului biosenzorului. In cazul in care etapa determinanta de viteza este transferul de electroni influenta asupra domeniului de liniaritate este redusa in timp ce timpul de raspuns variaza semnificativ.

Din rezultatele prezentate se poate concluziona ca s-a determinat mecanismul de interactiune dintre aminele biogene si elementul receptor al senzorului sau biosenzorului prin modelare si simulare. In plus, s-a determinat influenta factorului limitant al vitezei, a pH-ului si a temperaturii asupra domeniului de liniaritate si al timpului de raspuns al biosenzorului la masuratori amperometrice sau potentiometrice.

**2. Selectarea design-urilor senzorilor si biosenzorilor**

S-a realizat un studiu de piata pentru a se alege dintre variantele de electrozi disponibile cele optime pentru scopul acestui proiect. Astfel, pentru cantitati mici de mostra de analizat s-au ales senzori serigrafati pe baza de diferite materiale de la firma Dropsens. Pentru cantitati mai mari de mostra s-au achizitionat electrozi de carbon sub forma de fir. De asemenea, s-au proiectat si realizat noi design-uri de

senzori. Astfel, s-au construit electrozi sub forma de disc de platina, electrozi de pasta de carbon, electrozi de ITO, electrozi serigrafiați de Au sub forma unor rețele de senzori, toți aceștia cu dimensiuni adecvate și cu un cost redus. În cazul electrozilor de pasta de carbon s-a modificat compoziția chimică a pastei de carbon prin folosirea de diferite materiale pe baza de carbon (grafit, nanoparticule de carbon, nanotuburi de carbon, nanofibre de carbon) și diferite materiale electroactive (bis-ftalocianine de Lu, Gd și Dy, ftalocianina de Co, ftalocianina de Fe, ftalocianina de di-Li, ferocen) care sunt sensibile la amine biogene și pot fi mediatori de electroni în cazul biosenzorilor. Din măsurătorile exploratorii cu tehnici potențiometrice și voltametrice s-a stabilit că mult mai adecvate sunt metodele voltametrice datorită sensibilității mult mai ridicate. Potențialul de echilibru al senzorilor și biosenzorilor în mostra de analizat se va utiliza pentru stabilirea de corelații cu alți parametri fizico-chimici ai mostrei de analizat. S-a stabilit că pentru studiul comportamentului electrochimic al senzorilor sau biosenzorilor se va utiliza voltametrija ciclică. Pentru creșterea sensibilității și a creșterii rezoluției picurilor se va utiliza voltametrija de undă patrată. Pentru măsurători de rutină se va utiliza cronoamperometria aplicând potențialul optim pentru oxidarea sau reducerea compusului de analizat sau a unui produs generat prin reacția enzimatică.

În concluzie, s-au ales și construit design-uri adecvate ale senzorilor și biosenzorilor, sistemul putând fi adaptat în funcție de cantitatea de mostră disponibilă și de caracteristicile fizico-chimice ale acesteia.

### **3. Îmbunătățirea caracteristicilor senzorilor și design-ul unor noi senzori și biosenzori**

Activitățile realizate au avut ca obiectiv design-ul unor noi senzori și biosenzori prin modificarea chimică și biochimică a unor electrozi comerciali sau construiți în laborator. Materialele modificatoare au fost achiziționate după un studiu de piață riguros. O parte din aceste materiale comerciale (ftalocianina de Co, pirol, anilina etc.) s-au purificat prin recristalizare sau distilare. Pentru sinteza chimică sau electrochimică a altor materiale sensibile s-au achiziționat reactivii și solvenții necesari. Ca și în cazul materialelor comerciale a fost necesară o purificare avansată deoarece prezenta impurităților în materialul sensibil poate influența decisiv caracteristicile senzorilor sau biosenzorilor.

#### **3.1. Sinteza și caracterizarea materialelor moleculare**

Pentru construirea de senzori și biosenzori sunt necesare materiale sensibile cu proprietăți adecvate, care să furnizeze un răspuns măsurabil atunci când interacționează cu analitul. Pe baza experienței în acest domeniu, s-au sintetizat o serie de compuși covalent-coordinativi. Bis-ftalocianinele unor metale lantanidice (Lu, Gd, Dy) s-au sintetizat folosind o metodă care nu folosește solvenți. Astfel, cantitățile corespunzătoare de acetat al lantanidului și ftalonitril sunt amestecate în stare solidă și ulterior încălzite și menținute la o temperatură de 250°C timp de 3 ore. În urma reacției se obține un solid verde-albastru (un amestec al formei neutre și al formei reduse a bis-ftalocianinei). Solidul se răcește, se solubilizează în cloroform și se trece printr-o coloană cromatografică de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutră utilizând ca eluent CHCl<sub>3</sub>, cu scopul de a separa forma neutră a bis-ftalocianinei (forma „verde”). Separarea se monitorizează cu ajutorul cromatografiei pe strat subțire și spectroscopie UV-Vis. Produsul brut s-a purificat prin recristalizare din heptan obținându-se un solid de culoare verde (randamentul reacției este de ordinul a 25% pentru cele trei bis-ftalocianine sintetizate). Bis-ftalocianinele obținute s-au caracterizat prin spectroscopie UV-Vis, NIR și FTIR demonstrându-se puritatea acestora și prezenta picurilor caracteristice în spectrele UV-Vis, NIR și FTIR. Deci, s-au obținut, purificat și caracterizat fizico-chimic o serie de compuși care se vor testa ca substanțe sensibile pentru detectia aminelor biogene.

#### **3.2. Sinteza și caracterizarea polimerilor conductori**

Pentru prepararea senzorilor pe baza de polimeri conductori s-au folosit următorii monomeri: pirol, anilina și 3-metiltofen. Ca agenți dopanți s-au folosit o serie de substanțe chimice care permit obținerea unor filme polimerice cu morfologii, sensibilități și proprietăți redox diferite. Astfel, pentru sinteza electrochimică a polianilinei s-au folosit: HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, HClO<sub>4</sub> și H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Pentru sinteza polipirolului s-au folosit K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>], Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO], H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, sarea de sodiu a acidului 9,10-antrachinon-2-sulfonic, dodecansulfonat de sodiu, decansulfonat de sodiu, acid p-toluensulfonic și soluție tampon fosfat de pH 7. În cazul poli-3-metiltofenui anionii dopanți utilizați au fost: LiClO<sub>4</sub>, LiCF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>, perclorat de tetrabutilamoniu și tetrafluoroborat de tetrabutilamoniu.

Din soluția care conține monomerul și agentul dopant s-au sintetizat filme polimerice cu diferite proprietăți folosind o serie de tehnici electrochimice cum sunt cronoamperometria, cronopotențiometria, voltametrija ciclică și voltametrija de undă patrată. S-a demonstrat că prin folosirea cronoamperometriei se obțin filmele

polimerice optime pentru a fi utilizate in construirea de senzori si biosenzori. Aceasta tehnica permite un control strict al grosimii stratului depus si a gradului de supraoxidare.

Polimerii sintetizati au fost caracterizati prin spectroscopie IR cu scopul determinarii gradului de supraoxidare. Din analiza spectrelor IR s-au putut determina conditiile optime de polimerizare astfel incat polimerul sa nu fie supraoxidat. Un potential de maxim 0,8V folosit pentru sinteza electrochimica asigura un grad foarte redus de supraoxidare a polimerului.

Morfologia filmelor polimerice s-a determinat prin microscopie de scanare electronica (SEM) si microscopie de forta atomica (AFM). Aceste studii s-au realizat in stagiul de cercetare de la Universitatea din Valladolid (Spania). S-a demonstrat ca parametrii care au o influenta majora asupra morfologiei filmului polimeric sunt natura chimica a agentului dopant si tehnica electrochimica folosita pentru sinteza.

In concluzie, polimerii conductori au fost sintetizati si caracterizati spectroscopic si microscopic. Din studiile spectroscopice, microscopice si electrochimice s-a demonstrat ca polipirolul este cel mai potrivit pentru construirea de senzori si biosenzori, datorita compatibilitatii lui cu aminele biogene si a dublului rol, de mediator de electroni si de matrice imobilizatoare, in cazul biosenzorilor. Poli-3-metiltofenu are dezavantajul ca sinteza electrochimica se poate face doar din solutie de acetoneitril crescand costurile de fabricatie. Polianilina se sintetizeaza si prezinta proprietati electrochimice adecvate doar in mediu puternic acid, mediu care nu poate fi utilizat in cazul enzimelor.

### **3.3. Fabricarea de noi senzori si biosenzori**

Pentru fabricarea senzorilor si biosenzorilor s-au folosit diferite metode care au ca scop depunerea materialelor sensibile pe un suport solid, cu un anumit design, apt pentru masuratorile electrochimice.

a) Alegerea substraturilor s-a facut in functie de materialul sensibil si de metoda optima de depunere. Pentru aceasta s-a achizitionat fir de Pt din care s-au construit electrozi sub forma de disc. Alte substraturi din care s-au construit electrozi, sunt sticla acoperita cu ITO (oxid de indiu si staniu), utili si pentru masuratori de electrocromism. De asemenea, s-au folosit electrozi de aur serigrafati intr-o configuratie de retea de senzori. S-au achizitionat si folositi o serie de electrozi serigrafati care contin pe acelasi dispozitiv electrodul de lucru, contraelectrodul si electrodul de referinta. Materialele din care sunt construiti acesti electrozi serigrafati comerciali sunt carbon (C), C-nanotuburi de carbon, C-nanofibre de carbon, C-grafen, C-ftalocianina de cobalt, C-albastru de Prusia, platina, C-nanoparticule de platina si Au. Pentru masuratori de electrocromism s-au achizitionat electrozi optic-transparenti serigrafati pe baza de ITO. Un alt tip de electrozi utilizati au fost electrozii de C sub forma de fir. Aria electrodului de lucru a fost intre 0,785mm<sup>2</sup> si 12,56mm<sup>2</sup> pentru electrozii sub forma de disc, 1cm<sup>2</sup> pentru electrozii de ITO si de 52,5mm<sup>2</sup> pentru electrozii cu forma de fir.

Toti electrozii s-au studiat din punct de vedere electrochimic. S-a demonstrat ca unii dintre ei pot fi utilizati ca senzori voltametrici fara alte modificari. In alte cazuri modificarea lor cu alte materiale sensibile, comerciale sau sintetizate in laborator a fost absolut necesara. Pentru construirea de biosenzori a fost necesara modificarea receptorului cu enzime.

b) In functie de dimensiunea substratului si de cantitatea de material disponibila s-au utilizat mai multe metode pentru depunerea stratului sensibil.

b.1. In cazul senzorilor pe baza de polimeri conductori s-a folosit tehnica electrodepunerii (electrosinteza) dintr-o solutie mixta monomer-agent dopant. Solventul a fost apa in cazul polianilinei si polipirolului si acetoneitrilul in cazul poli-3-metiltofenu. Tehnica electrochimica optima pentru electrosinteza a fost cronoamperometria care asigura o depunere uniforma, un timp de depunere scurt (30-120s), iar prin controlul potentialului se previne supraoxidarea polimerului. De asemenea, prin aceasta tehnica se controleaza foarte exact sarcina electrica folosita pentru electrosinteza, putandu-se calcula cu precizie grosimea stratului de polimer depus. S-au electrosintetizat filme polimerice cu grosimi intre 200nm si 50µm. Grosimea optima pentru fabricarea de senzori este situata intre 2 si 10µm, grosime care asigura o stabilitate mecanica si o sensibilitate foarte buna. De asemenea, aceasta grosime este ideala pentru imobilizarea enzimei in cazul fabricarii de biosenzori.

b.2. In cazul altor materiale sensibile s-au folosit alte metode de depunere care vor fi descrise in cele ce urmeaza. Cea mai performanta tehnica utilizata este tehnica Langmuir-Blodgett (folosita pe parcursul stagiului de cercetare la Universitatea din Valladolid), tehnica ce asigura controlul, la nivel molecular, al elementului receptor al senzorului sau biosenzorului. S-a folosit substrat de ITO iar ca materiale sensibile

bis-ftalocianinele de Lu, Gd si Dy. Pentru a facilita depunerea monostraturilor nanostructurate s-a folosit si acid arachidic. Calitatea monostraturilor s-a studiat prin microscopie BAM. Atunci cand s-au fabricat biosenzori, enzima s-a introdus in subfaza apoasa (tampon fosfat 0,01M si NaCl 0,1M) iar mediatorul pe suprafata subfazei. Intr-o prima etapa s-au inregistrat izotermele presiunii superficiale determinandu-se presiunea superficiala la care stratul monomolecular are un grad de ordonare ridicat si poate fi transferat pe suport solid. La presiunea superficiala optima s-au depus prin cicluri de imersie-emersie, un numar variabil de straturi monomoleculare, intre 10 si 30, in functie de proprietatile sensibile ale materialelor.

Pentru electrozii serigrafati sub forma de disc s-a folosit tehnica *cast* sau *drop-and-dry* atat pentru depunerea substantei sensibile cat si a enzimei, in cazul biosenzorilor.

Substratul de ITO s-a folosit si in cazul tehnicilor *layer-by-layer* (LbL) si *spin-coating*.

Pentru fabricarea altor senzori s-a folosit tehnica electrozilor de pasta de carbon in care materialul pe baza de carbon (grafit, nanotuburi de carbon, nanopudra de C) s-a amestecat cu ulei mineral intr-o proportie care sa asigure o conductibilitate electrica si rezistenta mecanica buna (raportul masic este 1:1,3). Pentru cresterea sensibilitatii s-au folosit substante sensibile sau enzime, care s-au depus pe suprafata electrozilor de pasta de carbon. In anumite cazuri materialele sensibile s-au introdus in interiorul pastei de carbon ( de exemplu bis-ftalocianine). Procentul de ftalocianina in raport cu materialul de carbon este de 15%.

b.3. Imobilizarea enzimelor pe electrozi s-a realizat prin mai multe metode si anume: prin adsorbție fizica, prin retinere in matrice solida (pasta de carbon), prin electropolimerizare si prin tehnica Langmuir Blodgett. Pentru cresterea stabilitatii stratului de enzima, indiferent de metoda de depunere, s-a folosit reticularea (*cross-linking*) cu aldehida glutarica. Enzimele care s-au utilizat au fost tirozinaza, peroxidaza, diaminoxidaza si monoaminooxidaza. Stratul de enzima cuprinde intre 100 si 300 unitati pe biosenzor.

In cazul mediatorilor de electroni acestia s-au depus pe materialul receptor urmand doua strategii. Astfel, stratul de mediator si enzima s-au depus separat prin aceasi tehnica sau utilizand tehnici diferite. De exemplu, peste filmul de polipirol obtinut prin sinteza electrochimica se adsoarbe enzima si apoi se realizeaza o reactie de reticulare. Tot in aceasta categorie se incadreaza si modificarea electrozilor de pasta de carbon, metalici sau serigrafati cu enzima prin adsorbție urmata de reticulare.

Atunci cand a existat o compatibilitate fizico-chimica intre enzima si mediator s-au depus straturi mixte printr-o metoda adecvata. Este cazul bis-ftalocianinelor care s-au depus impreuna cu enzima prin tehnica Langmuir-Blodgett, a polipirolului electrosintetizat dintr-o solutie care contine monomer, agent dopant si enzima sau a pastelor de carbon formate din material carbonos, mediator, enzima si agent conglomerant.

### **3.4. Senzorii si biosenzorii preparati au fost caracterizati prin tehnici spectrometrice (UV-Vis, NIR si IR) si microscopice (SEM, BAM si AFM).**

Din analiza spectrelor UV-Vis, NIR si IR s-a determinat gradul de ordonare al moleculelor, orientarea moleculelor in raport cu substratul solid (perpendicular, paralel sau sub un anumit unghi), formarea de noi legaturi covalente, existenta enzimei in elementul receptor al biosenzorului etc. BAM (microscopia de unghi Brewster) a permis determinarea morfologiei stratului monomolecular inainte de transferul pe sustrat solid. Morfologia elementului receptor s-a determinat prin SEM si AFM.

In cazul senzorilor si biosenzorilor preparati prin tehnica Langmuir-Blodgett s-a determinat ca moleculele de bis-ftalocianina sunt orientate aproape perpendicular pe suprafata substratului de ITO, cele de acid arachidic perpendicular pe suprafata si sub forma de bi-strat iar moleculele de enzima sunt retinute in structurile bi-strat, similare cu membranele celulare. In plus, acest biomimetism favorizeaza activitatea enzimatica datorita modificarii structurii cuaternare si a accesibilitatii centrului activ pentru moleculele de analit, asa cum rezulta din determinarile realizate cu acest tip de biosenzori.

In cazul imobilizarii enzimei folosind reactia de reticulare s-au putut identifica legaturi covalente noi intre moleculele de enzima dar si intre enzima si matricea imobilizatoare, de exemplu polipirol. Din masuratorile realizate cu astfel de biosenzori s-a constatat ca reticularea conduce la o scadere a activitatii enzimatice dar in acelasi timp se observa o crestere a durabilitatii biosenzorilor. Acest lucru este relationat cu modificarea conformatiei enzimei. Prin urmare, trebuie sa existe un echilibru intre sensibilitatea biosenzorilor si durabilitatea acestora.

Tehnicile microscopice au aratat ca straturile mixte depuse cu ajutorul tehnicii Langmuir-Blodgett au o rugozitate foarte redusa datorita omogenitatii straturilor monomoleculare transferate pe substrat solid. In cazul polipirolului, morfologia depinde de natura agentului dopant si de tehnica electrochimica folosita.

Suplimentar fata de planul de lucru propus initial s-au realizat o serie de studii privind determinarea compusilor electroactivi din emulsii cu scopul stabilirii capacitatii senzorilor si biosenzorilor de a functiona in acest tip de mediu. Rezultatele obtinute cu senzorii de polipirrol au fost excelente si au fost publicate. Acest studiu a fost necesar deoarece senzorii si biosenzorii se vor utiliza pentru analiza aminelor biogene din alimente, cu o prelucrare minima a mostrelor, deci in medii eterogene complexe. De asemenea, s-a studiat incapsularea enzimelor inainte de imobilizare cu scopul cresterii sensibilitatii biosenzorilor.

Deci, in acest an s-au realizat toate activitatile prevazute in planul de lucru obtinandu-se noi senzori si biosenzori, cu design-uri noi, din diferite materiale sensibile depuse cu ajutorul nanotehnologiilor caracterizate prin metode microscopice si spectroscopice.

#### **Diseminarea rezultatelor**

Diseminarea rezultatelor cercetarii s-a realizat prin publicarea de articole ISI, publicarea unui capitol intr-o monografie si participarea la conferinte internationale sau nationale.

#### **Publicarea de articole ISI**

1. C. Apetrei, *Novel method based on polypyrrole-modified sensors and emulsions for the evaluation of bitterness in extra virgin olive oils*, **Food Research International** 48 (2012) 673–680; doi:10.1016/j.foodres.2012.06.010, Factor de impact al revistei 3,15; Scor relativ de influenta 2,47386.

2. I.M. Apetrei, C. Apetrei, *Amperometric biosensor based on polypyrrole and tyrosinase for the detection of tyramine in food samples*, **Sensors & Actuators: B. Chemical**, 2012, *Major revision* (11 noiembrie 2012), Factor de impact al revistei 3,898; Scor relativ de influenta 1,85283.

#### **Elaborarea de capitole in monografii internationale**

1. C. Apetrei, M. Ghasemi-Varnamkhasti, *Biosensors in food PDO authentication*, Chapter 11, in **Food Protected Designation of Origin: Methodologies & Applications**, Ed. A. Gonzalez and M. de la Guardia, Elsevier (acceptat in vederea publicarii, octombrie 2012).

#### **Participarea la conferinte internationale si articole publicate in volumele conferintelor**

1. I.M. Apetrei, C.V. Popa (Ungureanu), D. Tutunaru, C. Apetrei, *Biosensors based on different carbonaceous materials for the analysis of biogenic amines*, **The Frontiers of Microscopy Virtual Conference**, Elsevier, 21 Martie 2012, Poster, <http://www.materialstoday.com/virtualconference/the-frontiers-of-microscopy>

2. I.M. Apetrei, D. Tutunaru, C.V. Popa (Ungureanu), C. Apetrei, *Electrochemical study of biogenic amines with conducting polymer sensors*, **International Conference of Applied Sciences, Chemistry and Chemical Engineering (CISA), Sixth Edition**, Bacau, 24-27 Aprilie 2012, Poster, <http://cisaconf.ub.ro>

**Articol publicat:** pag. 16-20, ISSN 2066-7817

3. I.M. Apetrei, D. Tutunaru, C.V. Popa (Ungureanu), C. Apetrei, *Development of amperometric biosensor based on tyrosinase immobilized in phosphate-doped polypyrrole film for detection of biogenic amines*, **14<sup>th</sup> International Meeting on Chemical Sensors - IMCS 2012**, 20-23 Mai 2012, Nuremberg, Germania, Poster, <http://www.ama-science.org/home/details/1068>

**Articol publicat:** pag. 855-858, ISBN 978-3-9813484-1-5, DOI 10.5162/IMCS2012/P1.1.16

4. C.V. Popa (Ungureanu), I.M. Apetrei, D. Tutunaru, C. Apetrei, *Biosensing properties of novel biosensors towards biogenic amines*, **1<sup>st</sup> International Conference on Analytical Chemistry RO - ICAC'2012**, 18 – 21 Septembrie 2012, Targoviste, Romania, Poster, premiul **Best Poster Award**, <http://www.icstm.ro/ICAC2012>

5. I.M. Apetrei, D. Tutunaru, C.V. Popa (Ungureanu), C. Apetrei, *Fish freshness monitoring using chemical modified voltammetric electrodes*, **Centenary Of Education in Chemical Engineering**, 28-30 Noiembrie 2012, Iasi, Romania, Prezentare orala, <http://www.ch.tuiasi.ro/CNIC2012/index.html>

6. C. Apetrei, *Biosensors based on nanotechnologies*, **Materials Today Virtual Conference: Nanotechnology**, Elsevier, 11-13 Decembrie 2012, Poster, <http://www.materialstoday.com/virtual-conference/materials-today-virtual-conference-nanotechnology>

#### **Participarea la conferinte nationale**

1. D. Tutunaru, I.M. Apetrei, *Aplicatii ale biosenzorilor in medicina*, **Zilele Medicale Galatene**, 6-7 Noiembrie 2012, Galati, Romania, Prezentare orala

Director proiect,  
S.I.dr. Constantin APETREI