

Laboratorní úloha pro ověření vlastností senzorů cyklickou voltametrií

Laboratory Task for Verification of Sensor Properties by Cyclic Voltammetry

Petra Hofferová

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. Ing. Martin Augustynek, Ph.D.

Ostrava 2023

Zadání bakalářské práce

Student:

Petra Hofferová

Studijní program:

B0714A060016 Biomedicínská technika

Téma:

Laboratorní úloha pro ověření vlastností senzorů cyklickou voltametrií
Laboratory Task for Verification of Sensor Properties by Cyclic
Voltammetry

Jazyk vypracování:

čeština

Zásady pro vypracování:

1. Rešerše principu voltametrických a amperometických metod měření.
2. Cyklická voltametrie pro vybrané typy senzorů.
3. Návrh metodiky měření cyklické voltametrie pro ověření vybraných senzorů.
4. Ověření navržené metodiky na dvou vybraných senzorech.
5. Návrh laboratorní úlohy aplikace voltametrického měření pro stanovení vlastností senzorů.
6. Zhodnocení dosažených výsledků.

Seznam doporučené odborné literatury:

- [1] PENHAKER, Marek, Martin IMRAMOVSKÝ a Petr TIEFENBACH. *Lékařské diagnostické přístroje: učební texty*. 1 vyd. Ostrava : VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2004. 320 s. ISBN 80-248-0751-3.
- [2] PENHAKER, Marek, Jan KUBÍČEK a Barbora HRVOLOVÁ. *Snímače a senzory v biomedicině*. 1. Ostrava: VŠB-TU Ostrava, 2013, 228 s. ISBN 978-80-248-3104-6.
- [3] TOGAWA, Tatsuo, Toshiyo TAMURA a P. ÅKE ÖBERG. *Biomedical Sensors and Instruments*. 2nd ed. Hoboken: CRC Press, 2011. ISBN 978-142-0090-796.
- [4] NAVRÁTIL, Leoš, Jozef ROSINA et al. *Medicínská biofyzika*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 2005. 524 s. ISBN 80-247-1152-4.
- [5] ROZMAN, Jiří et al. *Elektronické přístroje v lékařství*. 1.vyd. Praha: Academia, 2006. 406 s. ISBN 80-200-1308-3.
- [6] BUERK, Donald G. *Biosensors: theory and applications*. Lancaster [Penn.]: Technomic Pub. Co., c1993. x, 221 s. ISBN 0-87762-975-7.
- [7] RITTER, Arthur B., Stanley S. REISMAN a Bozena B. MICHNIAK. *Biomedical Engineering Principles*. Boca Raton: Taylor, 2005. xii, 665 s. ISBN 978-0-8247-9616-7.
- [8] ENDERLE, John D., Joseph D. BRONZINO a Susan M. BLANCHARD. *Introduction to Biomedical Engineering*. 2nd ed. Boston: Elsevier Academic Press, c2005. xxi, 1118 s. ISBN 978-0-12-238662-6.

Formální náležitosti a rozsah bakalářské práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Martin Augustynek, Ph.D.**

Datum zadání: 01.09.2022

Datum odevzdání: 30.04.2023

Garant studijního programu: prof. Ing. Martin Augustynek, Ph.D.

V IS EDISON zadáno: 31.03.2023 11:05:09

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá návrhem laboratorní úlohy využívající metodu cyklické voltametrie. V teoretické části byla provedena rešerše zaměřená na voltametrické a amperometrické metody měření s důrazem na metodu cyklické voltametrie. Na základě literární rešerše byla navržena metodika cyklické voltametrie využívající průtokovou celu. Metodika byla ověřena na dvou typech vybraných komerčních senzorů společnosti BVT Technologies. Na těchto senzorech byl testován vliv vybraných parametrů na jejich elektrochemickou odezvu. V rámci práce byl rovněž testován vliv způsobu čištění senzorů. Na základě provedených experimentů byla sestavena a odzkoušena laboratorní úloha, která bude sloužit studentům pro snažší porozumění problematice cyklické voltametrie.

Klíčová slova

Elektrochemický senzor, voltametrické měření, cyklická voltametrie, voltametrická laboratorní úloha, parametry cyklické voltametrie

Abstract

The bachelor thesis deals with the design of a laboratory task using the method of cyclic voltammetry. In the theoretical part, a research focused on voltammetric and amperometric measurement methods with emphasis on the cyclic voltammetry method was carried out. Based on the literature search, a cyclic voltammetry methodology using a flow cell was proposed. The methodology was validated on two types of selected commercial sensors from BVT Technologies. The effect of selected parameters on their electrochemical response was tested on these sensors. The influence of the cleaning method of the sensors was also tested. Based on the experiments performed, a laboratory problem was set up and tested, which will be used to facilitate students' understanding of cyclic voltammetry.

Key words

Electrochemical sensor, voltammetric measurement, cyclic voltammetry, voltammetric laboratory task, cyclic voltammetry parameters

Poděkování:

Děkuji vedoucímu práce panu prof. Ing. Martinu Augustynkovi, Ph.D. za vedení, trpělivost a odbornou pomoc při psaní bakalářské práce. Děkuji paní Ing. Evě Tomicové za cenné rady a konzultace během měření.

Obsah

Seznam použitých symbolů a zkratk.....	8
Seznam obrázků	9
Seznam tabulek	10
Úvod	11
Teoretická část.....	12
1 Rešerše principu voltametrických a amperometrických metod měření	12
1.1 Voltametrie.....	12
1.1.1 Lineárně rozmítací voltametrie	13
1.1.2 Cyklická voltametrie	15
1.1.3 Diferenční pulzní voltametrie	20
1.1.4 Normal pulse voltametrie.....	21
1.1.5 Voltametrie se čtvercovou vlnou.....	21
1.1.6 Střídavá voltametrie	22
1.2 Amperometrie	23
1.2.1 Chronoamperometrie.....	23
1.2.2 Pulzní amperometrická detekce	25
1.2.3 Rychlá amperometrie	25
1.2.4 Vícenásobná pulzní amperometrie	26
1.2.5 Vícestupňová amperometrie	27
Praktická část.....	28
2 Cyklická voltametrie pro vybrané typy senzorů	28
2.1 Měřicí okruh	28
2.1.1 Lineární dávkovač	29
2.1.2 Průtoková cela	30
2.1.3 Senzory	31
2.1.4 Potenciostat.....	33
2.2 Zapojení měřicího okruhu	35
2.3 Postup měření	36
2.3.1 Rozsah napětí.....	36
2.3.2 Nastavení PSTrace5.....	38
2.4 Provedení cyklické voltametrie.....	39
3 Návrh metodiky měření cyklické voltametrie pro ověření vybraných senzorů	43

3.1	Příprava elektrod/senzoru	45
3.2	Parametry PSTrace5.....	46
4	Ověření navržené metodiky na dvou vybraných senzorech	48
5	Návrh laboratorní úlohy aplikace voltametrického měření pro stanovení vlastností	57
6	Zhodnocení dosažených výsledků	58
	Literatura	60
	Přílohy.....	62

Seznam použitých symbolů a zkratek

Zkratka	Význam zkratky
AC	Střídavý
Au	Zlato
Ag	Stříbro
Ag/AgCl	Stříbro/Chlorid stříbrný
CE	Pomocná elektroda
CV	Cyklická voltametrie
DPV	Diferenční pulzní voltametrie (Differential pulse voltammetry)
FA	Rychlá amperometrie (Fast amperometry)
FIA	Průtoková injekční cela
E_{begin}	Počáteční potenciál
E_{end}	Konečný potenciál
E_{pa}	Pík potenciálu anody
E_{pc}	Pík potenciálu katody
E_{step}	Potenciálový krok
$E_{vertex1}/E_{vtx1}$	Maximální hodnota potenciálu
$E_{vertex2}/E_{vtx2}$	Minimální hodnota potenciálu
LSV	Lineárně rozmítací voltametrie (Linear-sweep voltammetry)
MA	Více kroková amperometrie (Multistep amperometry)
MK	Mikrodializační katetr
MPAD	Vícenásobná pulzní amperometrie (Multiple-pulse amperometry)
NaCl	Chlorid sodný
NPV	Normální pulzní voltametrie (Normal pulse voltammetry)
Ox	Oxidovaná forma elektrochemické látky
PAD	Pulsová amperometrická detekce (Pulsed amperometric detection)
Pt	Platina
RE	Referenční elektroda
Red	Redukovaná forma elektrochemické látky
SWV	Voltametrie se čtvercovou vlnou (Square wave voltammetry)
WE	Pracovní elektroda

Seznam obrázků

Obr. 1.1: Aplikovaný potenciál během linear-sweep voltametrie [6].	14
Obr. 1.2: Zobrazení typické křivky pro LSV [6].	14
Obr. 1.3: Průběh potenciálu při cyklické voltametii [6].	16
Obr. 1.4: Graf cyklické voltametrie, E_{pa} (V) – pík potenciálu anody, E_{pc} (V) – pík potenciálu katody [4].	16
Obr. 1.5: Konvence cyklické voltametrie [5].	17
Obr. 1.6: Aplikovaný potenciál během DPV [6].	20
Obr. 1.7: Aplikovaný potenciál během NPV [6].	21
Obr. 1.8: Aplikovaný potenciál během SWV [6].	22
Obr. 1.9: Aplikovaný potenciál během AC voltametrie [6].	23
Obr. 1.10: Aplikovaný potenciál při chronoamperometrii [6].	24
Obr. 1.11: Křivka při chronoamperometrii [6].	24
Obr. 1.12: Aplikovaný potenciál a pulsy při PAD [6].	25
Obr. 1.13: Aplikovaný potenciál během FA [6].	26
Obr. 1.14: Aplikovaný potenciál a pulsy při MPAD [6].	26
Obr. 1.15: Aplikovaný potenciál během MA [6].	27
Obr. 2.1: Základní blokové schéma měřícího okruhu.	28
Obr. 2.2: Blokové schéma zapojené průtokové cely.	29
Obr. 2.3: Lineární dávkovač AJ 5803 ANGEL.	30
Obr. 2.4: Průtoková cela od BVT Technologies [17].	31
Obr. 2.5: Senzor AC1.W*.R* od BVT Technologies (upraveno) [18].	32
Obr. 2.6: Vybrané senzory k měření.	33
Obr. 2.7: Potenciostat PalmSens [6].	34
Obr. 2.8: Uživatelské rozhraní PSTrace5.	34
Obr. 2.9: Blokové schéma měřícího okruhu.	35
Obr. 2.10: Zapojený měřící okruh.	36
Obr. 2.11: Blokové schéma experimentálního zjištění potenciálu.	37
Obr. 2.12: Nastavované parametry CV.	38
Obr. 2.13: Ověření hraničního potenciálu (Potential vs Ag RE).	39
Obr. 2.14: Senzor_Au vliv Scan rate pro E_{step} 0,01 V (Potential vs Ag RE).	40
Obr. 2.15: Senzor_Au vliv E_{step} pro Scan rate 0,5 V/s (Potential vs Ag RE).	40
Obr. 2.16: Senzor_Pt vliv Scan rate pro E_{step} 0,01 V (Potential vs Ag RE).	41
Obr. 2.17: Senzor_Pt vliv E_{step} pro Scan rate 0,5 V/s (Potential vs Ag RE).	41
Obr. 3.1: Volené parametry pro cyklickou voltametii.	43
Obr. 4.1: Ověření vodivosti (Potential vs Ag RE).	48
Obr. 4.2: Vliv čištění pomocí destilované vody (Potential vs Ag RE).	49
Obr. 4.3: Vliv materiálu pracovní elektrody pro Scan rate 0,5 V/s, E_{step} 0,01 V (Potential vs Ag RE).	50
Obr. 4.4: Blokové schéma upraveného měřícího okruhu pro měření s glukózou.	51
Obr. 4.5: CV senzor_Pt s imobilizací (Potential vs Ag RE).	52
Obr. 4.6: Chronoamperometrie funkční senzor_Pt s imobilizací (Potential vs Ag RE).	53
Obr. 4.7: CV detekce oxidačního píku s imobilizovaným senzorem (Potential vs Ag RE).	54
Obr. 4.8: Nižší hodnoty detekovaných píků (Potential vs Ag RE).	55
Obr. 4.9: Provedení několika CV (Potential vs Ag RE).	56

Seznam tabulek

Tab. 2.1: Fyzikální parametry průtokové cely od BVT Technologies [17].....	30
Tab. 2.2: Parametry komerčních senzorů AC1.W*.R* [18].	32
Tab. 2.3: Parametry potenciostatu PalmSens4 [6].	33

Úvod

V dnešní době existuje několik typů voltametrických metod. Mezi ně patří i voltametrická metoda cyklické voltametrie. Jedná se o elektrochemickou metodu, která umožňuje sledovat a studovat elektrochemické vlastnosti látek prostřednictvím přenosu elektronů a z nich následně získávat informace například o stabilitě reakčních produktů, kinetice studované reakce, reverzibilitě reakce či vlivu materiálu, ze kterého je použitý senzor vyroben. Cyklická voltametrie má široké využití v oblastech biochemie, analytické chemie a materiálové vědě. V biomedicíně se elektrochemické metody využívají ke stanovení koncentrací různých látek v tělních tekutinách, například ke stanovení koncentrace glukosy v krvi.

Jedna z nejpoužívanějších elektrochemických metod je cyklická voltametrie. Při cyklické voltametii dochází k aplikaci určitého rozsahu potenciálu, který je plynule měněn od spodní limitní hodnoty k horní, kdy při dosažení svého maxima se opět vrací do svého minima, které může, ale nemusí odpovídat samotnému počátku měření. Během této aplikace napětí může docházet v roztokům k elektrochemickým reakcím, které se projeví ve formě píků na výsledné naměřené křivce protékajícího proudu. Výsledné naměřené křivky mohou být ovlivňovány podmínkami měření, elektrolytickými reakcemi na povrchu elektrod a projevit se na nich mohou i rušivé signály.

Cílem této práce je návrh laboratorní úlohy využívající metodu cyklické voltametrie. Aby bylo možné laboratorní úlohu sestavit, je nutné porozumět principům elektrochemických metod, dále pak jednotlivým parametrům, které mají vliv na naměřenou elektrochemickou odezvu. Na základě těchto znalostí je pak možné sestavit metodiku, kterou je možné ověřit na vybraných komerčně dodávaných senzorech. Těmto oblastem jsou věnovány jednotlivé kapitoly této bakalářské práce.

Bakalářská práce je rozdělena na dvě části, na teoretickou část a praktickou část. Teoretické části jsou uvedené a rozebrané voltametrické a amperometrické metody, které se v dnešní době používají k charakterizaci elektrochemických vlastností látek. K jednotlivým metodám jsou uvedené informace týkající se aplikovaného potenciálu a následně je text doplněn také vhodným obrázkem pro vizualizaci daného průběhu měření. V teoretické části je nejvíce pozornosti věnováno metodě cyklické voltametrie, na kterou je tato práce zaměřena.

Praktická část je věnována metodice správného provedení měření cyklické voltametrie, s důrazem na vhodný měřicí okruh, elektrody, elektrolyt a také přístroj – potenciostat, pomocí kterého celé měření probíhá. Měřicí okruh vycházel z předchozích prací, které byly na katedře kybernetiky a biomedicínského inženýrství realizovány a které se věnovaly voltametrickým metodám. Na základě provedených předběžných měření byla sestavena metodika pro provedení experimentu cyklické voltametrie, kdy byly jednotlivé body shrnuty a upraveny do formy laboratorní úlohy, která bude sloužit studentům pro snadnější porozumění problematice cyklické voltametrie, pro jednodušší práci s potenciostatem a jeho ovládacím softwarem PSTrace5. V závěru bakalářské práce jsou zhodnoceny výsledky, kterých bylo dosaženo během jednotlivých měření.

Teoretická část

1 Rešerše principu voltametrických a amperometrických metod měření

Voltametrické a amperometrické metody nejčastěji využívané v oblasti elektrochemie a analytické chemie, pomocí kterých lze studovat vlastnosti jednotlivých látek. Při voltametrii se tedy závislost proudu [A] procházejícího pracovní elektrodou v elektrolytu na potenciálu [V], který je na tuto elektrodu vkládán. Při amperometrii se vkládá konstantní potenciál, při kterém dochází k přeměně analytu a měří se protékající proud článkem v závislosti na čase [1-3].

Pomocí voltametrických metod se využívá především k charakterizaci elektrochemických vlastností látek, zatímco amperometrické metody se využívají spíše k detekci a kvantifikaci látek v roztoku [4-5].

Tyto metody jsou vhodné zejména tím, že se vyznačují vysokou citlivostí a selektivitou. Jsou proto vhodné i pro zkoumání látek o velmi nízké koncentraci [1].

Mezi metody voltametrické se řadí: Lineární rozmítací voltametrie, Diferenční pulzní voltametrie, Voltametrie se čtvercovou vlnou, Střídavá voltametrie a cyklická voltametrie. Mezi metody amperometrické se řadí: Chronoamperometrie, Pulzní amperometrická detekce, Rychlá amperometrie, Vícenásobná pulzní amperometrie, Vícekroková amperometrie. Jednotlivé metody jsou podrobněji vysvětlené v kapitolách voltametrie a amperometrie [6-7].

1.1 Voltametrie

Jedná se o metody elektroanalytické, většinou používané v analytické chemii. Při voltametrii dochází k měření proudu, při aplikaci měnicího se potenciálu na elektrodu. Dochází tedy ke zvyšování potenciálu mezi pracovní a referenční elektrodou. Při tomto měření vzniká křivka nazývaná **voltamogram**, která zobrazuje průběh proudu v závislosti na potenciálu. Voltametrické metody se vyznačují nízkým šumem při měření, díky nízkého šumu se tím pádem zvyšuje citlivost senzorů [6] [8-9].

Voltametrické metody se používají ke zkoumání probíhajících reakcí na rozhraní elektroda a elektrolyt, kdy při dosažení určitého potenciálu se začne redukovat analyt a měřený proud začne narůstat. Pokud je v roztoku přítomna zkoumaná látka, bude výsledná velikost proudového píku úměrná jeho koncentraci v oxidované formě. Na základě tohoto měření lze stanovit koncentraci analytu. Závislost toho, zda dojde k oxidaci nebo redukci analytu je závislá na analytu [1] [6-10].

Při voltametrii se používají dvoelektrodové, tříelektrodové a čtyřelektrodové systémy uspořádání. Nejčastější pro měření voltametrie jsou používané tříelektrodové systémy, které tvoří pracovní, referenční a pomocné elektroda. Všechny tyto elektrody jsou ponořeny v roztoku elektrolytu s analyzovanou látkou [8] [11].

Na **pracovní elektrodě (WE)** dochází ke změně potenciálu v závislosti na čase, kvůli toho, že právě na této elektrodě dochází k výše zmíněné oxidaci či redukci v závislosti na analytu. Pracovní elektroda bývá nejčastěji vyrobená ze stříbra, zlata, platiny, nebo rtuti či uhlíku. Pro voltametrii se nejčastěji používají tuhé materiály [4] [8] [11].

Jedná se o polarizovatelnou elektrodu, což znamená, že prochází-li elektrodou proud, může potenciál této elektrody nabýt nerovnovážné hodnoty (jiné hodnoty napětí, než když elektrodou neprochází žádný proud). Velikost proudového píku závisí na velikosti povrchu pracovní elektrody, proto musí mít přesně definovaný tvar a velikost. Při opakovaném měření však může docházet k odlišnosti ve výsledcích [4] [8] [11].

Vůči **referenční elektrodě (RE)** se nastavuje potenciál pracovní elektrody. Oproti pracovní elektrodě musí být potenciál na referenční elektrodě konstantní. Jedná se tedy o nepolarizovatelnou elektrodu a touto elektrodou ve tříelektrodovém uspořádání neprotéká proud. V praxi se nejčastěji používají elektrody druhého druhu, kdy je elektroda vyrobena z kovu, která je pokrytá vrstvou své málo rozpustné soli. Nejčastěji z Ag/AgCl či čistě stříbrná [4] [8] [11-12].

Pomocná elektroda (CE) je třetí elektrodou v tomto uspořádání. Pomocná elektroda se vyskytuje také při čtyřelektrodovém uspořádání. Tato elektroda byla zavedena za účelem odvádění proudu, a tím referenční elektrodou neprochází proud, kde při dvouelektrodovém uspořádání docházelo ke změně složení elektrody, a tak znehodnocení celého měření, protože referenční elektrodou protékal veškerý proud. Nejčastěji se tyto elektrody vyrábějí z platiny nebo uhlíku [4] [8] [11].

1.1.1 Lineárně rozmítací voltametrie

Lineárně rozmítací (linear-sweep voltammetry – LSV) voltametrie je také známá jako lineární polarizace. Při této metodě probíhá měření proudu na pracovní elektrodě a potenciál mezi pracovní a referenční elektrodou se lineárně mění v čase. Lineárně se provádí měření od počátečního potenciálu (E_{begin}) do konečného potenciálu (E_{end}), kdy dojde k ukončení měření. Při tomto měření se volí také potenciálový krok (E_{step} – rychlost skenování), pomocí kterého se provádí skenování, takže skenování není úplně lineární. Při dosažení určitého potenciálu, kdy dojde k oxidaci či redukci se tato reakce projeví na křivce jako pík, nebo v opačném případě jako pokles proudu. Jednotlivé měření proudu probíhá vždy během posledních 25 % intervalu každého kroku. Jednotlivý počet provedených potenciálových kroků lze vypočítat z rovnice (1.1) [6].

$$\frac{E_{end} - E_{begin}}{E_{step}} + 1 \quad (1.1)$$

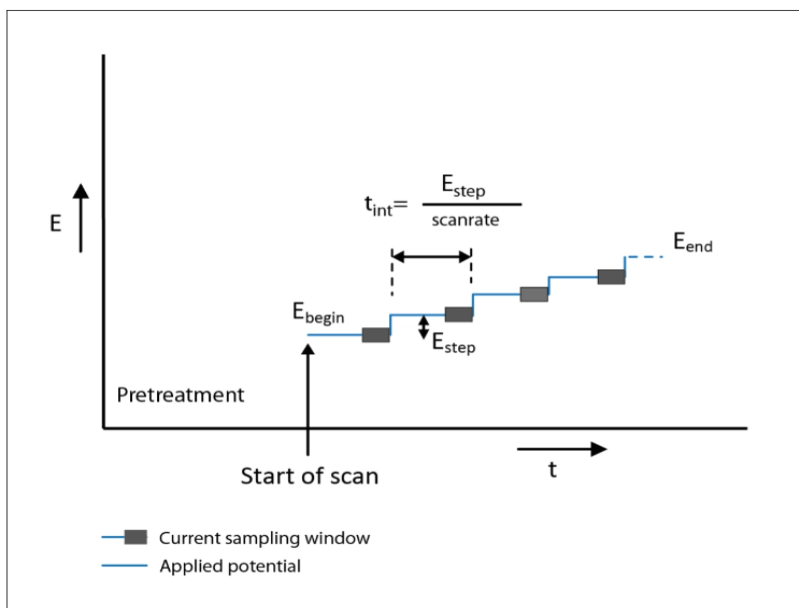
Kde:

E_{end} [V] Konečný potenciál

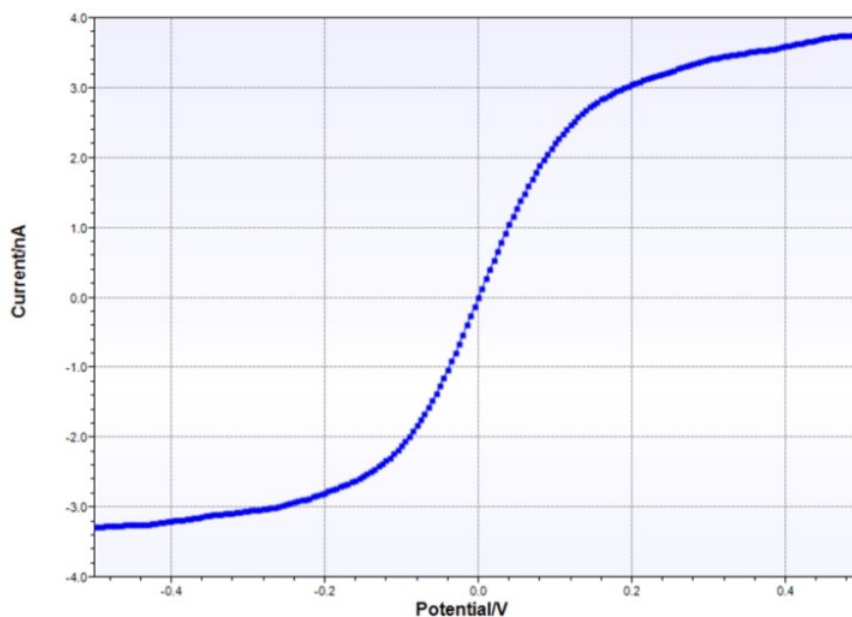
E_{begin} [V] Počáteční potenciál

E_{step} [V] Potenciálový krok

Scan rate – rychlost polarizace se udává v V/s, určuje dobu mezi dvěma kroky a dobu vzorkování. Doba intervalu lze následně vypočítat pomocí rovnice uvedené na obrázku průběhu aplikovaného potenciálu (Obr.1.1). Typickou výslednou křivku voltamogramu při LSV lze vidět na (Obr.1.2) [6].



Obr. 1.1: Aplikovaný potenciál během linear-sweep voltametrie [6].



Obr. 1.2: Zobrazení typické křivky pro LSV [6].

Během této metody je důležité dbát na velikost měřeného proudu, jelikož při vysokých proudech může dojít ke zničení pracovní elektrody, a tím pádem dojde k znehodnocení měření, a také senzoru. Ovládací software PSTrace5, ve kterém bude probíhat i měření v praktické části, disponuje možností nastavení maxima měřeného proudu, a tím dojde k zastavení měření. Tímto je možné předejít zničení elektrod/senzoru [6].

1.1.2 Cyklická voltametrie

Metoda cyklické voltametrie (CV) je jednou z nejužívanějších elektrochemických metod, která se používá k charakterizaci elektrochemických reakcí a elektrochemických vlastností materiálu. Výsledná křivka cyklické voltametrie je charakteristická svým tvarem, kdy se měří proud (tok elektronů) v závislosti na potenciálu (*Obr.1.3*). Měření potenciálu probíhá mezi pracovní a referenční elektrodou, a proud je měřen mezi pracovní a pomocnou elektrodou. Tato metoda je velmi podobná metodě LSV, liší se však v tom, že je potenciál měněn v obou směrech [4] [6] [8-9] [13].

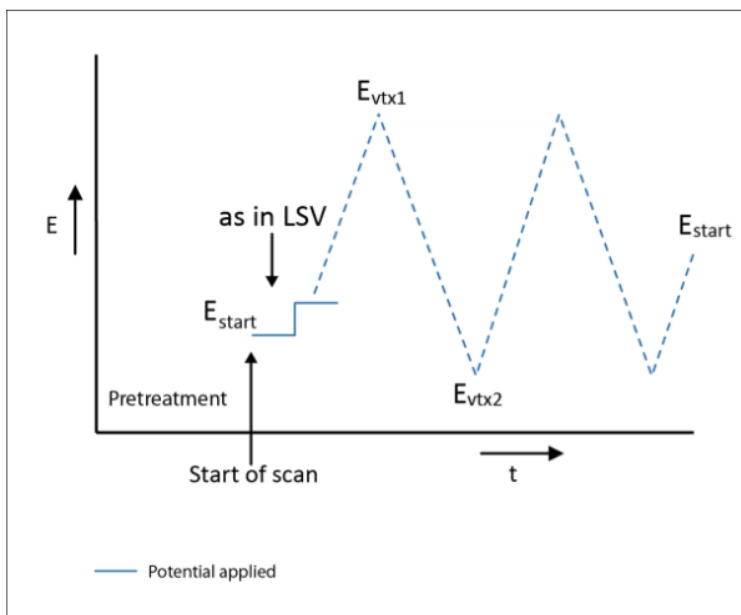
Naměřená data během cyklické voltametrie mohou posloužit k informaci o redoxních potenciálech, kinetice a reverzibilitě elektrodového děje, průběhu rychlosti elektrochemické reakce a určení množství daného množství zkoumané látky, protože píkova hodnota proudu je úměrná koncentraci zkoumané látky [4] [8-9].

Oproti LSV, se zde nevolí začátek a konec pro zvyšování potenciálu, ale volí se zde E_{vtx1} a E_{vtx2} , které udávají maximální a minimální hodnotu rozsahu potenciálů. Mezi těmito body následně probíhá potenciálový sken. Potenciálové skenování E_{begin} může začínat v jednom z těchto vrcholových bodů, nebo v libovolně zvoleném bodě mezi nimi [1] [6] [8-9].

Volí se zde také hodnota E_{step} , určující rychlost vzorkování měřeného proudu v závislosti na potenciálu a hodnota rychlosti polarizace (Scan rate – V/s) udávající dobu mezi dvěma kroky. Měření proudu se opět provádí v 25 % intervalu každého kroku [6].

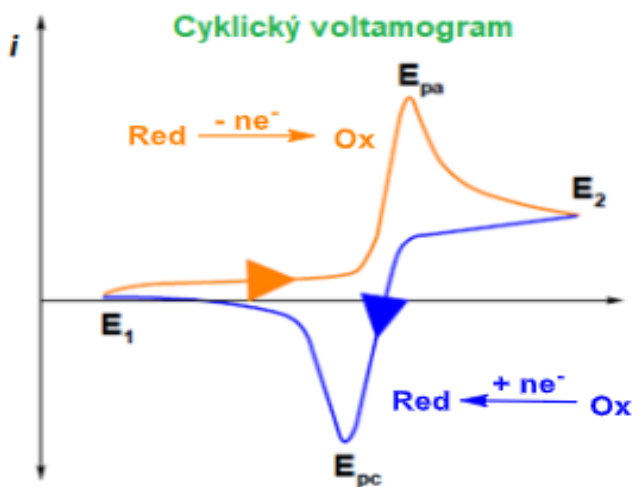
Výsledná křivka cyklické voltametrie je ovlivňovaná také rychlostí skenování ve V/s, což je doba vzorkování (doba mezi dvěma kroky). Doba intervalu lze následně vypočítat jako $E_{step}/$ rychlost skenování [4] [6] [8].

Při této metodě, je také velmi důležité, aby proud nebyl příliš vysoký, jinak by došlo k nenávratnému zničení senzoru. Lze zde také nastavit maximální hodnotu proudu, oproti LSV nedojde k zastavení měření, ale dojde k obrácení směru skenování a snižování napětí [4] [6] [9].



Obr. 1.3: Průběh potenciálu při cyklické voltametii [6].

Cyklický voltammogram (CV) - cyklickou smyčka – je typická křivka pro reverzibilní pár. Při které se tvoří píky. Na přední i na zadní straně se tvoří píky, které mohou mít podobný tvar a pokud se jedná o plně reverzibilní pár, tak jejich velikosti budou shodné. V dopředné části (scanu) dochází k oxidaci analytu při potenciálu E_{pa} , kde při této hodnotě je „kladný“ pík anodického proudu. Při zpětné části (scanu), dochází k redukci analytu při E_{pc} , při této hodnotě je „záporný“ pík katodického proudu (Obr.1.4) [4] [9].



Obr. 1.4: Graf cyklické voltametrie, E_{pa} (V) – pík potenciálu anody, E_{pc} (V) – pík potenciálu katody [4].

Z polohy a výšky píků lze získávat kvantitativní a kvalitativní informace o zkoumané látce. Nicméně proudové píky jsou ovlivněny několika faktory, při kterých proudový pík roste: zvyšující Scan rate, zvýšená koncentrace analytu, zvětšená plocha elektrody, přenos více elektronů během redoxních dějů [4-5].

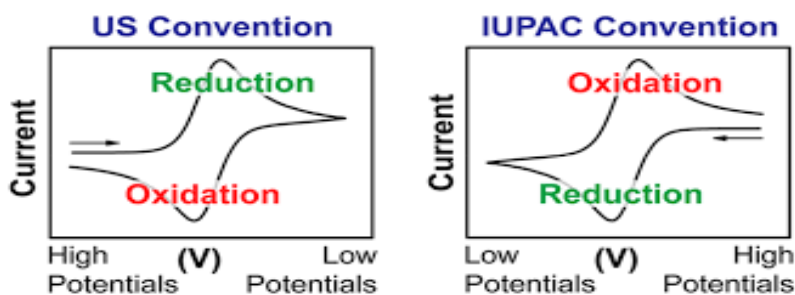
Hodnoty jednotlivých proudových píků odpovídají oxidované nebo redukované formě zkoumaného analytu. Čím vyšší koncentraci má zkoumaný analyt, tím vyšší proudový pík by měl být zaznamenán. Tvar CV je také ovlivněn rychlostí přenosu elektronů [4-5] [8] [9].

Během CV může docházet ke třem transportním dějům, pomocí kterých je řízen transport reaktantu/produktu k nebo od pracovní elektrody [4-5].

- Konvekce – Pohyb pomocí působením mechanických sil (míchání, sonifikace)
- Migrace – Pohyb iontů na základě působení elektrického pole (kladné ionty ke katodě, záporné ionty k anodě)
- Difúze – Pohyb řízen na základě koncentračního spádu. Ten je vyvolán na základě důsledků elektrolýzy, ta způsobuje úbytek elektrochemicky aktivní látky u povrchu elektrody. Transport látek probíhá z místa s vyšší koncentrací do místa s nižší koncentrací.

Děje, které se sledují během měření CV probíhají jen v difúzní vrstvě u povrchu pracovní elektrody. Nicméně difúze není schopná pokrýt úbytek látky v difúzní vrstvě elektrody způsobené elektrodovou reakcí, a proto lze na křivce sledovat po proudovém píku jeho pokles [4-5] [9].

Výslednou křivku CV je možné měřit podle dvou konvencí: USA a IUPAC. Rozdíl mezi těmito konvencemi spočívá v tom, že děje jsou zobrazovány opačně, a šipka indikuje start a směr skenování [4].



Obr. 1.5: Konvence cyklické voltametrie [5].

Důležitým faktorem je, zda elektrolýza probíhá difúzí nebo elektrodou reakcí. Píky katodického a anodického proudu jsou ovlivněné reverzibilitou nebo ireverzibilitou reakce. Pro měření koncentrace analytu se upřednostňuje difuze a při reverzibilním systému platí pro pík katodického a anodického proudu rovnice Randles-Ševčíkova rovnice (1.2) [9] [14-15]:

$$i_p = 0,4463nFAC \left(\frac{nFvD}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (1.2)$$

Kde:

- | | | |
|-------|-----|----------------------------|
| i_p | [A] | Maximální proud |
| n | [-] | Počet vyměněných elektronů |

A	[cm ²]	Plocha elektrody
F	[C·mol ⁻¹]	Faradayova konstanta
D	[cm ² /s]	Difúzní koeficient
C	[mol/cm ³]	Koncentrace
v	[V/s]	Rychlost skenování
R	[J·K ⁻¹ ·mol ⁻¹]	Molární plynová konstanta
T	[K]	Teplota

Pro reverzibilní elektrodový děj také platí, že výška anodického a katodického píku je přibližně stejná. Rozdíl těchto potenciálů se dá vypočítat pomocí rovnice (1.3). Nejčastěji se tato hodnota pohybuje okolo 59 mV, nicméně se vyskytují i případy, že tento rozdíl je okolo 70 mV. Tento rozdíl vzniká na základě rychlosti difúze vzorku [14-15].

$$\Delta E_p = |E_{p,c} - E_{p,a}| = \frac{RT}{nF} \quad (1.3)$$

Kde:

T	[K]	Termodynamická teplota
R	[8,314 J·K ⁻¹ ·mol ⁻¹]	Molární plynová konstanta
n	[-]	Počet vyměněných elektronů
F	[96,49 kC·mol ⁻¹]	Faradayova konstanta
E_{pc}	[V]	Pík potenciálu katody
E_{pa}	[V]	Pík potenciálu anody

Pokud se jedná o ireverzibilní systém, hodnoty píku proudů mohou být pouze naznačené a proud je v tomto případě dán Berzins-Delahayovou rovnicí (1.4) [14-15]:

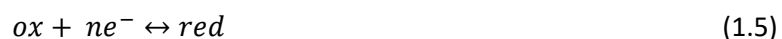
$$i_p = 0,6105c \frac{(nF)^{\frac{3}{2}}}{(RT)^{\frac{1}{2}}} \cdot (Dv)^{\frac{1}{2}} \quad (1.4)$$

Kde:

I_p	[A]	Maximální proud
----------------------	-----	-----------------

n	[-]	Počet vyměněných elektronů
F	[96,49 kC·mol ⁻¹]	Faradayova konstanta
A	[cm ²]	Plocha elektrody
c	[mol·cm ³]	Koncentrace zkoumaného analytu
v	[V/s]	Skenovací rychlost
T	[K]	Termodynamická teplota
R	[8,314 J·K ⁻¹ ·mol ⁻¹]	Molární plynová konstanta
D	[cm ² ·s ⁻¹]	Koeficient difúze

Heterogenní elektrochemická reakce lze popsat pomocí rovnice (1.5), pomocí které dochází k přenosu elektrického náboje přes rozhraní pevné fáze a elektrolytu [4].



Kde:

ox	Oxidovaná forma elektrochemické látky
n	Počet vyměněných elektronů
red	Redukovaná forma elektrochemické látky

Potenciál na povrchu pracovní elektrody je dán Nernstovou rovnicí (1.6). Jedná se o popis rovnováhy redoxní formy v elektrochemickém ději, tedy potenciál elektrochemického článku k aktivitě elektroaktivního redoxního páru, za podmínek že je systém v rovnováze [4-5].

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{ox}}{a_{red}} \quad (1.6)$$

Kde:

E⁰	[V]	Standartní elektrodový potenciál
R	[8,314 J·K ⁻¹ ·mol ⁻¹]	Molární plynová konstanta
T	[K]	Teplota
n	[-]	Počet vyměněných elektronů

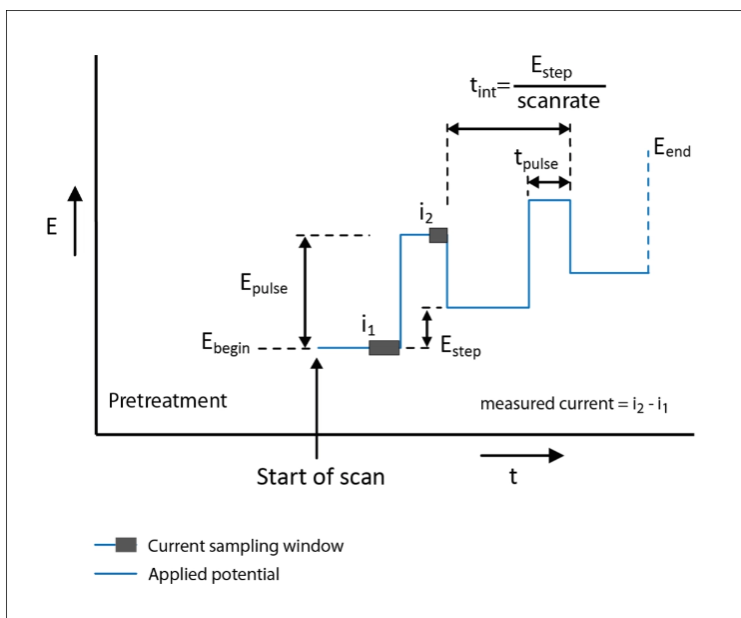
F [96,49 kC·mol⁻¹] Faradayova konstanta

$a_{\text{ox/red}}$ [-] Aktivita oxidované nebo redukované formy

Pokud je na pracovní elektrodě právě jedna polovina oxidované formy zredukována (koncentrace oxidované a redukované formy je rovnovážná), tak je elektrodový potenciál celý rovný formálnímu potenciálu měřeného redoxního děje [4].

1.1.3 Diferenční pulzní voltametrie

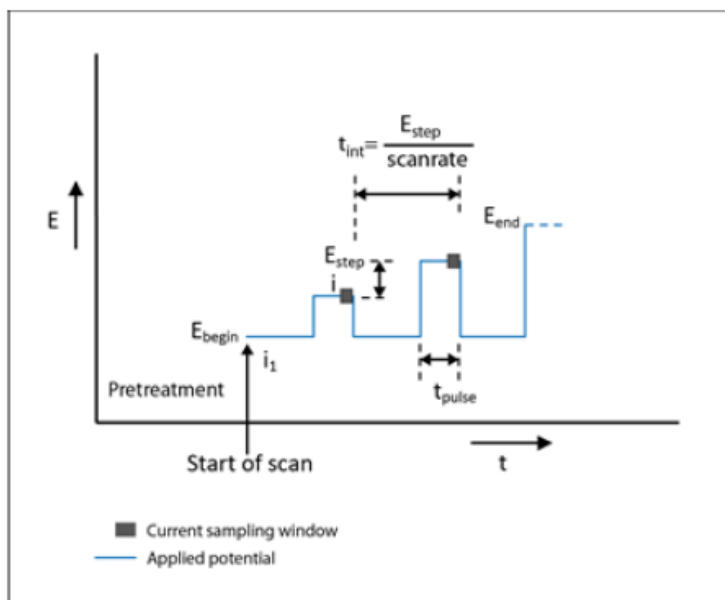
Během diferenční pulzní (differential pulse voltammetry – DPV) voltametrie dochází k aplikování pulzů s konstantní amplitudou potenciálu, které se následně skládají na sebe (Obr.1.6). Amplituda aplikovaného potenciálu se pohybuje v rozmezí 5–50 mV, který je v dalším kroku aplikován o E_{step} . Během měření dochází ke dvojímu vzorkování proudu, jednou před aplikováním impulsu a následně na konci impulsu. Následně rozdíl těchto dvou vzorků proudu je vykreslený v závislosti na potenciálu. Výsledný naměřený proud je úměrný derivaci křivky LSV nebo NPV. Při této metodě poloha píku na potenciálové ose závisí na druhu analytu a výška na koncentraci analytu [6] [13].



Obr. 1.6: Aplikovaný potenciál během DPV [6].

1.1.4 Normal pulse voltametrie

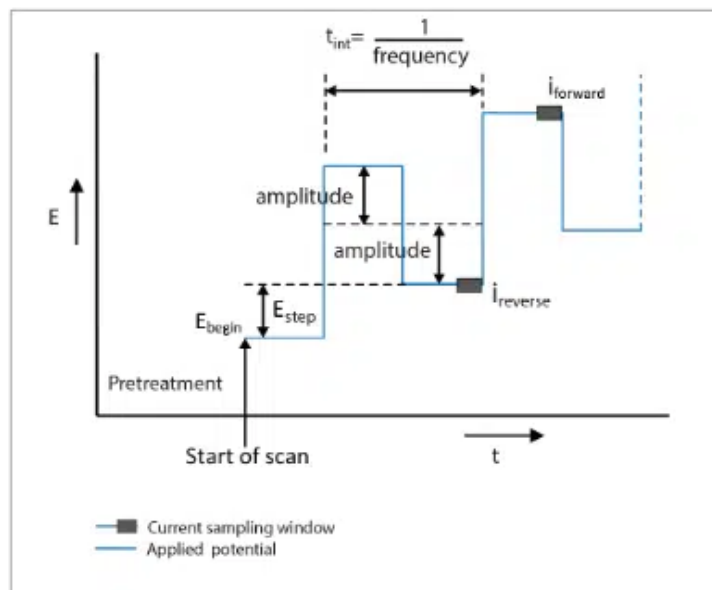
Normální pulzní voltametrie (Normal pulse voltammetry – NPV) je metoda velmi podobná LSV, oproti té je NPV citlivější, protože je při této metodě odstraněn vliv omezení difúze na výslednou křivku. Během skenování jsou aplikované impulsy, první impuls se rovná E_{step} , při dalším impulsu dvojnásobku E_{step} a takto až do konce (Obr 1.7). Snímání proudu během aplikovaného pulsu probíhá před koncem impulsu a v průběhu měření dochází k jeho zvyšování [6].



Obr. 1.7: Aplikovaný potenciál během NPV [6].

1.1.5 Voltametrie se čtvercovou vlnou

Ve své podstatě je voltametrie se čtvercovou vlnou (Square wave voltammetry – SWV) speciální verzí DPV, kdy se čas aplikovaného pulsu potenciálu rovná polovině času mezi dvěma pulzy za sebou (Obr.1.8). Amplituda aplikovaného potenciálu se v tomto případě pohybuje v rozmezí 5–25 mV v ojedinělých případech 50 mV. Metoda se využívá k měření rychlosti elektrodové reakce [6] [10].

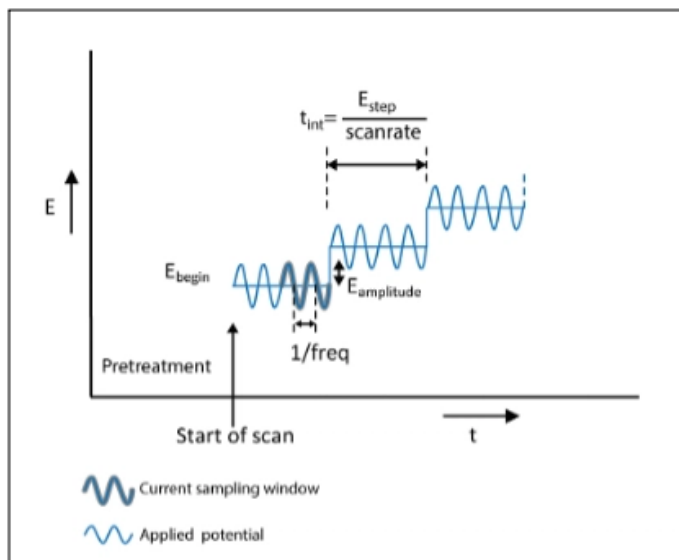


Obr. 1.8: Aplikovaný potenciál během SWV [6].

1.1.6 Střídavá voltametrie

Při měření střídavé voltametrie (AC Voltammetry) dochází ke skenování potenciálu pomocí sinusové vlny s relativně malou amplitudou, které jsou na sebe postupně kladené (Obr.1.9). Sinusová vlna má relativně malou amplitudu v rámci 5-10 mV a o frekvenci 10–250 Hz [6].

Výsledkem střídavého signálu superponovaného na stejnosměrný potenciál je střídavá proudová odezva [6].



Obr. 1.9: Aplikovaný potenciál během AC voltametrie [6].

1.2 Amperometrie

Amperometrie je další elektrochemickou metodou, jako je voltametrie. Při amperometrii se měří difusní elektrolytický proud mezi pracovní a pomocnou elektrodou při konstantním potenciálu, který je udržován na elektrodě pomocí externího zdroje napětí. Hodnota přiváděného potenciálu na pracovní elektrodu je blízká redoxní hodnotě potenciálu zkoumané látky. Následně dochází k oxidaci či redukci analytu. Tyto reakce vyvolají elektrický proud, který se mění v čase. Velikost proudových píků v přítomnosti zkoumaného analytu je úměrná jeho koncentraci [3] [6] [8] [10].

Stejně jako u voltametrie existuje více typů amperometrie, titrace a přímá amperometrie. V praxi se nejčastěji tyto metody používají pro detekci iontů v roztoku na základě elektrického proudu a jeho změn. Používá se také pro měření hladiny kyslíku v roztoku nebo enzymatických reakcí v roztoku [3] [6] [8].

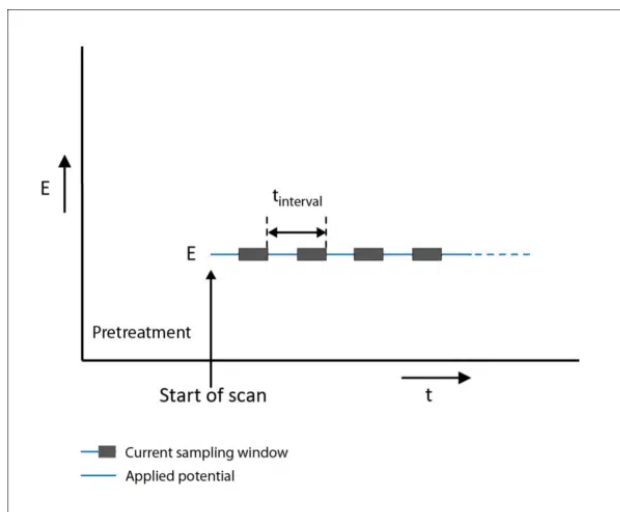
Při titraci se stanovuje bod ekvivalence na základě měření změny intenzity elektrického proudu, který je závislý na množství objemu přidávaného titračního činidla [3] [6] [8].

1.2.1 Chronoamperometrie

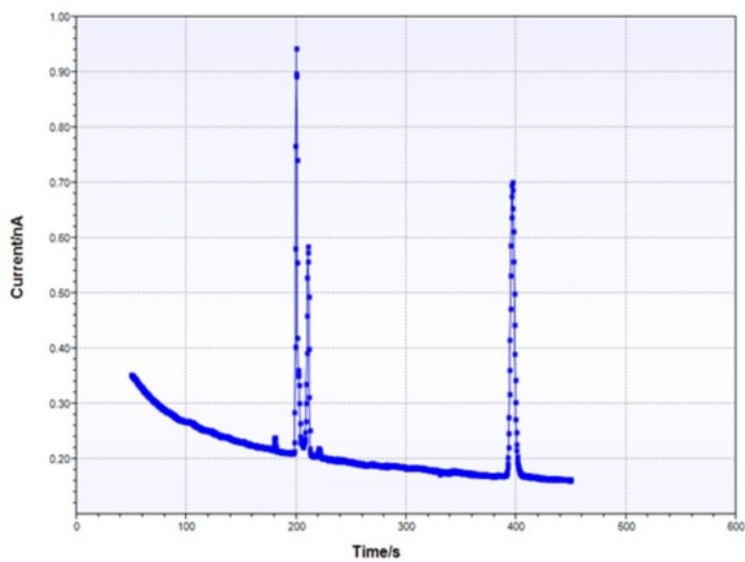
Chronoamperometrie je jednou z nejpoužívanějších elektrochemických měřících technik. Používá se zejména k detekci glukózy nebo kyslíku. Při chronoamperometrii dochází k aplikaci konstantního potenciálu na pracovní elektrodu, a proud je následně snímán v konstantních časových intervalech (Obr.1.10). Aplikovaný konstantní potenciál na pracovní elektrodu, by měl být takový, aby při něm docházelo k redoxním reakcím. Následně jsou tyto elektrochemické reakce zaznamenávány ve formě

proudových píků (Obr.1.11). Výsledný signál je pak dělen kalibračním faktorem, a tím je získaná koncentrace zkoumaného analytu v roztoku [6].

Metoda je navržena pro průtokové cely nebo průtokovou injekční celou (FIA). Při průtokové cele jsou výsledkem proudové hladiny v závislosti na koncentraci, při metodě FIA se ukazují proudové špičky [6].



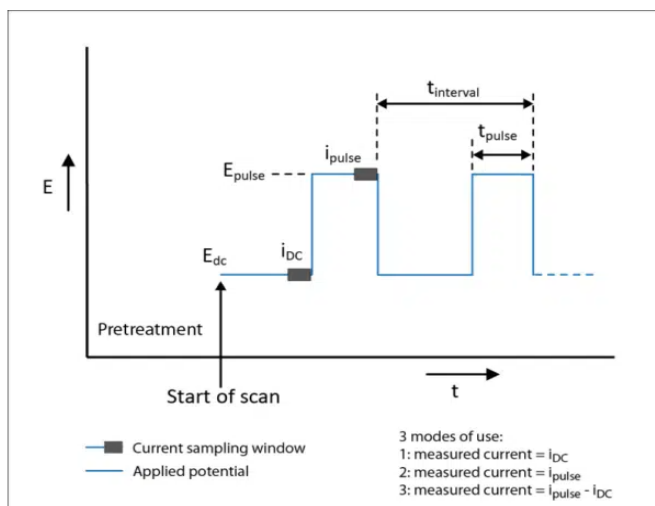
Obr. 1.10: Aplikovaný potenciál při chronoamperometrii [6].



Obr. 1.11: Křivka při chronoamperometrii [6].

1.2.2 Pulzní amperometrická detekce

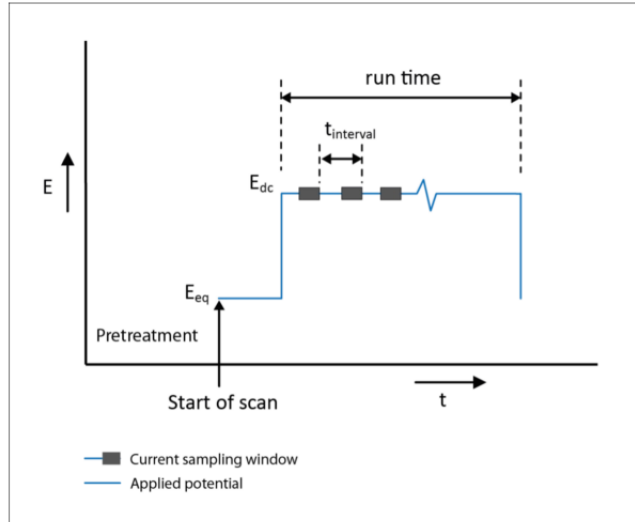
Pulzní amperometrická detekce (Pulsed amperometric detection – PAD) je metoda sloužící k detekci sacharidů a polyalkoholů. Nicméně při použití těchto sloučenin dochází ke znečišťování povrchu pracovní elektrod. Její čištění je tedy zařízeno aplikací periodicky se opakujících pulsů (Obr.1.12), pomocí kterých dochází k očišťování pracovní elektrody od nečistot. Pokud by nedocházelo k aplikaci těchto pulsů, bylo by následně kvůli znečištění povrchu elektrody, stěžejní detekovat potřebné sloučeniny. Kvůli použití pulsů dochází ke snímání proudu ve dvou fázích, první snímání je provedeno těsně před impulsem a druhé snímání je provedeno na konci impulsu [6].



Obr. 1.12: Aplikovaný potenciál a pulsy při PAD [6].

1.2.3 Rychlá amperometrie

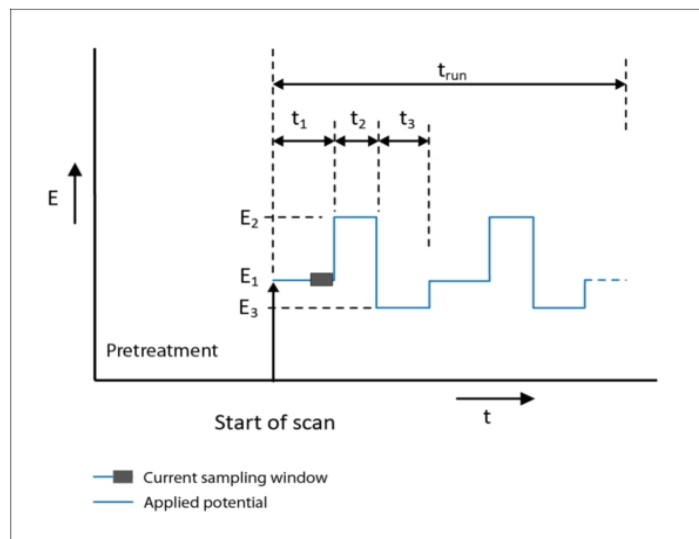
Při zvolení rychlé amperometrie (fast amperometry – FA) dochází ke změně doby vzorkování (Obr.1.13), tím dojde k celému zkrácení doby délky měření. Jedná se ve své podstatě o metodu chronoamperometrie s rozdílem délky měření, kdy měření FA je mnohem rychlejší (1 ms – 30 s) a s rychlostí vzorkování (až 0,01 ms) [6].



Obr. 1.13: Aplikovaný potenciál během FA [6].

1.2.4 Vícenásobná pulzní amperometrie

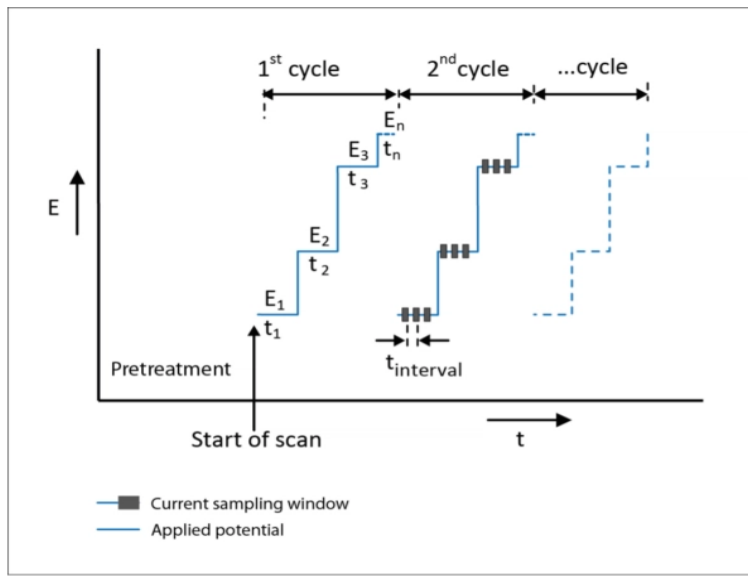
Vícenásobná pulzní amperometrie (Multiple-pulse amperometry – MPAD) je stejná jako metoda PAD s rozdílem toho, že při této metodě se aplikuje více pulzů (Obr.1.14). Tato metoda se používá ke zvýšení citlivosti, kdy při použití pulzů dochází ke zvýšení faradických proudů a průběžné regeneraci povrchu elektrody pomocí odstraňování nečistot [6].



Obr. 1.14: Aplikovaný potenciál a pulsy při MPAD [6].

1.2.5 Vícestupňová amperometrie

Při vícestupňové amperometrii (Multistep amperometry – MA) si uživatel zvolí počet potenciálových kroků s dobou každého kroku, které chce následně aplikovat (Obr.1.15). Volí se zde také počáteční a koncová hodnota. Proud je průběžně vzorkován se zadaným intervalem. Toto měření může probíhat v několika cyklech [6].



Obr. 1.15: Aplikovaný potenciál během MA [6].

Praktická část

2 Cyklická voltametrie pro vybrané typy senzorů

Pomocí cyklické voltametrie se mohou zkoumat vlastnosti elektrochemických senzorů. Proto se tato metoda začala často používat pro výzkum a vývoj nových elektrochemických senzorů, zároveň ale také pro kvalitu a kalibraci senzorů ve výrobě. Důležitým parametrem při výrobě parametrů hraje velikost elektrod a také zvolený materiál, ze kterého jsou elektrody vyrobeny. Na základě použitého materiálu elektrod se odlišují měření cyklické voltametrie. Pro měření byly zvoleny elektrochemické senzory od společnosti BVT Technologies (2.1.3).

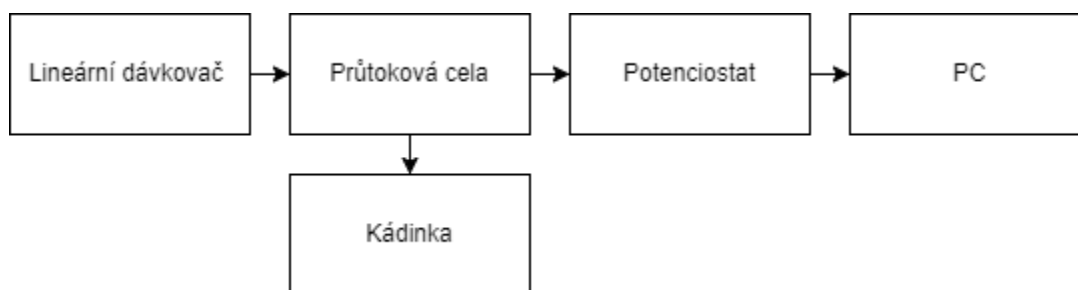
Cyklická voltametrie, je blíže popsána v podkapitole (1.1.2). Pomocí této metody lze zkoumat aspekty elektrochemických reakcí, například rychlost reakce, reverzibilitu, kinetiku studované reakce, stabilitu elektrochemických systémů a proudovou odezvu elektrody na různé potenciály [3].

Bude provedeno měření CV pro vybrané senzory s odlišným materiálem pracovních elektrod. Na základě těchto měření bude ověřena vodivost daných senzorů, vliv zvolených parametrů v programu PSTrace5 během měření a následné porovnání výsledků mezi jednotlivými senzory.

Celé měření bude probíhat na měřícím okruhu (2.1) pomocí potenciostatu PalmSens4 se řídicím programem PSTrace5.

2.1 Měřicí okruh

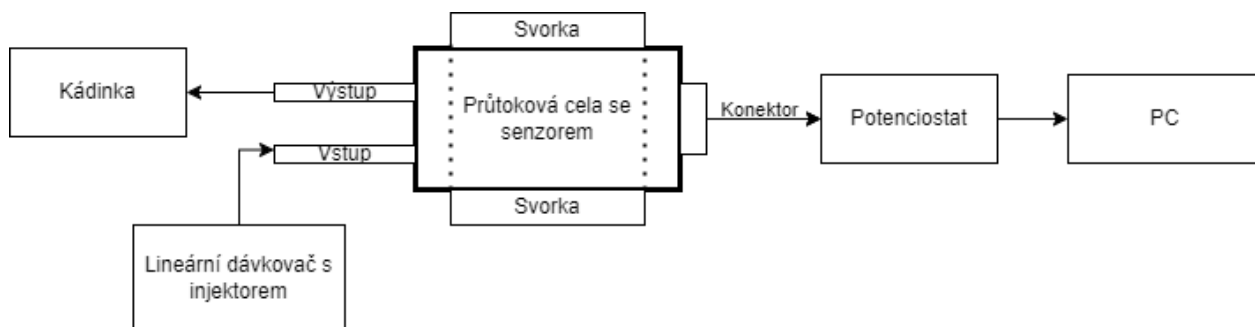
Měřicí okruh sestává z několika základních částí, lineárního dávkovače s injektorem, průtokové cely, potenciostatu PalmSens4 a počítače se softwarem PSTrace5.



Obr. 2.1: Základní blokové schéma měřícího okruhu.

Měřicí okruh (Obr.2.1) začíná lineárním dávkovačem, ve kterém je vložen injektor (100 ml) s fyziologickým roztokem 0,9 % NaCl. Pomocí lineárního dávkovače je fyziologický roztok mechanicky stlačován a tím vháněn do měřícího okruhu. Pomocí mikro hadičky je propojen injektor s průtokovou celou na jeden výstup cely, kterou je přiváděn roztok do průtokové cely. Průtoková cela, ve které je umístěn

senzor, je upevněná na stojanu pomocí svorek pro omezení nechtěného pohybu s celou během měření. Na druhý výstup cely je připojena druhá mikro hadička, která druhým koncem ústí do kádinky pro odvod roztoku. Nasazení hadiček na průtokovou celu je libovolné, jelikož tyto výstupy jsou pro přívod a odvod roztoku k pracovní ploše senzoru. Na průtokovou celu je pevně připojen konektor, který slouží k připojení průtokové cely k potenciostatu. Pomocí USB/Bluetooth je potenciostat připojen k počítači se softwarem PSTrace5 (Obr.2.2).



Obr. 2.2: Blokové schéma zapojené průtokové cely.

2.1.1 Lineární dávkovač

K stabilnímu průtoku bude využit lineární dávkovač AJ 5803 od firmy Angel (Obr.2.3). Jedná se o mikro-infuzní pumpu vybavenou alarmy pro signalizaci vyprázdnění stříkačky a dokončení infuze, taktéž pro mechanickou chybu či nízký stav baterie [10] [16].

Pumpa mechanicky stlačuje injektor o volitelném objemu od 20 až 100 ml. Na pumpě lze nastavit pomocí tlačítek rychlost dávkování na základě zvolené velikosti injektoru. Rozsah rychlosti infuze je v rozmezí 0,1 - 1500 ml/h v závislosti na velikosti injektoru. Přesnost dávkování se pohybuje $\pm 5\%$. Pro měření je zvolena injekční stříkačka o objemu 100 ml se zakončením luer-lockem [16].

Tento lineární dávkovač se používá v praxi pro pohotovostní a ambulantní léčbu. Používá se také pro podávání anestetické injekce, intravenózních antibiotik a při chemoterapii [16].



Obr. 2.3: Lineární dávkovač AJ 5803 ANGEL.

2.1.2 Průtoková cela

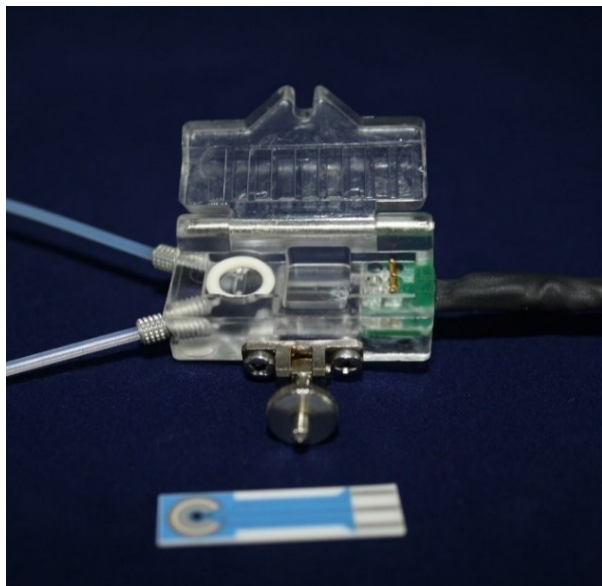
Zvolení průtokové cely od společnosti BVT Technologies (Obr.2.4) bylo na základě používaných senzorů od stejné společnosti. Průtoková cela je vhodně navržená pro daný typ senzorů, a není ji nutné, jakkoliv upravovat. Fyzikální parametry průtokové cely jsou následně uvedeny (Tab.2.1).

Do průtokové cely je vložen zvolený senzor, který je následně uzavřen pomocí dvířek. Cela je navržená tak, aby se v ní nehromadily vzduchové bubliny. Je k ní také připojen kontaktní výstupní kabel.

Průtoková cela slouží především k fixaci senzoru a přívodu nosné kapaliny se zkoumaným analytem na povrch elektrod a následně jeho odvodu [17].

Tab. 2.1: Fyzikální parametry průtokové cely od BVT Technologies [17].

Hmotnost [g]	11
Délka [mm]	42
Šířka [mm]	24
Tloušťka [mm]	16



Obr. 2.4: Průtoková cela od BVT Technologies [17].

2.1.3 Senzory

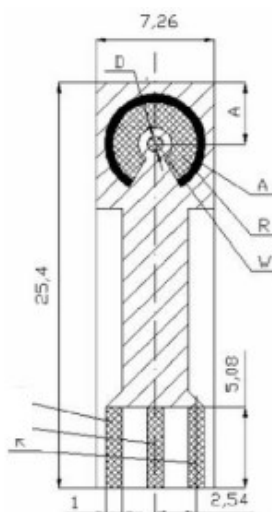
Pro testování byly zvoleny dva komerční senzory. Senzory byly dodány společností BVT Technologies. Tyto senzory jsou určené pro elektrochemické měření, a je možné na nich provést také imobilizaci enzymu, která se používá k detekci specifických analytů v roztoku, například glukózy. Rozdíl senzorů je v materiálu pracovní a pomocné elektrody. V prvním případě se jedná o senzor s platinovou pracovní elektrodou a v druhém případě se zlatou pracovní elektrodou. V obou případech referenční elektrodu tvoří stříbro a pomocnou elektrodu tvoří stejný materiál, ze kterého je vyrobená pracovní elektroda.

Jedná se o typ senzorů AC1.W*.R* (Obr.2.5 a Obr.2.6). Kde W* označuje materiál pracovní elektrody a R* označuje materiál referenční elektrody, ze které byly vyrobeny [18].

Jde o tříelektrodivý systém, kde na konci snímače je kontaktní část spojená s aktivní částí stříbrnými vodivými cestami, které jsou pokryté ochrannou dielektrickou vrstvou. Tyto senzory budou dále v práci označovány jako senzor_Au (senzor se zlatou pracovní elektrodou) a senzor_Pt (senzor s platinovou pracovní elektrodou) [18].

Tab. 2.2: Parametry komerčních senzorů AC1.W*.R* [18].

	Senzor_Au	Senzor_Pt
Materiál pracovní elektrody (WE)	Zlato	Platina
Materiál referenční elektrody (RE)	Stříbro	
Materiál pomocná elektrody (CE)	Zlato	Platina
Průměr pracovní elektrody [mm]	1	
Délka senzoru [mm]	25,4	
Šířka senzoru [mm]	7,26	
Tloušťka senzoru [mm]	0,63	
Váha senzoru [g]	0,5	



Obr. 2.5: Senzor AC1.W*.R* od BVT Technologies (upraveno) [18].



Obr. 2.6: Vybrané senzory k měření.

2.1.4 Potenciostat

Potenciostat se používá pro elektrochemická měření. Potenciostatem se řídí rozdíl napětí mezi pracovní elektrodou (WE) a referenční elektrodou (RE), a proud se měří mezi WE a CE.

Celé měření bude probíhat pomocí potenciostatu PalmSens4 (Obr.2.7). Potenciostat se vyrábí ve dvou variantách s velkým potenciálovým rozsahem (-5 V až 5 V nebo -10 V až -10 V) a proudovým rozsahem (100 pA až 100 mA). Disponuje také vysokým rozlišením a nízkým šumem. Napájení zařízení je prostřednictvím USB a baterií [6].

Tab. 2.3: Parametry potenciostatu PalmSens4 [6].

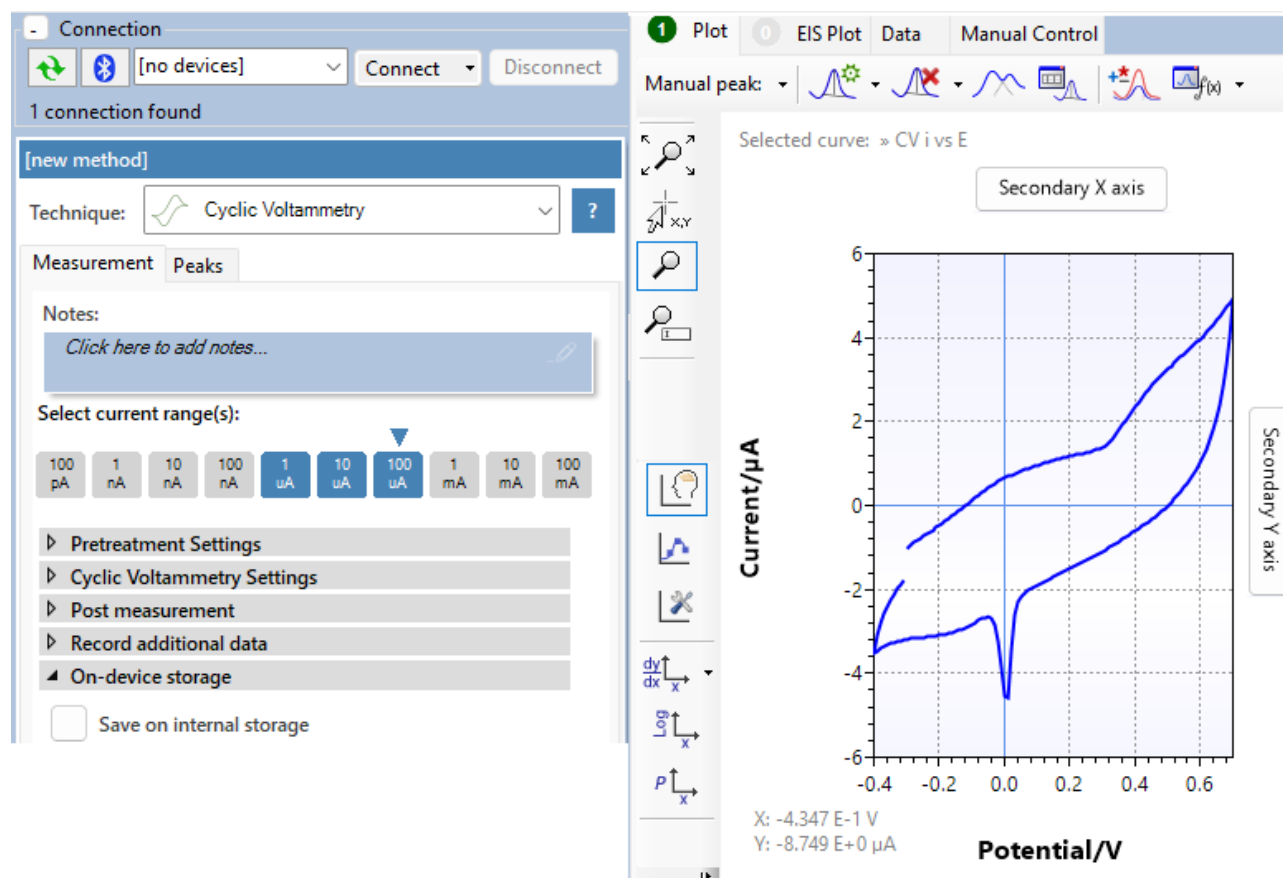
Rozsah potenciálu	-10 V až 10 V
Rozsah proudu	100 pA až 100 mA
Přesnost měřeného proudu	± 0,005 % proudového rozsahu
Přesnost aplikované potenciálu	± 1 mV

Potenciostat je zároveň dodáván s měřícím softwarem PSTrace 5, který umožňuje provést cyklickou voltametrii. K programu se lze lehce připojit pomocí USB, nebo pomocí Bluetooth [6].



Obr. 2.7: Potenciostat PalmSens [6].

Program **PSTrace5** (Obr.2.8) má tři režimy: vědeckým režimem, který umožňuje spuštění techniky přístroje, specializovaný režim pro analýzu koroze a analytický režim. Analytický režim je určen pro práci s (bio)senzory a pro stanovení koncentrace zkoumaných analytů. Skriptovací okno umožňuje provádění experimentů, které umožňuje automatizované dávkové měření. Program také disponuje řadou různých funkcí pro detekci jednotlivých křivek a píku [6].



Obr. 2.8: Uživatelské rozhraní PSTrace5.

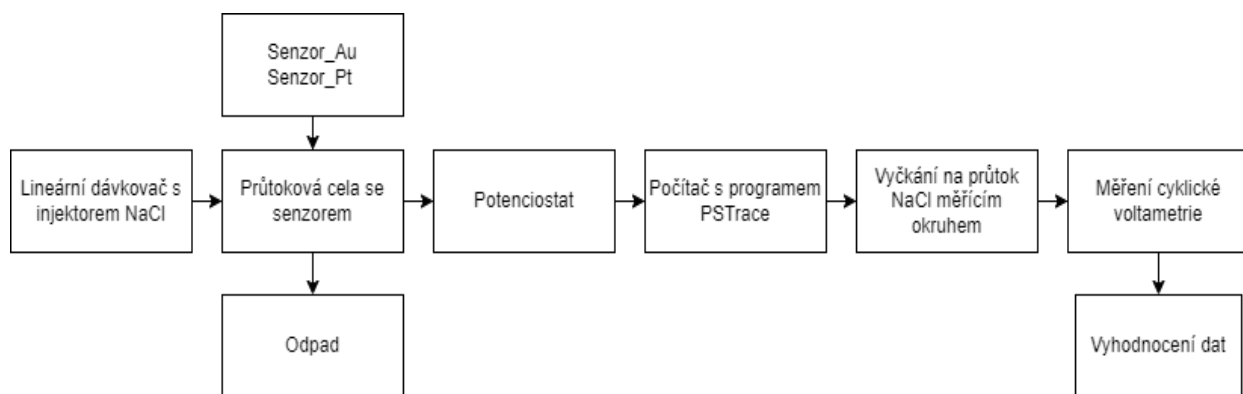
2.2 Zapojení měřicího okruhu

Správné zapojení měřicího okruhu je jedním z důležitých kroků pro provedení měření cyklické voltametrie. Správným zapojením měřicího okruhu se dá předcházet nesprávným výsledkům. Klíčové je zvolení komponentů pro měření: potenciostat, senzory/elektrody, elektrolyt a analyt, program pro záznam dat a k jejich následnému zpracování.

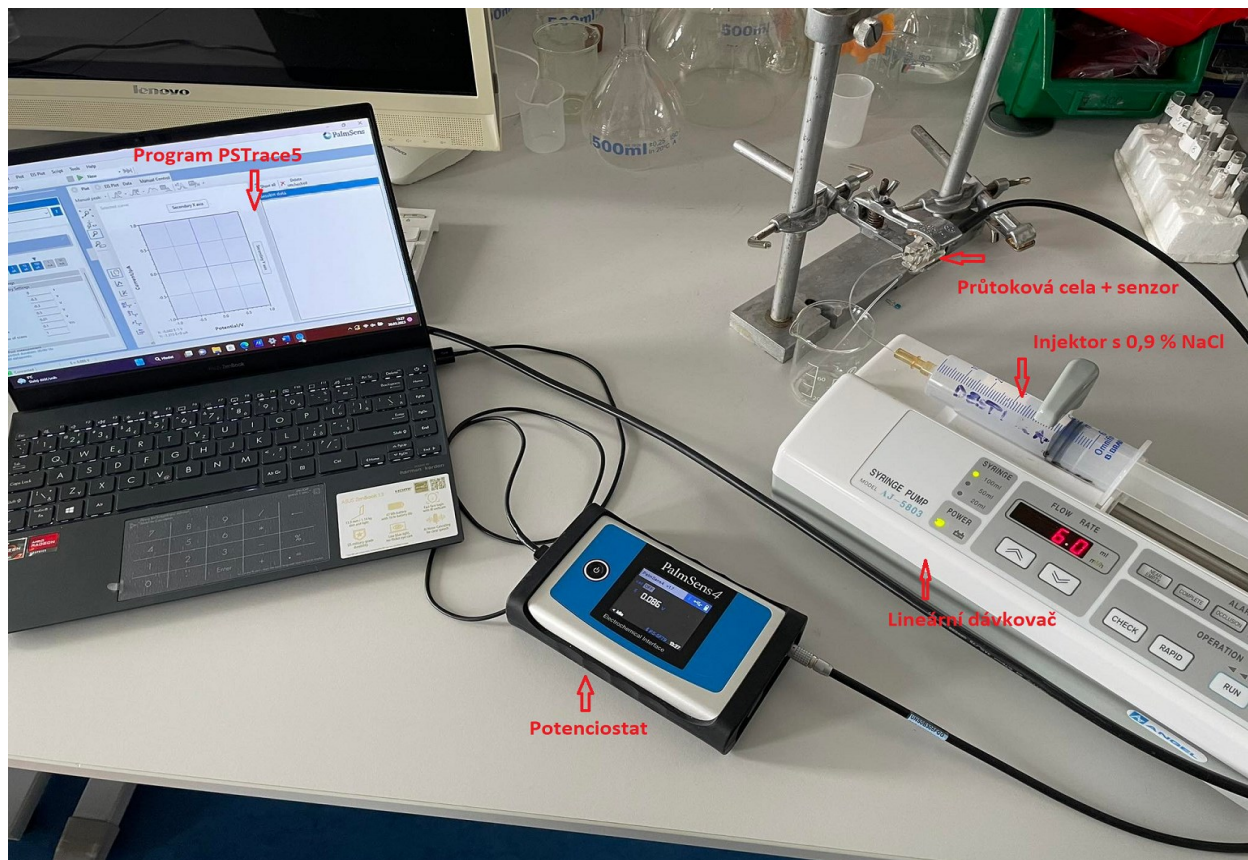
První krok je zvolení senzoru pro měření cyklické voltametrie. Po zvolení senzoru, je sensor umístěn do průtokové cely, ve které je uzavřen pomocí dvířek a zafixován. Celou průtokovou celu je nutné upevnit do stojanu pomocí držáků, aby se předešlo pohybovým artefaktům způsobených manipulací s celou v průběhu měření. Po upevnění průtokové cely do stojanu, je nabrán fyziologický roztok 0,9 % NaCl do injekční stříkačky o objemu 100 ml. Naplněná stříkačka je vložena do lineárního dávkovače.

Na výstup injekční stříkačky v lineárním dávkovači je luer-lockem připojena mikro hadička, která je druhým koncem pomocí násadce přivedena na jeden z výstupů průtokové cely. Průtoková cela disponuje dvěma výstupy, přičemž nezáleží, na který výstup je přivedena hadička, kterou je přiváděn roztok do cely. Výstupy průtokové cely jsou pro přívod a následný odvod roztoku. Po přivedení hadičky na výstup průtokové cely (opět pomocí násadce), je hadička na druhém výstupu vložena do prázdné kádinky, do které je odváděn roztok po průtoku měřicím okruhem.

K průtokové cele, ve které je uložen sensor, je pomocí konektoru připojen potenciostat PalmSens4, který je následně připojen k počítači se softwarem PSTrace5 pomocí USB/Bluetooth.



Obr. 2.9: Blokové schéma měřicího okruhu.



Obr. 2.10: Zapojený měřicí okruh.

2.3 Postup měření

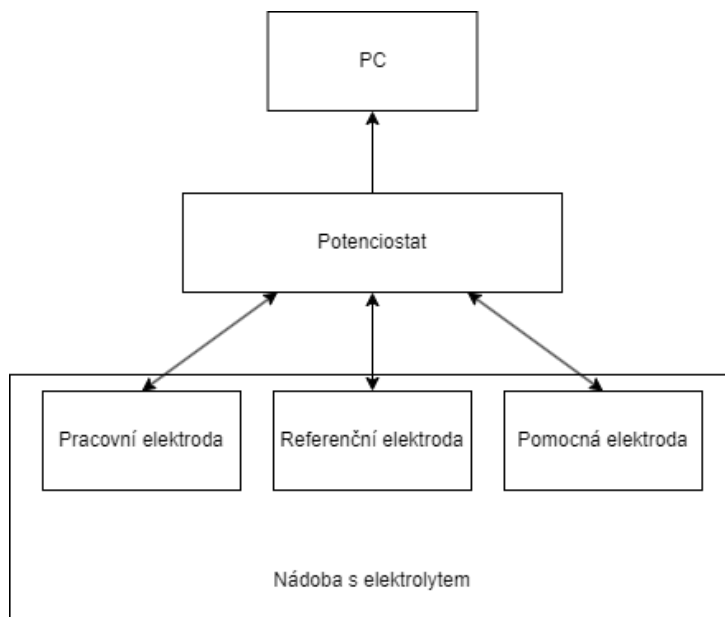
Důležitým parametrem pro měření cyklické voltametrie je zvolený rozsah aplikovaného napětí, během kterého bude probíhat měření. Je zde potřeba zvolit bezpečný napěťový rozsah tak, aby měření poskytovalo požadované informace o oxidaci a redukci, ale v bezpečném rozmezí, aby se předešlo tvoření kyslíku v kladných potenciálech, neboť dojde ke zničení elektrody (vznik stabilního oxidu na povrchu pracovní elektrody) a vzniku vodíku v záporných potenciálech, který může nadifundovat do povrchu elektrody.

Při cyklické voltametrii se mění potenciál na pracovní elektrodě vůči referenční elektrodě. Referenční elektroda musí mít konstantní potenciál a nepodléhat během měření polarizaci. Napěťový rozsah se tedy vztahuje vůči materiálu, ze kterého je vyrobená referenční elektroda (potenciál referenční elektrody).

2.3.1 Rozsah napětí

Zjištění bezpečného rozsahu napětí lze zjistit experimentální metodou, kdy se do nádoby s elektrolytem vloží elektroda/drát ze stejného materiálu jako je referenční elektroda. Dále je nutné vložit

do nádoby další dvě elektrody/dráty, ideálně z platiny (Obr.2.11). Platina je vhodná z důvodu toho, že je inertní kov a neměla by se nevhodnými podmínkami měření zničit. I přes to, že dva vybrané senzory pro měření (Tab.2.2), se liší materiálem pracovní elektrody, bude jejich potenciálový rozsah stejný, protože aplikovaný potenciál se nastavuje pouze vůči referenční elektrodě. Tedy na materiálu pracovní elektrody nezáleží.



Obr. 2.11: Blokové schéma experimentálního zjištění potenciálu.

Na jednotlivé elektrody se připojí potenciostat pomocí krokodýlků (jednotlivé krokodýlky jsou označeny písmeny, které určují jejich umístění W – pracovní, R – referenční, C – pomocná). Po zapojení se začne postupně navyšovat potenciál za účelem nalezení oblasti „plató“. V této oblasti má docházet k vývinu vodíku vlevo v katodické oblasti a zároveň k vývinu kyslíku vpravo v oxidační oblasti. Při nalezení této oblasti se zjistí bezpečné meze pro měření, kde nedojde ke zničení elektrod.

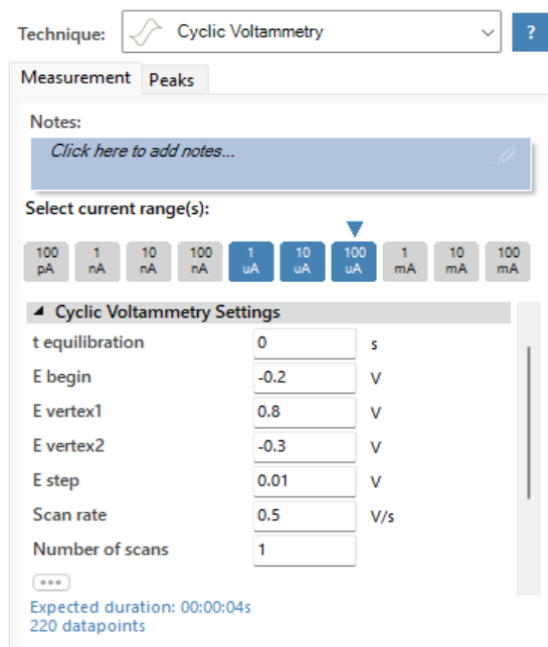
Po provedení měření za účelem zjištění bezpečné meze potenciálu, lze aplikovat zjištěný rozsah napětí. Pokud je použita jiná referenční elektroda, lze aplikovat stejný rozsah napětí, jen s následným posunutím na potenciálové ose o rozdíl redoxního potenciálu referenčních elektrod.

V případech komerčních senzorů bývá k dispozici data sheet (technická dokumentace dodávané výrobcem), ve kterých jsou uvedené veškeré informace o daném senzoru. V této práci jsou použité komerční senzory (2.1.3), ke kterým je dostupný data sheet [18]. V data sheetu je provedeno měření cyklické voltametrie za použití referenční elektrody z Ag/AgCl (65 % Ag + 35 % AgCl), jejíž potenciál je velmi blízký stříbrné elektrodě. Lze tedy použít a otestovat vhodnost uváděného rozsahu napětí.

2.3.2 Nastavení PStace5

Po zapojení měřicího okruhu, je potřeba zvolit parametry v programu PStace5 (Obr.2.12) – cyklickou voltametrii, rozsah měřeného proudu, rozsah aplikovaného napětí vůči referenční elektrodě, počátek skenování, rychlost vzorkování (E_{step}) a rychlost změny polarizace (Scan rate).

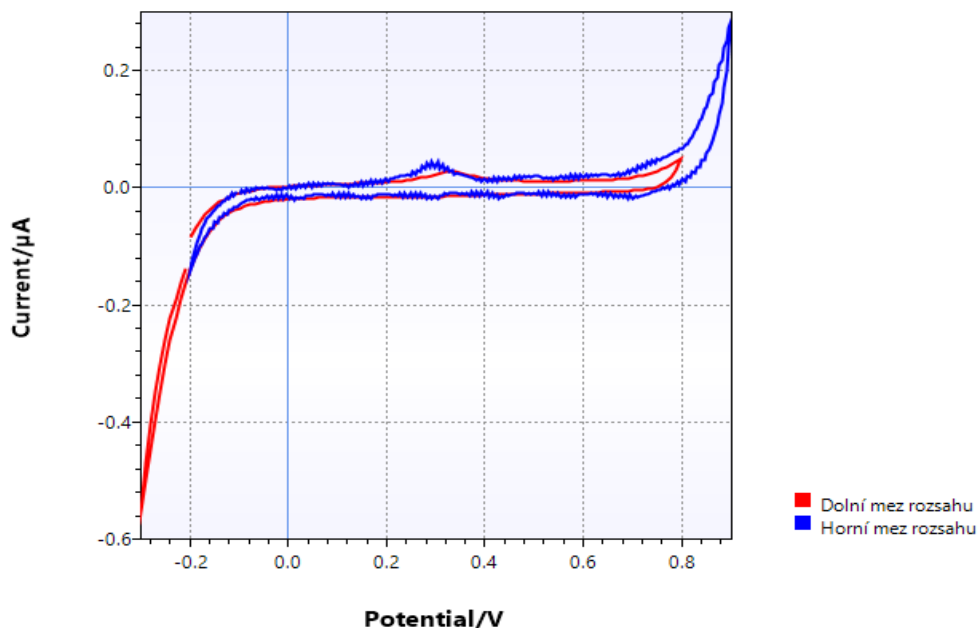
Tedy E_{vertex1} pro maximální hodnotu aplikovaného potenciálu, E_{vertex2} pro minimální hodnotu aplikované potenciálu. E_{begin} je hodnota potenciálu, při kterém se začíná zvyšovat potenciál až do hodnoty E_{vertex1} . Po dosažení maximálního hraničního potenciálu se směr potenciálové změny otočí a je snižován až do minimální hraniční hodnoty E_{vertex2} . E_{begin} může být zvolená v hraničních bodech zvoleného rozsahu, nebo v libovolném bodě mezi E_{vertex1} a E_{vertex2} . Při měření se volí také hodnota E_{step} , která ovlivňuje výsledný záznam křivky vzorkování. Nastavením hodnoty pro Scan rate se nastavuje rychlost změny potenciálu elektrody.



Obr. 2.12: Nastavované parametry CV.

Po nastavení všech potřebných hodnot, se nastavila průtoková rychlost na lineárním dávkovači na 6 ml/h, (tato hodnota byla zvolena na základě dřívějších prací, kde se hodnota průtokové rychlosti diskutovala s výrobcí průtokové cely a senzorů). Po zapnutí lineárního dávkovače se vyčkalo na průtok fyziologického roztoku celým okruhem. Jakmile roztok protéká celým měřicím okruhem, je možné provést měření.

Pro ověření zvoleného rozsahu (od - 0,3 V až + 0,8 V vs Ag RE) se provedlo měření pomocí senzor_Au, kde po překročení těchto hodnot byl zřetelný nárůst/pokles proudu (Obr.2.13).



Obr. 2.13: Ověření hraničního potenciálu (Potential vs Ag RE).

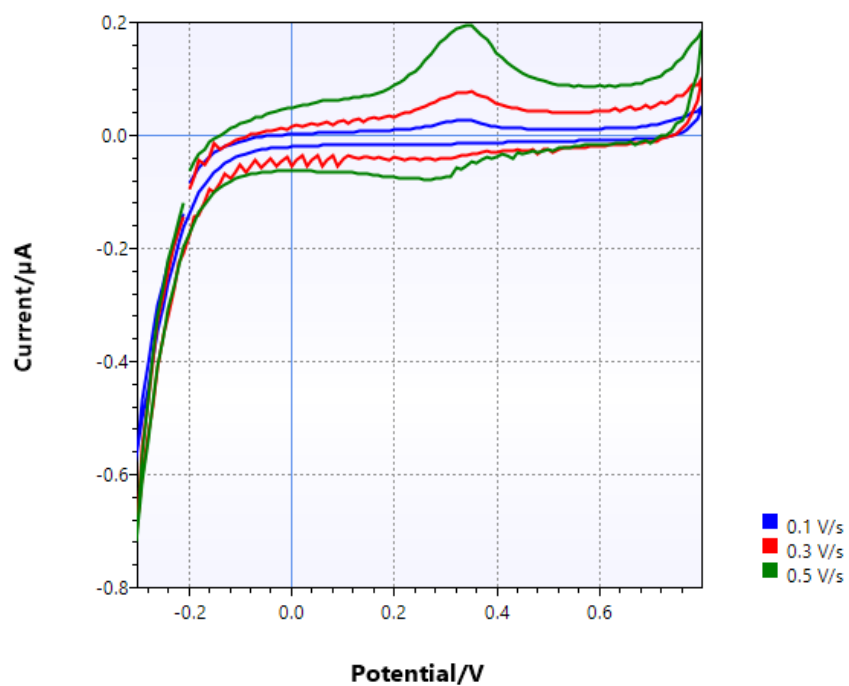
Pro (Obr.2.13) ověření hraniční oblasti vývinu kyslíku v oblasti vysokých hodnot aplikovaného potenciálu (na modré křivce, oblast vývinu kyslíku zcela vpravo) byl zvolený rozsah napětí od -0,2 V až + 0,9 V. Vyšší hodnota nebyla zvolena z důvodu vysokého nárůstu proudu, při kterém by došlo ke zničení senzoru oxidací kovové matrice vylučovaným kyslíkem. Pro ověření spodní hraniční oblasti vývinu vodíku (červená křivka, oblast vývinu vodíku zcela vlevo) byl zvolený rozsah napětí od - 0,3 V až + 0,8 V.

Pro jednotlivé měření je rizikovější oblast vývinu kyslíku (ke které dochází v pravé části, aplikovaného kladného napětí), protože je zde riziko, že dojde ke „spálení“ senzoru, kdy dojde vlivem vyloučení kyslíku rozkladem vody elektrolytu ke vzniku stabilního oxidu na povrchu pracovní elektrody.

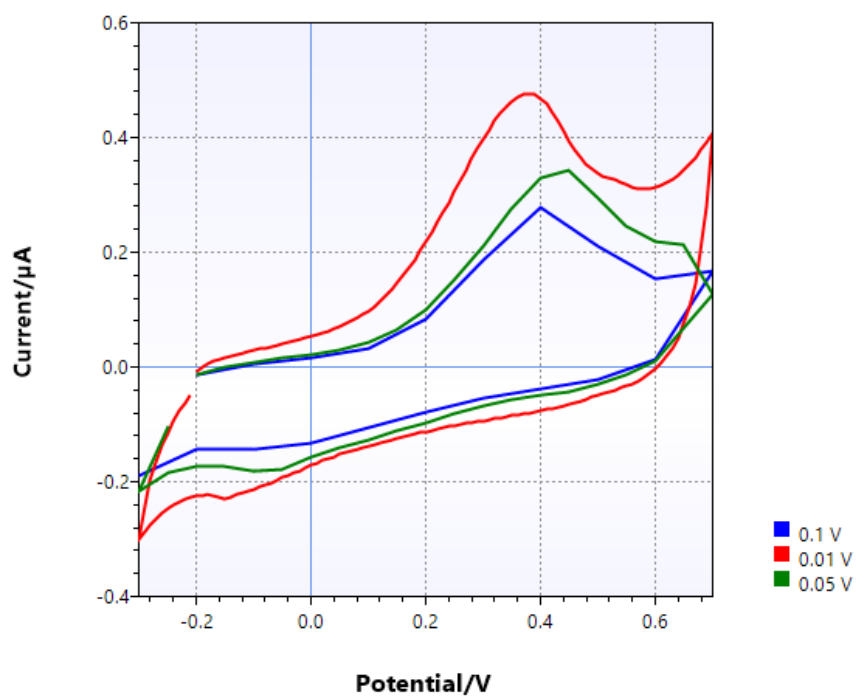
2.4 Provedení cyklické voltametrie

Po zjištění bezpečného hraničního potenciálu, bylo provedlo měření CV pro vybrané komerční senzory (2.1.3). Pro jednotlivé senzory, bylo provedeno několik měření, během kterých byly testovány parametry (rychlost změny potenciálu označovanou též jako Scan rate, E_{step}) a jejich vliv na výslednou křivku. Předpokládá se, že se zvyšující hodnotou Scan rate, budou naměřené vyšší hodnoty výstupního proudu, jelikož bude změna potenciálu probíhat rychleji. Pro E_{step} se předpokládá, že se snižující se hodnotou bude výsledná křivka s hladším průběhem, jelikož s nižší hodnotou bude signál vzorkován po kratších úsecích. S nižší hodnotou pro vzorkování, by měl být lépe viditelný průběh detekovaného píku.

Cyklická voltametrie pro senzor_Au

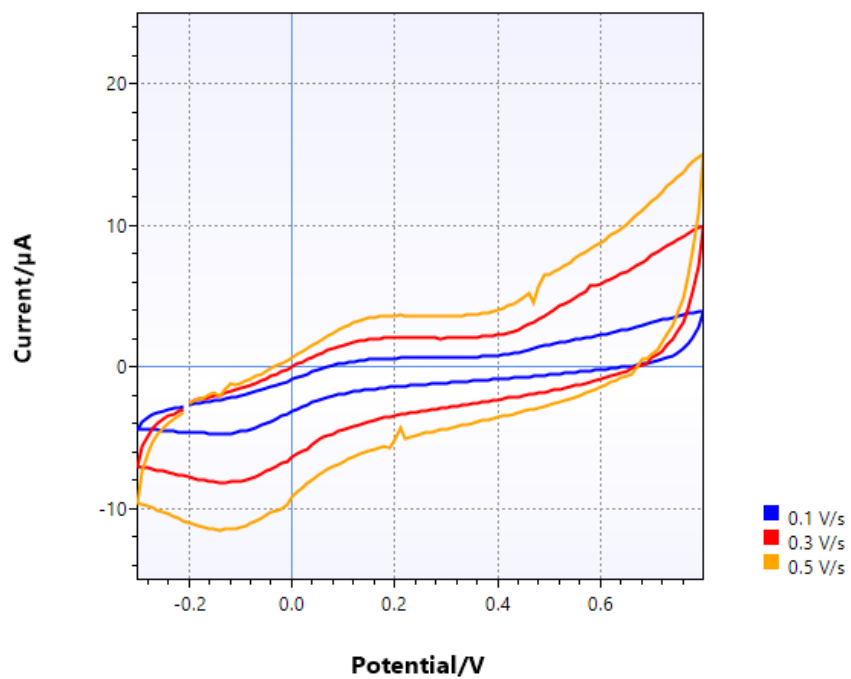


Obr. 2.14: Senzor_Au vliv Scan rate pro E_{step} 0,01 V (Potential vs Ag RE).

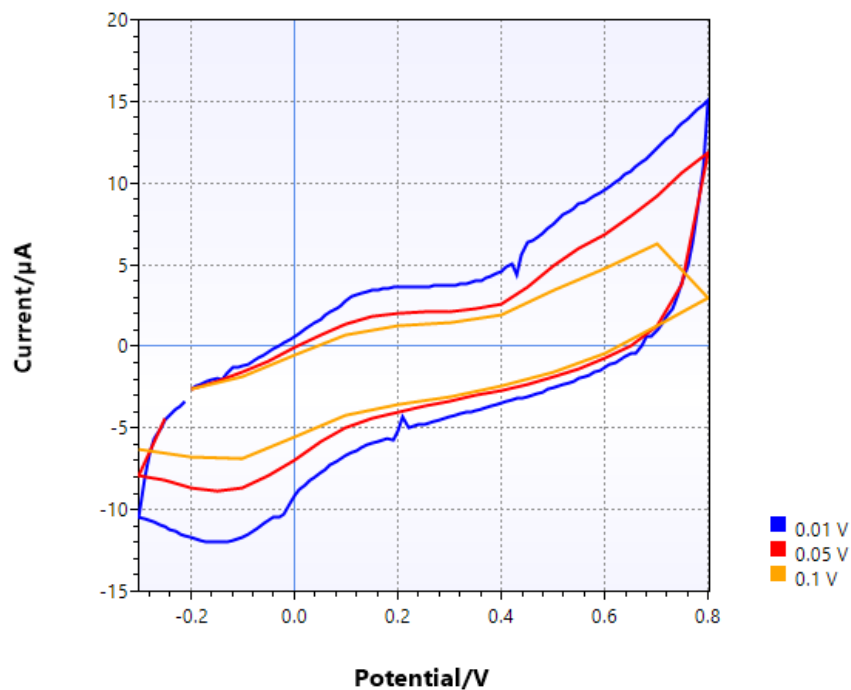


Obr. 2.15: Senzor_Au vliv E_{step} pro Scan rate 0,5 V/s (Potential vs Ag RE).

Cyklická voltametrie pro senzor_Pt



Obr. 2.16: Senzor_Pt vliv Scan rate pro $E_{\text{step}} 0,01$ V (Potential vs Ag RE).



Obr. 2.17: Senzor_Pt vliv E_{step} pro Scan rate 0,5 V/s (Potential vs Ag RE).

Pro sledování vlivu E_{step} , byla zachována jednotná hodnota Scan rate (0,5 V/s) během jednotlivých měření (Obr.2.15) a (Obr.2.17). Stejný typ měření byl proveden i pro měření vlivu Scan rate, kdy během měření (Obr.2.14) a (Obr.2.16) byla zachována jednotná hodnota E_{step} (0,01 V).

Z jednotlivých měření se dá říct, že veškeré použité senzory jsou vodivé a funkční, jelikož dochází ke změně snímaného proudu v závislosti na změně potenciálu, a také k detekci píku během měření se zlatým senzorem. Kdyby nedocházelo ke změně měřených proudů v průběhu CV, dá se považovat senzor za nevodivý.

Dle předpokladů bylo potvrzeno, že snižováním parametru E_{step} , dochází k hladšímu a přehlednějšímu průběhu křivky. Při zvolení nižší hodnoty je vzorkování po mnohem kratších úsecích, a tím dochází k lepšímu záznamu proudu při změně potenciálu.

Pro hodnotu Scan rate se potvrdilo, že se zvyšující se hodnotou dochází k měření vyšších hodnot proudu. To je způsobeno tím, že je zvolená větší hodnota pro změnu potenciálu za časovou jednotku (V/s). Při vyšší hodnotě byly detekovány vyšší hodnoty elektrochemické odezvy než při nižších hodnotách.

3 Návrh metodiky měření cyklické voltametrie pro ověření vybraných senzorů

Vytvoření základní metodiky pro provedení CV bude vytvořen základ pro provedení cyklické voltametrie. Tato metodika bude sloužit pro cyklickou voltametrii vybraných senzorů, ale zároveň v ní budou uvedené body, které je nutné splnit pro měření a také, aby byla metodika aplikovatelná na jiné senzory.

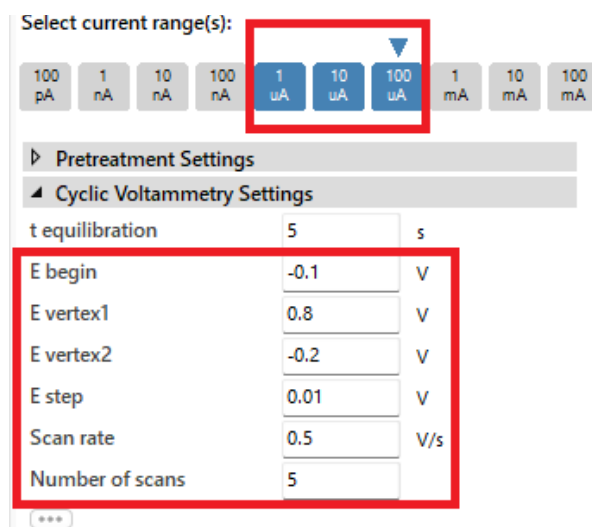
Prvním krokem pro provedení měření spočívá především se seznámením s cyklickou voltametrií a také s předpokladem za jakým účelem provádíme CV a jaké by měly být očekávané výsledky.

K provedení cyklické voltametrie je důležité mít určité vybavení: zdroj proudu a napětí, potenciostat/galvanostat, který řídí elektrochemické procesy a zařízení pro záznam a zpracování dat.

Pomocí potenciostatu dochází k řízení potenciálu na elektrodě a měření proudu, který proteče elektrodou v závislosti na potenciálu, který byl aplikován během cyklické voltametrie.

Na základě použitého vybavení, kterým bude CV probíhat je vhodné zvolit další komponenty, které přispějí k získání lepších výsledků. Například lineární dávkovače pro konstantní průtok měřícím okruhem, stojany pro zabránění pohybových artefaktů během měření.

Provedení metody odvíjí na základě zvolených parametrů v PStace5 (Obr.3.1), zvoleného materiálu, ze kterého jsou vyrobeny jednotlivé elektrody na senzoru, průtokovou celou a použitých komponentech.



Obr. 3.1: Volené parametry pro cyklickou voltametrii.

Na (Obr.3.1) jsou zvýrazněné parametry, které mají největší vliv na měření. Prvotní volbou je zvolení správného rozmezí měřeného proudu. Zvolením nízkého rozsahu proudu, nemusí být zaznamenané

naměřené hodnoty proudu nad tento limit, v opačném případě při zvoleném vysokém rozsahu proudu, nemusí být měření dostatečně citlivé na malé hodnoty protékajících proudů.

Rozsah napětí se nastavuje pomocí hodnot E_{vertex1} (nejvyšší aplikovaný potenciál na elektrodu) a E_{vertex2} (nejnižší aplikovaný potenciál na elektrodu). Je nutné zvolit vhodný rozsah napětí. Tento rozsah závisí na použitém materiálu referenční elektrody. Při zvolení příliš malého rozsahu, nemusí docházet k detekci proudových píků (pokud měření probíhá se zkoumaným analytem v roztoku), v opačném případě při zvolení příliš velkého rozsahu napětí může dojít ke zničení senzoru. Překročením hraniční hodnoty bezpečného rozsahu napětí dochází k vývinu kyslíku, která se projeví prudkým nárůstem proudu. Při překročení spodní hraniční hodnoty bezpečného rozsahu dochází k vývinu vodíku, který se na křivce projeví prudkým poklesem proudu.

Měření a zvyšování potenciálu začíná v hodnotě E_{begin} , potenciál se zvyšuje až do maximální zvolené hodnoty potenciálu a následně z této hodnoty je postupně potenciál snižován až do nejnižší zvolené hodnoty potenciálu. Odtud se následně potenciál vrací do nastavené hodnoty E_{begin} . Hodnota E_{begin} lze zvolit v hraničních bodech potenciálu, nebo kdekoli mezi nimi.

Potenciál je zvyšován/snižován o zvolenou hodnotu Scan rate. Při použití potenciostatu PalmSens4 se je možné zvolit hodnotu z rozsahu od 0,02 mV/s (0,075 mV E_{step}) až po 500 V/s (10 mV E_{step}).

Jak rychle bude průběh proudu snímán/vzorkován se volí hodnotou E_{step} . Hodnotu lze volit z rozsahu 0,075 mV až 250 mV. Při zvolení nižší hodnoty je průběh křivky hladší a také lépe čitelnější, což se týče jednotlivých změn proudu.

Pokud je použit jiný potenciostat než PalmSens4 je vhodné nahlédnout do manuálu od přístroje.

Za účelem sledování změn měřených proudových píků v rámci jednoho měření lze zvolit počet cyklů, kolikrát bude měření opakováno pro stejné podmínky. Jednotlivé křivky jsou v průběhu měření barevně rozlišeny.

Materiál, ze kterého je vyrobená pracovní elektroda. Neovlivňuje nastavovaný rozsah napětí, jelikož se napětí nastavuje vůči referenční elektrodě. Vliv materiálu pracovní elektrody se projeví na výsledné křivce cyklického voltamogramu v podobě vyšší nebo nižší elektrochemické odezvy. Toto může být způsobeno odlišnými elektrochemickými vlastnosti použitého kovu.

Mezi prvotní volbu patří volba senzoru, pro které se provede měření cyklické voltametrie. Jednotlivé elektrody, které jsou použité v senzoru, by měly být vyrobené z materiálu s ohledem na jejich funkci. Tedy pracovní elektroda, by měla být vyrobená z tuhého materiálu, jako je stříbro, zlato, platina. Referenční elektroda by měla být vyrobená z kovu, jenž se pokrývá vrstvou své málo rozpustné soli. V praxi se nejčastěji využívají referenční elektrody z Ag/AgCl či čistě ze stříbra. Pomocná elektroda by měla být tvořena kovem, který má velmi dobrou vodivost proudu, tedy například platinou. Všechny tyto elektrody by měly být následně spojeny vodivými cestami [4] [8].

Při zvolení komerčního senzoru pro měření je vhodné si zjistit jednotlivé parametry senzoru a také z čeho jsou vyrobené jednotlivé elektrody. Tyto informace jsou uvedené v technické dokumentaci (data sheetech) pro komerční senzory.

Pro jednotlivé senzory je třeba zjistit rozsah aplikovaného potenciálu, během kterého dochází k redoxním reakcím a zároveň je bezpečný a nedojde k zničení elektrod/senzoru. Tento rozsah lze zjistit několika způsoby, které jsou uvedeny v podkapitole (3.2 – bod 1.).

Pokud je pro měření využita průtoková cela, je nutné, aby byla přizpůsobena používaným sensorům. Průtoková cela by měla pevně fixovat senzor, přivádět roztok na pracovní plochu senzoru a následně jej odvádět. Cela by měla zajišťovat dostatečný průtok elektrolytu a nemělo by docházet k tvorbě vzduchových bublinek, které by bránily kontaktu elektrolytu s povrhu pracovní elektrody.

Je zde důležitá i volba elektrolytu, ve kterém bude probíhat dané měření. V případě, že chceme zkoumat proudové píky, je nutné zvolit i analyt, který se následně přidá do nosné kapaliny. Na základě analytu a teoretických předpokladů chemických reakcí, které by měly proběhnout, lze očekávat naměření redoxních píků.

V případě měření, kdy byly použity komerční senzory AC1.W*.R* od společnosti BVT Technologies, byla použita průtoková cela (2.1.2) od stejné firmy, která je navržena přímo pro dané senzory. Nosnou kapalinou, ve které probíhalo měření, byl zvolen fyziologický roztok 0,9 % NaCl. Byl použit měřicí okruh (2.1) a zapojen dle (2.2). Po zapojení měřicího okruhu byl zapnut potenciostat PalmSens4 a bylo provedeno propojení potenciostatu se softwarem PStace5, kde se následně zvolí jednotlivé parametry pro cyklickou voltometrii (3.2). Na lineárním dávkovači byla nastavena průtoková rychlost 6 ml/h a provedlo se jeho zapnutí.

Vliv jednotlivých parametrů (vzorkování a rychlost změny potenciálu) na výsledné křivky byl otestován v podkapitole (2.4) a zbylé parametry v kapitole (4). Na základě vlivů těchto parametrů na křivku, byly zvoleny hodnoty, během kterých je křivka s nejhladším průběhem a nejlepší čitelností.

Na základě jednotlivých měření, lze zkoumat vlastnosti senzorů, elektrochemických reakcí v případě zkoumaného analytu a vliv jednotlivých parametrů na křivku.

Celkově lze přípravu pro měření shrnout do několika bodů popsaných níže.

3.1 Příprava elektrod/senzoru

1. Výběr elektrodového systému. Pro měření jsou vhodné čtyřelektrodové (pracovní, referenční a dvě pomocné elektrody), tříelektrodové (pracovní, referenční a pomocná elektroda) nebo dvouelektrodové (pracovní, referenční sloučená s pomocnou elektrodou) systémy. Tříelektrodový systém je nejpoužívanější, protože na pracovní elektrodě probíhají elektrochemické reakce, referenční elektroda se zde používá jako standart pro měření potenciálu a pomocná zde funguje jako cesta pro průchod elektrického proudu [3]. Pro měření v bakalářské práci byl zvolen senzor s tříelektrodovým uspořádáním.

2. Výběr vhodného materiálu elektrody. Elektroda by měla být vyrobená z vodivého kovu. Tento požadavek splňují elektrody ze skelného uhlíku, zlata či platiny. Různé materiály mají odlišné vlastnosti a mohou ovlivnit průběh reakce a experimentu. Elektroda by také měla mít přesně definovaný tvar a velikost, protože proud piku je přímo úměrný povrchu elektrody.
3. Ověření vodivosti senzoru pomocí cyklické voltametrie v elektrolytickém roztoku.
4. Elektroda by před samotným měřením měla být očištěná od nečistot a od zbytků z předchozích měření. Čištěním se může docílit zlepšení elektrochemických vlastností senzoru. Očištění se provádí několika způsoby:
 - Pomocí jemného brusného papíru.
 - Omytím destilovanou vodou.
 - Použití alkoholového roztoku (izopropylalkohol), na čistý hadřík nebo vatový tampon a následné otření povrchu elektrod.
 - Ultrazvuku nebo speciálními čistícími roztoky.
5. Příprava elektrochemického roztoku, ve kterém bude probíhat měření. Je potřeba zvolit analyt, který bude následně zkoumaný během CV. Rozpouštědlo, ve kterém bude analyt rozpuštěn. Rozpouštědlo by mělo být chemicky stabilní, neobsahovat elektrochemicky aktivní látky. Dále by mělo být čisté bez nečistot, které mohou ovlivnit měření. Lze použít i elektrolyt, ve kterém je rozpuštěn analyt. Elektrolyt slouží především k zajištění elektrochemické vodivosti, kontaktu mezi elektrodami, zlepšení elektrochemické aktivity [9].

3.2 Parametry PSTrace5

Volení parametrů v ovládacím softwaru PSTrace5 k potenciostatu PalmSens4 je důležité, protože pomocí těchto parametrů dochází k řízení průběhu měření pomocí potenciostatu.

1. Rozsah aplikovaného napětí (potenciálové okno) – pro CV se odvíjí od materiálu referenční elektrody. Rozsah napětí se nastavuje vůči referenční elektrodě. Měl by být dostatečně široký, aby zahrnoval potenciály, během kterých dochází k redoxním reakcím. Tento rozsah lze zjistit několika způsoby:
 - a) Experimentálně, zvyšováním rozsahu, s vysokým rizikem poškození elektrod/senzoru.
 - b) V případě komerčních senzorů, z příloženého data sheetu.
 - c) Za použití inertního kovu (platiny) a referenční elektrody (ideálně stejný materiál, ze kterého je referenční elektroda v případě provedení CV) za zjištěním oblasti vývinu kyslíku a vodíku (2.3.1).

2. E_{step} – Zvolení rychlosti vzorkování, po jak velkých změnách bude prováděno snímání/vzorkování proudu v závislosti na změně potenciálu. Ovlivňuje rozlišovací schopnost průběhu elektrochemické odezvy. Tedy čím menší zvolená hodnota, tím by měla být křivka hladší s podrobnějším sledováním reakcí. Volba hodnoty při použití potenciostat PalmSens4 je v rozsahu 0,075 mV až 250 mV.
3. Scan rate – rychlost změny potenciálu. Ovlivňuje velikost elektrochemické odezvy, velikost proudových píků a rozlišení. Pro potenciostat PalmSens4 od 0,02 mV/s (0,075 mV E_{step}) až po 500 V/s (10 mV E_{step}).
4. Počet cyklů – zvolením počtu cyklů se může sledovat opakovatelnost reakce během stejných podmínek jednoho měření. Celkovou opakovatelnost měření a naměření stejných výsledků. Dále se dá také pomocí opakování cyklů sledovat vliv vymývání imobilizace senzoru.

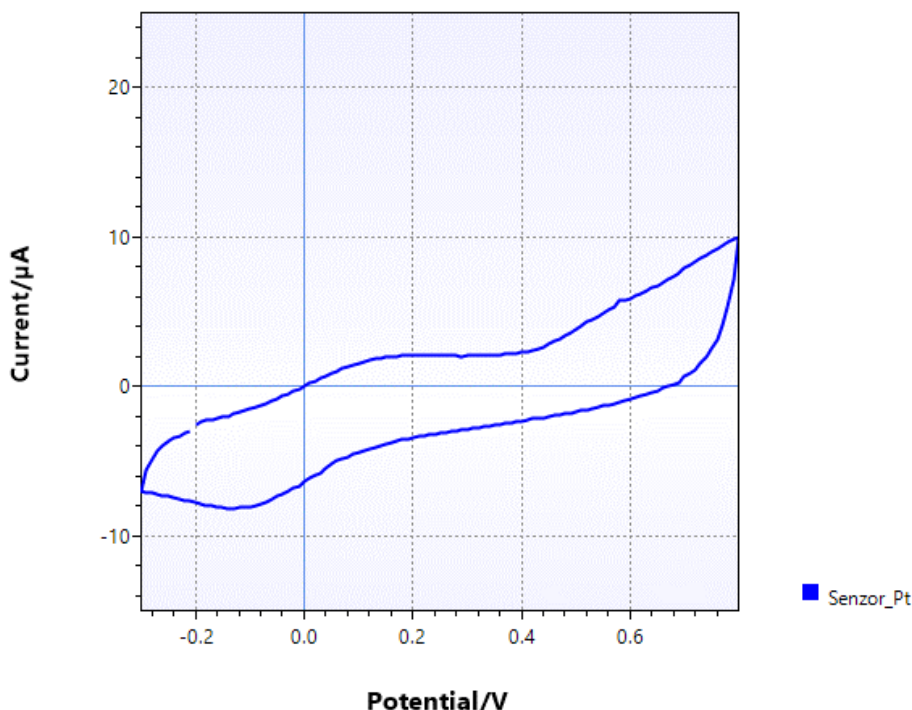
4 Ověření navržené metodiky na dvou vybraných senzorech

Na základě navržené metodiky bylo provedeno přes 100 měření pro otestování jednotlivých bodů ze *třetí* kapitoly. Ze všech měření, byly vybrány křivky s nejlepším průběhem a nejlepší viditelností změn.

Pro ověření metodiky byl vybrán tříelektrodový systém uspořádání elektrod na komerčním senzoru od firmy BVT Technologies (2.1.3), na kterém bylo provedeno měření cyklické voltametrie (2.4). Ověření probíhalo v elektrolytu fyziologického roztoku 0,9 % NaCl, do kterého nebyl přidán žádný zkoumaný analyt.

Pro všechna měření a otestování byly použity dva komerční elektrochemické senzory AC1.W*.R* od společnosti BVT Technologies. Jde o komerční senzory, které byly vyrobeny s ohledem na bod dva v podkapitole 3.1, který se týká výrobního materiálu elektrod. Použité senzory byly ve dvou variantách – se zlatou pracovní elektrodou a s platinovou pracovní elektrodou. V obou případech referenční elektroda byla vyrobena ze stříbra a pomocná elektroda ze stejného materiálu jako je pracovní elektroda.

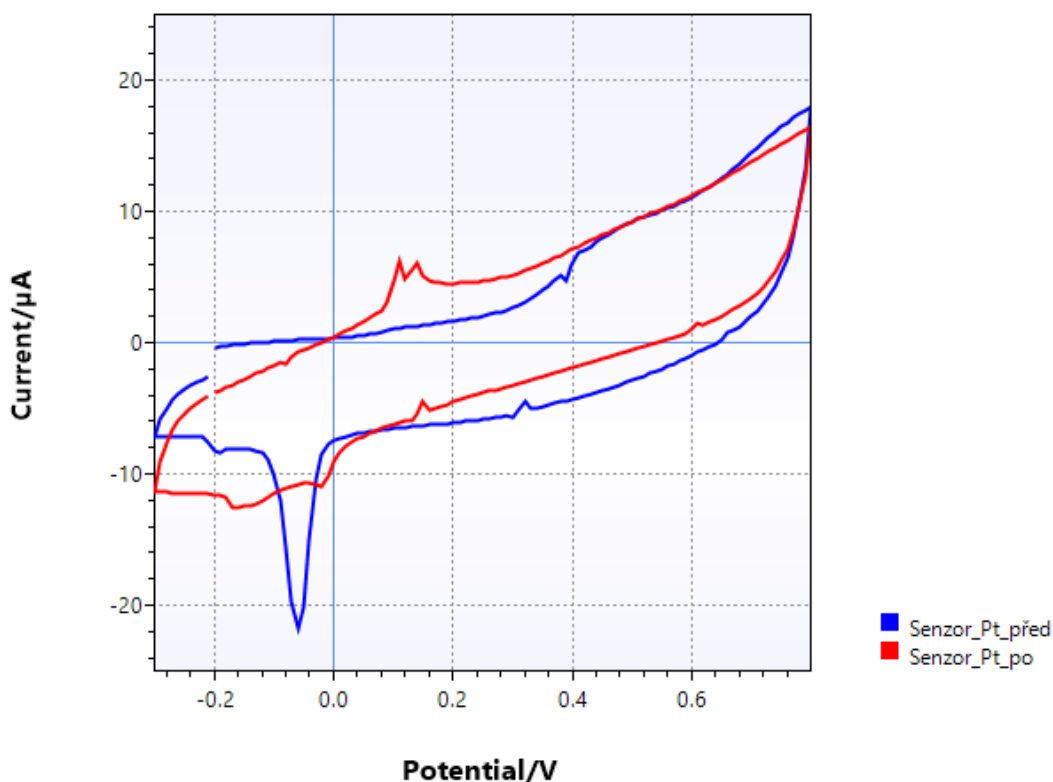
Před samotným měřením je otestována **vodivost** senzoru pomocí CV. Kdy je proud měněn vlivem změn potenciálu. Pokud by senzor byl nevodivý, může se to projevit nulovým signálem, nulovou změnou potenciálu nebo nepřítomností redoxních reakcí v případě přidaného analytu.



Obr. 4.1: Ověření vodivosti (Potential vs Ag RE).

Z (Obr.4.1) lze vidět, že senzor je vodivý, jelikož při zvyšování potenciálu, dochází ke zvyšování výstupního proudu, zatímco při snižování potenciálu dochází ke snižování výstupního proudu.

Očištěním elektrod by se mělo předejít nechtěným reakcím během měření CV kvůli vlivu nečistot na povrch elektrod a také by senzor měl být citlivější detekci na změnu potenciálu. Proto bylo provedeno měření bez očištění pracovní elektrody v porovnání s měřením, kdy byla pracovní plocha očištěna destilovanou vodou. Očištění pracovní plochy bylo provedeno pomocí vatové tyčinky namočené v destilované vodě a následného otírání pracovní plochy. Bylo provedeno čištění také pomocí hadříku (určený pro čištění povrchu bez zanechávání vláken) namočeného do destilované vody a následným otíráním pracovní plochy senzoru. Během měření bylo zjištěno, že nezáleželo na zvoleném prostředku, pomocí kterého probíhalo čištění destilovanou vodou. Z tohoto důvodu není uveden obrázek pro vliv použitého prostředku, pomocí kterého probíhalo čištění, protože křivky byly totožné. Je zde tedy uveden obrázek pro porovnání měření se senzorem bez očištění a následně s očištěním pomocí destilované vody (Obr.4.2).

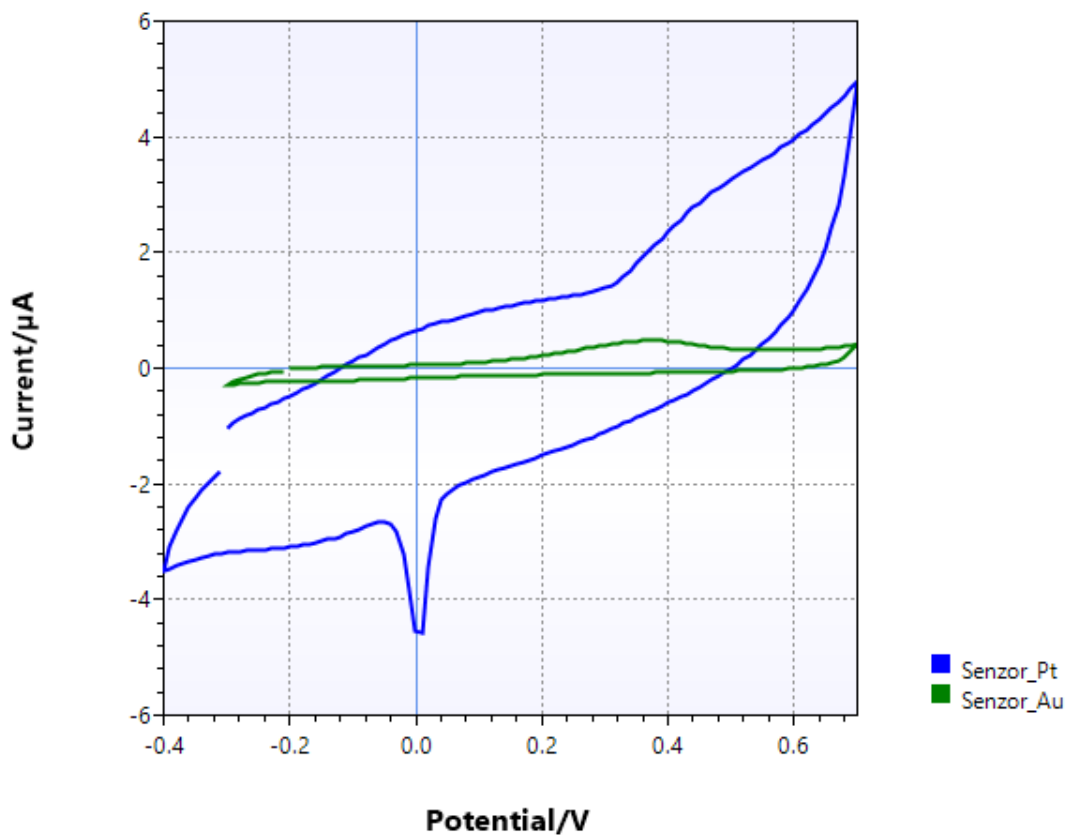


Obr. 4.2: Vliv čištění pomocí destilované vody (Potential vs Ag RE).

Pro ověření vlivu **čištění** (Obr.4.2) byl použit jeden senzor s platínovou pracovní elektrodou. První měření (modrá křivka) bylo provedeno před očištěním pracovní plochy senzoru, kde byl detekován redukční pík v záporné oblasti aplikovaného potenciálu. Tento pík po čištění pracovní plochy (červená křivka) nebyl

již znovu detekován. Byly však detekovány jiné, slabší píky. První detekovaný redukční pík bez čištění pracovní plochy mohl být tedy způsobený nečistotami na povrchu senzoru. Ostatní menší redoxní píky po očištění plochy senzoru mohly být způsobené zbytkovými nečistotami na povrchu elektrod. Po očištění povrchu se potvrdilo zlepšení citlivosti senzoru výstupního proudu na změnu potenciálu.

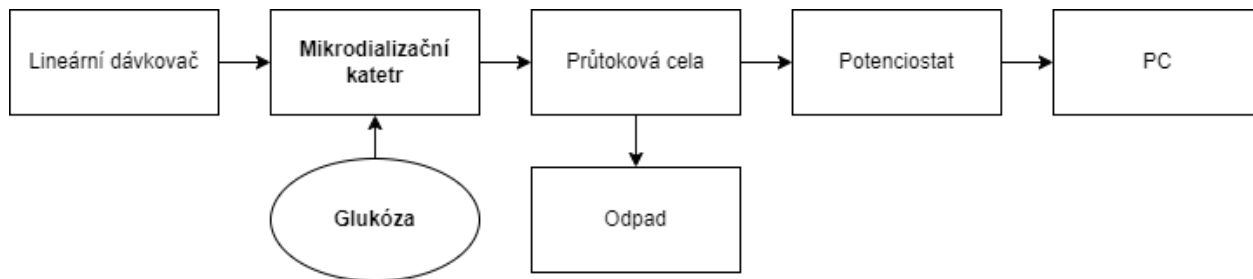
Bylo provedeno testování **vlivu materiálu pracovní elektrody**. Byl využit Senzor_Au a Senzor_Pt. Měření probíhalo s rychlostí změny potenciálu (0,5 V/s) a E_{step} (0,01 V) pro oba senzory.



Obr. 4.3: Vliv materiálu pracovní elektrody pro Scan rate 0,5 V/s, Estep 0,01 V (Potential vs Ag RE).

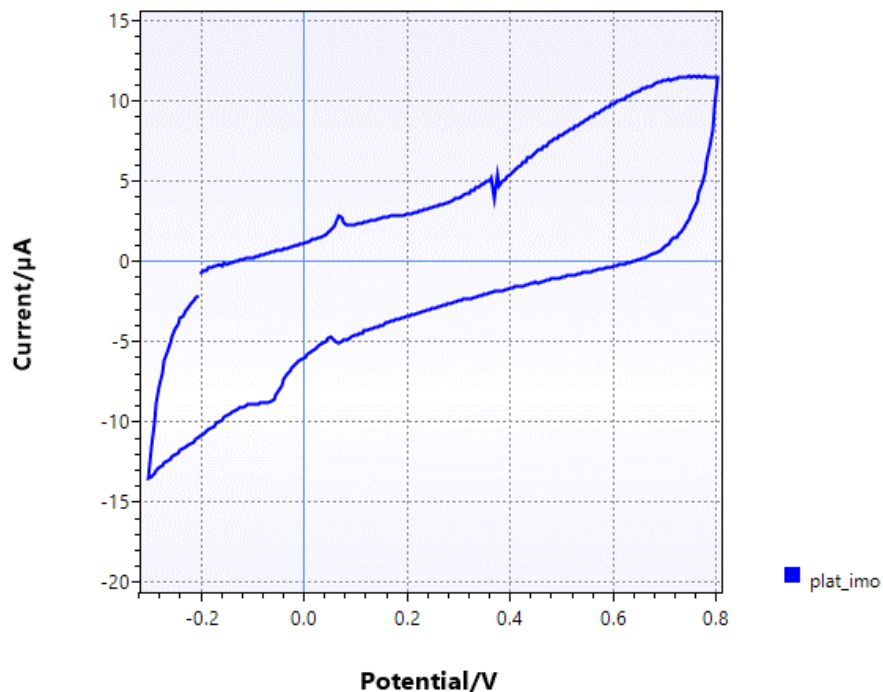
Z naměřených křivek (Obr.4.3) lze vidět vyšší elektrochemickou odezvu při použití platinové pracovní elektrody než při použití senzoru se zlatou pracovní elektrodou. Platina se z tohoto pohledu jeví jako vhodnější kovová matrice pro navržené elektrochemické měření. I přes to, že se platina jeví jako vhodnější, tak se kvůli finanční náročnosti tohoto kovu používají i jiné materiály, které disponují podobnými vlastnosti platině, například zlato.

Dále bylo provedeno testování s přidáním namíchaného roztoku glukózy (10 mmol) do nosné kapaliny fyziologického roztoku pomocí mikrodializačního katetru (MK). Měřící řetězec byl upraven přidáním MK, kdy na výstup injektoru v lineárním dávkovači byl přiveden MK PME011 [19] pomocí luer-lock, a druhým koncem připojen na jeden z výstupů průtokové cely. Následně byl katetr umístěn do zkumavky s roztokem glukózy, kde pomocí speciální membrány, dochází ke smíchání nosné kapaliny se zkoumaným analytem (glukózou) (Obr.4.4). Použité senzory v tomto případě byly upravené imobilizací zesíťením enzymu glukózooxidázy na povrch pracovní elektrody podle diplomové práce Matěje Komára [20]. Toto měření bylo provedeno pouze pro ověření redoxních reakcí ve zvoleném napěťovém rozsahu.



Obr. 4.4: Blokové schéma upraveného měřícího okruhu pro měření s glukózou.

Bylo provedeno měření s imobilizací enzymu na povrchu pracovní elektrody komerčního senzoru, za účelem zjištění, zda je senzor i nadále vodivý. Toto měření probíhalo bez roztoku glukózy, pouze za přítomnosti fyziologického roztoku, kdy byl MK vložen ve zkumavce s nosnou kapalinou (fyziologický roztok).



Obr. 4.5: CV senzor_Pt s imobilizací (Potential vs Ag RE).

Po provedení měření za účelem vodivosti senzoru s imobilizací (Obr.4.5) bylo potvrzeno, že imobilizace enzymu na povrchu pracovní elektrody neovlivňuje vodivost senzoru.

Při cyklické voltametii pro zkoumání analytu glukózy, by mělo docházet k oxidačnímu píku v kladné části aplikované potenciálu. Tento pík by měl odpovídat probíhající oxidační chemické reakci vzniku peroxidu vodíku, který se následně štěpí na $2H^+$, O_2 a $2e^-$ [20-21].

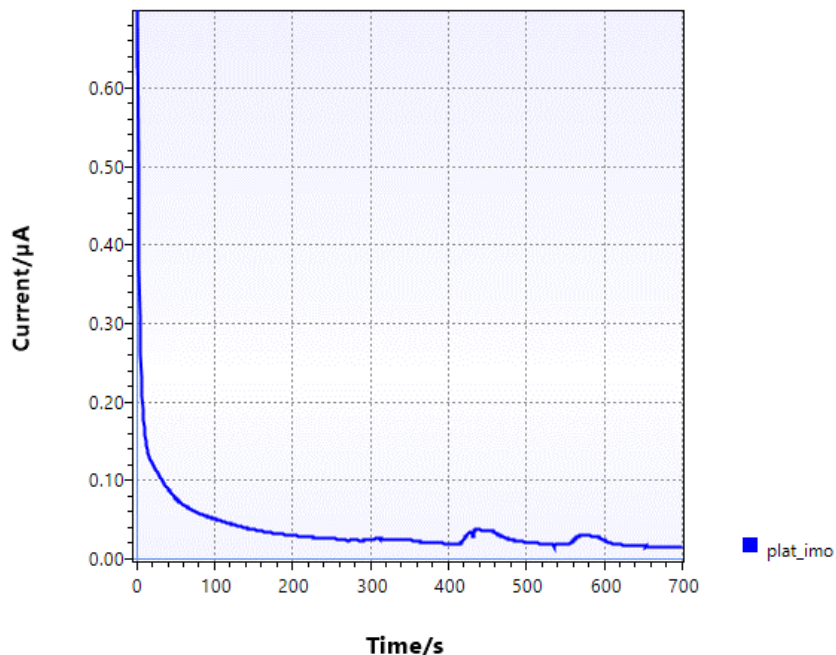


Při cyklické voltametii s roztokem glukózy za použití naimobilizovaného senzoru, byl mikrodializační katetr vložen do zkumavky s roztokem glukózy. Nicméně během měření nebyly naměřené žádné oxidační píky, které by potvrdily přítomnost glukózy v roztoku. Proto bylo provedeno měření chronoamperometrie za účelem zjištění, jestli je imobilizace schopná detekce glukózy. Během chronoamperometrie byl aplikován potenciál 0,65 V, kdy dochází k oxidaci peroxidu vodíku (vs Ag RE). Tato hodnota se potvrdila již v diplomové práci [20], kde byla provedena sada měření chronoamperometrie.

Během měření bylo zjištěno, že ne všechny naimobilizované senzory byly schopné detekovat roztok glukózy. V případě, že byl imobilizovaný enzym nanesen na pracovní plochu senzoru v den vytvoření,

docházelo k dobré citlivosti na přítomnost glukózy ve zkoumaném analytu i u měření po měsíci od přípravy. U senzoru, který byl připravený nanesením imobilizovaného enzymu na pracovní plochu elektrody po době jednoho měsíce od vytvoření imobilizace, nedocházelo k detekci glukózy vůbec, což mohlo být způsobeno nevhodným skladováním imobilizačního roztoku.

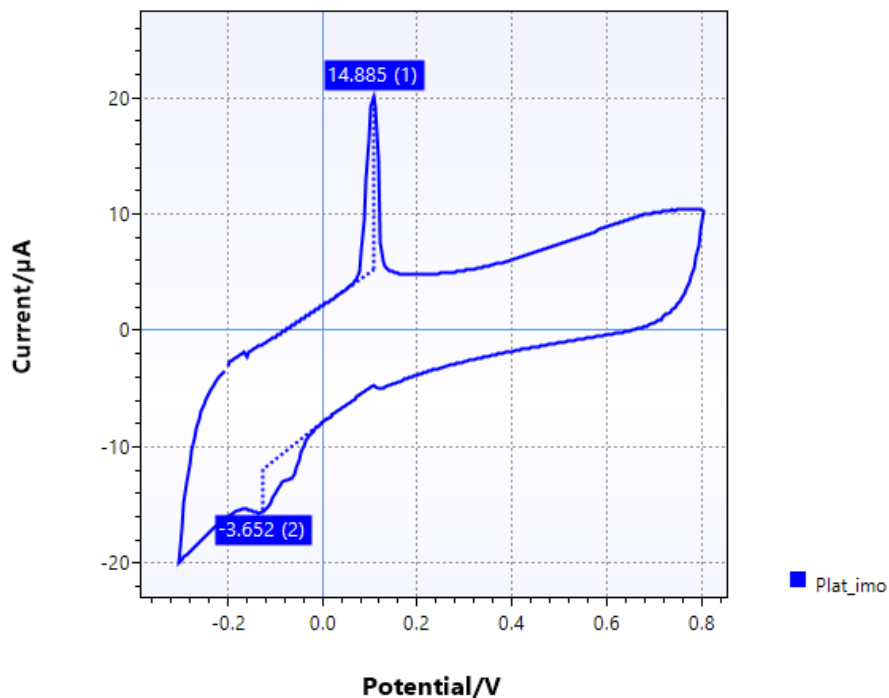
Při vymezení senzorů, které byly schopné detekce glukózy bylo provedeno další měření chronoamperometrie (Obr.4.6).



Obr. 4.6: Chronoamperometrie funkční senzor_Pt s imobilizací (Potential vs Ag RE).

Měření probíhalo pomocí nosné kapaliny fyziologického roztoku, kdy po ustálení křivky (přibližně 5 minut) se vložil katetr na dobu přibližně 20 sekund do zkumavky s roztokem glukózy (10 mmol) a poté byl vyndán a vložen zpět do zkumavky s fyziologickým roztokem. Toto bylo provedeno následně ještě jednou za ujištění, že detekovaný nárůst proudu nebyl náhodný.

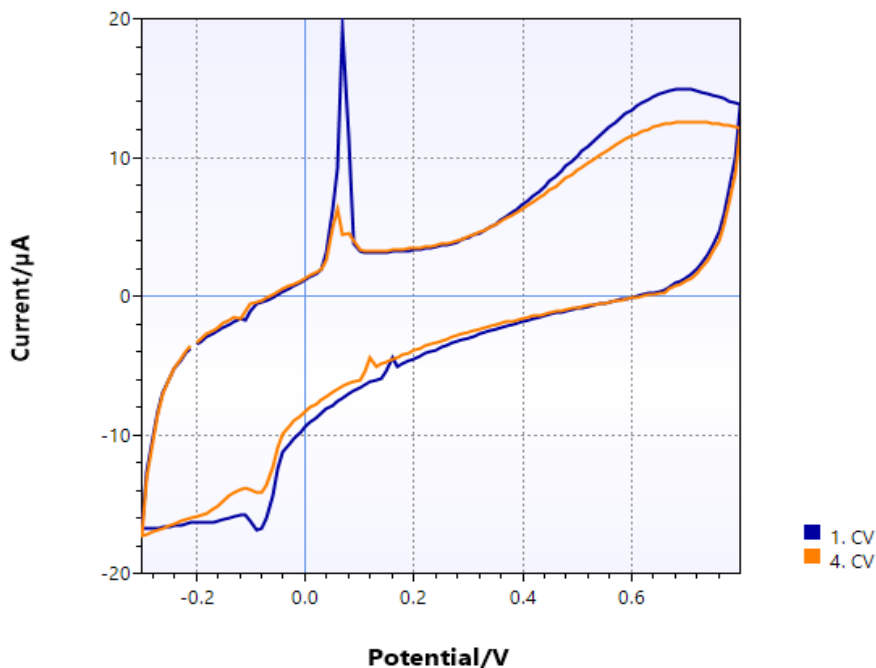
Po ověření schopnosti senzoru detekce glukózy a provedení chronoamperometrického měření, bylo provedeno měření cyklické voltametrie, tentokrát již se zkoumaným analytem (glukóza 10 mmol). Katetr před samotným začátkem spuštění měření byl vložen do zkumavky s roztokem glukózy kvůli toho, že měření cyklické voltametrie je velice krátké a při vložení katetru během měření, by nemuselo dojít k detekci glukózy z nedostatečného času přivedení zkoumané látky k pracovní ploše senzoru v průtokové cele.



Obr. 4.7: CV detekce oxidačního píku s imobilizovaným senzorem (Potential vs Ag RE).

Z (Obr.4.7) lze vidět, že byl detekován oxidační pík za přítomnosti roztoku glukózy ve fyziologickém roztoku. Není však jisté, že detekovaný oxidační pík byl důsledkem detekce glukózy, protože k oxidaci glukózy docházelo při měření chronoamperometrie při aplikovaném potenciálu 0,65 V vůči stejné referenční elektrodě.

Tento pík byl detekován pouze při čtyřech cyklech CV pomocí glukózy po měření chronoamperometrie, kdy s každým dalším měřením docházelo k naměření nižšího píku (Obr.4.8) až do samotného nezaznamenání oxidačního píku.



Obr. 4.8: Nižší hodnoty detekovaných píků (Potential vs Ag RE).

Je možné, že pokles detekovaného oxidačního píku mohl být spojený s vymýváním imobilizace na povrchu elektrody nebo s nedostatečným množstvím roztoku glukózy v přiváděné kapalině za krátký čas opakování měření za sebou.

Ověření nastavených parametrů jako **rozsah napětí**, **E_{step}** , **Scan rate** a **počet cyklů**. Rozsah napětí, E_{step} a Scan rate byly již otestovány během provedení cyklické voltametrie pro vybrané senzory v kapitole 2 v podkapitole 2.4. Níže jsou vypsané parametry a jejich vliv na měření s následným odkázáním na výsledné křivky, jelikož tyto parametry už byly otestovány během měření cyklické voltametrie pro komerční senzory a není tedy nutné testovat tyto parametry znovu.

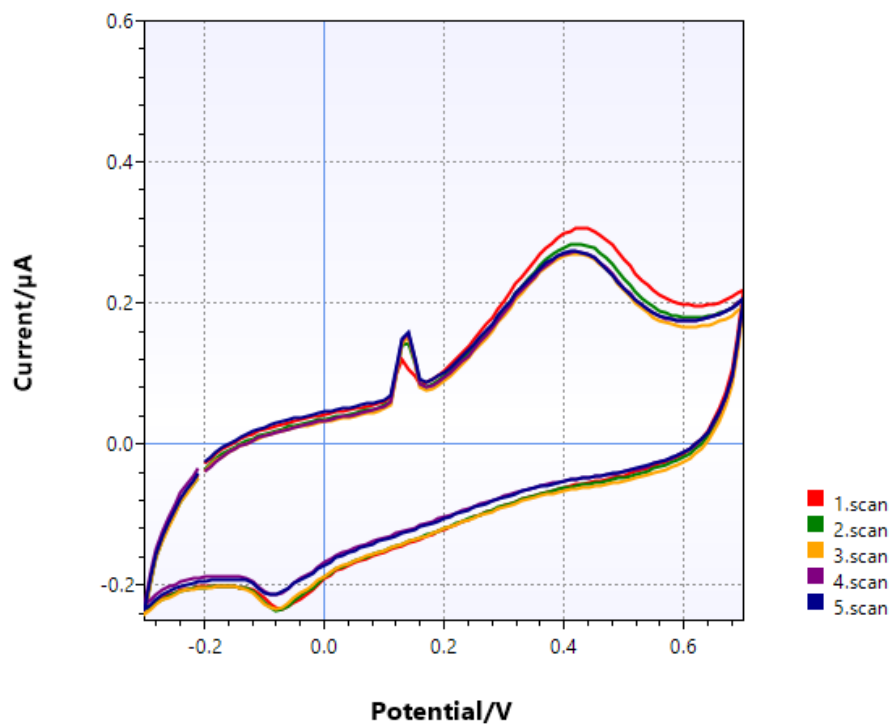
Rozsah potenciálů. Jak již bylo dříve zmíněno, byl zvolen rozsah aplikovaného napětí na základě přiloženého data sheetu, který je k dispozici ke komerčním sensorům. Následný zvolený potenciál byl ověřen aplikováním vyššího potenciálového okna. Při překročení maximálního hraničního potenciálu dochází k vývinu kyslíku, který se projeví prudkým nárůstem proudu. Při překročení minimálního hraničního potenciálu dochází k vývinu vodíku, který se projeví prudkým poklesem proudu (Obr.2.13).

Vlivem E_{step} , při postupném snižování hodnoty dochází k hladšímu průběhu křivky a následně také k lepší čitelnosti. To je způsobeno tím, že aplikací nižší hodnoty dochází ke snímání proudu po menších a častějších změnách napětí (Obr.2.15 a Obr.2.17).

Vlivem **Scan rate**, při postupném zvyšování hodnoty dochází k detekci vyššího výstupního proudu, a to se může projevit i při detekci píků. To může být příčinou toho, že při vyšší skenovací rychlosti dochází k rychlejší změně potenciálů a elektrochemické reakce tak mohou probíhat rychleji a tím i k naměření vyšších proudových píků (*Obr.2.14 a Obr.2.16*).

Je důležité najít vhodné hodnoty pro E_{step} a Scan rate, jelikož oba tyto parametry ovlivňují průběh měření a tvar výsledné křivky. Během měření se ukázala nejvhodnější hodnota pro E_{step} 0,01 V a hodnota pro Scan rate 0,5 V/s.

Počet cyklů se používá v případech pro získání opakovaných měření. Opakované cykly udávají informace o průběhu elektrochemických reakcí v čase. Dále mohou pomáhat statistické spolehlivosti, kdy se můžou použít k výpočtu průměru, rozptylu a dalších charakteristik, které mohou zvýšit přesnost měření. Provedení několika cyklů měření může sloužit k poskytnutí o informaci stability měření a detekci potenciálových chyb či nepřesností.



Obr. 4.9: Provedení několika CV (Potential vs Ag RE).

Pro ověření využití opakovaných cyklů měření za sebou bylo provedeno pět měření cyklické voltametrie se stejnými parametry (rozsah napětí, E_{step} , Scan rate) pro sensor_Au, který při měření CV vykazoval detekci redoxních píků. Po provedení měření lze říct, že pomocí několika po sobě jdoucích cyklů lze docílit přibližně stejných výsledků (*Obr.4.9*).

5 Návrh laboratorní úlohy aplikace voltametrického měření pro stanovení vlastností

V začátku laboratorní úlohy je seznámení s teorií, která je důležitá k celkovému pochopení a následnému provedení cyklické voltametrie. V teorii je uvedeno, jak probíhá měření cyklické voltametrie, její princip a k čemu se metoda využívá. Dále jsou uvedené i jednotlivé nastavované parametry během měření a jejich vliv na měření.

Po teorii cyklické voltametrie jsou uvedené použité senzory, jednotlivé parametry a jejich funkce, jak se mění volba rozsahu napětí na základě materiálu použitých elektrod na senzorech.

Po seznámení s veškerou teorií je uveden postup zapojení měřicího okruhu s přiloženými obrázky zapojení měřicího okruhu pro lepší vizualizaci. Dále je uveden postup pro spárování potenciostatu PalmSens4 k softwaru PSTrace5, který slouží ke sběru a zpracování dat.

Bude provedeno několik měření cyklické voltametrie podle uvedeného postupu, kde jsou během jednotlivých měření nastaveny různé hodnoty parametrů. Na základě těchto měření se vloží výsledky do vypracovaného protokolu a následně budou zhodnoceny vlivy jednotlivých parametrů na zobrazení výsledné křivky. Toto měření se provede pro dva senzory s rozlišným materiálem pracovní elektrody. Na základě těchto měření bude následně možné říct, jak jednotlivé parametry ovlivňují průběh měření, dále vliv materiálu pracovní elektrody a celkové zhodnocení vlastností senzorů během měření a vzájemné porovnání.

Zadání laboratorní úlohy je uvedeno za seznamem použité literatury.

6 Zhodnocení dosažených výsledků

Cílem této práce bylo vytvoření návrhu laboratorní úlohy využívající metodu cyklické voltametrie.

Výsledky práce je možno shrnout do následujících bodů:

Byla provedena literární rešerše zaměřená na voltametricé a amperometrické metody. U jednotlivých představených metod byl kladen důraz na popis jejich principu s grafickým vysvětlením použitých parametrů.

V praktické části byla na základě provedených měření s testováním vlivu parametrů cyklické voltametrie (rozsah napětí, rychlost změny potenciálu), použitých komponentů a teoretických znalostí pro cyklickou voltametrii, sestavena metodika využívající průtokovou celu pro provedení cyklické voltametrie s fyziologickým roztokem NaCl jako elektrolytem. V navržené metodice jsou uvedeny i části experimentální aparatury, které jsou pro provedení experimentu nezbytné. Jednotlivé postupy a body v metodice byly ověřeny a na základě jejich výsledků okomentovány a vyhodnoceny.

Navržená metodika byla úspěšně ověřena na dvou komerčně dodávaných senzorech AC1.W*.R* firmy BVT Technologies. Tyto senzory byly testovány ve dvou provedeních, a to se zlatou a platinovou pracovní elektrodou, čímž se testovala citlivost a vliv materiálu pracovní elektrody na výslednou elektrochemickou odezvu systému. Potenciálový rozsah aplikovaného napětí byl zvolen na základě informací z technické dokumentace dodané výrobcem. Vhodnost zvoleného rozsahu byla provedena zvýšením potenciálového okna o 0,1 V v každém směru hraniční hodnoty potenciálu. Tvar naměřené elektrochemické proudové odezvy potvrdil bezpečný rozsah aplikovaného napětí prezentovaného výrobcem. Z výsledků provedených experimentů vyplynulo zjištění, že vliv na naměřenou odezvu má i znečištění povrchu plochy senzoru, které mohlo vzniknout oxidací povrchu vlivem nevhodného skladování.

Po zvolení a otestování rozsahu napětí byla provedená cyklická voltametrie pro oba vybrané senzory, u kterých byl otestován vliv parametrů vzorkovacího kroku a rychlosti změny potenciálu. Na základě výsledků provedených experimentů bylo potvrzeno, že při zvyšování hodnoty rychlosti změny potenciálu dochází k větší elektrochemické odezvě – měření vyšších proudů.

Na pracovní plochu elektrody osmi senzorů byla provedena imobilizace enzymu glukózooxidázy. Takto připravené senzory byly testovány v prostředí elektrolytu fyziologického roztoku, do kterého byl přidán roztok glukózy. Na základě výsledků měření pro imobilizaci bylo zjištěno, že doba mezi přípravou imobilizace a nanesením takto vytvořené směsi na pracovní plochu senzoru má vliv na následnou elektrochemickou odezvu systému. V případě, že je imobilizovaný enzym nanesen na pracovní plochu senzoru v den vytvoření, dochází k dobré citlivosti na přítomnost glukózy ve zkoumaném analytu i u měření po měsíci od přípravy. U senzoru, který byl připravený nanesením imobilizovaného enzymu na pracovní plochu elektrody po době jednoho měsíce od vytvoření imobilizace, nedocházelo k detekci glukózy vůbec, což mohlo být způsobeno nevhodným skladováním imobilizačního roztoku. Pro ověření by bylo vhodné otestovat vliv podmínek skladování na schopnost senzoru s enzymem detekovat roztok glukózy.

Na základě získaných výsledků bylo potvrzeno, že senzor s platinovou pracovní elektrodou vykazuje vyšší elektrochemickou odezvu než senzor se zlatou pracovní elektrodou. Platina se z tohoto pohledu jeví jako vhodnější kovová matrice pro navržené elektrochemické měření.

Znalosti získané z teoretické a praktické části byly použity pro sestavení modelové laboratorní úlohy, která pomůže studentům pro snažší porozumění problematice cyklické voltametrie, pro jednodušší práci s měřicím přístrojem (potenciostatem) a jeho ovládacím softwarem PSTrace5

Na základě výsledků provedených testování a vytvořené metodiky je možné na tuto bakalářskou práci navázat testováním na výslednou elektrochemickou odezvu:

- vlivu podmínek skladování imobilizačního roztoku
- vlivu typu kovového materiálu pracovní elektrody
- doby použitelnosti připraveného senzoru s imobilizovaným enzymem
- vlivu doby mezi přípravou senzoru a jeho použitím k měření
- množství aplikovaného imobilizačního roztoku

Literatura

- [1] EGGINS, Brian R. *Chemical sensors and biosensors*. Chichester: Wiley, c2002. Analytical techniques in the sciences. ISBN 0-471-89913-5.
- [2] INCHEBIO. *Elektroanalytická chemie – Polarografie/Voltametrie*. [online]. Pardubice, 2000. Dostupné z: <https://dokumenty.upce.cz/FCHT/kbbv-vk/instrumentalni-met-anal/polarografie-voltametrie.pdf>
- [3] JANDOVÁ, Lenka. *Amperometrie*. [online]. 2018. Dostupné z: <https://docplayer.cz/66421463-Amperometrie-princip-instrumentace.html>
- [4] KLIKAR, Milan. *Cyklická voltametrie v kostce*. Pardubice, 2018. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko – technologická, Ústav organické chemie a technologie. Dostupné z: <https://docplayer.cz/126026623-Cyklicka-voltametrie-v-kostce.html>
- [5] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, and J. L. Dempsey, “A Practical Beginner’s Guide to Cyclic Voltammetry,” *Journal of Chemical Education*, vol. 95, no. 2, pp. 197–206, 2018, Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
- [6] PALMSENS BV. *PSTrace 5 User Manual: For use with PalmSens and EmStat Instruments*. 2018.
- [7] KABÁTOVÁ, Adriana. *Voltametrické techniky v praktiku z analytické chemie*. Brno, 2020. Bakalářská práce. Masarykova univerzita – Přírodovědecká fakulta. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/fkhyt/Voltametricke_techniky_v_praktiku_z_analyticke_chemie.pdf
- [8] Skoog, Douglas A., a další. *Analytická chemie*. [překl.] Karel NESMĚRÁK, a další. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.
- [9] MONK, Paul M. S. *Fundamentals of electroanalytical chemistry*. II. John Wiley & Sons, 2008. ISBN 0471880361.
- [10] HOŠEK, Filip. *Elektrochemická měření v body fluid kapalinách s využitím potenciostatu*. Ostrava, 2020. Bakalářská práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, Fakulta elektrotechniky a informatiky, Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství.
- [11] LECHNER, Filip. *Stříkané pracovní elektrody elektrochemických senzorů* [online]. Brno, 2013. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií. Dostupné z : https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=69338.
- [12] PENHAKER, Marek, Jan KUBÍČEK a Barbora HRVOLOVÁ. *Snímače a senzory v biomedicině*. Ostrava: VŠB – Technická univerzita Ostrava. ISBN 978-80-248-3104-6.
- [13] SMRČKA, Filip. *Voltametrické techniky v organické analýze*. Brno, 2014. Bakalářská práce. Masarykova univerzita.

- [14] BAREK, J.; OPEKAR, F.; ŠTUHLÍK, K. *Elektroanalytická chemie*. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1146-5
- [15] KŘÍŽOVÁ, Hana. *Cyklická voltametrie polyfenolů*. Hradec Králové, 2014. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze – Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra analytické chemie. Dostupné z: https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/62254/BPTX_2011_1_11160_0_331175_0_118966.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [16] Angel Electronic [online]. *AJ 5803 SYRINGE PUMP Computerised Micro-infusion Pump: Product Catalogue*. [cit. 2023-03-11]. Dostupné z: <https://www.angelpump.com/english/aj5803a.html>
- [17] PRŮTOKOVÁ CELA: Typ: FC2.*. In: *BVT Technologies, a.s.* [online] Dostupné z: <https://bvt.cz/produkt/fc2/>
- [18] ELECTROCHEMICAL SENSOR: Typ: AC1.W*.R*. In: *BVT Technologies, a.s.* [online]. Brno. Dostupné z: <https://bvt.cz/wp-content/uploads/2020/10/AC1-Data-Sheet.pdf>
- [19] MICRODIALYSIS CATHETER MICROEYE: product of Probe Scientific Ltd, UK, Type: PME011. *BVT Technologies, a.s.* [online]. Dostupné z: <https://bvt.cz/produkt/pme011-microdialysis-catheter-microeye/>
- [20] KOMÁR, Matěj. *Imobilizační metody enzyme pro analýzu koncentrace glukózy*. Ostrava, 2022. Diplomová práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, Fakulta elektrotechniky a informatiky, Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství.
- [21] HOŠEK, Filip. *Návrh, realizace a ověření pro měření koncentrace glukózy*. Ostrava, 2022. Diplomová práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, Fakulta elektrotechniky a informatiky, Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství

Přílohy

Je uvedena příloha Laboratorní úloha I, která ukazuje zadání laboratorní úlohy ke kapitole 5. Její vypracování a vzor, který je zde uveden je možné stáhnout v seznamu příloh.

Příloha I: PRILOHA_LU_ZADANI.docx

Příloha II: PRILOHA_LU_VYPRACOVANI.docx

PŘÍLOHA I:

1. Voltametrické měření pro stanovení vlastností senzorů

1.1 Cíl úlohy

- Pochopení průběhu cyklické voltametrie.
- Seznámení se blíže s elektrochemickými senzory (typy elektrod, jejich vlastnosti).
- Provedení cyklické voltametrie pro zvolené senzory a jeho následné porovnání.
- Zhodnocení naměřených výsledků

1.2 Zadání úlohy

- Seznamte se s cyklickou voltametrií a parametry pro CV.
- Zapojte měřící řetězec.
- Nastavte parametry pro CV a provedte CV.
- Otestujte parametrů Scan rate a Estep.
- Otestujte vliv materiálu pracovní elektrody.
- Porovnejte a okomentujte výsledky měření.

1.3 Předpokládané znalosti

Doporučená literatura:

- Hofferová, Petra. *Laboratorní úloha pro ověření vlastností senzorů cyklickou voltametrií*. Ostrava, 2023. Bakalářská práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, Fakulta elektrotechniky a informatiky, Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství.
- KLIKAR, Milan. *Cyklická voltametrie v kostce*. Pardubice, 2018. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko – technologická, Ústav organické chemie a technologie.

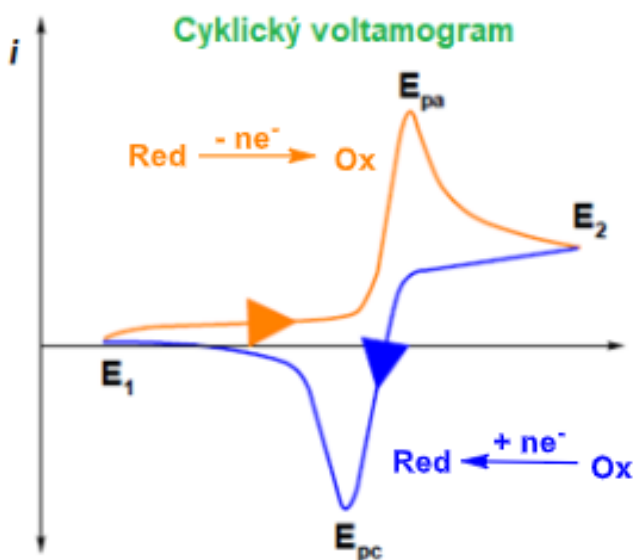
1.4 Použité vybavení

- Lineární dávkovač AJ 5803 ANGEL
- Potenciostat PalmSens4
- Počítač se softwarovým rozhraním PSTrace5
- Průtoková cela
- 2x komerční senzory AC1.W*.R* od BVT Technologies
- Mikrohadička s luer-lockem a násadcem
- Mikrohadička s násadcem
- 0,9 % fyziologický roztok NaCl
- Injekční stříkačka o objemu 100 ml
- 2x kádinka

1.5 Teoretický rozbor

Cyklická voltametrie (CV) je druh elektrochemického měření, která se nejčastěji používá pro sledování a studování elektrochemických vlastností látek prostřednictvím přenosu elektronů a z nich následné získání informací, například o stabilitě reakčních produktů, kinetice studované reakce, reverzibilitě reakce či vlivu materiálu, ze kterého je použitý senzor vyroben. Během této metody dochází k měření proudů, které protékají elektrodou při změně potenciálu elektrody v čase. Metoda se využívá také k zjištění vodivosti senzorů, kdy při zvyšování potenciálů roste následně i výstupní proud [1] [3].

Princip této metody spočívá v aplikaci určitého rozsahu napětí. Dochází tedy k zvyšování a zmenšování potenciálu s určitou rychlostí změny potenciálu. Probíhají zde dvě fáze: anodická fáze, kdy dochází ke zvyšování potenciálu na elektrody a katodické fáze, kdy se potenciál elektrody snižuje. Ve vrchní části při zvyšování potenciálu dochází k oxidačním reakcím a ve spodní části při snižování potenciálu dochází k redukčním reakcím (Obrázek 1) [1] [3].



Obrázek 1: Cyklický voltamogram [1]

Při cyklické voltametii se nastavují určité parametry, které ovlivňují průběh měření. Primárním parametrem je rozsah aplikovaného napětí, během kterého probíhá zvyšování a snižování potenciálů při cyklické voltametii. Tento parametr je důležitý z hlediska nepoškození elektrod. Při překročení bezpečné horní hraniční meze aplikovaného potenciálu dochází k tvorbě kyslíku, kdy může dojít k oxidaci povrchu pracovní elektrody. Při překročení bezpečné hraniční spodní meze bezpečného potenciálu dochází k tvorbě vodíku, který může ovlivnit vlastnosti elektrody. Během tohoto rozsahu dochází k redoxním reakcím, které jsou v průběhu měření zaznamenány na křivce ve formě píků. Potenciálový rozsah se nastaví parametry E_{vtx1} a E_{vtx2} . E_{vtx1} je hodnota pro maximální aplikovaný potenciál a E_{vtx2} je hodnota pro nejnižší aplikovaný potenciál. Mezi těmito parametry se volí další parametr E_{begin} . Tato hodnota se zvolí kdekoli mezi E_{vtx1} a E_{vtx2} nebo v jejich počátcích. Tato hodnota označuje bod odkud začíná měření cyklické voltametrie. Dalším důležitým parametrem je vzorkovací krok (E_{step}). O tuto hodnotu je vzorkován signál. Posledním

parametrem je Scan rate, který ovlivňuje, jak rychle se mění potenciál v čase. Všechny tyto parametry se nastavují pomocí softwaru PSTrace5, který je dodáván k potenciostatu PalmSens4 [1-3].

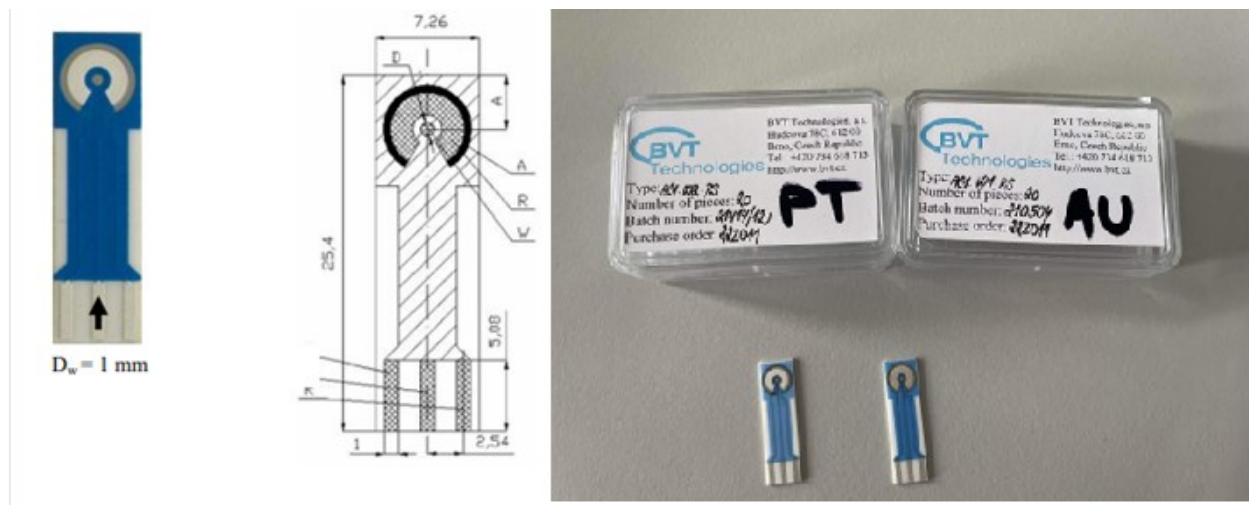
Při cyklické voltametii se nejčastěji používá tříelektrový systém uspořádání elektrod. V tomto uspořádání je pracovní, referenční a pracovní elektroda, které jsou ponořeny v roztoku elektrolytu [1].

Pracovní elektroda je polarizovatelná a nejčastěji je vyrobena z tuhého materiálu (stříbro, zlato, platina, rtuť či uhlík). Velikost proudového píku je přímo úměrná velikosti povrchu, proto tato elektroda musí mít přesně definovaný tvar a velikost [1].

Vůči referenční elektrodě se nastavuje potenciál pracovní elektrody. Oproti pracovní elektrodě musí mít referenční elektroda stabilní potenciál. V tomto uspořádání neprotéká referenční elektrodou žádný proud. Nejčastěji tyto elektrody jsou vyrobené z Ag/AgCl nebo čistého stříbra. Na základě materiálu referenční elektrody se volí rozsah aplikovaného napětí. Tento rozsah napětí lze aplikovat i při měření s jinou pracovní elektrodou s určitým posunem na potenciálové ose, který záleží na rozdílu redoxních potenciálů materiálů, ze kterých jsou vyrobeny referenční elektrody [1].

Pomocná elektroda v tomto uspořádání je zavedená za účelem odvádění proudu a pro zabránění protékání proudu referenční elektrodou. Tato elektroda nejčastěji bývá vyrobena ze stejného materiálu jako pracovní elektroda [1].

K měření jsou využity dva komerční elektrochemické senzory AC1.W*.R* (Obrázek 2) od firmy BVT Technologies. Jeden s platinovou a druhý se zlatou pracovní elektrodou.



Obrázek 2: Komerční senzory AC1.W*.R*.

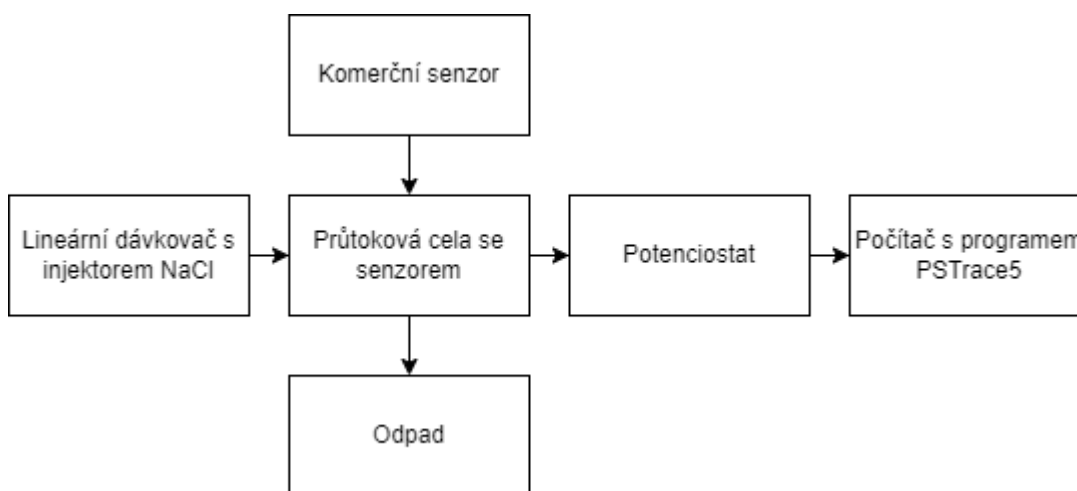
Při CV je elektrolyt roztok, v němž jsou ionty, které jsou schopné vést elektrický proud. Elektrolyt se používá jako nosná kapalina, do které se přidává zkoumaný analyt [1] [2].

1.6 Pracovní postup

Je důležité dodržovat jednotlivé body pracovního postupu za účelem správného provedení cyklické voltametrie.

1.6.1 Zapojení měřícího řetězce

Pro zapojení měřícího řetězce je uvedené blokové schéma (Obrázek 3) ze základních komponentů, které tvoří měřící řetězec. Blokové schéma je následně podrobněji rozepsáno a je k němu následně přiložený obrázek zapojeného měřícího okruhu (Obrázek 4). Následně postup pro zapojení měřícího okruhu je uveden v bodech.

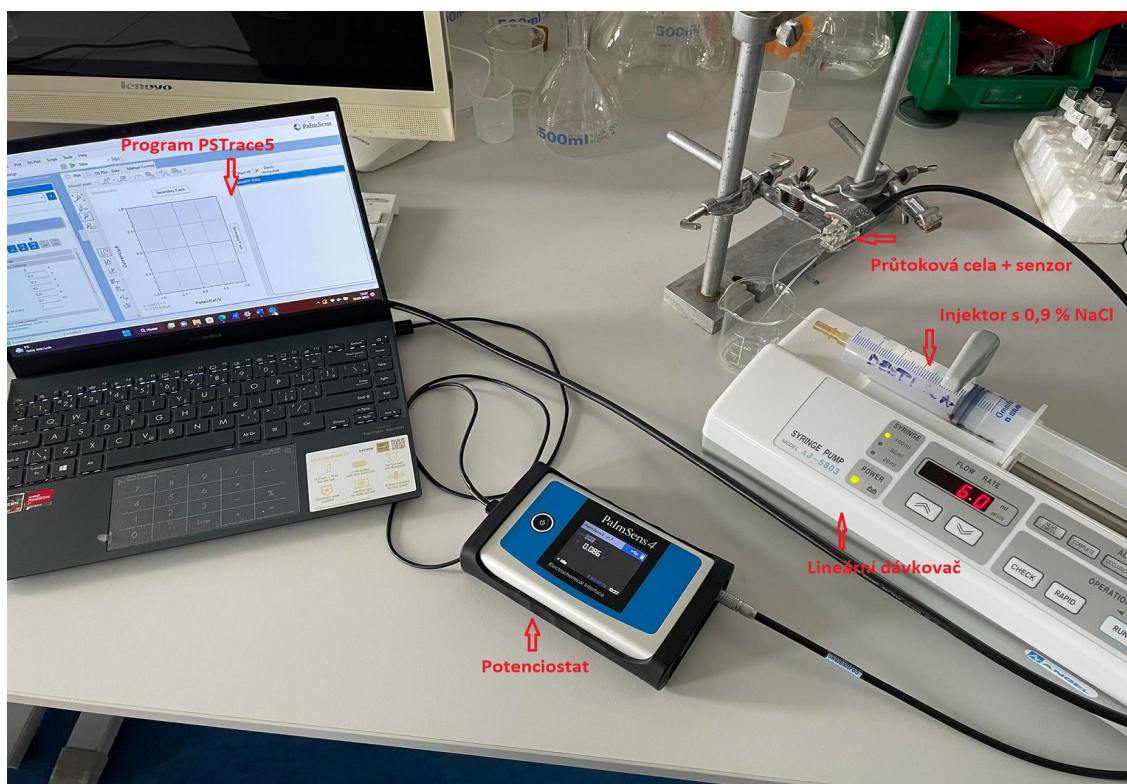


Obrázek 3: Blokové schéma měřícího okruhu.

Vybraný senzor je umístěn do průtokové cely, ve které je následně uzavřen a zafixován. Celá průtoková cela je umístěná a upevněná do stojanu pomocí držáků, aby se předešlo pohybovým artefaktům způsobených manipulací s celou v průběhu měření. Následně je do injekční stříkačky nabráno 70 ml fyziologického roztoku 0,9 % NaCl. Injekční stříkačka je poté vložena do lineárního dávkovače.

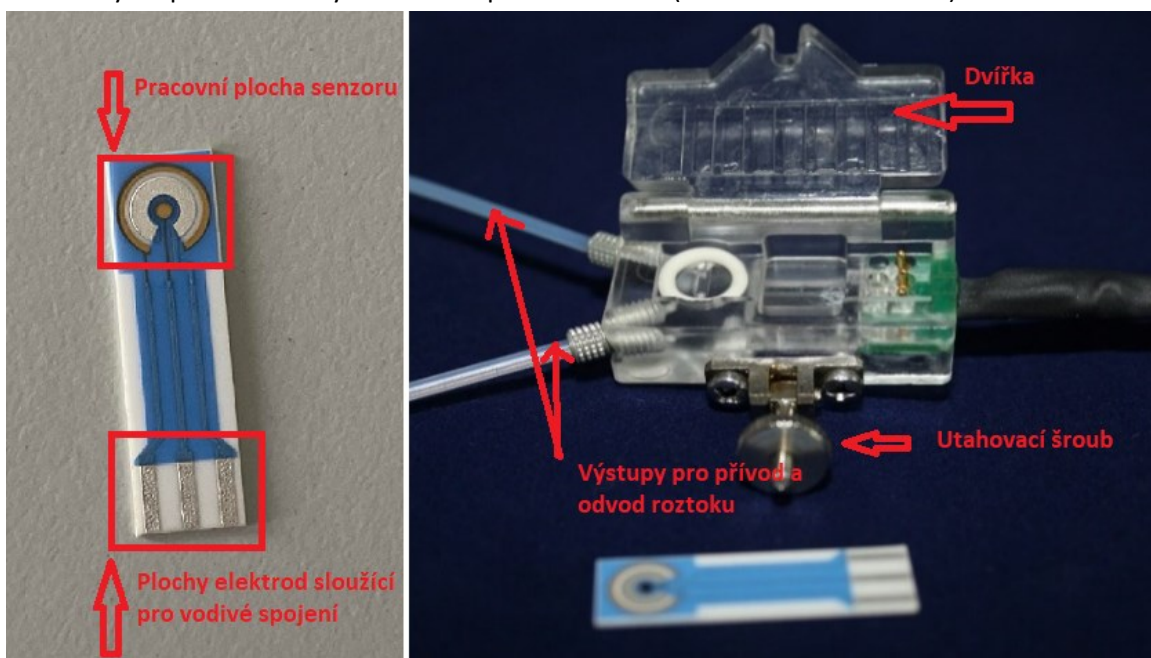
Na výstup injekční stříkačky v lineárním dávkovači je pomocí luer-locku připojena mikro hadička. Na druhém konci této hadičky je násadec, pomocí kterého se připojí hadička na jeden z výstupů průtokové cely. Průtoková cela disponuje dvěma výstupy, přičemž nezáleží, na který výstup je přivedena hadička. Výstupy průtokové cely totiž slouží jen k přívodu a následnému odvodu roztoku. Na druhý výstup průtokové cely je přivedená druhá mikro hadička opět pomocí násadce (tentokrát hadička bez zakončení luer-lock), druhý konec hadičky je umístěn do prázdné kádinky, do které je odváděn roztok po průtoku měřícím okruhem.

K průtokové cele, ve které je uložen senzor, je pomocí konektoru připojen potenciostat PalmSens4, ten je následně připojen k počítači se softwarem PSTrace5 pomocí USB/Bluetooth.

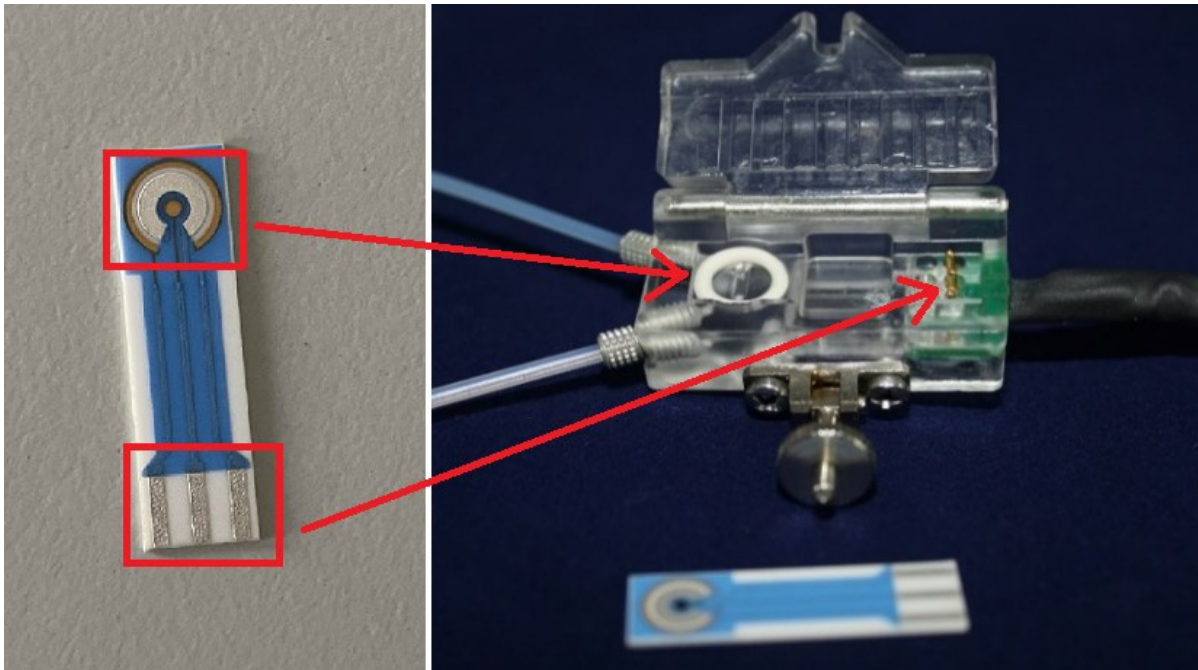


Obrázek 4: Zapojení měřicího okruhu

1. Vybraný senzor vložte do průtokové cely, pracovní plochou do vnitřní části cely a následně přiklopte dvířky od průtokové cely a utáhněte pomocí šroubu (Obrázek 5 a Obrázek 6).



Obrázek 5: Popis jednotlivých částí senzoru a cely.




Obrázek 6: Ukázka vložení senzoru do průtokové cely.

2. Uzavřenou celu umístěte do stojanu a utáhněte do svorek tak, aby se cela nehýbala (Obrázek 7).

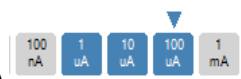


Obrázek 7: Upevněná cela ve svorkách.

3. Na průtokovou celu je napojen konektor, připojte konektor k potenciostatu PalmSens4.
4. K počítači pomocí USB C připojte potenciostat PalmSens4.
5. Zapněte potenciostat a software PStRace5, v liště connection vyberte zařízení PalmSens4, pokud není zařízení k výběru, proveďte refresh pomocí tlačítka . Po vybrání PalmSens4 klikněte na „Connect“.
6. Do čisté kádinky nalijte fyziologický roztok a naberte 70 ml fyziologického roztoku z kádinky do injekční stříkačky.



7. Vysunutím „páčky“ a posunutím na stranu, vložte naplněnou injekční stříkačku, následně vraťte „páčku“ do původní polohy.
8. Přiveďte na výstup injekční stříkačky mikro hadičku s koncem luer_lock, druhý konec pomocí násadce přiveďte na jeden z výstupů průtokové cely (*Obrázek 7*).
9. Na druhý výstup průtokové cely napojte druhou mikro hadičku pomocí násadce a opačný konec vložte do prázdné kádinky pro přívod odpadního roztoku.
10. Zapněte lineární dávkovač, nastavte na něm průtokovou rychlost 6 ml/h a spusťte pomocí tlačítka „run“.
11. Vyčkejte na průtok fyziologického roztoku měřícím okruhem do doby, než uvidíte vytékání roztoku do kádinky.


1.6.2 Nastavení parametrů PSTrace5



1. Nastavte proudový rozsah pro měření od 1 μA až 100 μA .
2. Nastavte parametry pro rozsah napětí – pro maximální hodnotu + 0,8 V (E_{vtx1}) a minimální hodnotu - 0,3 V (E_{vtx2}).
3. Nastavte hodnotu pro E_{begin} tak, aby hodnota byla v rozmezí - 0,3 V až + 0,8 V.
4. Nastavte E_{step} v rozmezí 0,005 V až 0,1 V.
5. Nastavte Scan rate v rozmezí 0,1 V/s až 0,7 V/s.

1.6.3 Měření cyklické voltametrie



1. Dle nastavených parametrů z 1.6.2 proveďte cyklickou voltametrii stisknutím .
2. Sledujte, jak se mění detekovaný proud v závislosti na měnícím se potenciálu.
3. Po skončení cyklu proveďte uložení měření .

Výslednou křivku uveďte do výsledků pomocí  s okomentováním, jak se mění průběh proudu v závislosti na napětí a jaká vlastnost se dá zjistit z daného měření.

1.6.4 Vliv Scan rate a Estep na křivku cyklické voltametrie

1. Ponechte stejné parametry měření, které jste použili v bodě 1.6.3.
2. Proveďte tři měření cyklické voltametrie se změnou parametru Estep: 0,1 V; 0,01 V; 0,05 V. Ostatní parametry ponechte stejné a jednotlivá měření pojmenujte a uložte.
3. Proveďte další tři měření se změnou parametru Scan rate: 0,1 V/s; 0,3 V/s; 0,5 V/s. Pro Estep nastavte hodnotu, kterou jste použili v bodě 1.6.3. Jednotlivá měření pojmenujte a uložte.
4. Zastavte lineární dávkovač pomocí tlačítka „stop“.
5. Vyměňte senzor v průtokové cele za druhý senzor.

6. Zapněte opět lineární dávkovač pomocí tlačítka „run“ a vyčkejte na průtok fyziologického roztoku měřicím okruhem.
7. Provedte znova kroky tři a čtyři pro tento senzor.
8. Vypněte lineární dávkovač.

Po měření, v záložce **plot** vyberte **clear plot**. Z naměřených a uložených výsledků pomocí  vyberte 3 měření s odlišným parametrem E_{step} pro jeden Vámi vybraný senzor. Jednotlivá měření v záložce **Session data** pojmenujte na základě velikosti E_{step} . Pokud si nejste jistí, jaký parametr byl zvolen pro měření, rozkliknutím jednotlivé křivky pod záložkou **View method parameters**, kde naleznete jednotlivé parametry, které byly použité pro jednotlivé měření. **Vyobrazené 3 křivky uložte a následně pomocí  vložte měření do výsledků s vhodným pojmenováním. Uvedte také hodnotu Scan rate, při které probíhalo měření. Následně okomentujte, jaký vliv má parametr E_{step} na výslednou křivku a proč.**

Vyčistěte graf pomocí clear plot a proveďte **stejný postup pro parametr Scan rate** opět pro jeden senzor. **Opět tři křivky** uložte a vložte do výsledků. **Uvedte hodnotu E_{step}** , při kterém probíhalo měření. **Okomentujte, jaký vliv má hodnota Scan rate na výslednou křivku a proč.**

1.6.5 Vliv materiálu pracovní elektrody

1. Vyberte z Vámi naměřených křivek dvě křivky, pro dva odlišné senzory, kde byly použity stejné hodnoty pro E_{step} a Scan rate.
2. Křivky pojmenuje v „session data“ na základě materiálu pracovní elektrody.
3. Křivky uložte a vložte do výsledků.

Uložený obrázek vložte do výsledků a okomentujte, jaký vliv měl materiál pracovní elektrody na výslednou křivku a čím to může být zapříčiněno. Uvedte aspoň dva faktory.

1.7 Výsledky

Výsledky pro úlohu 1.6.3

Křivka cyklické voltametrie s uvedenými parametry měření. Okomentování závislosti proudu na změně napětí. Která vlastnost senzoru lze na základě tohoto měření posoudit?

Výsledky pro úlohu 1.6.4

3 křivky cyklické voltametrie pro zjištění vlivu parametru E_{step} na křivku pro jeden senzor s uvedenou hodnotou Scan rate. 3 křivky cyklické voltametri pro zjištění vlivu parametru Scan rate na křivku pro jeden senzor s uvedenou hodnotou E_{step} . Okomentování vlivu E_{step} a Scan rate na výslednou křivku a proč.

Výsledky pro úlohu 1.6.5

2 křivky se stejnými hodnotami pro E_{step} a Scan rate, každá křivka pro jiný senzor. Okomentování rozdílu průběhu výsledné křivky na základě materiálu pracovní elektrody.

Detekovaný proudový pík

Pokud se během některého měření vyskytl detekovaný proudový pík, vložte obrázek křivky s detekovaným píkem a okomentujte o jaký druh proudového píku se jednalo.

1.8 Kontrolní otázky

K čemu se využívá cyklická voltametrie?

Jak zjistíme, že zkoumaný senzor je vodivý?

Co může ovlivnit velikost píku?

Které parametry ovlivňují křivku měření?

Jak se projevila změna materiálu pracovní elektrody na výslednou křivku?

Pokud došlo během měření k detekci píků, o jaké píky se jednalo? Redukční nebo oxidační – zdůvodněte odpověď.

1.9 Závěr

V závěru bude uveden postup, jakým student postupoval při plnění laboratorní úlohy. Následně uvede informace, které zjistil během měření a uvedl do výsledků. Okomentuje také, zda se během měření vyskytl chyby, eventuálně čím mohly být zapříčiněny.

Literatura

[1] KLIKAR, Milan. *Cyklická voltametrie v kostce*. Pardubice, 2018. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko – technologická, Ústav organické chemie a technologie.

<https://docplayer.cz/126026623-Cyklicka-voltametrie-v-kostce.html>

[2] KOMÁR, Matěj. *Imobilizační metody enzyme pro analýzu koncentrace glukózy*. Ostrava, 2022. Diplomová práce. Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava, Fakulta elektrotechniky a informatiky, Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství.

[3] EGGINS, Brian R. *Chemical sensors and biosensors*. Chichester: Wiley, c2002. Analytical techniques in the sciences. ISBN 0-471-89913-5.