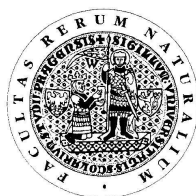


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Miroslava Králová

PŘÍPRAVA MODIFIKOVANÝCH ZLATÝCH
ELEKTROD PRO KŘEMENNÉ MIKROVÁHY

Preparation of modified gold electrodes for quartz
microbalance

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Ivan Jelínek, CSc.

Praha 2012

Tato diplomová práce byla vypracována na katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně, a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 11. května 2012.

Tímto bych chtěla srdečně poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Ivanu Jelínkovi, CSc. a konzultantům doc. RNDr. Jindřichu Jindřichovi, CSc. a doc. RNDr. Juraji Dianovi, CSc. za výborné vedení, odbornou pomoc i vytvoření vhodných pracovních podmínek. Též bych zde chtěla velice poděkovat mamince i všem přátelům za jejich podporu během studia.

Klíčová slova

- křemenné mikrováhy, zlatá elektroda, deriváty cyklodextrinu

Key words

- quartz microbalance, gold electrode, cyclodextrin derivatives

Abstrakt

Práce je zaměřena na přípravu a analytické testování modifikovaných zlatých elektrod v křemenných mikrováhách. Sledovala se citlivost a selektivita odezvy vůči vybraným aromatickým analytům ve vodné fázi. Studované analyty byly 1-methylnaftalen, 2-methylnaftalen, naftalen, *o*-xylen a toluen. Tyto látky jsou hojně používány v chemickém průmyslu a dalších průmyslových odvětvích, ale na druhou stranu jsou známé pro své škodlivé působení na lidský organismus i pro životní prostředí. Metodou QCM (Quartz Crystal Microbalance) lze tyto látky rychle a poměrně snadno detekovat.

Abstract

This diploma work is devoted to the preparation and analytical testing of modified gold electrodes in QCM. The sensitivity and selectivity response towards selected aromatic analytes in aqueous phase was monitored. Studied analytes were 1-methylnaphthalene, 2-methylnaphthalene, naphthalene, *o*-xylene and toluene. These compounds are frequently used in chemistry industry and other industrial branches and, are known to be harmful to human organism and environment. Using QCM method it is possible to detect them rapidly and relatively easily.

Obsah

Obsah.....	5
Seznam zkratk a použitých symbolů	7
1 Úvod.....	9
1.1 Cíle práce	9
2 Teoretická část.....	10
2.1 Historie a vývoj senzorů	10
2.2 Senzory	10
2.2.1 Schéma senzoru.....	10
2.2.2 Definice senzoru.....	11
2.2.3 Základní charakteristiky senzorů.....	11
2.2.4 Rozdělení senzorů	15
2.3 Křemenné mikrováhy	18
2.4 Cyklodextriny.....	19
2.5 Studované látky	21
2.5.1 Toluén	21
2.5.2 O-xylén	21
2.5.3 Naftalén.....	22
2.5.4 1-methylnaftalén.....	22
2.5.5 2-methylnaftalén.....	23
2.6 Zpracování výsledků.....	23
3 Praktická část.....	24
3.1 Použité chemikálie.....	24
3.2 Použitá instrumentace	24
3.3 Postup měření	26
4 Výsledky a diskuse	28
4.1 Navazování cyklodextrinů	28
4.2 Měření analytů.....	29
4.3 Směs dvou analytů.....	35
4.4 Časová stabilita krystalů křemenných mikrovah s cyklodextriny.....	37

4.5	Korelace citlivosti QSM s konstantou stability komplexu a hydrofobicitou ($\log P$) pro měřené analyty	39
5	Závěr	41
6	Citovaná literatura.....	42

Seznam zkratk a použitých symbolů

<i>a</i>	citlivost
BAW	Bulk Acoustic Waves sensors
BIOFET	Field-Effect Biosensor
<i>C</i>	mez detekce
<i>c</i>	koncentrace [$\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$]
C_f	základní frekvence oscilátoru
CNS	centrální nervová soustava
<i>d</i>	průměr [cm]
DMSO	dimethylsulfoxid
ENFET	Enzyme-layer Field Effect Transistor
FET	Field Effect Transistor
CHEMFET	Chemically-Sensitive Field Effect Transistor
IMFET	Immuno-Field Effect Transistor
ISFET	Ion-Selective Field Effect Transistor
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD_{50}	poloviční smrtelná dávka
<i>m</i>	hmotnost [g]
<i>M</i>	molární hmotnost [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]
MQCM	Monolithic multichannel quartz crystal microbalance

pH	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
QCM	Quartz Crystal Microbalance
Q_k	statistický koeficient pro testování odlehlosti pro daný počet měření
Q_n	kritérium Q pro Deanův-Dixonův test odlehlosti
R	rozpětí
S	signál
SAW	Surface Acoustic Waves sensors
t	čas [min]
T_{50}	čas v 50% maximální hodnotě odezvy
T_{90}	čas v 90% maximální hodnotě odezvy
T_s	doba stabilizace
V	objem [l]
x_n	naměřená hodnota
α -cyklodextrin	per-6-SH- α -cyklodextrin (pokud v textu není uvedeno jinak)
β -cyklodextrin	per-6-SH- β -cyklodextrin (pokud v textu není uvedeno jinak)
Δc	změna koncentrace analytu v daném bodě kalibrační závislosti
Δf	změna frekvence
Δm	změna hmotnosti
ΔS	změna výstupního signálu
τ	časová konstanta

1 Úvod

Moderní doba stále více upřednostňuje získávání kvalitních výsledků v ultrakrátkém čase. Rozvoj inteligentních technologií s sebou přináší zlepšení mnoha oblastí lidského života. Jednou z oblastí, která se postupem doby přesunula z vědeckých laboratoří až do běžné domácnosti a všedního života jsou senzory, ať již chemické, či některé z mnoha dalších typů.

Vývoj senzorů v posledních letech ovlivňuje trend minimalizace. Tím se také rozšiřuje škála jejich uplatnění. Se senzory se tak můžeme setkat například ve zdravotnictví, automobilovém průmyslu, robotice či při ochraně obyvatelstva či životního prostředí.

Předkládaná diplomová práce se zabývá problematikou hmotnostních senzorů, konkrétně křemenných mikrovah. Díky tomuto zařízení je možné detekovat i subnanogramová množství vybraných analytů, kdy celý proces analýzy je rychlý a dobře opakovatelný.

1.1 Cíle práce

- Příprava modifikovaných zlatých elektrod samoskladnými strukturami derivátů cyklodextrinů.
- Charakteristika tvorby samoskladných struktur pomocí metody QCM.
- Ověřování analytických vlastností modifikovaných elektrod s využitím vodných roztoků aromátů jako analytů.

2 Teoretická část

2.1 Historie a vývoj senzorů

Od přelomu devatenáctého století můžeme v literatuře najít zmínky o vývoji chemických a biologických senzorů. Jako jeden z prvních prakticky použitelných senzorů se dá považovat senzor, který vyrobil Wilhelmem von Siemens v roce 1860, byl to měděný drát s teplotně závislým odporem. Následně se použití senzorů rozšířilo do dalších států, což vedlo k jejich úpravám a různým modifikacím. Díky tomu se otevřeli dveře novým technologiím pro kontrolu fyzikálních a chemických podmínek.

Kolem roku 1930 se datuje praktické využití skleněné elektrody pro měření pH. Iontově selektivní elektrody se začínají vyvíjet o 30 let později. Největší rozkvět nastává v sedmdesátých letech dvacátého století, kdy se začínají objevovat elektrody ISFET (Ion-Selective Field Effect Transistor). V důsledku rozvoje techniky se zvyšuje počet senzorů řízených počítačem, díky čemuž dochází k první etapě vývoje chemických senzorů.

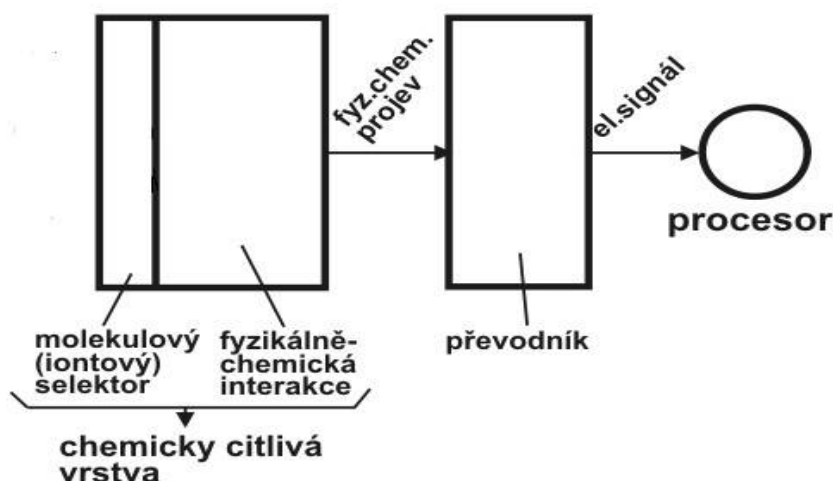
Díky rozdílnému chemicko-technologickému průmyslu dochází k odlišnému vývoji nových chemických senzorů v mnoha státech, například Německu, USA, Japonsku nebo Kanadě. S integrací těchto senzorů se postupně jejich velikost začala minimalizovat, což vedlo k hledání nových materiálů na jejich výrobu.

V dnešní době najdeme využití senzorů v každodenním životě, jako například protipožární, světelná, chemická či teplotní čidla [1].

2.2 Senzory

2.2.1 Schéma senzoru

V přítomnosti analytu (detekované látky) dochází k vyvolání chemické či fyzikální změny v chemicky citlivé vrstvě senzoru. Pokud při interakci dojde ke změně chemického složení citlivé vrstvy doprovázené fyzikální změnou, pak tuto změnu zpracuje převodník signálu, jehož výstupem je elektrický signál [2]. Základní blokové schéma chemického senzoru je uvedeno na obr. 2.1.



Obr. 2.1 Základní blokové schéma chemického senzoru.

2.2.2 Definice senzoru

Existuje mnoho definic senzoru, které se od sebe liší jen nepatrně díky použití jiných větných formulací např. sonda, snímač, převodník, ale žádná z nich není uváděna jako základní. Například formulace definice senzoru podle IUPAC, kde je chemický sensor malé zařízení navržené k tomu, aby reagovalo reversibilně na chemický stimul a převedlo výsledný signál do formy vhodné k měření a interpretaci [3]. Podle jinak formulované definice je chemický sensor malé zařízení, které převádí chemický stav na elektrický signál [4].

2.2.3 Základní charakteristiky senzorů

Základní funkcí chemických senzorů je podávat informace o množství či koncentraci analyzovaných látek, co možná nejpřesněji a nejspolehlivěji, nejlépe v reálném čase, z čehož vyplývá, že při výrobě nových senzorů či modifikaci nějakého již zavedeného senzoru, kde by se měly správně definovat parametry ovlivňující kvalitu získaného signálu, které charakterizují tento senzor. Tyto parametry lze rozdělit do dvou skupin [5]:

1. *statické* - citlivost, šum, mez detekce, spolehlivost, mez stanovitelnosti, dynamický rozsah, lineární dynamický rozsah a selektivita.

2. *dynamické* - časová konstanta odezvy T_{50} a T_{90} (časy v 50% a 90% maximální hodnoty odezvy) a popř. doba stabilizace.

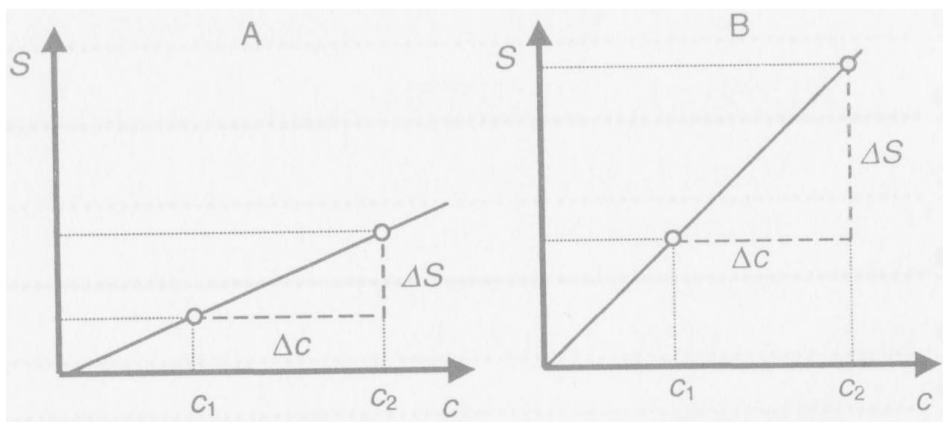
Šum

Šum je změna měřené veličiny, která je způsobena ostatními vlivy než studovaným analytem, tudíž je velmi žádoucí, aby byla co možná nejmenší. V ideálním případě by hodnota šumu byla nulová, ale v reálných případech tomu tak není a hodnota odezvy (změna stavu na výstupu v důsledku kontaktu s analyzovaným prostředím) se skládá ze signálu (změna způsobená analytem) a šumu (změna způsobená jinými vlivy).

Citlivost

Citlivost a je definována jako poměr změny výstupního signálu ΔS a změny koncentrace Δc analytu v daném bodě kalibrační závislosti (viz. rovnice 2.1). Čím větší je citlivost, která roste se změnou signálu, tím lepších výsledků je dosaženo. Citlivost je dána směrnici kalibrační závislosti v daném bodě. Na obr. 2.2 je znázorněno, že čím vyšší je hodnota směrnice, tím vyšší citlivosti je dosaženo [6].

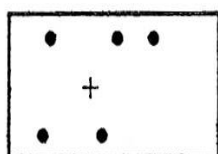
$$a = \frac{\Delta S}{\Delta c} \quad (2.1)$$



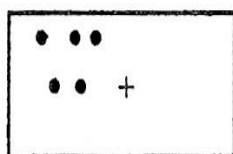
Obr. 2.2 Porovnání citlivosti dvou metod (B je citlivější než A) [6].

Spolehlivost

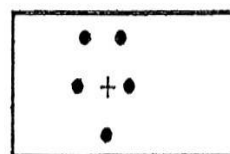
Spolehlivost lze vyjádřit pomocí dat o přesnosti a správnosti, které se získávají běžnými statistickými metodami. Přesné výsledky z paralelního stanovení jsou takové, které opakovaně udávají shodující se hodnotu, ale mohou se od skutečné hodnoty lišit o soustavnou chybu, která výsledek velmi zkreslí. Správné výsledky z paralelního stanovení jsou takové, které se v průměru dobře shodují se skutečnou hodnotou a jsou zatíženy jen náhodnými chybami. Tyto chyby jsou nepravidelné, velmi malé a kompenzuje je střední hodnota (aritmetický průměr, medián). Ojedinělý výsledek, který se od ostatních velmi liší, je označován za odlehlý a předpokládá se o něm, že je způsoben hrubou chybou (vznikající většinou nedopatřením nebo malou pečlivostí pracovníka, který analýzu provádí). Jen výsledky, které jsou současně přesné a správné, můžeme označit za spolehlivé (obr. 2.3) [7].



A. dobrá správnost
špatná přesnost



B. špatná správnost
dobrá přesnost



C. dobrá správnost
dobrá přesnost

Obr. 2.3 Přesnost a správnost [8].

Mez detekce a mez stanovitelnosti

Mez detekce (C) vyjadřuje nejnížší možnou koncentraci analytu, kterou lze kvalitativně postřehnout. Mez stanovitelnosti je nejnížší koncentrace, kterou lze kvantitativně stanovit. Mez detekce se nejčastěji definuje jako koncentrace, pro niž je signál roven součtu šumu a trojnásobku standardní odchylky šumu.

Dynamický rozsah a lineární dynamický rozsah

Závislost signálu na koncentraci ovlivňuje spolehlivost měření. Tato závislost se může v různých oblastech koncentrace lišit, ale je samozřejmě žádoucí, aby byla lineární v co nejširším intervalu. K popisu charakteru kalibrační závislosti se používá dvou pojmů; dynamický rozsah a lineární dynamický rozsah. Dynamický rozsah udává interval koncentrace, ve kterém detektor reaguje změnou odezvy na změnu koncentrace. Lineární dynamický rozsah je část dynamického rozsahu, ve které je tato změna odezvy lineární. Je-li odezva detektoru R vyjádřena rovnicí 2.2

$$R = S \cdot c^i \quad (2.2)$$

pak dynamický rozsah je interval koncentrací, kde i není rovno 0 a lineární dynamický rozsah je koncentrační interval ve kterém platí $0,98 < i < 1,02$.

Selektivita

Selektivita je jeden z nejvýznamnějších parametrů ovlivňující kvalitu získaného signálu, určuje míru s jakou je signál citlivý právě na určitý analyt, a to relativně vzhledem k ostatním analytům či interferentům obsaženým v matici analyzovaného systému [2].

Časová konstanta

V praxi se nejčastěji používá časová konstanta τ , definována jako čas, který uplyne od počátku změny signálu do dosažení 62,3% jeho maximální hodnoty (rovnice 2.3):

$$S_{(t)} = S_{max} \cdot \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \right] \quad (2.3)$$

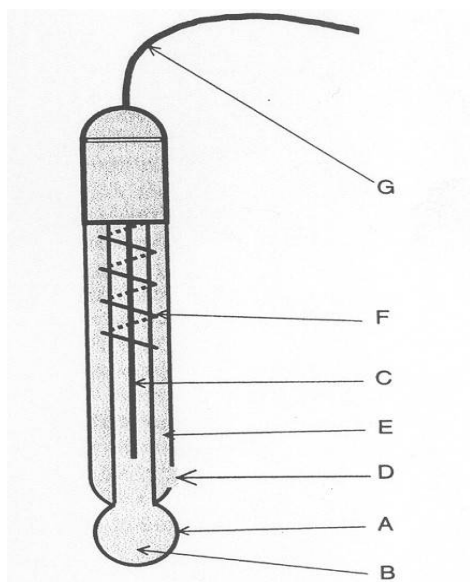
kde $S_{(t)}$ je signál v čase t , a S_{max} je maximální hodnota signálu.

Pro neexponenciální průběh časové odezvy signálu se používají hodnoty T_{50} nebo T_{90} (což jsou časy, které uplynou od počátku změny signálu po dosažení 50% resp. 90% maximální hodnoty signálu). Pro některé typy senzorů se též uvádí doba stabilizace T_s , definovaná jako čas od počátku změny do ustálení nové hodnoty signálu. V praxi postačuje doba odpovídající pětinasobku hodnoty časové konstanty τ .

2.2.4 Rozdělení senzorů

Elektrochemické senzory

Potenciometrické senzory – jsou určeny ke stanovení koncentrace (přesněji aktivity) iontů. Většinou se jedná o elektrody I a II druhu, iontově selektivní elektrody (ISE) a nejpoužívanější skleněnou elektrodu (obr. 2.4). Jejich princip je založen na bezproudovém měření napětí mezi dvěma elektrodami. Jednou z nich je elektroda referentní, jejíž chemický potenciál je přesně definovaný a nezávislý na koncentraci analyzovaných iontů. Druhou elektrodou je indikační (měrná) elektroda, jejíž potenciál závisí na koncentraci analytu. Iontově selektivní membránová elektroda je velmi citlivá na aktivitu vodíkových iontů, a proto se používá k měření hodnoty pH; vyrábí se ze speciálních lithných skel. Jedna strana membrány je smáčena roztokem o konstantní koncentraci tohoto iontu (vnitřní, referentní roztok) a druhá je v kontaktu s analyzovaným roztokem. Na obou stranách této membrány se ustaví rovnováha mezi ionty roztoku a v membráně se vytvoří membránový potenciál. Je-li koncentrace iontů ve vnitřním roztoku jiná než v analyzovaném roztoku, oba membránové potenciály se liší a jejich rozdíl je logaritmickou funkcí koncentrace iontu v analyzovaném prostředí. Kromě skleněné elektrody citlivé na H^+ ionty, existují i jiné elektrody, vyrobené z jiných druhů skel, které jsou citlivé například na lithné, sodné či draselné ionty. Ze skleněné elektrody se později vyvinuly plynové senzory, které jsou především používány ke stanovení CO_2 , NO_2 , SO_2 a NH_3 [9], [10].



Obr. 2.4 Kombinovaná skleněná elektroda [10]

(A - tenké speciální sklo, B - vnitřní referentní roztok skleněné elektrody, C – vnitřní referentní argentchloridová elektroda, D – fritta napuštěná elektrolytem, E – referentní roztok vnější elektrody, F – vnější argentchloridová elektroda, G – kabel).

Voltametrické a ampérometrické senzory – jsou tvořeny pracovní polarizovatelnou elektrodou a referenční nepolarizovatelnou elektrodou. Měří se závislost proudu protékajícího pracovní elektrodou na potenciálu měnícím se s časem, který je na ni vkládán. Velikost proudu tekoucího elektrodou v přítomnosti analytu je funkcí jeho koncentrace. Ampérometrické senzory jsou zjednodušeny o použití konstantního vstupního napětí, což znamená konstantní vnučený potenciál pracovní elektrody. Mezi nejvýznamnější a nejpoužívanější ampérometrické senzory patří Clarkovo kyslíkové čidlo, které bylo původně určeno ke sledování obsahu kyslíku v plynech, vodě nebo vodných roztocích. Clarkovo čidlo obsahuje platinovou katodu a stříbrnou anodu, elektrodový systém je od měřeného roztoku oddělen permeabilní teflonovou membránou, na katodě dochází k redukci kyslíku na vodu. Z Clarkova čidla se odvodily další vysoce selektivní enzymové senzory organických látek [11], [12].

Senzory s mikroelektronickou strukturou – jedná se o senzory pracující na principu elektrody ISE zdokonalené miniaturizací, které vycházejí z provedení tranzistorů řízených polem (FET – Field Effect Transistor). Existují různé varianty známé pod zkratkami ISFET (Ion-Selective FET), CHEMFET (Chemically-Sensitive FET – jsou citlivé nepřímo i na jiné sloučeniny než jen ionty), ENFET (Enzyme-layer FET – využívají enzymy), IMFET, BIOFET a další [13].

Senzory založené na měření změn elektrické vodivosti

Metaloxidové – využívají oxidů kovů - oxid cínčitý (SnO_2) nebo oxid železitý (Fe_2O_3) + příměsí, které mění elektrickou vodivost v přítomnosti určitých látek. Ovlivnit selektivitu těchto senzorů lze příměsími v aktivním materiálu (Cr, Mn, Fe, Co...), pracovní teplotou, chemickým filtrem nebo použitím katalyzátoru (Pt, Au). Typickým využitím metaloxidových senzorů je protipožární čidlo (detektor hořlavých par).

Chemirezistory – funkce chemirezistoru je založena na změně elektrického odporu v přítomnosti chemických látek.

Senzory založené na měření změn teploty

Termistory – skládají se z neselektivního teploměru a chemicky citlivé vrstvy z oxidů kovů (BaO, SrO). Využití termistoru je založeno na sledování změn elektrického odporu se změnou teploty.

Pelistory – využívají platinového vlákna pokrytého vrstvou katalyzátoru (Pt, Pd, Rh, Ru, Re) vyhřívaného průchodem elektrického proudu [9].

Senzory optické – jsou určeny ke stanovení koncentrace iontů i neutrálních molekul, a to i v agresivních podmínkách, jako například při vysokých a nízkých teplotách, či dokonce v radioaktivním prostředí. Při měření jsou sledovány změny optických vlastností citlivé vrstvy senzoru při interakci s analytem. Mezi sledované jevy nejčastěji patří absorpce záření, luminiscence a refrakce záření. Optické senzory se vyskytují v nejrůznějších modifikacích, ale největší uplatnění mají senzory vláknové. Vláknové senzory lze používat dvojím způsobem. Buď jako vnější senzory, které jen přivádí nebo odvádí světelný signál a vlastní měření probíhá mimo vlákno. Nebo jako vnitřní senzory, které jsou přímo součástí vlákna a jsou založeny na odrazu. Záření se šíří vláknem a prostřednictvím evanescentních vln dochází k interakci s imobilizovaným receptorem. Na konci vlákna se záření odráží na zrcadlicí vrstvě a putuje zpět [14].

Senzory založené na měření změn hmotnosti – využívají vlastností piezoelektrických materiálů, hlavně křemene (SiO_2), dále pak $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$, GaPO_4 a jiných. Hmotnostní senzory se používají převážně pro detekci plynů, kapalin, suspenzí a aerosolů. Jejich princip funguje na základě změny elektrického signálu v důsledku přírůstku hmotnosti.

- ***Spovrchovou akustickou vlnou*** = SAW (Surface Acoustic Waves sensors) tyto senzory využívají vygenerované Rayleighovy zvukové vlny (tj. elastické vychytávání atomů z rovnovážných poloh po eliptické dráze), která se šíří po povrchu piezoelektrického krystalu, modifikovaného selektivně reagujícím sorbentem. Při vyvolání akustické vlny vysokofrekvenčním polem (kolem 30 MHz) je vlnová délka menší než je vlnová délka budícího elektromagnetického pole, která se šíří velikostí rychlosti světla a dojde ke zpoždování [11].

- **Křemenné mikrováhy** = BAW (Bulk Acoustic Waves sensors) nebo QCM (Quartz Crystal Microbalance) využívají piezoelektrického efektu na plochých tenkých destičkách připravených AT řezem z křemenného či jiného vhodného monokrystalu. V důsledku střídavého elektrického pole o frekvenci blízké přirozené rezonanční frekvenci krystalu vykazují destičky tzv. střižně-tloušťkové kmity, které jsou z geometrického hlediska velmi jednoduché. Jejich frekvence je velmi citlivá na hmotnost případných nánosů na kmitajících ploškách [11].

2.3 Křemenné mikrováhy

Koncem 60. let G. Sauerbrey rozpoznal možnou užitečnost QCM technologie pro mimořádnou citlivost piezoelektrických zařízení jako hmotnostních senzorů. Vyjádřil závislost mezi změnou frekvence a hmotností tímto vztahem (2.4):

$$\Delta f = -C_f \cdot \Delta m \quad (2.4)$$

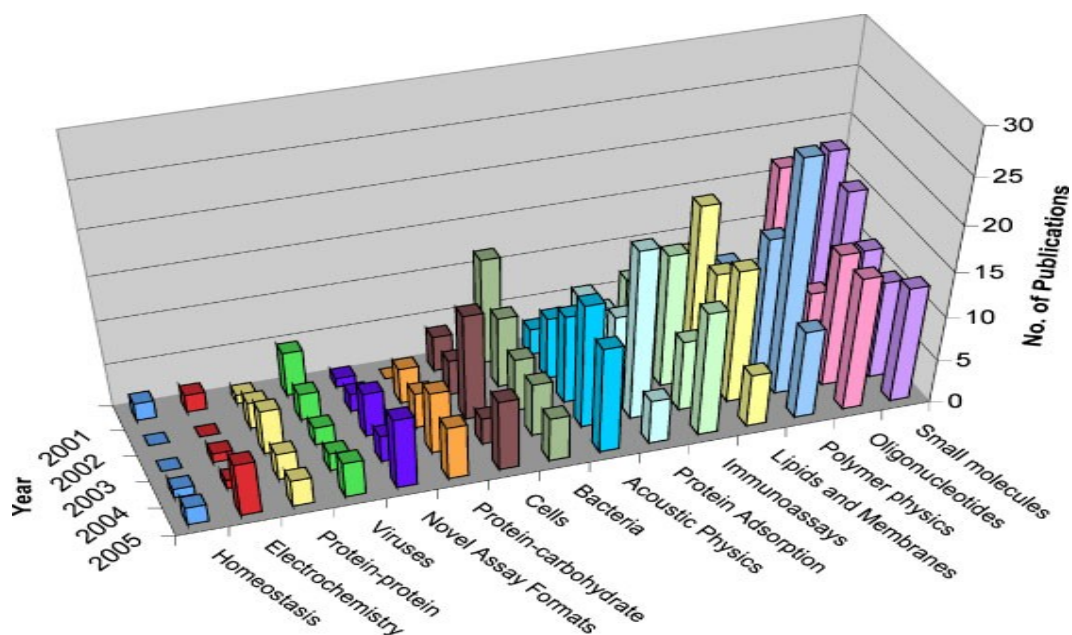
kde: Δf je změna frekvence [Hz]

C_f je základní frekvence oscilátoru [$\text{Hz} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^2$]

Δm je změna hmotnosti [$\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$]

Křemenné mikrováhy jsou tvořeny tenkou destičkou z křemenného monokrystalu (SiO_2) připraveného AT řezem, na kterou jsou napařeny dvě kovové elektrody (zlatá a chromová) [15]. Na ně je přiváděno střídavé elektrické napětí, které v krystalu vyvolá mechanické kmitání s vlastní, velmi stabilní rezonanční frekvencí. Ta závisí na tvaru a typu výbrusu a velmi citlivě reaguje na změny hmotnosti materiálu na elektrodách. Pro krystal s frekvencí 5 MHz připravený AT řezem platí, že citlivost je $56,6 \text{ Hz} \cdot \mu\text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^2$ [16].

QCM získaly díky velkému rozvoji v posledních letech mimořádný význam při využití v oblastech (bio)senzorů, vědě o materiálech, monitorování životního prostředí [17] a elektrochemii [18]. O velkém zájmu o technologie QCM svědčí i nárůst publikací, v letech 2001 až 2009 se počet publikací o křemenných mikrováhách ročně zvýšil ze 49 na 273 publikací [19], [20] (obr. 2.5).



Obr. 2.5 Přehled o počtu publikací (pro konkrétní analyty podle třídy) s odkazem na QCM v názvu, klíčových slovech či abstraktu [20].

Velmi často se QCM modifikuje nejruznější monovrstvou na povrchu pro zlepšení citlivosti na určité látky. Jednou ze zajímavých látek, dobře se navazujících na QCM je β -cyklodextrin, který se hojně využívá jak samotný [21], či s jinou látkou [22]. Modifikovaný výbrus se hojně využívá jako selektivní snímač [23], jehož pomocí můžeme analyzovat nanogramové nebo dokonce i subnanogramové množství adsorbovaných látek v plynu [24].

Z výše uvedeného přehledu je zřejmé, že křemenné mikrováhy mají široké uplatnění a proto dochází k hledání nových možností, jak je udělat ještě efektivnější. Jedním z řešení může být nově vznikající technologie MQCM [25], jiným způsobem je vylepšení pomocí krystalů, které budou schopné oscilovat na vyšších frekvencích [26].

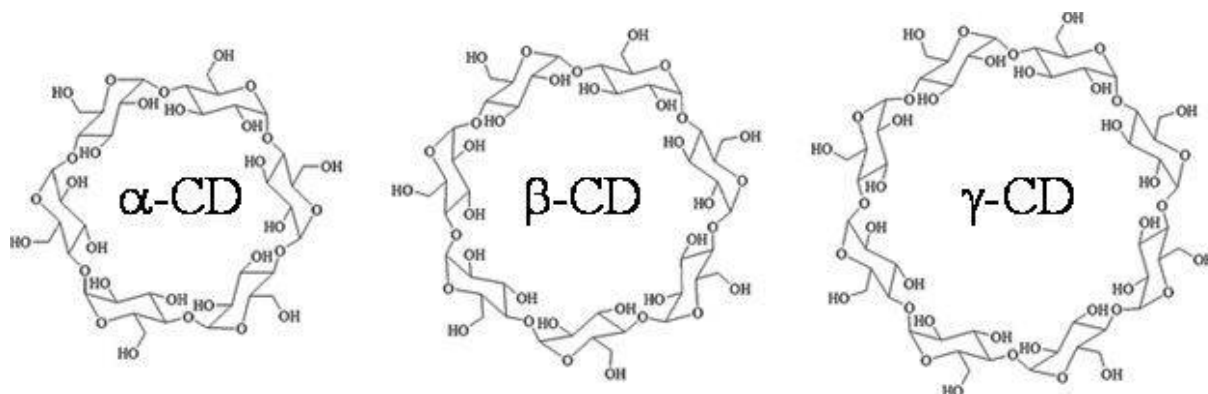
2.4 Cyklodextriny

Cyklodextriny jsou cyklické oligosacharidy vzniklé spojením šesti až osmi glukosových jednotek do prstence. Poprvé byly izolovány již v 19. století jako produkty enzymatické degradace škrobu. S cyklodextriny se můžeme setkat v léčivech, kde slouží například k pomalejšímu uvolňování léčiva do organismu, dále pak v potravinách, kde plní především funkci stabilizátorů potravinářských barviv, příchutí a vitamínů a v kosmetice [27].

Existují různé typy cyklodextrinů mající (obr. 2.6) rozdílné rozměry a fyzikálně-chemické vlastnosti. Jediným rozměrem, který je pro všechny cyklodextriny totožný, je výška (7,8 Å). Další parametry, jako je molekulová hmotnost, externí a interní průměr se liší v závislosti na počtu glukosových jednotek tvořících molekulu, přičemž se zvyšujícím se počtem těchto stavebních jednotek dochází k nárůstu každého z uvedených parametrů (tab. 2.1). Tvar molekuly cyklodextrinu lze charakterizovat jako komolý kužel (někdy označovaný také jako kyblíček) s hydrofilním vnějším povrchem a poněkud lipofilní centrální dutinou [28].

Tab. 2.1 Vybrané charakteristiky cyklodextrinů [29].

Typ cyklodextrinu	Počet glukosových jednotek [ks]	Molekulová hmotnost [g·mol ⁻¹]	Externí průměr [Å]	Interní průměr [Å]
α-cyklodextrin	6	973	13,7	5,7
β-cyklodextrin	7	1135	15,3	7,8
γ-cyklodextrin	8	1297	16,9	9,5



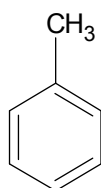
Obr. 2.6 Struktura cyklodextrinů [30].

V této diplomové práci byly používány α-cyklodextrin a β-cyklodextrin, které byly ještě navíc substituovány na každé jednotce glukosy na jejím šestém uhlíku skupinou – SH (per-6-SH-α-cyklodextrin a per-6-SH-β-cyklodextrin). Pokud není uvedeno jinak pro oba tyto substituované cyklodextriny skupinou – SH je v textu použito zjednodušené označení α-cyklodextrin a β-cyklodextrin.

2.5 Studované látky

2.5.1 Toluen

Toluen (obr 2.7) neboli methylbenzen je čirá, těkavá, hořlavá kapalina typického zápachu. Toluen je zdraví škodlivý, dráždí oči a dýchací cesty, má tlumivý účinek na CNS a kardiovaskulární systém. Toluen může být zneužíván narkomany jako inhalační droga. Tato látka je využívána jako rozpouštědlo laků a barev, náplň teploměřů a při výrobě jiných sloučenin [31]. Základní fyzikálně-chemické vlastnosti toluenu jsou uvedeny v tab. 2.2.



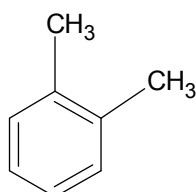
Obr. 2.7 Chemická struktura toluenu.

Tab. 2.2 Fyzikální a chemické vlastnosti toluenu při 20°C [31].

Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	Rozpustnost ve vodě [g·dm ⁻³]	LD ₅₀ (potkan orálně) [mg·kg ⁻¹]	Relativní hustota [g·cm ⁻³]
92,14	0,47	636-5910	0,866

2.5.2 *O*-xylen

O-xylen (obr. 2.8) neboli 1,2-dimethylbenzen je čirá, hořlavá kapalina nasládlého zápachu. *O*-xylen je zdraví škodlivý, působící na dýchací cesty, trávicí trakt, rovnováhu tekutin a elektrolytů, má tlumivý účinek na CNS a kardiovaskulární systém. Hojně se využívá jako rozpouštědlo v různých průmyslových odvětvích a podobně jako i jiná rozpouštědla bývá zneužíván jako inhalační droga [32]. Základní fyzikálně-chemické vlastnosti *o*-xylenu jsou uvedeny v tab. 2.3.



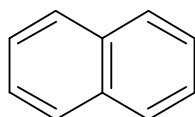
Obr. 2.8 Chemická struktura *o*-xylenu.

Tab. 2.3 Fyzikální a chemické vlastnosti *o*-xylenu při 20°C [32].

Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	Rozpustnost ve vodě [g·dm ⁻³]	LD ₅₀ (potkan orálně) [mg·kg ⁻¹]	Relativní hustota [g·cm ⁻³]
106,17	0,2	2840	0,86

2.5.3 Naftalen

Naftalen (obr. 2.9) je bílá, těkavá, hořlavá krystalická látka. Naftalen je zdraví škodlivá látka, nebezpečná pro životní prostředí, má slabě narkotické účinky [33]. Tato látka se používá jako hlavní přísada kuliček proti molům (naftalínu). Základní fyzikálně-chemické vlastnosti naftalenu jsou uvedeny v tab. 2.4.



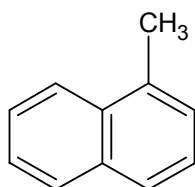
Obr. 2.9 Chemická struktura naftalenu.

Tab. 2.4 Fyzikální a chemické vlastnosti naftalenu při 20°C [33].

Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	Rozpustnost ve vodě [g·dm ⁻³]	LD ₅₀ (potkan orálně) [mg·kg ⁻¹]	Relativní hustota [g·cm ⁻³]
128,18	0,030	440	1,15

2.5.4 1-methylnaftalen

1-methylnaftalen (obr. 2.10) je kapalná látka, zdraví škodlivá a nebezpečná pro životní prostředí [34]. Základní fyzikálně-chemické vlastnosti 1-methylnaftalenu jsou uvedeny v tab. 2.5.



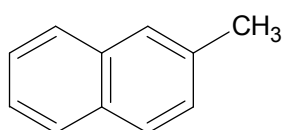
Obr. 2.10 Chemická struktura 1-methylnaftalenu.

Tab. 2.5 Fyzikální a chemické vlastnosti 1-methylnaftalenu při 20°C [34].

Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	Rozpustnost ve vodě [g·dm ⁻³]	LD ₅₀ (potkan orálně) [mg·kg ⁻¹]	Relativní hustota [g·cm ⁻³]
142,2	0,026	1840	1,02

2.5.5 2-methylnaftalen

2-methylnaftalen (obr. 2.11) je pevná látka, zdraví škodlivá a nebezpečná pro životní prostředí [35]. Základní fyzikálně-chemické vlastnosti 2-methylnaftalenu jsou uvedeny v tab. 2.6.



Obr. 2.11 Chemická struktura 2-methylnaftalenu.

Tab. 2.6 Fyzikální a chemické vlastnosti 2-methylnaftalenu při 20°C [35].

Molární hmotnost [g·mol ⁻¹]	Rozpustnost ve vodě [g·dm ⁻³]	LD ₅₀ (potkan orálně) [mg·kg ⁻¹]	Relativní hustota [g·cm ⁻³]
142,2	0,025	1630	1.006

2.6 Zpracování výsledků

Deanův-Dixonův test odlehlosti výsledků:

Odlehlý výsledek se dá určit porovnáním tabelované hodnoty Q_k , která je definována pro daný počet měření na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ s vypočtenou hodnotou pro nejvyšší a nejnižší výsledek podle vztahu:

$$Q_n = \frac{x_n - x_{n-1}}{R} \quad (2.5)$$

Pro konstrukci grafů byl použit program Origin 8 (OriginLab, Spojené státy americké), směrnice v počátku byly určeny z první derivace proložené exponenciální závislosti.

3 Praktická část

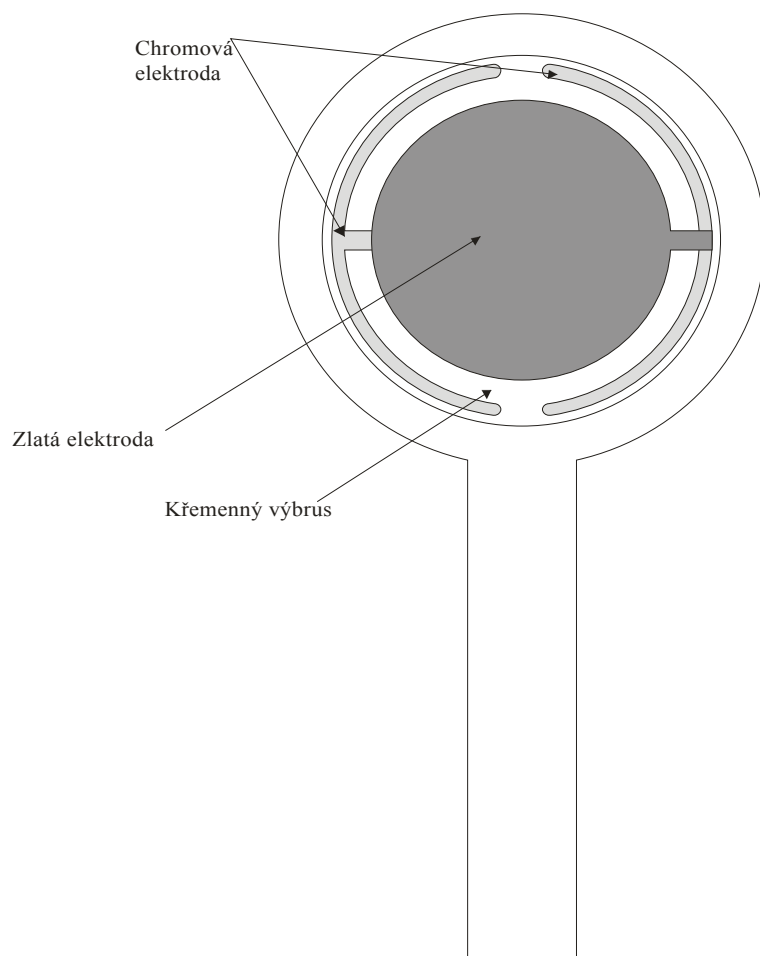
3.1 Použité chemikálie

Tab. 3.1 Použité chemikálie.

Název	Čistota	Výrobce
Toluen	Destil.	Lach-Ner s.r.o. (ČR)
<i>O</i> -xylen	98%	Fluka (USA)
Naftalen	p. a.	Penta (ČR)
1-methylnaftalen	97 %	Sigma-Aldrich (ČR)
2-methylnaftalen	97 %	Sigma-Aldrich (ČR)
β -cyklodextrin	99 %	Fluka (USA)
Per-6-SH- β -cyklodextrin	-	Syntetizováno na katedře organické chemie PřF UK
Per-6-SH- α -cyklodextrin	-	Syntetizováno na katedře organické chemie PřF UK
DMSO	99,7 %	Sigma Chemicals (Německo)
Ethanol	p. a.	Penta (ČR)
Deionizovaná voda	-	Milipore, Milli -Q plus systém, Milipore, USA
Kys. sírová 96%	97,3 %	Lach-Ner s.r.o. (ČR)
Peroxid vodíku 30%	p. a.	Lach-Ner s.r.o. (ČR)

3.2 Použitá instrumentace

- QCM 100 Quartz Crystal Microbalance Analog Controller; (Standford Research Systems USA), se standardním držákem krystalu (znázorněno na obr. 3.1). Systém QCM 100 s držákem krystalu je vyobrazen na obr 3.2. Pro měření byly použity standardní krystaly se zlatými elektrodami (AT-cut 1 inch gold-chromium plated 5 MHz) změny frekvence byly měřeny s použitím čítače FC- 7015 U (LG Corporation, Korea).
- Ultrazvuková lázeň Teson 10, Ultrasonic Compact Cleaner, Tesla



Obr. 3.1 Křemenné mikrováhy.



Obr. 3.2 Křemenné mikrováhy [16].

3.3 Postup měření

Příprava krystalu pro derivatizaci:

Křemenný výbrus byl ponořen do 5 ml oxidační směsi, vytvořené smísením kyseliny sírové s peroxidem vodíku v poměru 1:1 (2,5 ml: 2,5 ml), ponechán při laboratorní teplotě 10 minut a následně vyjmut a opláchnut destilovanou vodou.

Derivatizace:

Reakční roztok byl připraven rozpuštěním 0,005 g α -cyklodextrinu (Per-6-SH- α -cyklodextrin) v 50 ml směsi DMSO a destilované vody v poměru 3:2. Stejným způsobem byl připraven i reakční roztok β -cyklodextrinu, rozpuštěním 0,006 g (per-6-SH- β -cyklodextrinu) ve stejné směsi [36], [37]. Na předčištěný krystal uchycený v držáku křemenných mikrovah bylo nanášeno 0,5 ml reakčního roztoku cyklodextrinu o koncentraci $100 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Byly průběžně sledovány hodnoty změn frekvence po potřebnou dobu (20-40 minut).

Odstranění nenavázaných zbytků:

Pro odstranění nenavázaných zbytků cyklodextrinu byla použita směs DMSO a destilované vody v poměru 3:2. Krystal byl třikrát promyt ve 20 ml tohoto roztoku v ultrazvukové lázni po dobu jedné minuty. Následně byl opláchnut deionizovanou vodou, ethanolem a opět deionizovanou vodou. Poté byl osušen mírným proudem N_2 a uložen do exsikátoru plněného silikagelem, kde byl skladován.

Příprava vodných roztoků analytů:

Bylo připraveno vždy 100 ml zásobních roztoků analytů rozpuštěním potřebného množství příslušného aromatického uhlovodíku do jeho nasycení (při přípravě roztoku bylo použito hodnot rozpustnosti z tab. 2.2 - 2.6). Pro zrychlení rozpouštění byla použita ultrazvuková lázeň. Zásobní roztok byl 24 hodin ponechán při laboratorní teplotě a temnu. Poté ze zásobních roztoků byly ředěním deionizovanou vodou připraveny jednotlivé koncentrace analytu pro vlastní měření.

Měření analytů:

Na výbrus QCM bylo nanášeno pomocí injekční stříkačky 0.5 ml kapalného vzorku analytu o dané koncentraci a změřena změna frekvence. Poté byl výbrus opláchnut deionizovanou vodou, ethanolem a deionizovanou vodou pro odstranění analytu z vrstvy cyklodextrinů a tím byl krystal připraven k dalšímu měření. Tento postup byl pro každý analyt a každou koncentraci opakován 5x. Měření probíhala za laboratorní teploty. Všechny hodnoty změn frekvence byly zaznamenávány, statisticky zpracovány Deanův-Dixonovým testem a vyhodnoceny.

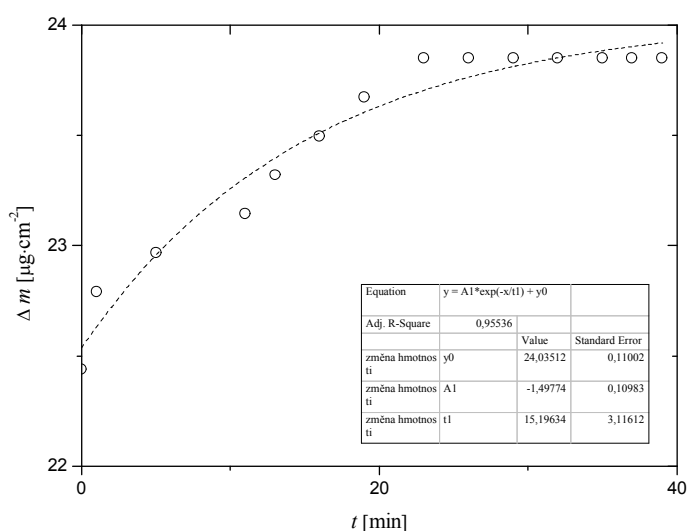
Časová stabilita krystalů QCM s cyklodextriny:

Křemenné výbrusy s navázanými cyklodextriny byly po měsíčním používání promyty v 20 ml nasyceného roztoku β -cyklodextrinu (nesubstituovaný cyklodextrin) v ultrazvukové lázni 3x1 minutu a opětovně použity pro měření.

4 Výsledky a diskuse

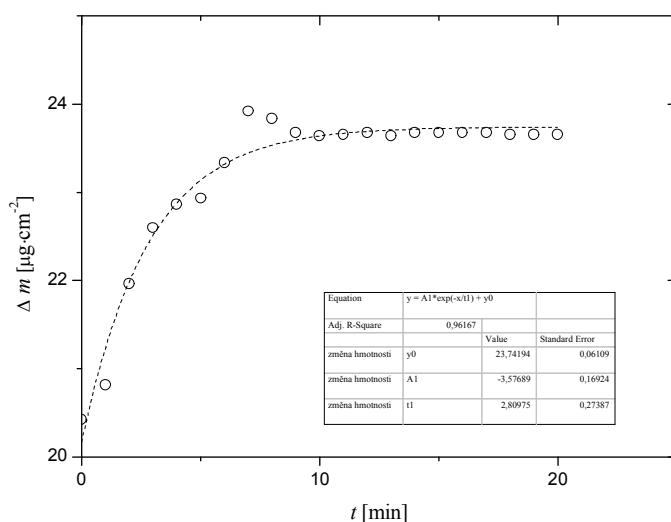
4.1 Navazování cyklodextrinů

Kinetika reakce a stupeň navázání α -cyklodextrinu byl sledován pomocí QCM a je vidět na obr. 4.1. Experimentální body byly proloženy exponenciální funkcí (ExpDec1), která poskytuje nejkvalitnější proložení ($R^2=0,955$). Z grafu je zřejmé, že asi v 25 minutě je dosaženo saturace a hmotnost krystalu se dále neměnila. Bylo vypočteno, že na plochu zlaté elektrody ($d=1$ inch) se navázalo $7,16 \mu\text{g}$ ($1,33 \cdot 10^{-9} \text{ mol}\cdot\text{cm}^{-2}$).



Obr 4.1 Závislost změny hmotnosti krystalu na čase pro navazování Per-6-SH- α -cyklodextrinu při laboratorní teplotě.

Obdobně byla sledována kinetika reakce a stupeň navázání β -cyklodextrinu. Příslušná závislost je zobrazená na obr. 4.2. Experimentální body byly proloženy exponenciální funkcí (ExpDec1), která poskytuje nejkvalitnější proložení ($R^2=0,962$). Z grafu je zřejmé, že v 9 minutě je dosaženo saturace a hmotnost krystalu se dále neměnila. Bylo vypočteno, že na plochu zlatá elektrody ($d=1$ inch) se navázalo $16,38 \mu\text{g}$ ($2,58 \cdot 10^{-9} \text{ mol}\cdot\text{cm}^{-2}$).



Obr 4.2 Závislost změny hmotnosti krystalu na čase pro navazování Per-6-SH- α -cyklodextrinu při laboratorní teplotě.

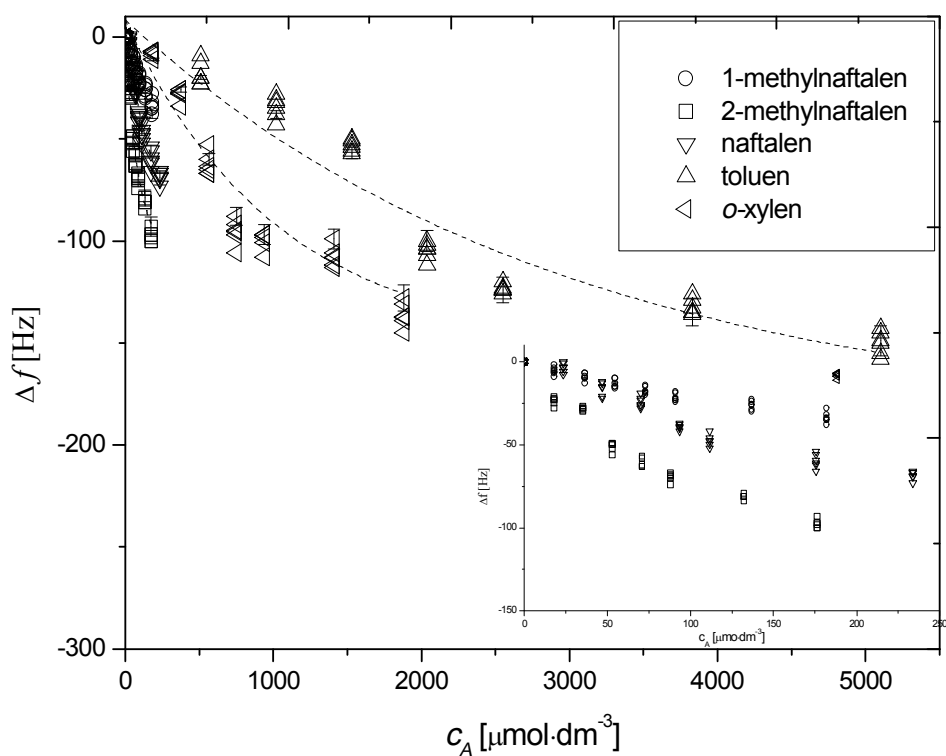
Z předchozích grafů je zřejmé, že β -cyklodextrin se navazuje mnohem rychleji než α -cyklodextrin, což je nejspíše důsledek tvorby méně uspořádané a méně saturované povrchové vrstvy. Jelikož molekula α -cyklodextrinu je tvořena 6 glukosovými jednotkami a tvoří pravidelný šestihran, může vytvářet síť mnohem pravidelnější (ale hustší) a navazování před saturací může být ze stericých důvodů pomalejší. Molekula β -cyklodextrinu (tvořená 7 glukosovými jednotkami) vytváří méně uspořádanou a méně hustou vrstvu a tím se také rychleji naváže. Rychlost navazování obou cyklodextrinů může dále ovlivnit jejich rozdílná hydrofobicita a schopnost tvořit komplexy s vodou.

4.2 Měření analytů

Na obr. 4.3 je vidět změna frekvence pro jednotlivé analyty v závislosti na koncentraci na krystalu bez modifikace. S rostoucí hydrofobicitou analytu (tab. 4.1) roste i odezva, nejméně citlivý se QCM jeví na toluen. Pro lepší přehlednost je v grafu vytvořen výsek pro koncentrační rozmezí 0- 250 $\mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, na kterém jsou lépe vidět aktuální odezvy na analyty 1-methylnaftalen, 2-methylnaftalen a naftalen.

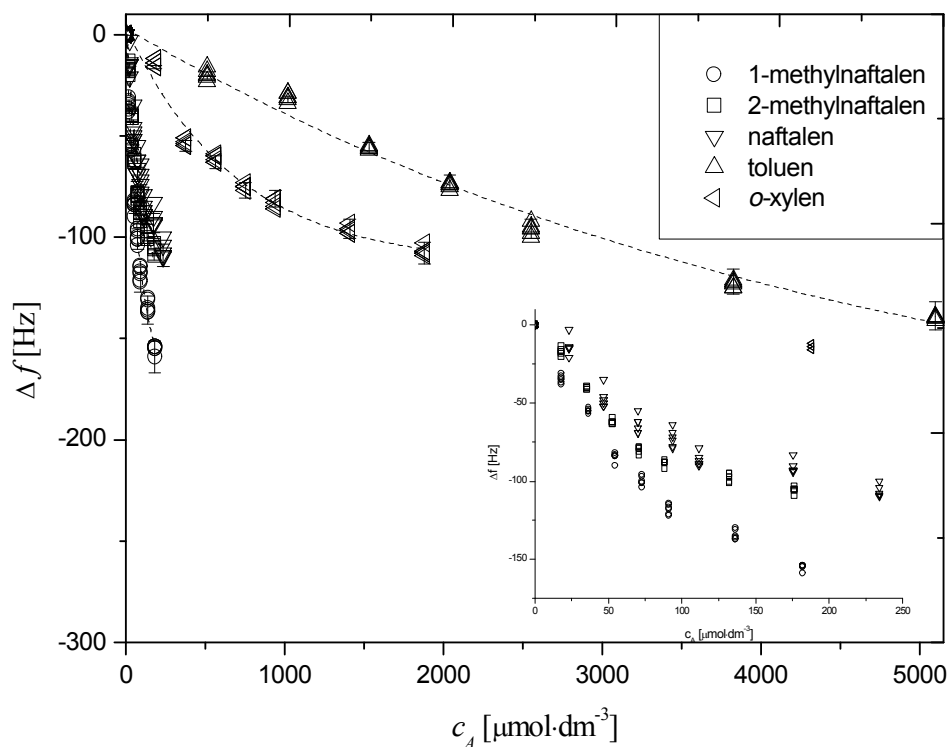
Tab. 4.1 Hodnoty hydrofobicity a konstanty stability pro měřené analyty [38], [39], [40], [41], [42] a [43].

analyt	log P	Konstanta stability pro α -cyklodextrinu	Konstanta stability pro β -cyklodextrinu
toluen	2,70	33	667
<i>o</i> -xylen	3,20	16	210
naftalen	3,70	77	850
1-methylnaftalen	3,91	40	570
2-methylnaftalen	3,81	22	700



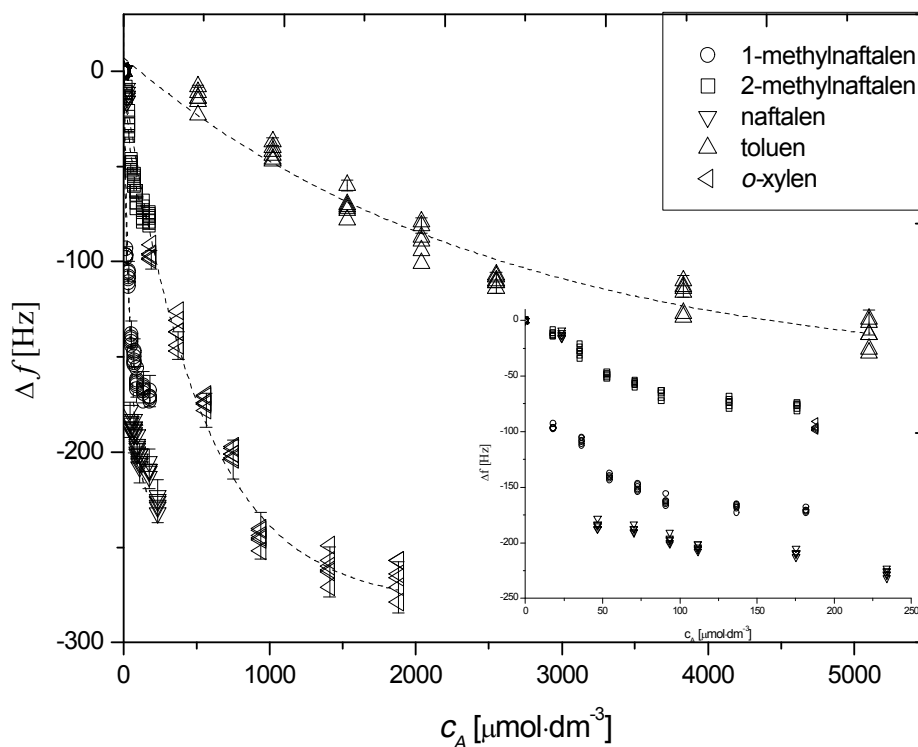
Obr 4.3 Změna frekvence v závislosti na koncentraci analytů 1-methylnaftalenu, 2-methylnaftalenu, naftalenu, *o*-xylenu a toluenu na nemodifikovaném výbrusu měřené při laboratorní teplotě, koncentračním rozmezí 0 – 5,1 mmol·dm⁻³; ve výseku je znázorněno koncentrační rozmezí 0- 250 μmol·dm⁻³.

Na obr. 4.4 je vidět změna frekvence pro jednotlivé analyty v závislosti na koncentraci na krystalu modifikovaném α -cyklodextrinem. Výrazně vyšší odezvy oproti nemodifikované elektrodě je dosaženo pro naftalen, 1-methylnaftalen a 2-methylnaftalen, což je patrné ve výseku grafu.



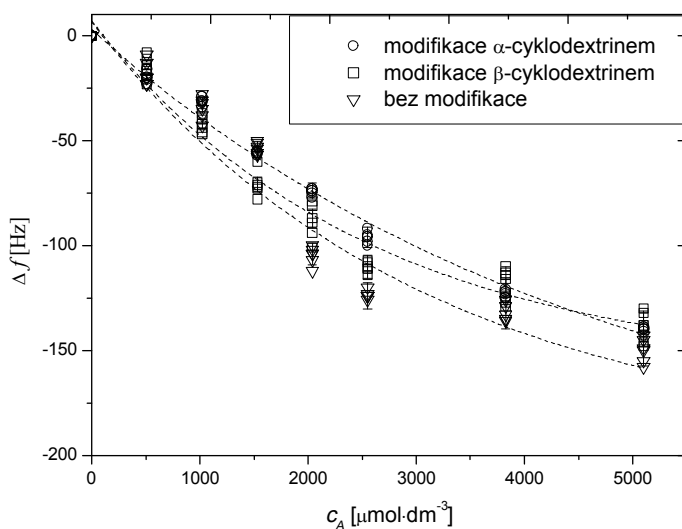
Obr 4.4 Změna frekvence v závislosti na koncentraci analytů 1-methylnaftalenu, 2-methylnaftalenu, naftalenu, *o*-xyleny a toluenu na výbrusu modifikovaném α -cyklodextrinem, měřené při laboratorní teplotě, koncentračním rozmezí 0 – 5,1 $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$; a ve výseku je znázorněno koncentrační rozmezí 0- 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Na obr. 4.5 je vidět změna frekvence pro jednotlivé analyty v závislosti na jejich koncentraci na krystalu modifikovaném β -cyklodextrinem. Výrazně vyšší odezvy je dosaženo pro *o*-xylen, substituovaný i nesubstituovaný naftalen, což je patrné ve výseku grafu. Zde se zjevně projevuje vzrůst citlivosti, díky efektu inkluzní komplexace. I v tomto případě zůstává odezva na toluen srovnatelná s měřením s výbrusem bez modifikace a modifikovaného α -cyklodextrinem.



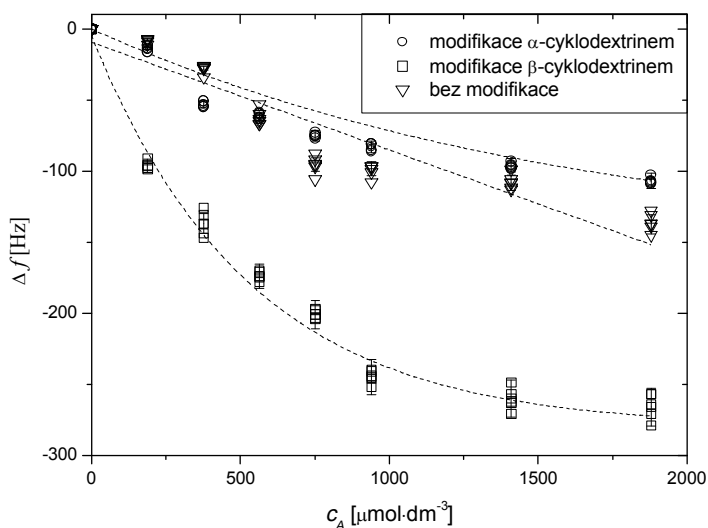
Obr 4.5 Změna frekvence v závislosti na koncentraci analytů 1-methylnaftalenu, 2-methylnaftalenu, naftalenu, *o*-xyleny a toluenu na výbrusu modifikovaném β -cyklodextrinem, měřené při laboratorní teplotě, koncentračním rozmezí 0 – 5,1 $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$; a ve výseku je znázorněno koncentrační rozmezí 0- 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Pro přímé porovnání detekčních vlastností nemodifikovaného a modifikovaných výbrusů byly vyneseny kalibrační závislosti pro jednotlivé analyty. Na obr. 4.6 je vidět změna frekvence toluenu v závislosti na koncentraci pro jednotlivé výbrusy. Toluenu není detekován s výrazně vyšší citlivostí ani na jednom z modifikovaných výbrusů, i když vykazuje podobné konstanty stability jako 1-methylnaftalen (viz. tab. 4.1). Domnívám se, že jeho menší citlivost na QCM může souviset s jeho rozpustností ve vodě.



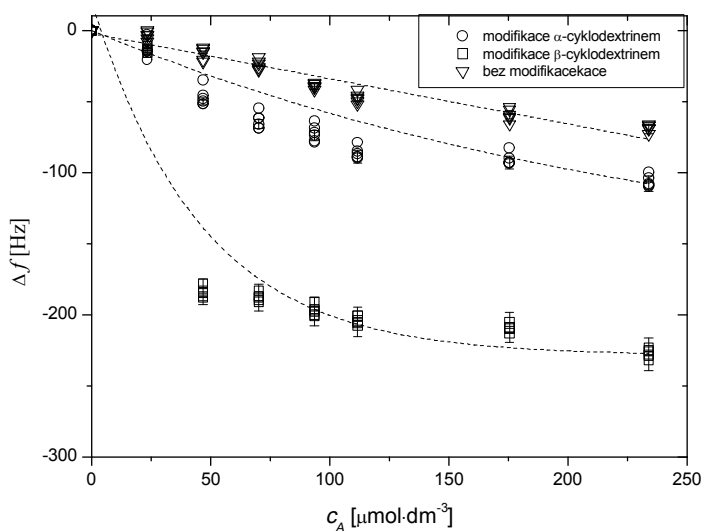
Obr. 4.6 Závislost změny frekvence na koncentraci toluenu (koncentrační rozmezí 0 – 5,1 $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$) při použití nemodifikovaného výbrusu a modifikovaného výbrusu cyklodextrinem α a β .

Na obr. 4.7 je vidět změna frekvence *o*-xylenu v závislosti na koncentraci pro jednotlivé výbrusy. Citlivost QCM je výrazně zvýšena zejména při modifikaci křemenného výbrusu β -cyklodextrinem.



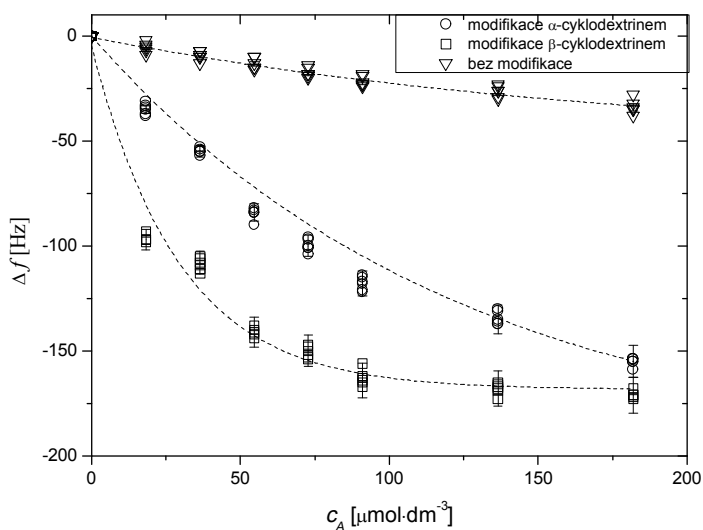
Obr. 4.7 Závislost změny frekvence na koncentraci *o*-xylenu (koncentrační rozmezí 0 – 1,88 $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$) při použití nemodifikovaného výbrusu a modifikovaného výbrusu cyklodextrinem α a β .

Na obr. 4.8 je vidět změna frekvence naftalenu v závislosti na koncentraci pro jednotlivé výbrusy. Citlivost QCM je výrazně zvýšena při modifikaci křemenného výbrusu β -cyklodextrinem, což souvisí s vysokou konstantou stability inkluzního komplexu.



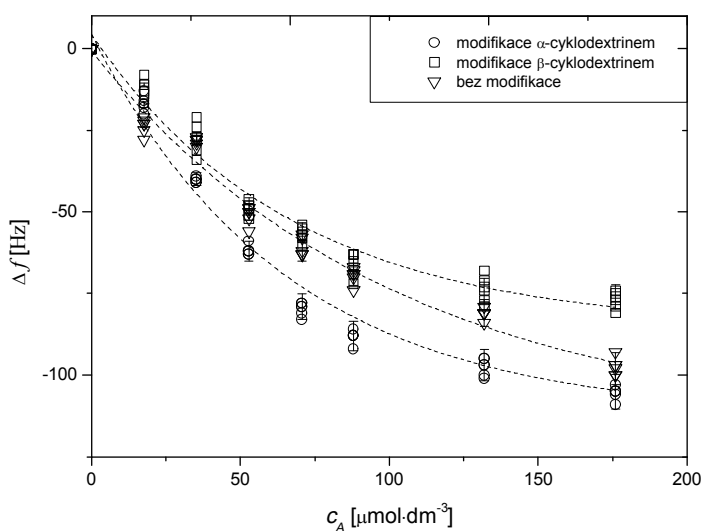
Obr. 4.8 Závislost změny frekvence na koncentraci naftalenu (koncentrační rozmezí 0 - 234 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) při použití nemodifikovaného výbrusu a modifikovaného výbrusu cyklodextrinem α a β .

Na obr. 4.9 je znázorněna změna frekvence 1-methylnaftalenu v závislosti na koncentraci pro jednotlivé výbrusy. Je zajímavé, že citlivost QCM je výrazně zvýšena při modifikaci křemenného výbrusu β -cyklodextrinem i α -cyklodextrinem.



Obr. 4.9 Závislost změny frekvence na koncentraci 1-methylnaftalenu (koncentrační rozmezí 0 - 182 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) při použití nemodifikovaného výbrusu a modifikovaného výbrusu cyklodextrinem α a β .

Na obr. 4.10 je vidět změna frekvence 2-methylnaftalenu v závislosti na koncentraci pro jednotlivé výbrusy.

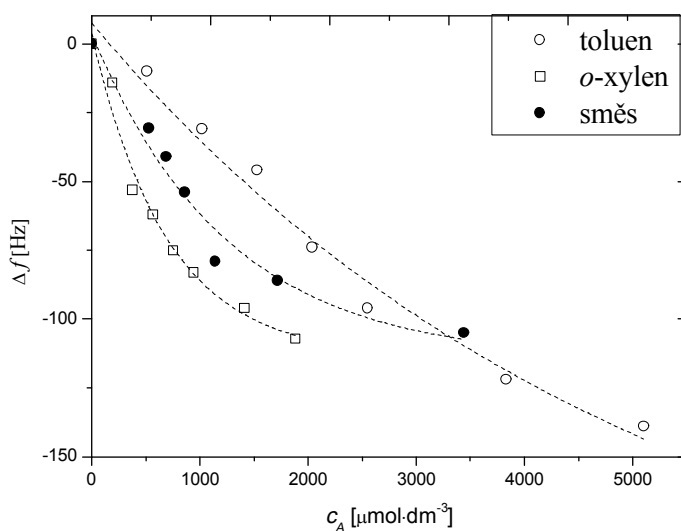


Obr. 4.10 Závislost změny frekvence na koncentraci naftalenu (koncentrační rozmezí 0 - 176 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) při použití nemodifikovaného výbrusu a modifikovaného výbrusu cyklodextrinem α a β .

Z obrázku je zřejmý podstatný rozdíl oproti měřenému 1-methylnaftalenu. Modifikace α a β cyklodextrinem výrazným způsobem nezvyšují citlivost detekce oproti nemodifikovanému výbrusu. Zejména pro β -cyklodextrin je to v přímém rozporu s vysokou konstantou stability komplexu.

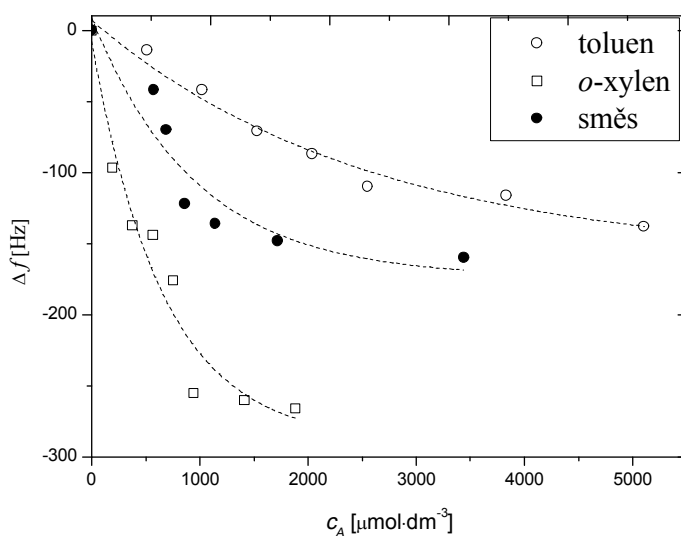
4.3 Směs dvou analytů

Směs dvou analytů byla sledována modifikovanými krystaly a porovnána se samostatnými analyty. Na obr. 4.11 je uvedena závislost změny frekvence na koncentraci pro roztok toluenu, *o*-xylenu a jejich směsi. Z grafu je patrné, že citlivost krystalu na směs analytů (směrnice směsi) leží mezi hodnotami pro oba analyty. Teoretický předpoklad byl, že směrnice směsi bude blízká směrnici *o*-xylenu jakožto silněji komplexovanému analytu, ale je nižší. Vysvětlením může být, že slaběji komplexovaný analyt (toluen) působí jako obecné organické rozpouštědlo, snižuje dielektrickou konstantu a snižuje konstantu stability silněji komplexovaného analytu (*o*-xylenu).



Obr 4.11 Závislost změny frekvence na koncentraci pro toluen (koncentrační rozmezí 0 – 5,1 mmol·dm⁻³), *o*-xylen (koncentrační rozmezí 0 – 1,88 mmol·dm⁻³) a jejich směs (koncentrační rozmezí 0 – 3,44 mmol·dm⁻³) na výbrusu modifikovaném α -cyklodextrinem.

Na obr. 4.12 je uvedená závislost změny frekvence na koncentraci pro roztok toluenu, *o*-xyleny a jejich směsi. Z obrázku je patrné, že citlivost krystalu na směs analytů (směrnice směsi) leží mezi hodnotami pro oba analyty. Teoretický předpoklad byl, že směrnice směsi bude blízká směrnici *o*-xyleny jakožto silněji komplexovanému analytu, ale je nižší. Vysvětlením může být, že slaběji komplexovaný analyt (toluen) působí jako obecné organické rozpouštědlo, snižuje dielektrickou konstantu a snižuje konstantu stability silněji komplexovaného analytu (*O*-xyleny).

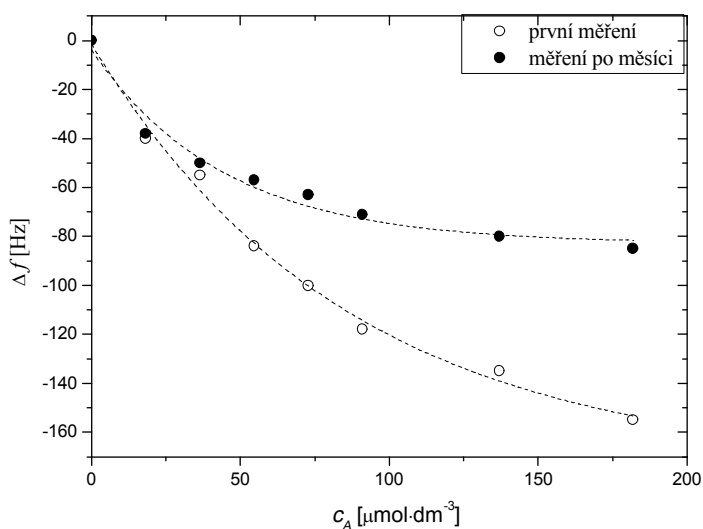


Obr 4.12 Závislost změny frekvence na koncentraci pro toluen (koncentrační rozmezí 0 – 5,1 mmol·dm⁻³), O-xylen (koncentrační rozmezí 0 – 1,88 mmol·dm⁻³) a jejich směs (koncentrační rozmezí 0 – 3,44 mmol·dm⁻³) na výbrusu modifikovaném α -cyklodextrinem při laboratorní teplotě.

Z provedených měření je zřejmé, že selektivní detekce analytů, i když vykazují velmi rozdílné vazebné konstanty na povrch krystalu, není možná.

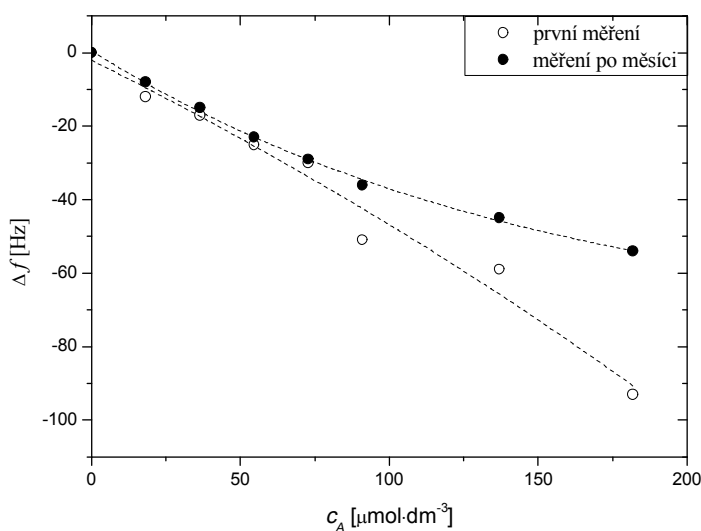
4.4 Časová stabilita krystalů křemenných mikrovah s cyklodextriny

Byla sledována časová stabilita krystalů křemenných mikrovah modifikovaných cyklodextriny po jednom měsíci. Na obr. 4.13 je porovnáno měření vzorku 1-methylnaftalenu na krystalu modifikovaném α -cyklodextrinem ihned po jeho přípravě a po jednom měsíci skladování v exsikátoru. Měření bylo provedeno pro všechny studované analyty, se stejným závěrem jako pro uvedený 1-methylnaftalen. Je možné konstatovat, že po 30-ti denním měření se odezva pro nasycený roztok analytu snížila asi o polovinu (55 %). Důvodem je pravděpodobná mikrobiální degradace povrchu cyklodextrinu. Výsledek se nezměnil ani po důkladném promytí v nasyceném roztoku β -cyklodextrinu (nesubstituovaný cyklodextrin) v ultrazvukové lázni.



Obr. 4.13 Závislost změny frekvence na koncentraci 1-methylnaftalenu (koncentrační rozmezí 0 - 182 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) na výbrusu modifikovaného α -cyklodextrinem s měsíčním odstupem.

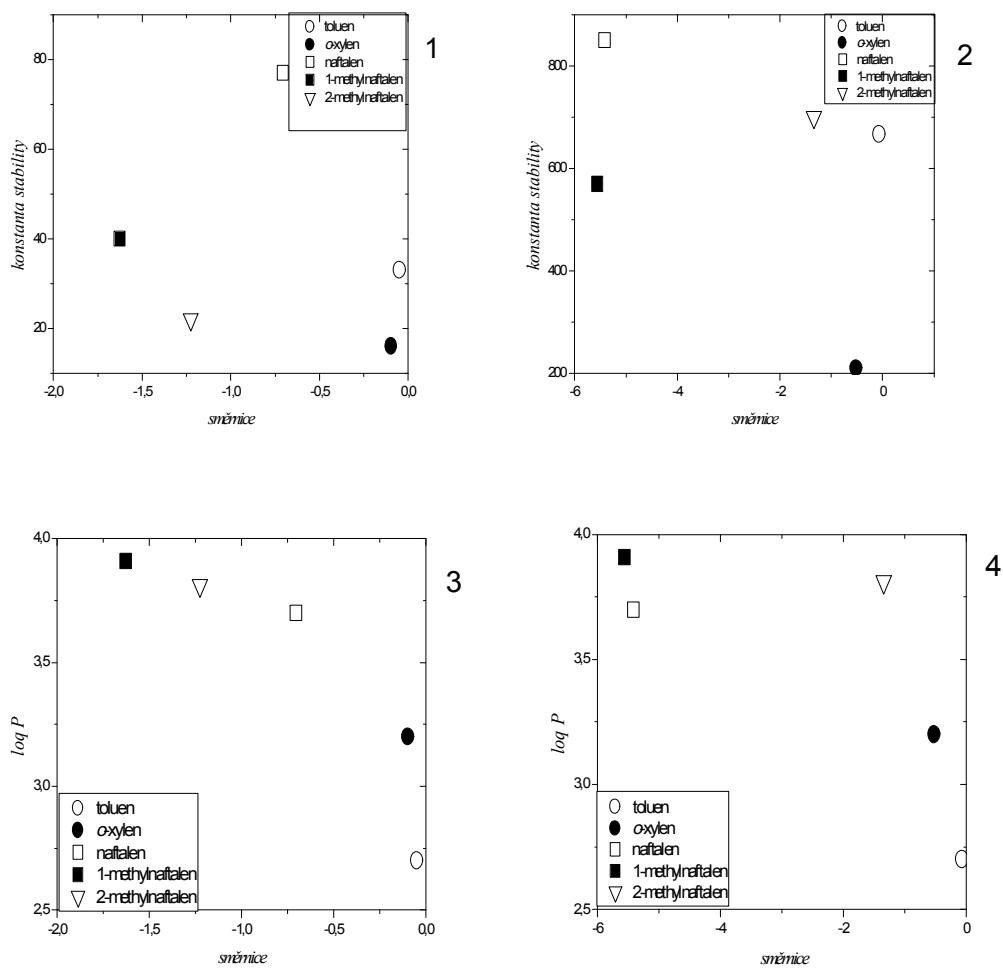
Dále byla sledována časová stabilita krystalů křemenných mikrovah modifikovaných cyklodextriny po jednom měsíci. Na obr. 4.14 je znázorněna odezva na vzorek 1-methylnaftalenu na krystalu modifikovaném β -cyklodextrinem. Toto měření bylo provedeno pro všechny studované analyty, se stejným závěrem jako pro uvedený 1-methylnaftalen. Je možné konstatovat, že po 30-ti denním měření se odezva pro nasycený analyt snížila asi o polovinu (58 %). Důvodem je pravděpodobná mikrobiální degradace povrchu cyklodextrinu, který byl uchováván v exsikátoru. Výsledek se nezměnil ani po důkladném promytí v nasyceném roztoku β -cyklodextrinu (nesubstituovaný cyklodextrin) v ultrazvukové lázni.



Obr. 4.14 Závislost změny frekvence na koncentraci 1-methylnaftalenu (koncentrační rozmezí 0 - 182 $\mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) na výbrusu modifikovaného β -cyklodextrinem s měsíčním odstupem.

4.5 Korelace citlivosti QSM s konstantou stability komplexu a hydrofobicitou ($\log P$) pro měřené analyty

Z výše uvedených kalibračních závislostí je zřejmé, že ke změně odezvy s krystaly modifikovanými cyklodextriny přispívají kromě vazebných konstant komplexů i další faktory, například hydrofobicita analytu. Na obr. 4.15 (1,2) jsou vzájemně korelovány hodnoty směrnic kalibračních závislostí v počátku s konstantami stability inkluzních komplexů. Konstanta stability není tedy primárním faktorem ovlivňujícím citlivost detekce. Z uvedených vyobrazení není zřejmý jednoznačný vztah mezi oběma hodnotami. Význam vlivu hydrofobicity analytu je patrný na obr. 4.15 (3) pro krystal modifikovaný α -cyklodextrinem. Citlivost odezvy monotónně roste s rostoucí hydrofobicitou analytu. Obdobná závislost pro β -cyklodextrin je uvedena na obr. 4.15 (4). Na rozdíl od předchozího případu, však není průběh závislosti monotónní. Z uvedeného je možno konstatovat, že citlivost odezvy QCM není pouze závislá na konstantách stability, ale je ovlivňována dalšími faktory – například hydrofobicitou analytu.



Obr. 4.15 Závislost konstanty stability na směrnici kalibrační závislosti analytů 1-methylnaftalenu, 2-methylnaftalenu, naftalenu, *o*-xylenu a toluenu na výbrusech křemenných mikrovah modifikovaných α -cyklodextrinem (1) a β -cyklodextrinem (2). Závislost $\log P$ na směrnici kalibrační závislosti analytů 1-methylnaftalenu, 2-methylnaftalenu, naftalenu, *o*-xylenu a toluenu na výbrusech křemenných mikrovah modifikovaných α -cyklodextrinem (3) a β -cyklodextrinem (4).

5 Závěr

Byla provedena modifikace krystalů křemenných mikrovaň α -cyklodextrinem a β -cyklodextrinem. Byla monitorována kinetika příslušné reakce a zjištěno množství navázaného cyklodextrinu na zlatou elektrodu. Pro α -cyklodextrin se navázalo za 25 minut na plochu elektrody 7,16 μg a pro β -cyklodextrin za 9 minut 16,38 μg .

Bylo provedeno měření kalibračních roztoků vybraných analytů 1-methylnaftalenu, 2-methylnaftalenu, naftalenu, *o*-xyleny a toluenu v koncentračním rozmezí do příslušného nasyceného vodného roztoku. Z výsledných kalibračních závislostí byly vypočteny, směrnice kalibračních závislostí, které byly následně korelovány s konstantou stability a hydrofobicitou.

Byly porovnány kalibrační závislosti výše uvedených analytů při použití nemodifikované elektrody a elektrody modifikované α -cyklodextrinem či β -cyklodextrinem. Měřením bylo prokázáno, že při použití modifikovaných výbrusů lze dosáhnout výrazně vyšší citlivosti pro vybrané analyty. Opakovatelnost metody vykazovala stejné hodnoty do 5 % relativní směrodatné odchylky. Modifikované QCM krystaly nevykazovaly paměťový efekt, po opláchnutí vodou, etanolem a vodou, byly připraveny k dalšímu měření.

Opakovaným pokusem na modifikovaných krystalech s časovým odstupem 30 dní byla prokázána degradace cyklodextrinu navázaného na povrch křemenného výbrusu pravděpodobně působením mikrobiálních toxinů. Z toho vyplývá nutnost uchovávání modifikovaných výbrusů v prostředí bez mikrobů, například pod methanolem.

Byly splněny všechny vytyčené cíle této diplomové práce.

6 Citovaná literatura

- [1] Göppel, W.; Zemel, H. J.; Hesse, J. : *Sensors - A Comprehensive Survey: Chemical and Biochemical Sensors Part I (Volume II)*. Weinheim, VCH, 1991.
- [2] Šťastný M.; Kronďák, M.; Volf, R.; Král, V. : Chemické sensory I. *AUTOMATIZACE*, **46**:6, 405-407 (2003).
- [3] IUPAC, 1990.
- [4] Göppel, W.; Zemel, H. J.; Hesse, J. : *Sensors – A comprehensive survey: Fundamentals and general Aspects (Volume 1)*. Weinheim, VCH, 1989.
- [5] Štulík, K.; Pacáková V. : *Elektroanalytická měření v proudících kapalinách*. Praha, SNTL, 1989.
- [6] Klouda, P. : *Moderní analytické metody*. 2. upravené a doplněné vydání, Ostrava, Pavel Klouda, 2003.
- [7] Eckschlager, K.; Horsák, I.; Kodejš Z.: *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*. Praha, SNTL, 1980.
- [8] Novák, F. : *Úvod do klinické biochemie*. Praha, Karolinum, 2002.
- [9] Ripka, P.; Ďado, S.; Kreidl, M.; Novák, M.: *Senzory a převodníky*. Praha, ČVUT, 2005.
- [10] Šťastný, M.; Kronďák, M.; Volf, R.; Král, V.; Hlávka, K.: Chemické sensory III. *AUTOMATIZACE*, **46**:8, 533-535 (2003).
- [11] Šťastný, M.; Kronďák, M.; Volf, R.; Král, V.; Hlávka, K.: Chemické sensory IV. *AUTOMATIZACE*, **46**:9, 624-626 (2003).
- [12] Kronďák, M.: Clarkovo čidlo. *AUTOMATIZACE*, **50**:7-8, 502-504 (2007).
- [13] Brett, C. M. A.: Electroanalytical Techniques for the Future: The Challenges of. *Electroanalysis*, **11**, 1013-1016 (1999).
- [14] Šťastný, M.; Hub, M.; Kronďák, M.; Volf, R.; Král, V.; Hlávka, K.: Chemické senzory V. *AUTOMATIZACE*, **46**:10, 690-693 (2003).
- [15] O'Sullivan, C. K.; Guilbault, G. G.: Commercial quartz crystal microbalances – theory and application. *Biosensors & Bioelectronics*, **14**, 663-670, (1999).
- [16] *QCM 100 Quartz Crystal Microbalance Analog Controller*. California, SRS, 2003.
- [17] Kurosawa, S.; Park, J.; Aizawa, H.; Wakida, S.; Tao, H.; Ishihara, K.: Quartz crystal

- microbalance immunosensors for environmental monitoring. *Biosensors and Bioelectronics*, **22**, 473-481 (2006).
- [18] Vashist, S. K.; Vashist, P.: Recent Advances in Quartz Crystal Microbalance-Based Sensors. *Journal of Sensors*, 13 s. (2011).
- [19] Becker, B.; Cooper, M. A.: A survey of the 2006–2009 quartz crystal. *JOURNAL OF MOLECULAR RECOGNITION*, **24**, 754-787 (2011).
- [20] Cooper, M. A.; Singleton, V. T.: A survey of the 2001 to 2005 quartz crystal. *JOURNAL OF MOLECULAR RECOGNITION*, **20**, 154-184 (2007).
- [21] Ju, J.; Syu, M.; Teng, H.; Chou, S.; Chang, Y.: Preparation and identification of β -cyclodextrin polymer thin film for quartz crystal microbalance sensing of benzene, toluene, and *p*-xylene. *Sensors and Actuators B Chemical*, **132**, 319-326 (2008).
- [22] Yuan, Y.; Xiao, X.; Wang, Y.; Xue, J.; Li, G.; Kang, R.; Zhang, J.; Shi, L.: Quartz crystal microbalance with β -cyclodextrin/TiO₂ composite films coupled with chemometrics for the simultaneous determination of urinary 1- and 2-naphthol. *Sensors and Actuators B, Chemical*, **145**, 348-354, (2010).
- [23] Luo, M. L.; Zhang, W. G.; Zhang, S.; Fan, J.; Su, W. C.; Yin, X.: Self-Assembly and Chiral Recognition of Quartz Crystal Microbalance Chiral Sensor, *CHIRALITY*, **22**, 411-415 (2010).
- [24] Ariga, K.; Richards, G. J.; Ishihara, S.; Izawa, H.; Hill, J. P.: Intelligent Chiral Sensing Based on Supramolecular and Interfacial Concepts. *Sensors*, **10**, 6796-6820, (2010).
- [25] Tuantranont, A.; Wisitsora-at, A.; Sritongkham P.; Jaruwongrunsee, K.: A review of monolithic multichannel quartz crystal microbalance: A review. *Analytica Chimica Acta*, **687**, 114-128 (2011).
- [26] Cheng, C. I.; Chang Y.; Chu, Y.: Biomolecular interactions and tools for their recognition: focus on the quartz crystal microbalance and its diverse surface chemistries and applications. *Chem Soc Rev*, **41**, 1947–1971 (2012).
- [27] Jindřich J.; Řezanka, M.: Complete sets of monosubstituted cyclomaltohexaoses (α -cyclodextrins) as precursors for further synthesis, *Carbohydrate Research*, **346**, 2374-2379 (2011).
- [28] Loftsson, T.; Masson, M.: Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *Int. J. Pharm.*, **225**, 15-30 (2001).

- [29] Cal, K.; Centkowska, K.: Use of cyclodextrins in topical formulations: practical aspects. *J. Pharm. Biopharm*, **68**, 467-478 (2008).
- [30] pragolab [Online]. Dostupné z URL: <<http://www.pragolab.cz/clanek/131/kapilarni-elektroforeza-4-cast-rozdeleni-kapilarnich-technik-chiralni-separace>> [cit 1.5. 2012].
- [31] Ing. Petr Švec - PENTA: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/t/bezplist_211.pdf> [cit 1.5. 2012].
- [32] Ing. Petr Švec - PENTA: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/x/bezplist_159.pdf> [cit 1.5. 2012].
- [33] Ing. Petr Švec - PENTA: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <http://www.pentachemicals.eu/bezp_listy/n/bezplist_520.pdf> [cit 1.5. 2012].
- [34] Merck Chemicals: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <http://www.merckmillipore.com/czech-republic/1-methylnaftalen/MDA_CHEM-820809/p_Kreb.s1LaPgAAAEWeOefVhTl> [cit 1.5. 2012].
- [35] Merck Chemicals: Bezpečnostní list [Online] Dostupné z URL: <http://www.merckmillipore.com/czech-republic/chemicals/2-methylnaftalen/MDA_CHEM-806074/p_Kreb.s1LaPgAAAEWeOefVhTl> [cit 1.5. 2012].
- [36] Domi, Y.; Ikeura, K.; Okamura, K.; Shimazu, K.: Strong Inclusion of Inorganic Anions into β -Cyclodextrin Immobilized to Gold Electrode. *Langmuir*, **27**,10580-10586 (2011).
- [37] Hing-Nin Poon, K.; Cheng, Y.: A quartz crystal microbalance study of β -cyclodextrin self assembly on gold and complexation of immobilized β -cyclodextrin with adamantane derivatives. *J Incl Macrocycl Chem*, **60**, 211-222 (2008).
- [38] Cyclodextrin KnowledgeBase [Online] Dostupné z URL: <<http://interactions.cyclodextrin.net/web>> [cit 1.5. 2012].
- [39] lach:ner: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <http://www.lachner.com/files/108-88-3_Toluen_v3_CZ.pdf> [cit 1.5. 2012].
- [40] lach:ner: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <http://www.lachner.com/files/1330-20-7_Xylen_smes_isomeru_v2_CZ.pdf> [cit 1.5. 2012].
- [41] lach:ner: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <http://www.lachner.com/files/91-20-3_Naftalen_v2_CZ.pdf> [cit 1.5. 2012].
- [42] SIGMA-ALDRICH: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <

<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=CZ&language=cs&productNumber=67880&brand=FLUKA&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Ffluka%2F67880%3Flang%3Den> [cit 1.5. 2012].

- [43] SIGMA-ALDRICH: Bezpečnostní list [Online]. Dostupné z URL: <
<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=CZ&language=cs&productNumber=M57006&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Faldrich%2Fm57006%3Flang%3Den>> [cit 1.5. 2012].