

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ РАДІОЕЛЕКТРОНІКИ

СНІЖКО ДМИТРО ВІКТОРОВИЧ

УДК 615.47: 681.785: 535.379: 612.015

**КОНЦЕПЦІЯ ПОБУДОВИ СЕНСОРНИХ СИСТЕМ
З ВИКОРИСТАННЯМ НАНОФОТОННИХ ТА
НАНОЕЛЕКТРОХІМІЧНИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

Спеціальність 05.27.06 – технологія, обладнання та виробництво електронної
техніки

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора технічних наук

Науковий консультант:

Рожницький Микола Миколайович,
доктор фізико-математичних наук,
професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Сніжко Д.В. Концепція побудови сенсорних систем з використанням нанофотонних та наноелектрохімічних технологій. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора технічних наук зі спеціальності 05.27.06 – технологія, обладнання та виробництво електронної техніки – Харківський національний університет радіоелектроніки, Харків, 2021.

Різноманітні сенсорні системи є важливим елементом дослідження всесвіту. Одне із важливих місць займають сенсорні системи хімічного аналізу, що спрямовані на дослідження компонентного складу рідких зразків. Розширення списку відомих науці речовин постає питання створення відповідних методів їх визначення та моніторингу. Добре себе зарекомендували методи електрохімічного та оптичного аналізу, як найпоширеніших аналітичних методів.

Дисертація містить результати теоретичних й експериментальних досліджень, що спрямовані на розробку концепції технологічних засад використання нанофотонних та наноелектрохімічних технологій для створення сенсорних систем. Їх застосування дозволяє покращити аналітичні характеристики систем, розширити функціональність, що включає збільшення номенклатури об'єктів, речовин, що можуть досліджуватися. Отже вирішується питання розробки, вдосконалення та розвитку технологій, обладнання для виробництва електронної техніки в області сенсоріки.

Метою роботи є побудова концепції сенсорної системи з використанням нанотехнологій, фотонних та електрохімічних технологій, їхніх теоретичних засад з урахуванням прикладних аспектів використання у вирішенні актуальних задач.

Для досягнення поставленої мети в роботі вирішені наступні *задачі*:

- провести систематизацію перспективних аналітичних методів для їхньої реалізації у форматі сенсорних систем, що включало обґрунтування перспективності методів електрохімічного, хемілюмінесцентного, електрохемілюмінесцентного аналізів та надшвидкої вольтамперометрії;

- розглянути вплив нанотехнологій на особливості розробки сучасних аналітичних приладів, зокрема, сенсорів для дослідження складу рідких проб;

- розробити концепцію створення аналітичної системи з використанням відповідних нанотехнологій, поєднаних з ефективними аналітичними методами;

- розробити модель та провести комп'ютерні розрахунки формування сенсорних структур на базі електродів з функціоналізованою поверхнею;

- розробити концепцію побудови надшвидкого потенціостату, як інструментальної основи наноелектрохімічних методів, зокрема надшвидкої вольтамперометрії;

- провести синтез схемотехнічної реалізації відповідно до розробленої концепції побудови надшвидкого потенціостату, що включає теоретичні, шляхом моделювання функціональної поведінки запропонованої схемної реалізації у САПР «Multisim 12.0» від Texas Instrument, Co. та експериментальні дослідження характеристик розробленого надшвидкого потенціостату.

- дослідити практичні аспекти використання надшвидкого потенціостату в методах наноелектрохімії та можливість його поєднання в аналітичну систему, що використовує фотонні технології, зокрема метод електрогенерованої хемілюмінесценції;

- розглянути аспекти використання різноманітних сенсорів оптичного випромінювання для побудови аналітичних систем, особливо, що використовують явище електрогенерованої хемілюмінесценції.

Результатом вирішення цих задач стало отримання наступних результатів.

Вперше запропоновано концепцію побудови надшвидкого потенціостату для реалізації високошвидкісних методів електрохімічної аналізу з

використанням мікро-, ультрамікро- та наноелектродів, як сенсорів, яка базується на принципах внутрикаскадних зв'язків, компенсації омичного падіння в модулі перетворення струм-напруга та застосування режиму повторювача на високих частотах для підсилювача, що керує протиелектродом сенсора. За для цього проведено аналіз принципів потенціостатування електрохімічної ячейки (сенсора) та можливих способів побудови потенціостата на операційних підсилювачах. Випрацювані нові принципи побудови надшвидкого потенціостату дозволили реалізувати запропоновану концепцію у вигляді відповідної схемотехнічної реалізації на базі 7 операційних підсилювачів. Дослідження функціональної відповідності в прикладному САПР Multisim 12.0 підтвердило можливість реалізації надшвидкого потенціостата за запропонованими принципами.

Отримав подальший розвиток метод надшвидкої вольтамперометрії, що включає дослідження використання мікроелектродів та наноелектродів для електрохімічних досліджень. Наведено вольтамперограми одноелектронової пари іонів $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, що отримані для функціональної оцінки роботи потенціостата в дослідженнях на мікроелектродах в режимі швидкої розгортки потенціалу поляризації. Окрім цього досліджено можливість отримати відгук у вигляді емісії електрохемілюмінесценції з ультрамікроелектродів, технологію яких було розроблено в роботі. Оцінено можливість контролю перебігу електрохімічної реакції на ультрамікроелектроді через реєстрацію емісії фотонів фотоелектронним помножувачем в режимі лічби фотонів. Отримані дані розвитку кінетики електрохемілюмінесцентної емісії за різних умов збудження електрохемілюмінесцентного сенсору, що містить ультрамікроелектрод.

Вперше запропонована концепція побудови сенсорної система за принципом «тест на місці», що включає застосування нанотехнологічного п'єзоелектричного активатора аналітичної хемілюмінесцентної реакції. Розповсюдження хемілюмінесцентного аналізу обумовленого його високими аналітичними характеристиками такими як, висока чутливість, низька межа

визначення, тому є перспективним аналітичним методом. Для проведення більшості хемілюмінесцентних реакцій необхідна наявність речовини-окисника. В роботі запропоновано нанотехнологічний пристрій, що формує активні форми кисню для проведення хемілюмінесцентного аналізу безпосередньо в зразку за рахунок ультразвукового впливу, що здійснює нанотехнологічний п'єзоактиватор. Його малі габарити, невелике споживання електричної енергії та висока ефективність дозволяє створювати на його основі мініатюрних сенсорних систем. Досліджені можливості реєстрації оптичного сигналу хемілюмінесцентної реакції як за допомогою фотоелектронного помножувача, так і за допомогою камери мобільного телефона. Це дозволило провести оцінку кожного з методів, та надати рекомендацій стосовно реалізації сенсорної системи за цією технологією.

Отримав подальший розвиток набув метод хемілюмінесценції, що включає розробку нових технологій аналізу на базі цього явища для визначення біологічнозначущих компонентів рідких проб, таких як аскорбінова кислота, супероксиддисмутаза, гемін, терозіназа. Одним із напрямків розвитку аналітичних методів, покладених в основу роботу сенсорних систем, є пошук нових аналітичних композицій. Це дозволяє розширити перелік речовин, що можуть визначатися та/або покращити характеристик методу щодо визначення речовин для яких вже існують методики визначення. Тому пошук нових аналітичних композицій є важливою складовою технологічного розвитку сенсорних систем. Так в роботі запропоновано використання нової хемілюмінесцентної композиції люмінол-флуорескамін-піролідінопентіофенон. За рахунок збільшення кількості можливих реагентів для проведення аналізу розширюється технологічна база сенсорних систем.

Крім цього, розвиток технології інструментального забезпечення є важливим елементом в розробці ефективних сенсорних систем. В роботі досліджено використання нанотехнологій та наноматеріалів в аналізі рідких проб.

Так використання алмазоподібних покриттів, що леговано азотом, дозволяє отримати переваги над традиційними електродними матеріалами, що дозволяє розширити діапазон потенціалів поляризації сенсора, підвищити відгук аналітичного сигналу, забезпечити більш високе співвідношення сигнал/шум. Також продемонстровано можливість використання функціоналізованих електродів вуглецевими нанотрубками за технологією хімічного зв'язування через молекулу посередник, що розроблено в цій роботі. Застосування вуглецевих нанотрубок дозволило створити електрод, якому притаманні певні каталітичні властивості, знизивши потенціал піків окислення для аскорбінової кислоти в модельній суміші, що відповідно полегшує процес визначення речовини та надає змоги проводити аналіз за менших потенціалів, виключаючи з аналізу речовини, що потребують більш високого потенціалу окислення ніж цільовий аналіт.

Інший метод функціоналізації електродної поверхні, що досліджувався в роботі, та який проявив свій високий потенціал для розвитку електрохемілюмінесцентного аналізу, метод формування мономолекулярних шарів за методом Лангмюра-Блоджетт. Так дослідження бінарних систем органічних сполук - відомих електрохемілюмінофорів, та речовин, що можуть утворювати високовпорядковані плівки за методом Лангмюра-Блоджетт, дозволило створити унікальну технологію яка створює умови для використання водонерозчинних реагентів для проведення аналізу в водних зразках. Проведення гетерогенного електрохемілюмінесцентного аналізу дозволило скоротити витрати реагенту, оскільки процеси електролізу та формування аналітичного сигналу мають місце в безпосередній близькості до поверхні електрода, тому фіксація електрохемілюмінофора в матриці на поверхні дозволяє малою кількістю речовини організувати необхідну концентрацію для електрохемілюмінесцентного аналізу в тому місці де він перебігає, та не розчиняти його у всьому об'ємі зразка. В процесі розробки цієї технології досліджувалися оптимальні умови формування сенсорного шару, отримання максимального відгуку сенсора за рахунок оптимізації

технологічних факторів таких як кількість шарів, концентрація люмінофору в плівці.

Отримав подальший розвиток метод електрогенованої хемілюмінесценції, що включає розробку фізико-хімічної моделі процесів взаємодії співреагенту етилформату з електрохемілюмінофором – хелатним комплексом рутенію, що описує механізм генерації аналітичного сигналу в сенсорній ЕХЛ системі. Залучивши спектроскопічні дослідження вихідного сигналу реалізован метод спектроскопічного електрохемілюмінесцентного аналізу, що дозволив виявити емітер аналітичного сигналу. Поєднуючи з даними кінетики реакції взаємодії електрохемілюмінофора з співреагентом – етилформатом, запропоновано фізико-хімічна модель проходження аналітичної реакції, що описує формування аналітичного сигналу.

Розроблена експериментальна сенсорна система для проведення електрохімічних та електрохемілюмінесцентних досліджень в високошвидкісних режимах поляризації, що апробована під час виконання НДР. Поєднання надшвидкого потенціостата з контрольно-вимірним обладнанням з обладнанням реєстрації оптичного випромінення на базі фотоелектронного помножувача, дозволило створити інструментарій для проведення електрохемілюмінесцентного аналізу з високою часовою роздільною здатністю. Враховуючи факт використання ультрамікроелектродів в якості робочих електродів, досягається одночасне просторове обмеження об'єму зразка, що досліджується. А оскільки за рахунок швидкої поляризації електрохімічного сенсора вдається досягти зменшення розчину, що залучено до електролізу, це є додатковим фактором просторового обмеження. Таким чином реалізується аналіз з високими просторовою та часовою роздільними здатностями.

Розроблені теоретичні та експериментальні моделі можуть бути застосовані для вирішення комплексної задачі створення та дослідження складних сенсорних систем, що використовують нанофотонні та ноноелектрохімічні технології визначення речовин в рідких пробах.

Результати досліджень розвивають теоретичні, модельні та експериментальні методи і методики досліджень навколишнього середовища за допомогою сенсорних систем. Вони мають значення для створення нових зразків приладів та систем електронної техніки, пропонуючи нові підходи, рекомендації та технології в створенні вимірних систем, та вдосконалення існуючої техніки. Практичне використання результатів дозволить підвищити характеристики і ефективність застосування сенсорних систем в різноманітних областях народного господарства, де є потреба аналізу складу рідких зразків, а саме біологія, медицина, екологія, фармацевтика, технологічний контроль в промисловості.

Ключові слова: технологія, сенсорна система, біофотоніка, наноелектрохімія, хемілюмінесценція, надшвидкий потенціостат, модифікація, функціоналізація, програмно-апаратне забезпечення, аналіз речовин.

ABSTRACT

D.V. Snizhko. The concept of construction of sensor systems using nanophotonic and nanoelectrochemical technologies. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation for competition for the doctor of technical sciences degree on specialty 05.27.06 - technology, the equipment and manufacture of electronic technics - the Kharkiv National University of Radio Electronics, Kharkiv, 2021.

Various sensory systems are an important element in the study of the universe. One of the important places is occupied by sensory systems of chemical analysis, which are aimed at studying the component composition of liquid samples. The expansion of the list of substances known to science raises the question of creating appropriate methods for their determination and monitoring. Methods of electrochemical and optical analysis have proven to be the most common analytical methods.

The dissertation contains the results of theoretical and experimental researches directed on the development of the concept of technological bases of the use of nanophotonic and nanoelectrochemical technologies for the creation of sensory systems. Their application allows to improve the analytical characteristics of the systems, to expand the functionality, which includes increasing the range of objects, substances that can be studied. Thus, the issue of development, improvement and development of technologies, equipment for the production of electronic equipment in the field of sensors is solved.

The work aims to build the concept of a sensor system using nanotechnology, photonic and electrochemical technologies, their theoretical foundations, taking into account the applied aspects of use in solving current problems.

To achieve this goal, the following tasks are solved:

- to systematize promising analytical methods for their implementation in the format of sensor systems, which included substantiation of the prospects of methods of electrochemical, chemiluminescent, electrogenerated chemiluminescent analyses,

and ultrafast voltammetry;

- to consider the influence of nanotechnology on the features of the development of modern analytical instruments, in particular, sensors for studying the composition of liquid samples;

- to develop the concept of creating an analytical system using appropriate nanotechnologies, combined with effective analytical methods;

- to develop a model and perform computer calculations of the formation of sensory structures based on electrodes with a functionalized surface;

- to develop the concept of construction of ultrafast potentiostat as an instrumental basis of nanoelectrochemical methods for ultrafast voltammetry;

- to synthesize the circuit implementation in accordance with the developed concept of construction of ultra-fast potentiostat, which includes theoretical, by modelling the functional behaviour of the proposed circuit implementation in CAD "Multisim 12.0" from Texas Instrument, Co. and experimental studies of the characteristics of the developed ultrafast potentiostat.

- to investigate the practical aspects of the use of ultrafast potentiostat in the methods of nanoelectrochemistry and the possibility of its combination in an analytical system using photonic technologies, in particular, the method of electrogenerated chemiluminescence;

- to consider aspects of the use of various optical radiation sensors for the construction of analytical systems, especially those that use the phenomenon of electrogenerated chemiluminescence.

The result of solving these problems was to obtain the following results.

For the first time the concept of construction of ultrafast potentiostat for the realization of high-speed methods of electrochemical analysis using micro-, ultramicro- and nanoelectrodes as sensors based on the principles of intra-cascade connections, ohmic drop compensation for the amplifier controlling the counter electrode of the sensor. For this purpose, the analysis of principles of potentiostating of an electrochemical cell (sensor) and possible ways of construction of the potentiostat on operational amplifiers is carried out. The developed new principles

of construction of the superfast potentiostat allowed to realize the offered concept in the form of the corresponding circuit-technical realization based on 7 operational amplifiers. The study of functional compliance in the applied CAD Multisim 12.0 confirmed the possibility of implementing ultra-fast potentiostat according to the proposed principles.

The method of ultrafast voltammetry, which includes the study of the use of microelectrodes and nanoelectrodes for electrochemical studies, was further developed. Voltammograms of a single-electron pair of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ ions obtained for the functional evaluation of the potentiostat operation in studies on microelectrodes in the mode of rapid scanning of the polarization potential are presented. Also, the possibility of obtaining a response in the form of electrochemiluminescence emission from ultramicroelectrodes, the technology of which was developed in this work, was investigated. The possibility of controlling the course of the electrochemical reaction at the ultramicroelectrode through the registration of photon emission by a photoelectron multiplier in the photon counting mode is evaluated. Data on the development of electrochemiluminescent emission kinetics under different excitation conditions of an electrochemiluminescent sensor containing an ultramicroelectrode are obtained.

For the first time, the concept of building a sensory system on the principle of "field test", which includes the use of a nanotechnological piezoelectric activator of the analytical chemiluminescent reaction. The spread of chemiluminescent analysis due to its high analytical characteristics such as high sensitivity, low limit of determination, therefore, is a promising analytical method. Most chemiluminescent reactions require an oxidant. The paper proposes a nanotechnological device that forms reactive oxygen species for chemiluminescent analysis directly in the sample due to the ultrasonic effect of the nanotechnological piezoelectric actuator. Its small size, low power consumption and high efficiency allow you to create miniature sensor systems based on it. Possibilities of registration of an optic signal of a chemiluminescent reaction both utilizing a photoelectronic multiplier and utilizing a camera of a mobile phone are investigated. This allowed us to evaluate each of the

methods, and provide recommendations for the implementation of a sensor system for this technology.

Further developed the method of chemiluminescence, which includes the development of new technologies of analysis based on this phenomenon to determine the biologically significant components of liquid samples, such as ascorbic acid, superoxide dismutase, hemin, tyrosinase. One of the directions of development of analytical methods, which are the basis of the work of sensor systems, is the search for new analytical compositions. This allows expanding the list of substances that can be determined and/or to improve the characteristics of the method for the determination of substances for which methods of determination already exist. Therefore, the search for new analytical compositions is an important component of the technological development of sensor systems. Thus, the use of a new chemiluminescent composition luminol-fluorescamine-pyrrolidinopentio-phenone is proposed in the work. Due to the increase in the number of possible reagents for analysis, the technological base of sensor systems is expanding.

Besides, the development of instrumentation technology is an important element in the development of effective sensor systems. The use of nanotechnologies and nanomaterials in the analysis of liquid samples is investigated in the work.

Thus, the use of diamond-like coatings doped with nitrogen allows obtaining advantages over traditional electrode materials, which allows to expand the range of polarization potentials of the sensor, increase the response of the analytical signal, provide a higher signal-to-noise ratio. The possibility of using functionalized electrodes with carbon nanotubes by chemical bonding technology through an intermediate molecule, which was developed in this work, is also demonstrated. The use of carbon nanotubes has created an electrode that has certain catalytic properties, reducing the potential of oxidation peaks for ascorbic acid in the model mixture, which simplifies the process of determining the substance and allows analysis at lower potentials, excluding from the analysis of substances requiring higher potency, than the target analyte.

Another method of functionalization of the electrode surface, which was studied in the work, and which showed its high potential for the development of electrochemiluminescent analysis, the method of formation of monomolecular layers by the method of Langmuir-Blodgett. Thus, the study of binary systems of organic compounds - known electrochemiluminophores, and substances that can form highly ordered films by the Langmuir-Blodgett method, allowed to creation of a unique technology that creates conditions for the use of water-insoluble reagents for analysis in aqueous samples. Heterogeneous electrochemiluminescent analysis reduced reagent costs because the processes of electrolysis and analytical signal formation take place close to the electrode surface, so fixation of electrochemiluminophore in the matrix on the surface allows a small amount of substance to organize the required concentration for electrochemiluminescent analysis. do not dissolve it in the entire volume of the sample. In the process of developing this technology, the optimal conditions for the formation of the sensor layer, obtaining the maximum response of the sensor by optimizing technological factors such as the number of layers, the concentration of phosphor in the film were investigated.

The method of electrogenerated chemiluminescence was further developed, which includes the development of a physicochemical model of the processes of interaction of ethyl formate co-reagent with electrochemiluminophore - ruthenium chelate complex, which describes the mechanism of analytical signal generation in sensory ECL system. Involving spectroscopic studies of the output signal, the method of spectroscopic electrochemiluminescent analysis was implemented, which allowed to detection of the analytical signal emitter. Combining with the data of the reaction kinetics of the interaction of the electrochemiluminophore with the co-reactant - ethyl formate, a physicochemical model of the analytical reaction is described, which describes the formation of the analytical signal.

An experimental sensor system for electrochemical and electrochemiluminescent studies in high-speed polarization modes has been developed and tested during R&D. The combination of ultra-fast potentiostat with

control and measuring equipment with equipment for recording optical radiation based on photoelectron multiplier, allowed to create of tools for electrochemiluminescent analysis with high temporal resolution. Given the fact that ultramicroelectrodes are used as working electrodes, a simultaneous spatial limitation of the volume of the sample under study is achieved. And since due to the rapid polarization of the electrochemical sensor it is possible to achieve a reduction of the solution involved in electrolysis, this is an additional factor of spatial limitation. Thus, the analysis with high spatial and temporal resolutions is implemented.

The developed theoretical and experimental models can be used to solve the complex problem of creating and studying complex sensor systems using nanophotonic and nonelectrochemical technologies for the determination of substances in liquid samples.

The research results develop theoretical, modelling and experimental methods and techniques of environmental research using sensor systems. They are important for the creation of new models of devices and systems of electronic technology, offering new approaches, recommendations and technologies in the creation of measurable systems, and the improvement of existing technology. Practical use of the results will increase the characteristics and efficiency of sensor systems in various areas of the economy, where there is a need to analyze the composition of liquid samples, namely biology, medicine, ecology, pharmaceuticals, technological control in the industry.

Key words: technology, sensor system, biophotonics, nanoelectrochemistry, chemiluminescence, ultrafast potentiostat, modification, functionalization, software and hardware, analysis of substances.

ПЕРЕЛІК ПРАЦЬ ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ*Статті та патенти*

1. C. Wang, Y. Chen, D. Snizhko, F. Du, X. Ma, B. Lou, J. Li, and G. Xu, «Development of luminol-fluorescamine-ППФ chemiluminescence system and its application to sensitive tyrosinase determination», *Talanta*, vol. 218, p. 121–177, Oct. 2020.
2. F. Du, X. Ma, F. Yuan, C. Wang, D. Snizhko, Y. Guan, and G. Xu, «Sonochemiluminescence Based on a Small, Cheap, and Low-Power USB Mesh-Type Piezoelectric Ultrasonic Transducer», *Analytical Chemistry*, vol. 92, no. 7, pp. 4755–4759, Mar. 2020.
3. Т.Н. Fereja, F. Du, C. Wang, D. Snizhko, Y. Guan, and G. Xu, «Electrochemiluminescence Imaging Techniques for Analysis and Visualizing», *Journal of Analysis and Testing*, vol. 4, no. 2, pp. 76–91, Apr. 2020.
4. Д.В. Сніжко, А.В. Кукоба, «Потенціостат», Патент України, UA №120330, 11.11.2019.
5. Т.Н. Fereja, S.A. Kitte, W. Gao, F. Yuan, D. Snizhko, L. Qi, A. Nsabimana, Z. Liu, and G. Xu, «Artesunate-luminol chemiluminescence system for the detection of hemin», *Talanta*, vol. 204, pp. 379–385, Nov. 2019.
6. D. Snizhko, A. Kukoba, «Ultrafast Potentiostat as Compromise between Current Sensitivity vs. Response Time», *Przegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 8, pp. 104–109, Aug. 2019.
7. Г.Б. Халед, А.В. Кукоба, О.М. Білаш, Ю.Т. Жолудов, Д.В. Сніжко, К.М. Музика, «Електрохемілюмінесцентна платформа для твердофазного визначення слідових концентрацій поліциклічних ароматичних вуглеводнів», *Радиотехника: Всеукр. межвед. научн.-техн. сб.*, вып. 192, сс. 106–112, 2018.
8. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Драйвер керування електрохемілюмінесцентним сенсором на базі системи цифрової обробки сигналів», *Системи обробки інформації*, Вип. 3, Т. 101, сс. 121–125, 2012.
9. Т.Н. Fereja, S.A. Kitte, D. Snizhko, L. Qi, A. Nsabimana, Z. Liu, and G. Xu, «Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) electrochemiluminescent determination

of ethyl formate», *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 410, no. 26, pp. 6779–6785, Aug. 2018.

10. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, Г.М. Бендеберя, «Мікроелектрод і спосіб його виготовлення» Патент України, UA №104519, 10.02.2014.

11. Д.В. Сніжко, «Ультрамікроелектрод і спосіб його виготовлення», Патент України, UA №117304, 10.07.2018.

12. D. Snizhko, G. Bani-Khaled, K. Muzyka et al. «Apparatus ‘Spark’ for luminescent and electrochemiluminescent measurements», *Przegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 6, pp. 40–44, Jun. 2018.

13. F. Yuan, L. Qi, T.H. Fereja, D.V. Snizhko, Z. Liu, W. Zhang, and G. Xu, «Regenerable bipolar electrochemiluminescence device using glassy carbon bipolar electrode, stainless steel driving electrode and cold patch», *Electrochimica Acta*, vol. 262, pp. 182–186, Feb. 2018.

14. D. Snizhko, O.A. Sushko, E.A. Reshetnyak et al. «Colorimeter based on color sensor», *Przegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 5, pp. 98–103, May 2017.

15. Д.В. Сніжко, О.А. Сушко, «Мікро- та наноелектрооди для електрохімічних вимірювальних систем», *Системи обробки інформації*. № 6, Т. 143, сс. 156–160, 2016.

16. D.V. Snizhko, Y.T. Zholudov, O.M. Bilash, A.V. Kukoba, and M.M. Rozhitskii, «Electrochemiluminescence at nitrogen doped diamond-like carbon film electrodes», *Russian Journal of Electrochemistry*, vol. 50, no. 3, pp. 260–266, Mar. 2014.

17. Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина, Д.В. Снежко и др., «О применении портативного фотометра для регистрации цвета сорбентов в химическом анализе», *Вісник Харківського національного університету*, № 932. Хімія, Вип. 19, Т. 42, сс. 208–215, 2010.

18. Електрохемилюмінесцентний аналізатор ЕЛАН-3d для біомедичних досліджень / Жолудов Ю.Т., Сніжко Д.В., Кукоба А.В. та ін. // *Радіотехніка: Все-укр. міжвід. наук.-техн. зб.*, 2009. Вип. 158. С. 180 – 186.

19. Д.В. Снежко, «Система управления нанофотонным сенсорным

устройством», *Системи управління, навігації та зв'язку*, Вип. 3, №11, сс. 151 – 155, 2009.

20. А.А. Лучанинов, А.О. Омаров, В.Е. Стрельницкий, Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицкий, «Электроды с алмазоподобным покрытием для электрохимических и электрохемилюминесцентных исследований», *Фізична інженерія поверхні*, Т.7, №1-2, сс. 104 – 109, 2009.

21. Д.В. Сніжко, «Рефлектометр для біомедичних досліджень», *Радіотехніка: Всеукр. міжвід. наук.-техн. зб.*, вип. 156, сс. 263 – 267, 2009.

22. Y. Zholudov, D. Snizhko, A. Kukoba, H. Bilash, and M. Rozhitskii, «Aqueous electrochemiluminescence of polycyclic aromatic hydrocarbons immobilized into Langmuir–Blodgett film at the electrode», *Electrochimica Acta*, vol. 54, no. 2, pp. 360–363, Dec. 2008.

23. А.М. Семеней, Д.В. Снежко, «Высоковольтный преобразователь напряжения для медицинской аппаратуры», *Прикладная радиоэлектроника*, Т.6, №1, сс.137–140, 2007.

Матеріали доповідей на конференціях, симпозиумах, сесіях

24. D. Snizhko, G. Xu «Photon Counting in ECL Instrumentation», in *The Seventeenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry & The Third International Meeting on Electrogenenerated Chemiluminescence*, Changchun, China, 2019, pp.228–229.

25. D. Snizhko, Y. Zholudov, A. Kukoba, and G. Xu, «Langmuir–Blodgett technique versatility for electrode modification and its ECL application», in *20th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence*, Nantes, France, 2018, sciencesconf.org:isbc-2018:179114.

26. N.M. Lysak, D.V. Snizhko, Yu.T. Zholudov, G. Xu, «Electrochemiluminescent method of tryptophan detection for assay of biological samples», in *5th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects*, Kharkiv, Ukraine, 2017, p.120.

27. D. Snizhko, K. Muzyka, and G. Xu, «Trans-impedance Amplifier for ECL Analyzer», in *20th International Symposium on Bioluminescence and*

Chemiluminescence, Nantes, France, 2018, sciencesconf.org:isbc-2018:180601.

28. D. Snizhko, G. Xu, «Electrochemiluminescent Measurements on Wireless Chip by CMOS Photocamera», in *The Sixteenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry*, Changchun, China. 2017, pp. 94–96.

29. D. Snizhko, G.F.H. Bani Khaled, O.M. Bilash, A.V. Kukoba, «Apparatus «Spark» for luminescent and electrochemiluminescent measurement», in 6-й Междунар. радиоэлектронный форум «Прикладная радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития», Конф. «Проблемы биомедицины. Наука и технологии», Харьков, 2017, сс. 167–169.

30. D. Snizhko, O. Sushko, G. Xu, «CMOS Photocamera for ECL Detection on Wireless Chip», in *International Conference on Electrogenerated Chemiluminescence*, Bordeaux, France, 2016, p. WE.O6.

31. D. Snizhko, M. Rozhitskii, N. Tsierkezos, U. Ritter, «Ultrafast Voltammetry in Electroanalytics» in *The Fifteenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry*, Changchun, China, 2015, pp.70–71.

32. Д.В. Сніжко, «Лічильник імпульсів з USB інтерфейсом «Pulsar» для роботи у складі аналітичної системи електрохемілюмінесцентного аналізу», на 5-ом Міжнародному радіоелектронному форумі «Прикладна радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития». Сб. научн. трудов. Т 3, Харьков, Украина, 2014, сс. 221–223.

33. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Instrumentation for short time resolution in ECL measurements», in *The first International Meeting on Electrogenerated Chemiluminescence*, Bertinoro, Italy. 2014, p. 15.

34. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Наноды из углеродных нанотрубок для наноэлектрохимических сенсоров», на VI Міжнарод. научная конф. «Функциональная база наноелектроники», Алушта, Украина, 2013, сс. 350–353.

35. D.V. Snizhko, U. Ritter, M.M. Rozhitskii, «Carbon Nanotubes Material for Electrochemical and Electrochemiluminescent Bioanalytics», in 3rd *International Conference “Nanobiophotonics: Fundamental and Applied Aspects”*, Kharkiv,

Ukraine, 2013, p. 63.

36. D.V. Snizhko, Yu.T. Zholudov, «Photonic probing of single-electron acts in electrochemical reactions», in *9th ECHEMS Meeting: Electrochemistry in “Molecular surface science and catalysis”*, Lochow, Poland, 2013, p. 40.

37. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Применение композитных полислоев Ленгмюра-Блоджетт для изучения прецессов в электрохемилюминесцентных сенсорах», на *V Междунар. научная конф. «Функциональная база нанoeлектроники»*, Кацевели, Украина, 30 сентября-05 октября, 2012, сс. 81–84.

38. Д.В. Сніжко, А.В. Кукоб, Н.Н. Рожицький, «Метод надшвидкої вольтамперометрії для нанoeлектрохімічного аналізу» на *Річній сесії наукової ради з проблеми «Аналітична хімія»*, Гурзуф, 2011, С. 56.

39. D. Snizhko, A. Kukoba, M. Rozhitskii, «Peculiarities of ultra fast potentiostates re-alization for nanosecond resolution voltammetry», in *The 4th Eletrochemistry in Nanoscience meeting “ElecNano4”-7thECHEMS*, Paris, France, 23-26 May 2011. – P. 20.

40. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Ultra-fast potentiostate for nanoelectrochemistry and nanomaterial characterization», in *4th German-Ukrainian Symposium “Physics and Chemistry of Nanostructures and Nanobiotechnology”*, Ilmenau, Germany, 2012, pp. 52–53.

41. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «The Electrochemical Instrumentation for the Ultra-Fast Voltammetry», in *The 63rd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry*, Prague, Czech Republic, 2012. – [CD-ROM].

42. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Нанoeлектрохімічні дослідження системи 9,10-діфенілантрацен», на Річній Сесії Наукової Ради з проблеми "Аналітична хімія" НАН України, Гурзуф, Україна, 2012, с.104.

43. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Microelectrodes Characterization by Ultra-Fast Voltammetry», in *8th ECHEMS Meeting “Electrochemistry in “Molecular surface science and catalysis”*, Bertinoro, Italy, 2012, p.18.

44. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Використання надшвидкого

потенціостата в сучасній наноаналітиці» на *5-й Міжнародній науковій конференції «Функциональная компонентная база наноэлектроники»*, Харків-Кацивели, Україна, 2012, сс. 189–192.

45. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Перспективи використання надшвидкого потенціостата для вирішення задач біомед-інженерії», на *4-ом Міжнародному радіоелектронному форумі «Прикладная радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития»*, збірник наукових трудов, Т. III, Конференція «Актуальные проблемы биомедицины», Харків, Україна, 2011, сс.171–173.

46. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Аспекти побудови надшвидкого потенціостата», на *IV Міжнародній науковій конференції «Функциональная база наноэлектроники»*. – Харків, Україна, 2011, сс. 258–261.

47. Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицкий, «Использование сканирующей зондовой микроскопии при разработке электрохемилюминесцентных нанотехнологических сенсоров», на *IX Міжнародній конференції методологічні аспекти сканирующей зондовой микроскопии*, Мінськ, Біларусь, 2010, сс. 211–215.

48. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Драйвер електрохімічного сенсора на базі МС ATX Mega-128A1 для аналізу рідких середовищ», на *III-й Міжнародній науковій конференції «Функциональная компонентная база микро-, опто- и наноэлектроники»*, Кацивели, Україна 2010, сс.331–334.

49. D. Snizhko, M. Rozhitskii, «Electrochemical Sensors Array Actuator Based on XMEGA AVR Microcontroller», на *4-й Міжнародній науково-технічній конференції «Сенсорна електроніка та мікросистемні технології»*, Одеса, Україна, 2010, с.77.

50. O.M. Bilash, D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Biomedical application of electro-chemiluminescent nanotechnological sensors» на *Річній сесії наукової ради з проблеми «Аналітична хімія»*, Судак, Україна, 2010, с. 44.

51. O.M. Bilash, D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Nanodiamond film

electrodes for water assay electrochemiluminescent sensors», in *Luminescence*, Vol. 25., 2010, pp. 203–204.

52. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Рефлектометр для аналітичних колориметричних досліджень», на *Річній сесії наукової ради з проблеми «Аналітична хімія»*, Новий Світ, Україна, 2009, с. 69.

53. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, А.І. Бих, «Нанопотонні сенсори в медицині та екології», на *II-й Міжнародній науковій конференції «Електронна компонентна база. Состояние и перспективы развития»*, Харьков-Кацивели, Україна, 2009, сс. 273–274.

54. D. Snizhko, O. Bilash, M. Rozhitskii, «Nanodiamond Thin Film Electrodes for Application in Electrochemiluminescent Analysis» in *The 3rd Electrochemistry in Nanoscience meeting “ElecNano3”*, Paris, France, 2009, p. 5.

55. Д.В. Сніжко, Н.Н. Рожицький, «Биомедицинское применение электрохемилюминесцентных нанотехнологических сенсоров», на *3-й Міжнародній науковій конференції «Прикладна електроніка. Состояние и перспективы развития»*. Харьков, Україна, 2008, сс. 327–330.

56. Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицький, «Алмазоподобные электроды для электрохемилюминесцентных сенсоров» на *3-й Міжнародній науково-технічній конференції «Сенсорна електроніка та мікросистемні технології»*, Одеса, Україна, 2008, с. 160.

57. D. Snizhko, A. Kukoba, O. Bilash, «Electrochemistry and Electrogenerated Chemiluminescence in Thin Film of Binary System Rubrene/Polymethylmethacrylate», in *3rd ECHEMS Meeting “Electrochemistry in “Nanosystems and Molecules at Work”*», Trest, Czech Republic, 2007, P.17.

58. Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицький, А.І. Бих, «Использование лан-гмюр-блужеттовской технологии при построении сенсорного элемента измерительной системы», на *Первой международной конференции «Современные информационные системы. Проблемы и тенденции развития»*, Харьков-Туапсе, Україна, 2007, сс. 36–37.

59. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Нова аналітична система для

контролю водних середовищ на базі електрохемілюмінесцентного сенсору з впорядкованих на електродах шарів хелату рутенія/стеаринової кислоти» на *Сесії Наукової Ради НАН України з проблеми «Аналітична хімія»*, Харків, Україна, 2007, с. 63.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	1
ПЕРЕІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СИМВОЛІВ	26
ВСТУП	29
1. КОНЦЕПЦІЯ ПОБУДОВИ ТА ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА НАДШВИДКОГО ПОТЕНЦІОСТАТУ	43
1.1 Потенціостатування ЕХ сенсора	45
1.1.1 Потенціостат та його характеристики	46
1.1.2 Аналіз принципів (методів) побудови електрохімічних потенціостатів	59
1.1.3 Омичне падіння напруги в розчині	73
1.1.4 Компенсація омичних втрат з їх імпульсно-безперервним виміром	83
1.1.5 Компенсація омичних втрат за рахунок позитивного зворотного зв'язку	90
1.2 Концепція надшвидкого потенціостата	92
1.2.1 Аналіз робіт інших авторів	93
1.2.2 Нові принципи побудови надшвидкого потенціостата	97
1.3 Схемна реалізація надшвидкого потенціостата	105
1.3.1 Схема електрична-принципова	105
1.3.2 Моделювання роботи схеми в пакеті MultiSim 11.0	109
1.4 Висновки за розділом	113
2. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА СЕНСОРІВ НА ОСНОВІ МІКРО-, УЛЬТРАМІКРО- ТА НАНОЕЛЕКТРОДІВ	116
2.1 Мікроелектроди як електрохімічні сенсори	117
2.2 Спосіб виготовлення мікроелектрода	120
2.3 Спосіб виготовлення ультрамікроелектрода	129
2.4 Тестування золотих мікроелектродів	138
2.5 Висновки за розділом	140

3. НАНОТЕХНОЛОГІЇ ДЛЯ СТВОРЕННЯ СЕНСОРНОГО ЕЛЕМЕНТА	143
3.1 Технологія алмазоподібних покриттів, що леговано азотом.	143
3.1.1 Огляд робіт інших авторів	143
3.1.2 Опис обладнання для нанесення АПП	145
3.1.3 Наноструктурні дослідження алмазоподібних покриттів атомно-силовим мікроскопом	146
3.1.4 Дослідження електричних властивостей АПП	153
3.1.5 Електрохімічні дослідження АПП	154
3.2 Технологія Лангмюра-Блоджетт для формування конденсованих мономолекулярних плівок органічних сполук	158
3.2.1 Технологія ЛБ-плівок системи ПММА/рубрен та СтК/рубрен	159
3.2.3 Технологія формування сенсорних елементів на базі ЛБ-плівок	166
3.3 Функціоналізація поверхні електрода вуглецевими нанотрубками	167
3.3.1 Класифікація методів функціоналізації електродів за допомогою ВНТ	167
3.3.2 Технологія функціоналізації електрода за допомогою ковалентної пришивки ВНТ через ліпоєву кислоту	173
3.4 Висновки за розділом	176
4. МЕТОДИ РЕЄСТРАЦІЇ ОПТИЧНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ З ФОТОННИХ СЕНСОРІВ	180
4.1 Реєстрація за допомогою сенсорів кольору	180
4.2 Реєстрації за допомогою фотоелектронного помножувача оптичного сигналу сенсорів.	181
4.3 ЕХЛ візуалізація та мікроскопія	184
4.4 Мультиканальний аналіз	203
4.5 Висновки за розділом	222

	24
5. КОМПЛЕКС ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ СЕНСОРНИХ СИСТЕМ	223
5.1 Колориметр «С 1001»	223
5.2 Комплекс для ЕХЛ досліджень «ЕЛАН-3D».	230
5.3 Апарат «Spark» для інтеграції ФЕП до сенсорних систем	233
5.4 Швидкісний лічильник імпульсів «Pulsar»	241
5.5 Експериментальне обладнання для дослідження методами надшвидкої вольтамперометрії та ЕХЛ	254
5.6 Висновки за розділом	256
6. ЗАСТОСУНКИ РОЗРОБЛЕНИХ ТЕХНОЛОГІЙ	258
6.1 Дослідження властивостей мікроелектродів в режимі високошвидкісної лінійної розгортки потенціалу поляризації електрода	258
6.2 Дослідження властивостей мікроелектродів методом електрогенерованої хемілюмінесценції	260
6.3 Застосування нанотехнологічного перетворювача для активації ХЛ реакції	262
6.3.1 Опис пристрою	263
6.3.2 Матеріали та реактиви	264
6.3.3 Інструментарій	264
6.3.4 Процедура візуального виявлення АК.	264
6.3.5 Процедура візуального виявлення СОД.	265
6.3.6 Механізм СХЛ	268
6.3.7 Оптимізація рН	268
6.3.8 Оптимізація концентрації люмінолу	269
6.3.9 Виявлення АК	271
6.3.10 Виявлення СОД.	272
6.4 Застосування електродів, що модифіковано алмазоподібними плівками	275
6.4.1 Матеріали та методи	276
6.4.2 Електрохімілюмінесцентні властивості ДЛФ-електродів	277

	25
6.5 Принцип «тест на місці» на прикладі визначення геміну.	280
6.5.1. Хімічні речовини та реактиви	283
6.5.2. Хемілюмінесцентне виявлення геміну	284
6.5.3. Підготовка зразків крові	284
6.5.4. Процедура фотореєстрації ХЛ	284
6.5.5. ХЛ характеристики реакційної системи	285
6.5.6. Оптимізація умов ХЛ реакції	287
6.5.7 Виявлення геміну	290
6.5.8 Виявлення геміну за допомогою камери смартфона	291
6.5.9 Селективність методу ХЛ для виявлення геміну	291
6.6 Визначення тирозинази ХЛ методом	296
6.6.1 Реактиви та матеріали	297
6.6.2. Обладнання	298
6.6.3 ХЛ дослідження композиції люмінол-флуорескамін-ППФ	298
6.6.4 Процедура оцінки активності тирозинази	298
6.6.5 Аналіз тирозинази в зразках сироватки людини.	299
6.7 Застосування ЕХЛ методу для визначення триптофану	306
6.7.1 Матеріали та обладнання	307
6.7.2 Результати досліджень та обговорення	308
6.8 Застосування ЕХЛ методу для визначення етилформату	310
6.9 Висновки за розділом	320
ВИСНОВКИ	325
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	330
ДОДАТОК А	376
ДОДАТОК Б	378
ДОДАТОК В	386

ПЕРЕІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СИМВОЛІВ

АПП	– алмазо-подібне покриття
АК	– аскорбінова кислота
АФК	– (ре)активні форми кисню
БСА	– бичий сиворотковий альбумін
ВНТ	– вуглецевими нанотрубками
ВНТ-СООН	– вуглецевими нанотрубками функціоналізовані карбоксильною групою
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ЕХЛ	– електрогенерована хемілюмінесценція, електрохемілюмінесценція
КБР	– карбонатний буферний розчин
КМОН	– кремній-метала оксид напівпровідник
ЛБ	– Лангмюр-Блоджетт
ЛПНЦ	– ліпопротеїни низької щільності
МЕМС	– мікроелектромеханічної системи
МК	– мікроконтролер
МП	– мікропроцесор
НШП	– надшвидкий потенціостат
ОЕХС	– одноелектродний електрохімічний сенсор
ПЕТ	– поліетилентерефталату
ПЗЗ або	– прилад з зарядовим зв'язком;
ССD	
ПММА	– поліметилметакрилат
ППФ	– піролідінопентіофенон
ПСН	– перетворювач струм-напруга
ПУ	– пінополіуретан
ПЦС	– прямим цифровим синтезом
РНК	– рибонуклеїнова кислота

СВ	–	скловуглецю
СОД	–	супероксиддисмутаза
СтК	–	стеаринова кислота
СХЛ	–	сонохемілмінесценція
С/Ш	–	відношення сигнал-шум
ТНМ	–	„тест на місці”
ТПА, ТПА· та ТПА· ⁺	–	трипропіламін, його радикал та радикал-іон
УЗП	–	ультразвуковий перетворювач
ФЕП	–	фотоелектронний помножувач
ХЛ	–	хемілюмінесценція
ЦВАМ	–	циклічної вольтамперометрії
ЦНС	–	центральної нервової системи
ta-C:N	–	алмазо-подібне покриття, що леговане азотом
СЕ	–	протиелектрод, допоміжний електрод
FTIR	–	інфрачервоної спектроскопії з Фур’є перетворенням
HRP	–	пероксидази хрону
ITO	–	індія-олова оксид (indium tin oxide) [покриття]
NAD ⁺	–	окислена форма нікотинамідаденіндинуклеотиду
NADH	–	відновлена форма нікотинамідаденіндинуклеотиду
PSA	–	біомаркери раку передміхурової залози
Ra	–	Показник шорхності, середнє-арифметичне відхилення висоти поверхні
RE	–	електрод порівняння
Rq	–	Показник шорхності, середнє-квадратичне відхилення висоти поверхні
Ru(bpy) ₃ ²⁺	–	трис(2,2’-біпіридил)рутенію іон, іон біпіридилового комплексу рутенія
SECM	–	скануючий електрохімічний мікроскоп
StdDev	–	стандартне відхилення

StdErr	–	стандартна помилка
SWCNT	–	одностінні вуглецеві нанотрубки
TBAPF ₆	–	гексафторфосфат тетрабутиламонію
USB	–	універсальна послідовна шина, universal serial bus
WE	–	робочий електрод
v	–	швидкість поляризації електродів, швидкість розгортки потенціалу

ВСТУП

Розвиток сучасних сенсорних систем пов'язано із застосуванням *новітніх технологій*. Це дозволяє розробляти високотехнологічний продукт, що має конкурентоспроможність. Завдяки застосуванню новітніх технологій вдається отримати принципово нові характеристики вже існуючих сенсорних систем, але, що більш значуще, створювати принципово нові типи систем, з принципово новим функціоналом. Останнє є значним потенціалом подальшого практичного використання в народному господарстві у вигляді певних аналітичних систем, що використовують різноманітні сенсори.

Основними проблемами у розробці сенсорних систем є як покращення характеристик: межі визначення речовин, чутливості, селективності, відтворюваності, та продуктивності; так і отримання принципово нових функціональних можливостей: розширення номенклатури речовин, що можуть визначатися, розширення областей застосування, розширення умов проведення досліджень. Окрім цього, зменшення витрат на побудову сенсорної системи, її експлуатацію та обслуговування є суттєвим у ході комерціалізації.

Якщо вирішення першої групи проблем можливе за рахунок вибору найбільш ефективних існуючих технологій, тоді як подолання проблем другої групи найчастіше потребує створення інноваційних технологій.

Прикладний характер дослідження сенсорних систем на базі новітніх технологій є складовою в ефективному вирішенні нагальних проблем суспільства в різноманітних областях: промисловості, медицини, екології, енергетиці. Технологічна база, що ґрунтується на інноваційних та передових технологіях виробництва в значній мірі спрощує вихід певного продукту на ринок, завдяки більш ефективному використанню ресурсів.

Важливим у сучасній промисловості є проникнення в різноманітні галузі нанотехнологій. Їхнє застосування носить різноманітні аспекти, суттю їх використання є покращення як технології виробництва, так і самого

прикінцевого продукту. Не оминуло використання нанотехнологій і в галузях аналітики та сенсорики. Відповіддю на ці виклики стало формування нових дисциплін знань, таких, наприклад, як наноелектрохімія. Про становлення якої тільки в останнє десятиріччя можна впевнено говорити, але інтенсивний характер розвитку досліджень в цій галузі стримано розвитком відповідних засобів.

Серед перспективних технологій, що взято за основу роботи можна виділити такі: мікро- та нанотехнології виробництва, фотонні технології, які включають *біофотонні* та *нанофотонні*, електрохімічні технології, з розширенням в область *нанохімії* та *наноелектрохімії*. Розвиток відповідних технологій можливий тільки за рахунок розвитку та дослідження всіх її складових: предмета праці (тобто предмета впливу, в нашому випадку, сенсорів), технологічних засобів виробництва, носіїв технологічних функцій та відповідного розвитку суспільства (знань та вмінь, що досяжні певній групі людей). З цієї точки зору, формування відповідної технології потребує розробку засобів, методичного та теоретичного інструментарію, що мають ґрунтуватися на сучасних наукових здобутках, включаючи відкриття в галузі фундаментальних наук.

Інструментарій методів біофотоніки уособлюють такі методи аналізу, як хемілюмінесценція (ХЛ) та електрогенерована хемілюмінесценція (ЕХЛ), але не обмежуються зокрема ними. Використання цих методів у сучасних імунохімічних аналізаторах для діагностики різних захворювань, наприклад COVID-19, стає золотим стандартом, що обумовлено властивостями цих методів, які відбиваються у високих метрологічних характеристиках обладнання на їхній основі. Інтеграція цих технологій у формат сенсорних систем, вкрай перспективна, але потребує розвитку відповідного технологічного інструментарію.

Вирішенню зазначених вище проблем слугує системний характер досліджень, проведений в цій роботі.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота за темою дисертації безпосередньо пов'язана з напрямком досліджень, що проводяться на кафедрі біомедичних електронних пристроїв і систем Харківського національного університету радіоелектроніки в рамках наукового напрямку «Хемі- та електрохемілюмінесцентні методи і засоби в медицині, оптоелектроніці і нанотехнологіях». Дослідження здобувача були проведені під час виконання низки науково-дослідних робіт та міжнародних наукових проектів, зокрема, такими.

- Програмою держбюджетних науково-дослідних робіт # 255-1 "Новий метод та концепція побудови конструкції високочутливої системи для контролю та діагностики біооб'єктів" (№ держреєстрації 0011U002954, 2011-2012 рр.), # 292-1 "Концепція молекулярного розпізнавання на основі штучного рецептора та його застосування для виготовлення пристроїв для визначення речовин" (№ держреєстрації 0115U002428, 2016-2018 рр.), # 314-1 «Аналітична система для електрохемілюмінесцентного визначення потужних окисників у водних середовищах» (№ держреєстрації 0116U006901, 2019-2020 рр.), # 324-1 «Концепція «донор-акцепторної взаємодії» у розробці оптичного сенсора для визначення вибухонебезпечних ароматичних сполук» (№ держреєстрації 0118U002063, 2018-2020 рр.) (На яких автор був виконавцем або відповідальним виконавцем).

- Науковим проектом від Державного фонду фундаментальних досліджень # F56/36-2014 "Надшвидка вольтамперометрія, теорія та принципи застосування» (№ держреєстрації 0114U007139, 2014 року, науковий керівник).

- Господарчо-договірний науковий проект # 80-52 «Дослідження зразків за допомогою скануючого зондового мікроскопа NT-206», для Національного наукового центру "Інститут метрології " (2008 р.).

- Трьома науково-дослідницькими проектами, що фінансувалися за рахунок Науково-технологічного центру в Україні:

4180 "Дослідження і розробка тонкого шарового електрохемілюмінесцентного датчика за принципом "лабораторія на чипі" з алмазоподібними електродами для виявлення жовчні пігменти в біорідинах", (2007 – 2009 рр.);

4495 "Новий біофотонний метод та інструмент на базі наноструктурованого датчика для діагностики активних форм туберкульозу ", (2008 – 2011 рр.);

5067 "Розробка нових нанофотонних технологій та пристроїв для виявлення небезпечних і токсичних органічних речовин у водних об'єктах навколишнього середовища" (2010 – 2013 рр.).

- Німецько-українським проектом № ІВ-034 «Дослідження та розробка електродів, що модифіковано вуглецевими нанотрубками, за допомогою методики надшвидкого електрохімічного аналізу для (біо)аналітичних застосувань" від Міністерства освіти і наукових досліджень Німеччини, які проводилися у співпраці з Технічним університетом м. Ільменау (2013 – 2015 рр.).

- Індивідуальний грант (PIFI 2015VTB030) на проведення досліджень за ініціативою з міжнародного співробітництва президента Академії наук Китаю для запрошеного науковця за темою «Розробка бездротової мікроаналітичної електрохемілюмінесцентної системи». Місце виконання: Державна лабораторія електроаналітичної хімії Інститут прикладної хімії, м. Чанчунь, Китайської академії наук», 2015 – 2020 рр.

- грант НФДУ №2020.02/0390 «Новітні (електро)хемілюмінесцентні (біо)сенсорні платформи з лазерно-індукованими функціональними мікро- та наноструктурами» (2020р).

Мета і задачі дослідження. *Метою роботи є побудова концепції сенсорної системи з використанням нанотехнологій, фотонних та електрохімічних технологій, їхніх теоретичних засад з урахуванням прикладних аспектів використання у вирішенні актуальних задач.*

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *задачі:*

- провести систематизацію перспективних аналітичних методів для їхньої реалізації у форматі сенсорних систем, що включало обґрунтування перспективності методів електрохімічного (ЕХ), ХЛ- та ЕХЛ- аналізів, надшвидкої вольтамперометрії;

- розглянути вплив нанотехнологій на особливості розробки сучасних аналітичних приладів, зокрема, сенсорів для дослідження складу рідких проб;

- розробити концепцію створення аналітичної системи з використанням відповідних нанотехнологій, поєднаних з ефективними аналітичними методами;

- розробити модель та провести комп'ютерні розрахунки формування сенсорних структур на базі електродів з функціоналізованою поверхнею;

- розробити концепцію побудови надшвидкого потенціостату, як інструментальної основи нанoeлектрохімічних методів, зокрема надшвидкої вольтамперометрії;

- провести синтез схемотехнічної реалізації відповідно до розробленої концепції побудови надшвидкого потенціостату, що включає теоретичні, шляхом моделювання функціональної поведінки запропонованої схемної реалізації у САПР «Multisim 12.0» від Texas Instrument, Co. та експериментальні дослідження характеристик розробленого надшвидкого потенціостату.

- дослідити практичні аспекти використання надшвидкого потенціостату в методах нанoeлектрохімії та можливість його поєднання в аналітичну систему, що використовує фотонні технології, зокрема метод електрогенерованої хемілюмінесценції;

- розглянути аспекти використання різноманітних сенсорів оптичного випромінювання для побудови аналітичних систем, особливо, що використовують явище електрогенерованої хемілюмінесценції.

Об'єкт дослідження. Технологічні процеси побудови аналітичних систем на базі нанотехнологічних сенсорів та сучасних методів аналізу.

Предмет дослідження. Теоретичні, методичні та практичні засади

застосування нанотехнологій для побудови та використання аналітичних систем на базі нанофотонних та наноелектрохімічних сенсорів.

Методи дослідження. Під час виконання дисертаційної роботи використовувалися:

- хемілюмінесцентні методи аналізу, включаючи електрогенеровану хемілюмінесценцію та сонохемілюмінесценцію;

- методи оптичної, атомно-силової, та скануючої електронної мікроскопії для дослідження морфологічних змін сенсорних шарів сенсорів, що розроблялися, для виявлення взаємозв'язку між морфологічними особливостями, технологічними параметрами виготовлення та аналітичними властивостями;

- методи квантової механіки та хімічної кінетики багаточасткових систем для побудови математичної моделі взаємодії сенсорних молекул з поверхнею електродів, для визначення стійкості сенсорного шару;

- спектральні методи аналізу для визначення емітерів аналітичної реакції та визначення механізмів формування аналітичного сигналу в сенсорі;

- статистичні методи обробки результатів експерименту, включаючи метод кореляційного аналізу для верифікації отриманих у ході математичного моделювання даних шляхом співставлення з експериментальними результатами та оцінки відтворюваності даних експерименту;

- методи комп'ютерного моделювання, що реалізовані в прикладних програмних пакетах Multisim 12.0, Maple 10.0, та HyperChem 8.0, для оцінки функціональної відповідності інтерфейсної електроніки сенсорних систем, та моделювання процесів у сенсорних елементах у ході їхнього створення та експлуатації, відповідно.

Наукова новизна одержаних результатів:

- вперше запропоновано концепцію побудови надшвидкого потенціостату для реалізації високошвидкісних методів електрохімічного аналізу з використанням мікро-, ультрамікро- та наноелектродів, як сенсорів, яка базується на принципах внутрішньокаскадних зв'язків, компенсації

омічного падіння в модулі перетворення струм-напруга та застосування режиму повторювача на високих частотах для підсилювача, що керує протиелектродом сенсора;

- набув подальшого розвитку метод електрохімічного аналізу, що використовує розроблені за новою технологією мікроелектроди та ультрамікроелектроди для аналізу речовини, що відрізняється від існуючих більш технологічними конструкцією сенсора та способом його виготовлення та включає можливість дослідження окремих молекул або часток;

- набув подальшого розвитку метод електрохімічного аналізу, що базується на поєднанні методу електрогенерованої хемілюмінесценції та застосування мікроелектродів та наноелектродів, що на відміну від існуючих дозволило отримати можливість проводити дослідження кінетики швидкісних електрохімічних процесів за рахунок реєстрації емісії світла, що супроводжує електрохімічну реакцію з високою часовою та просторовою роздільною здатністю;

- вперше запропоновано концепцію побудови сенсорної система за принципом «тест на місці», що включає застосування нанотехнологічного п'єзоелектричного активатора аналітичної хемілюмінесцентної реакції, що відрізняється від існуючих можливістю формування активних форм кисню безпосередньо в зразку для проведення аналітичної реакції без необхідності застосування додаткових речовин для цього.

- набув подальшого розвитку метод електрогенерованої хемілюмінесценції, що включає розробку аналітичного методу та відповідної фізико-хімічної моделі процесів взаємодії співреагенту з електрохемілюмінофором, що описує механізм генерації аналітичного сигналу в сенсорній ЕХЛ системі, та відрізняється застосуванням нової композиції речовини для аналізу рідких зразків з високою чутливістю та низькою межею визначення;

- вдосконалено підхід у конструюванні сенсорних систем, що використовує реєстрацією зображення сенсорного елемента, та відрізняється

від існуючих кращими метрологічними властивостями системи за рахунок оптимізації варіативності аналітичного сигналу відносно параметрів сенсорного елемента та умов проведення аналітичної реакції.

Практичне значення одержаних результатів:

- вперше запропоновано конструкцію та спосіб виготовлення мікроелектрода, що відрізняється використанням гільзи як технологічного елемента, який забезпечує поєднання провідників у електроді;

- вперше запропоновано конструкцію та спосіб виготовлення ультрамікроелектрода, що відрізняється формуванням робочої поверхні електрода субмікронного розміру шляхом витягування робочого кінця, що розплавлено;

- подальшого розвитку набув метод електрогенерованої хемілюмінесценції, що включає розробку нових технологій аналізу на базі цього явища для визначення біологічнозначущих компонентів рідких проб, таких як етилформат, триптофан.

- подальшого розвитку набув метод хемілюмінесценції, що включає розробку нових технологій аналізу на базі цього явища для визначення біологічно значущих компонентів рідких проб, таких як аскорбінова кислота, супероксиддисмутаза, гемін, тирозин аза;

- подальший розвиток набув метод хемілюмінесценції, що включає розробку нових технологій аналізу на базі цього явища для визначення біологічнозначущих компонентів рідких проб, таких як аскорбінова кислота, супероксиддисмутаза, гемін, тирозиназа.

- розроблена експериментальна сенсорна система для проведення електрохімічних та електрохемілюмінесцентних досліджень у високошвидкісних режимах поляризації, що апробована під час виконання НДР;

- результати роботи впроваджені в навчальний процес Харківського національного університету радіоелектроніки під час викладання курсів «Біомедичні прилади, комплекси, технології та системи. Частина 1.

Лабораторна та аналітична техніка», «Нанотехнології в біомедичній інженерії».

Особистий внесок здобувача. Всі основні результати, що становлять сутність роботи та відбиті в пунктах новизни, наукового і практичного значення отримані автором самостійно. У роботах, що опубліковані у співавторстві [1–10, 12–18, 20, 22–23], здобувачу належить таке: обґрунтування доцільності використання хемілюмінесцентного [1, 2, 5], електрохемілюмінесцентного [9], електрохімічного та кольориметричного [14, 17] методів у аналітичних системах для визначення певних речовин, включаючи біологічно значущі, розробка структури електрохемілюмінесцентного комплексу та проектування електричних схем окремих модулів [18], розробка концепції побудови, структури та схемотехної реалізації надшвидкого потенціостата проведення його дослідження та тестування, обґрунтування доцільності його використання [4, 6], розробка структури та схемотехнічної реалізації колориметра, обґрунтування доцільності його використання [14, 17]; вирішення питань інтеграції сенсорів оптичного випромінювання до вимірних приладів, та подальшої інтеграції в аналітичні системи [8, 12, 18]; аналіз цілісності сигналу та розробка програмних та апаратних засобів для її забезпечення [8, 12, 14, 17–18], розробка структури та схемної реалізації високовольтного джерела живлення для ФЕП [23], алгоритмізація та написання коду програмного забезпечення для МК [8, 12, 18, 23], розробка програмного забезпечення для ПК для контролю роботи колориметра [14, 17]; проведення спектроскопічних досліджень ЕХЛ реакції та визначення можливих механізмів аналітичної реакції [9]; статистична обробка результатів дослідження з метою отримання калібрувальних характеристик сенсорних систем та композицій [1, 2, 5, 6, 9, 14, 17], розробка конструкції та технології виготовлення мікроелектроду, проведення його тестування [10, 15]; обґрунтування доцільності використання мікро-, ультрамікро- та наноелектродів у вимірних системах до автоматизованої системи [6, 10, 15], розробка технології ультразвукового

перетворювача для інтенсифікації ХЛ реакції, драйвера його керування [2]; розробка конструкції сенсора для реалізації біполярного електролізу [13]; дослідження оптимальних умов проведення аналітичної реакції [1–3, 5, 9, 13].

Апробація результатів дисертації. Результати роботи доповідалися на: Міжнародному симпозиумі «Electroanalytical Chemistry» (м. Чанчунь, Китай, 2015, 2017, 2019), Міжнародних конференціях «Electrochemistry in Nanoscience» (м. Париж, Франція, 2009, 2011), 63-й річній конференції Міжнародного товариства з електрохімії (м. Прага, Чехія, 2012), міжнародних конференціях «Electrogenerated Chemiluminescence» (м. Бертіноро, Італія, 2014, м. Бородо, Франція, 2016, м. Чанчунь, Китай, 2019), 9-й міжнародній конференції «ECHEMS Meeting: Electrochemistry in “Molecular surface science and catalysis”», (с. Льохов, Польща, 2013), 4-у Німецько-українському симпозиумі “Physics and Chemistry of Nanostructures and Nanobiotechnology” (м. Ільмінау, Німеччина, 2012), Міжнародних симпозиумах «Bioluminescence and Chemiluminescence» (м. Гелф, Канада, 2012, м. Нант, Франція, 2018), 7-й міжнародній конференції «Instrumental Methods of Analysis, Modern Trends and Applications» (м. Ханія, Греція, 2011), Міжнародних конференціях “Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects”, (м. Харків, Україна, 2013, 2017), IX-й Міжнародній конференції «Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии» (м. Мінськ, Білорусь, 2010), Міжнародних радіоелектронних форумах «Прикладная радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития» (м. Харків, Україна, 2008, 2011, 2017), Сесіях Наукової Ради НАН України з проблеми «Аналітична хімія» (Харків, України, 2007, м. Новий Світ, Україна, 2009, м. Судак, Україна, 2010; м. Гурзуф, Україна, 2011, 2012), VIII-й Українській конференції з аналітичної хімії (м. Одеса, Україна, 2008), Першій міжнародній конференції «Современные информационные системы. Проблемы и тенденции развития» (м. Харків, Україна, 2007), Міжнародних науково-технічних конференціях «Сенсорна електроніка та мікросистемні технології» (м. Одеса, Україна, 2008, 2010), Міжнародних наукових конференціях «Электронная компонентная база.

Состояние и перспективы развития» (м. Харків-с.Кацевелі, 2009, 2010, 2011, 2012, м. Алушта, 2013) [24–59].

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 59 робіт, а саме: 3 патенти України, 20 статей в науково-технічних виданнях, що включає 9 статей в наукових журналах, які входять до переліку ВАК, та 11 статей в міжнародних журналах, які включені до наукометричних баз даних Web of Science Core Collection та/або Scopus (6 – кuartиль Q1, 1 – кuartиль Q2, 4 – кuartиль Q3).

Структура й обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, шести розділів, висновків, переліку посилань, трьох додатків. Робота викладена на 375 сторінках, ілюстрована 30 таблицями й 132 рисунками. Перелік посилань містить 425 найменувань, що викладено на 42 сторінках. Загальний обсяг роботи з додатками – 396 сторінки.

У **першому розділі** розглянуто *концепцію побудови та технологію виробництва надшвидкого потенціостату*. Цей прилад необхідний для проведення електрохімічних досліджень, зокрема вольтамперометричних досліджень в режимі надшвидкої розгортки потенціалу поляризації електродів.

Розроблена концепція побудови та відповідна схемна реалізація характеризується підвищенням швидкодії електрохімічного потенціостату шляхом вдосконалення принципів його будови відповідно до вимог, які накладено необхідністю його роботи на високих швидкостях розгортки потенціалу поляризації електрохімічного сенсора (ячейки). В запропонованому винаході обґрунтовані наступні необхідні зміни в будові схеми потенціостата: а) введено ланцюг від'ємного зворотного зв'язку в каскад, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки, це забезпечує переведення схеми потенціостата в режим повторювача потенціалу на високих частотах, б) введено фільтр низьких частот між каскадами виміру рівноважного потенціала та каскадом, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки, в) компенсацію всього омичного падіння напруги в

ячейці у всьому діапазоні робочих частотах потенціостата здійснюють шляхом введення місцевого (внутрішньокаскадного) позитивного зворотного зв'язку в каскаді виміру струму, тобто у перетворювачі струм-напруга.

Запропонована схемотехнічна реалізація на 7 швидких операційних підсилювачах відповідає наведеним вище принципам. Обґрунтовано вимоги до кожного з каскадів, та відповідно проведено вибір з існуючих на ринку інтегральних приладів операційних підсилювачів.

Технічна реалізація на обраних операційних підсилювачів для запропонованої схеми побудови надшвидкого потенціостата дозволяє реалізувати пристрій, який може здійснювати поляризацію електрохімічної ячейки з максимальною швидкістю розгортки потенціалу понад 1 МВ/с, що лімітується швидкодією схеми на межі 20 МГц, та здійснювати вимір струму робочого електрода в діапазоні від 100 пА до 80 мА.

В **другому розділі** розглянуто технології виготовлення **сенсорів на основі мікро-, ультрамікро- та наноелектродів**. Як зазначено у першому розділі важливим технологічним аспектом використання надшвидкого потенціостата є забезпечення високого співвідношення робочих площин протиелектрода до робочого електрода. Це легко досягається за рахунок використання мікро, ультрамікро- та наноелектродів при побудові сенсорної системи.

Окрім класифікації мікроелектродів та огляду методів їх конструкцій, наведено опис двох розроблених технологій для ефективного виробництва *мікроелектроду* зі скляним корпусом та *ультрамікроелектроду*. При розробці відповідних технологій вирішувалася задача виготовлення мікроелектроду шляхом залучення простих та ефективних технологічних процесів зі збереженням високих метрологічних характеристик мікроелектроду. Окрім опису технологічних операцій наведено результати електронної мікроскопії з дослідження робочих поверхонь мікроелектродів, що виготовлено з різних матеріалів.

В третьому розділі висвітлено *технології модифікації робочої поверхні електродів*: технологію алмазоподібних покриттів, технологію Лангмюра-Блоджетт для формування конденсованих мономолекулярних плівок органічних сполук, та технологію функціоналізації поверхні електродів наноматеріалами. Залучення цих технологій для виготовлення електродів спрямовано на керування аналітичними властивостями сенсорів. А саме використання алмазо-подібних покриттів (АПП) дозволяє як отримати каталітичні властивості поверхні для електрохімічних процесів певних речовин, так і значно розширити область поляризації водних розчинів. Особливістю технології що розроблялася є використання нової легуючого елементу – азоту, у відмінності до більш поширеного бору у інших дослідженнях. Використання цього елементу більш цікави з точки зору отримання «зеленої» технології, оскільки гази, що використовуються для включення бору у кристалічну решітку алмазу токсичним, отже азот є більш порідненим до природи компонентом, та в технологічному процесі є більш безпечним, оскільки він використовується у вигляді газової суміші азоту та аргону. Останні природно присутні у атмосфері, тож не несуть небезпеки. Складності введення азоту до кристалічної решітки вирішувалося розробкою відповідного технологічного обладнання та режимів його експлуатації. При розробці технології провідних АПП широко використовувалися дослідження атомно-силової мікроскопії для визначення зв'язку між параметрами формування АПП та їх морфологічними характеристиками. Окрім цього визначався зв'язок з ЕХ та ЕХЛ властивостями отриманих електродів, що модифіковано АПП легуваних азотом.

В технології Лангмюра-Блоджетт досліджувався

В четвертому розділі розглянуто теоретичні та практичні аспекти реєстрації оптичного випромінювання з фотонних сенсорів. Наведено доробок автора, що включає як теоретичні та і практичні результати, що реалізовано у вигляді відповідного обладнання для реєстрації оптичного випромінювання

від сенсорів за допомогою давачів кольору, фотоелектронних помножувачів в струмовому режимі та режимі лічби імпульсів, реєстрації випромінення за допомогою камер ПЗЗ та КМОН.

В **п'ятому розділі** присвячено розробці аналітичних систем для дослідження та прикладного використання технологій, що наведено в попередніх розділах: комплекс для ЕХЛ досліджень «ЕЛАН-3D», експериментальне обладнання для дослідження методами надшвидкої вольтамперометрії та ЕХЛ, колориметр «С 1001».

Обговорено структуру аналізатора для дослідження ЕХЛ («ЕЛАН-3D»), реєстрацію біологічно значущих компонентів за допомогою ЕХЛ методу на прикладі етіл формату, дослідження наноматеріалів для створення сенсорних систем на прикладі алмазоподібних покриттів та конденсованих плівок, що отримано методом Лангмюра-Блоджетт.

В **шостому розділі** розглянуто застосування розроблених нанотехнологій, включаючи наноелектрохімічні та нанофотонні технології для реалізації сенсорних систем, на прикладі рішення певних дослідницьких задач.

1. КОНЦЕПЦІЯ ПОБУДОВИ ТА ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА НАДШВИДКОГО ПОТЕНЦІОСТАТУ

В цьому розділі буде розглянуто основи потенціостатування електрохімічного сенсора, що включає питання компенсації омичного подіння напруги поляризації в електрохімічній ячейці. Проведено огляд сучасного інструментарію, його технічних характеристик. Зроблено аналіз необхідності та проблем створення надшвидкого потенціостата. Критично проаналізовано принципи побудови класичного потенціостата та результати інших авторів стосовно збільшення швидкодії потенціостата. Випрацьовано принципи побудови надшвидкого потенціостата та розроблено схему електричну принципову, що дозволяє реалізувати запропоновану концепцію в реальній конструкції та провести оцінку її реальних технічних характеристик. В цьому розділі досліджено зв'язок часу відгуку, чутливості та межі визначення в електрохімічних дослідженнях. Зроблено висновки за результатами, які набуто при виконанні наведених робіт в розділі, що було опубліковано в наступних публікаціях автора [4, 6, 33, 36, 38-46].

Для порозуміння терміну наноелектрохімія потрібно розглянути аспекти нанорозмірного часового та просторового обмежень та ефекти, які спостерігаються в об'єктах досліджень за умов цих обмежень. Ці питання є пов'язаними не тільки з зору фундаментальної фізики у терміні простір-час, як прояв матерії, але й певним чином в електрохімічних процесах.

Таким чином термін наноелектрохімії буде використовуватися, як узагальнюючий різноманітних явищ, пов'язаних з використанням надшвидкого потенціостата для вольтамперометричних досліджень з використанням ультрамікроелектродів для дослідження різноманітних об'єктів, включаючи наноматеріали та наноструктуровані об'єкти. До останніх, безумовно слід віднести біологічні структури такі як клітини. Теоретичні та практичні

питання зазначеної проблемної області досліджень розглянуто у подальших розділах.

Спроби вдосконалення потенціостатів відбувається з моменту їх появи, що завдячене зусиллям Гейровського. З моменту появи першого потенціостату для електрохімічних досліджень до сьогодні його конструкція зазнала деяких змін. Зміна елементної бази та розвиток мікроелектроніки відбився й еволюційному та революційному розвитку потенціостату. Заміна електромеханічних приладів на електронні лампи, поява транзистора та побудова перших операційних схем, інтеграція схемотехніки останніх на кристалі все це майже водночас використовувалося інженерами й для побудови потенціостатів. Розглянута схема будови потенціостату на операційних підсилювачах сьогодні найпоширеніша, що обумовлено багатьма факторами які детально розглянуті в цьому розділі. Ця схема безумовно має своє місце у застосуванні, однак фізичні обмеження її роботи також мають місце, особливо за умови проведення надшвидкої поляризації електродів. Вочевидь існуюча концепція будови потенціостату потребує перегляду в аспекті її використання в надшвидкій вольтамперометрії. Відзначимо, що зусилля з підвищення швидкодії потенціостату завжди пригортали певний інтерес дослідників. Огляд відповідних рішень, та аналіз їх конструкцій був використаний як необхідний елемент у розробці нової конструкції, що запропоновано в роботі.

Таким чином, можна підсумувати, що розвиток теорії та практики наноелектрохімічних досліджень пов'язано з розвитком концепції будови та відповідного застосування надшвидкого потенціостата. Різноманітність дослідницьких задач, розв'язання яких можливе, з використанням нового обладнання, відбиває актуальність цієї роботи.

1.1 Потенціостатування ЕХ сенсора

Проблему проведення електрохімічних досліджень методами вольтамперометрії, що включає і застосування електрохімічних сенсорів, можливо сформулювати як необхідність дослідження струму через робочий електрод сенсора при контрольованій зміні різниці потенціалів між робочим електродом та розчином.

Потенціостат прилад для реалізації компенсації омичного падіння напруги в електрохімічній ячeyці та/або вимірному тракті електричної схеми, та здійснення поляризації електродів електрохімічної ячeyки. Для реалізації найпростішої електрохімічної ячeyки необхідно два електроди розділені електропровідним середовищем (частіш за все розчином) з носіями зарядів іонами. Кожний з електродів можна розглядати як полу елемент, та відокремити процеси на них один від другого. Таким чином дослідження можна спрямувати на вивчення процесів тільки на одному електроді (робочому), інший електрод (допоміжний) виключити з розгляду. В електрохімічних дослідженнях інтерес викликає залежність електрохімічного струму від потенціалу, що реалізовано на робочому електроді. Проблема дослідження полягає у необхідності виміру потенціалу ззовні ячeyки. Отже для вирішення проблеми виміру різниці потенціалів між середовищем (електролітом) та робочим електродом в аналітичній електрохімії використовується трьохелектродна ячeyка. Третій електрод є електродом порівняння, потенціал якого є незмінним у наслідку використання електрода, що не поляризується, тобто струм через який достатньо малий, щоб не змінювати термодинамічний баланс зворотної електрохімічної реакції, що задає потенціал електроду у середовищі. Розміщуючи електрод порівняння достатньо близько до робочого електроду можлива компенсація падіння напруги на інтерфейсі допоміжний електрод/середовище та падінні напруги на омичному опорі середовища. Таким чином можливе керування ззовні електрохімічної ячeyки потенціалом на інтерфейсі розчин/робочий електрод.

До складу трьохелектродної електрохімічної ячейки входять робочий, допоміжний електроди та електрод порівняння. Функція потенціостату здійснювати керування потенціалом протиелектрода для утримання потенціалу розчину відповідно до програми експерименту, з урахуванням термодинамічного стану ячейки через вимір рівноважного потенціалу, та реалізація виміру струму через робочий електрод.

Для вирішення задачі побудови надшвидкого потенціостату розглянуто базові параметри цього приладу (п. 1.1.1), відомі принципи його побудови (п. 1.1.2), проблему компенсації омичних втрат в ЕХ ячейці (п. 1.1.3-1.1.4), запропоновано нову концепцію побудови потенціостата для реалізації надшвидких режимів його роботи (п. 1.2) та розроблену відповідну до цієї концепції схемну реалізацію надшвидкого потенціостата (п.1.3), з обґрунтуванням обраних технічних рішень. Приклади його застосування у дослідницьких задачах буде наведено в 6 розділі.

1.1.1 Потенціостат та його характеристики

В цьому пункті наведено класифікація обладнання, що є на ринку. Висвітлені особливості деяких зразків в аспектах реалізації відповідних електрохімічних методів. Увагу приділено перевагам та недолікам відповідного інструментарію, особливо в аспекті реалізації надшвидких режимів поляризації ЕХ сенсора.

Класифікація. Вольтамперометричні дослідження не можливі без відповідного інструментарію, насамперед потенціостату, що забезпечує проведення поляризації проти електрода відповідно до рівноважного потенціалу ЕХ ячейки (сенсора), що контролюється електродом порівняння, та виміру струму через робочий електрод.

Перш за все потенціостати можна поділити за спеціалізацією їх використання:

- це багатофункціональні *електрохімічні станції*, що мають різноманіття методик вольтампероматричних досліджень, та можливості інтеграції з іншим дослідницьким обладнанням (наприклад, Autolab PGSTAT 128N від Metrohm AG);
- *спеціалізовані потенціостати* для контролю роботи електрохімічних сенсорів, найпоширеніший приклад, рН-метричні потенціостати (наприклад, рН-метр PP20 від Sartorius AG);
- *мініатюрні потенціостати* для мобільних рішень. Портативні рішення все більш і більш цікавлять дослідників в світлі їх застосувань за містом отримання зразка, тобто аналіз в польових умовах (наприклад, портативний безпроводний потенціостат Sensit BT від PalmSens BV).
- *інтегральні потенціостати*, переважна частина електричної схеми реалізована у вигляді інтегральної мікросхеми (наприклад, мікросхема LMP91000 від Texas Instruments Inc.);
- *інтегровані (вбудовані) потенціостати*, як складова частина іншого аналітичного обладнання. (Прикладом цього типу обладнання є прилади для скануючої електрохімічної мікроскопії VersaSCAN від Princeton Applied Research Co.).

Хоча більшість потенціостатів будується за стандартною схемою, що була запроваджена ще Гейровським [60]. З розвитком відповідної схемотехнічної елементної бази йде вдосконалення цієї схеми. Стислий огляд еволюції потенціостата для електрохімічних аналітичних досліджень буде наведено в розділі 1.1.2. Тут важливо зазначити, що більшість потенціостатів реалізовано за однаковою базовою схемою. Різноманіття функціональності та параметрів потенціостатів є результатом розширення базової схеми для надання додаткових функцій захисту та супроводження оператора під час експерименту, забезпечення широкого діапазону вхідного/вихідного сигналу, можливість проведення багатоканальних вимірів, функції інтеграції потенціостата з іншим дослідницьким обладнанням.

Розглянемо базові характеристики потенціостатів, що важливі як для опису їх технічної спроможності здійснювати електроліз з метою проведення аналізу певних хімічних композицій у відповідних електрохімічних ячейках, так і додаткових функцій, що, наприклад, важливі для забезпечення зручності у користуванні. Також наведена термінологія сприятиме розумінню опису розробленої автором концепції надшвидкого потенціостата.

Базові характеристики потенціостата.

Схема підключення. Бувають 2, 3, або 4 електродні (мультиелектродні з 5 і більше електродами є вельми рідким випадком). Для виміру залежності струм-потенціал поляризації електрохімічної ячейки достатньо двох електродів (кондуктометричні та біполярні методи електрохімічного аналізу). Однак в аналітиці дуже часто задля абстрагування від розгляду електрохімічних процесів на одному з електродів використовують електрод порівняння. Це дозволяє зосередитися на процесах, що проходять тільки-но на робочому електроді. Використовуючи триелектродну ячейку дослідник в більшому ступені вільний до вибору режиму електролізу, конструкції ячейки, та умов проведення експерименту. Ускладненням є електрод порівняння та необхідність його розташування в електрохімічній ячейці, однак це компенсується набутими перевагами, а саме дослідження тільки процесів на межі робочого (індикаторного, сенсорного) електрода з розчином. Таким чином вдається абстрагуватися від процесів в об'ємі ячейки та процесах на протиелектроді. Четвертим електродом в схемі може бути електрод виміру потенціалу між інтерфейсами до електроду порівняння коли унеможливлено розташування електроду безпосередньо в середовищі де знаходиться робочий електрод. Але вводячи декілька фаз у вимірну ячейку можливо вимірювати потенціал електрода порівняння та додавати відповідний зсув потенціалу, що виникає між фазами робочого електрода та електрода порівняння до сигналу зворотного зв'язку потенціостата.

Коли необхідності не має у вимірі потенціалу між фазами, у випадку коли дослідження проводяться в одній фазі, цей електрод підключається до

робочого електроду для виміру падіння напруги в провідниках, якими підключено ячейку до потенціостата. Це особливо актуально у випадку сильнострумних процесів, коли великий струм на невеликому опорі створює суттєве падіння напруги, що є омічними втратами, відповідно потенціал поляризації ячейки нижче на цю величину, а це призводить до методичних помилок.

Таку реалізацію можливо знайти в електрохімічній станції Autolab PGSTAT 128N від Metrohm AG.

Іншим прикладом є біпотенціостати, коли для аналітичної методики потрібно керування двома робочими електродами. Потенціал поляризації задається на протиелектроді, та на одному з робочих електродів. При цьому опорним сигналом є потенціал електроду порівняння, а інший робочий електрод приведено до потенціалу загальної шини. Ця потреба виникає для методики обертаючого дискового електрода з кільцем, та подібних [61-62].

Можливість виміру в ячейці з “плаваючими” електродами (“floating electrodes”). Термін характеризує реалізацію гальванічної розв’язки ланцюгів потенціостата від корпусу приладу, ланцюгів мережевого живлення та підключення зовнішніх приладів, наприклад, керуючого комп’ютера. В цьому випадку реалізації потенціостата можливо використовувати довільну схему заземлення електрохімічної ячейки, що буває принципово для певних видів аналізу відповідно до необхідності забезпечення безпеки їх проведення, таких як з легко займистими речовинами. Для реалізації режимів роботи з плаваючими електродами аналогова частина потенціостата має бути гальванічно відокремлена від вихідних каскадів.

Компенсація омічних втрат. Наявність цієї функції важлива при роботі з розчинами, що мають низьку провідність, та режимах швидкої розгортки потенціалу. Обговорення методів реалізації цієї функції у комерційних потенціостатах проведено нижче 1.1.3-1.1.6. Цієї функції приділено особливу увагу, як важливої для адекватної реалізації швидкісних режимів

електрохімічного аналізу, тому дана функція повинна бути реалізована за замовчуванням у схемі надшвидкого потенціостата.

Полоса робочих частот (bandwidth gain). Полоса частот в якій може здійснювати роботу потенціостат (поляризацію електродів, потенціостатування та вимір електрохімічного струму). Полоса частот вимірів електрохімічних сигналів може бути меншою за наведену, та бути обмеженою швидкістю синтезу сигналу, чи додатковими фільтрами (цифровими або аналоговими).

Час виміру (час експерименту, час електролізу). Цей параметр характеризує я довго може виконуватися поляризація електродів та збір відповідних даних. Обмеження цього параметра розмірами пам'яті пристрою та швидкістю з'єднання до керуючого комп'ютера є вирішальними факторами. При застосуванні швидкісних інтерфейсів та оптимальному зборі даних при повільних сигналах збудження можливо проводити дослідження безперервно. Отже можливо вивчати часові зміни процесів та відтворюваності відгуку системи на великому часовому проміжку.

Характеристики, що характеризують керування протиелектрод.

Діапазон потенціалів поляризації протиелектрода (Compliance voltage). Його частіш за все визначають як діапазон напруг відносно загальної шини потенціостата та є різницею потенціалів між протиелектродом та робочим електродом. Потенціал поляризації протиелектрода не є сигналом керування потенціостатом, а є безпосередньо сигналом, що подається до проти електрода. Тобто є результатом поєднання вхідного сигналу до потенціостата, сигналу зворотного зв'язку з електрода порівняння, та сигналу компенсації омичних втрат в ячейці. Отже для здійснення поляризації розчину за певною програмою зміни потенціалу на межі розчин-робочий електрод можливості поляризації протиелектрода мають бути більшими, щоби забезпечити відповідне додавання зазначених сигналів. Ця характеристика частіш за все лімітована схемотехнікою вихідного каскаду вузла потенціостатування. Наприклад, більшість комерційних операційних підсилювачів спроектовано

на використання живлення $\pm 15\text{В}$. Тому багато з потенціостатів мають цей параметр обмежений величиною дещо нижче цієї величини. Це зумовлено фактом наявності навіть у операційних підсилювачі з розмахом вихідного сигналу наближеного до напруги живлення, певного падіння напруги у вихідному каскаді. Потрібно зазначити, що поляризація в діапазоні $\pm 10\text{ В}$ задовольняє більшість аналітичних потреб, тому специфічні високовольтні потенціостати, які мають вихідні каскади, що будуються на високовольтній схемотехніці, менш поширені в електроаналітиці. Область переважного застосування таких потенціостатів є енергетика при дослідженнях електрохімічних джерел живлення.

Діапазон струмів поляризації протиелектрода (Current Compliance).

Окрім потенціалу електричні ланцюги потенціостата повинні забезпечувати проходження відповідного струму через електрохімічну ячейку. Цей параметр для протиелектрода пов'язано з можливістю виміру струму через робочий електрод. Оскільки струм майже не протікає через електрод порівняння, тому струм через робочий електрод дорівнює струму через протиелектрод, отже обмеження щодо можливості підключених схем відповідно відбиватимуться на обох електродах. Наприклад, перевантаження за струмом перетворює струм-напруга підключеного для виміру до робочого електрода, припиняє нормальний режим потенціостатування ячейки. Оскільки схема не забезпечує подальше зростання струму, достовірно говорити про розподіл потенціалів в ячейці не можливо отже, це факт має відстежуватися та вчасно попереджатися.

Швидкість сканування потенціалом поляризації. Параметр відбиває можливість електроніки змінювати потенціал електрода. Максимально значення цього параметра пов'язано зі швидкістю зростання сигналу у відповідних підсилювачах, що використовуються в схемі потенціостата. На цю властивість впливає також швидкісні можливості схеми формування сигналу збудження. Найменше значення цього параметра обмежено дрейфом та стабільністю схеми формування напруги поляризації електрода.

Швидкість зростання сигналу (Slew Rate). Характеристика, що описує швидкісні можливості зміни потенціал при ступінчатому збудженні (поляризації) протиелектрода. Вимірюється як крива нахилу вихідної напруги (тобто напруги поляризації електрода) при поданні імпульсу прямокутної форми.

Час встановлення (Rise Time). Це час який необхідний для зміни напруги поляризації протиелектрода з одного значення на друге. Деякі фірми наводять цей показник для зміни потенціалу між $-1,0\text{В}$ до $+1,0\text{В}$, іноді від 0 до $+1,0\text{В}$. За величину цієї характеристики береться проміжок часу зміни сигналу від 10% до 90% амплітудної зміни величини напруги поляризації ($U_i - U_f$), тобто різниці між прикінцевим U_f та початковим значенням U_i . Слід зауважити що ця характеристика наводиться за умови специфікації характеристики навантаження потенціостата, оскільки вона певною мірою залежить від нього.

Мінімальна тривалість імпульсу. Це час зміни вихідного сигналу в обох напрямках, тобто формування окремого прямокутного імпульсу. В системах з цифровим синтезом сигналу формування збудження пов'язано зі швидкістю роботи цифро-аналогового перетворювача, що формує сигнал збудження за керуючою програмою.

Полоса частот. Додатково для обмеження швидкості зростання сигналу поляризації можливе підключення фільтрів, що є важливим для забезпечення більшої стабільності потенціостата, за умов виникнення генерації в схемі або збільшення співвідношення сигнал-шум за рахунок частотного обмеження сигналу.

Діапазон напруги поляризації робочого електрода (Applied Voltage Range). Ця характеристика відбиває можливості зміни потенціалу поляризації на межі між розчином (робочою фазою ячейки) та робочим електродом. Цей діапазон лежить в межах діапазону поляризації протиелектроду, та пристосовано до амплітуди генератора сигналу збудження. Багатьма фірмами використовується технологія прямого цифрового синтезу сигналу. Отже

амплітудне значення вихідної напруги вузла перетворювача цифрової інформації до аналогової форми визначає амплітуду збудження потенціостат. Характеристики точнісні та динамічні поляризації робочого електрода прив'язано до точності та динаміки здійснення цього перетворення, тобто характеристик ЦАП.

Роздільна здатність напруги поляризації робочого електрода (Applied Voltage Resolution). Ця характеристика використовується в цифрових потенціостатах для визначення мінімальної програмно-керованої зміни напруги поляризації робочого електрода. Факторами, що відповідають за її величину є перш за все діапазон сканування та роздільна здатність цифро-аналогового перетворювача, що використовується для синтезу сигналу збудження.

Точність встановлення напруги поляризації робочого електрода (Applied Voltage Accuracy). Характеристика визначає можливу розбіжність між величиною, що задається програмою поляризації (збудження), та реально прикладеною напругою до інтерфейсу робочий електрод-розчин.

Властивості електрометричні потенціостата обумовлено властивостями схеми виміру потенціалу електроду порівняння. Для опису функціональних можливостей використовуються наступні характеристики.

Діапазон вхідної напруги (Max input range). Оскільки в потенціостатах достатньо часто реалізується вимір рівноважного потенціалу не тільки для випрацювання сигналу компенсації, але також здійснюється його моніторинг задля попередження перевантаження потенціостата. Окрім цього вимір потенціалу розірваного ланцюга електрохімічної ячейки (коли протиелектрод відключено), дозволяє визначити стартовий потенціал, при якому сумарний струм через ячейку дорівнює нулю. Використання цього значення як початку поляризації ячейки дозволяє зменшити початковий вплив вимірною системи, не виводячи її раптово з рівноваги.

Полоса робочих частот електрометра. Визначає частотний діапазон, в якому здійснюється вимір рівноважного потенціалу. Оскільки для виміру

рівноважного потенціалу використовується повторювач напруги, полоса робочих частот первинного підсилювача електрометра визначає цю величину.

Вхідний імпеданс. Також визначається вхідними характеристиками первинного підсилювача електрометра та якості виготовлення підключення (з'єднання) ячейки до потенціостата. Характерними величинами спротиву є значення більші за 0,1 ГОм. Наявна паразитна ємність включена паралельно вхідному опору та складає одиниці пФ. Включає як паразитну ємність підсилювача так і дротів приєднання ячейки до потенціостата.

Струм витоку. Визначає мінімальний струм, що використовується проведення виміру рівноважного потенціалу. Характерними величинами є одиниці пА.

Пригнічення синфазної завади (Common mode rejection ratio, CMRR). Параметр характеризує наскільки пригнічується сигнал синфазної завади в схемі електрометра. Оскільки виміри проходять для слабострумного сигналу електроду порівняння, цей фактор є дуже важливим для забезпечення пригнічення завад від зовнішніх електричних мереж, та інших приладів. Типовим є значення 60 дБ на частоті 100 кГц.

Хоча для роботи потенціостата необхідності виміру напруги формально не існує, окрім виміру рівноважного потенціалу для формування сигналу зворотного зв'язку підсилювача, що задає потенціал електрохімічної ячейки. Однак в більшості професійних потенціостатів існує можливість здійснювати вимір не тільки потенціалу електрода порівняння, але й протиелектрода та робочого електрода. Оцінюється сигнал з електроду порівняння. Додавання цих функціональних можливостей має сенс для проведення контролю відповідності функціонування потенціостата у припустимому режимі та відсутності його перевантаження, що включає вибір коректного діапазону виміру струмів та потенціалів.

Характеристиками виміру аналітичного сигналу в потенціостаті є наступні.

Максимальний діапазон напруги виміру напруги. Діапазон величина напруги, що може вимірюватися в певних точках потенціостата, насамперед, на електродах, чи точніше лініях підключення електродів. Слід зауважити що вимірні можливості корелюють з операційними можливостями, але не завжди. Тому наявність перевантаження, визначається наближенням напруги збудження до максимального значення діапазону напруги поляризації протиелектроду (тобто операційного значення), а не максимального значення, що може бути зареєстровано схемою виміру напруги.

Роздільна здатність виміру напруги. Характеристика описує можливості розділяти за рівнем зміну величини напруги у точках виміру. Ця величина безпосередньо пов'язана з роздільною здатністю аналого-цифрового перетворювача та рівнем шумів у вимірних каскадах. Величина в декілька мкВ є достатньо гарним рівнем сучасного потенціостата для аналітичних досліджень.

Точність виміру напруги. Характеристика, що відбиває похибку між реальним значенням напруги та величиною, отриманою в процесі її виміру. Її значення безпосередньо залежить від точності роботи аналого-цифрового перетворювача, та точності роботи підсилювачів сигналів.

Вимір струму через робочий електрод є принциповою функцією потенціостата для аналітичних досліджень. Проведення потенціостатування ячейки є головною функцією потенціостата, однак для отримання інформації щодо поведінки електрохімічної композиції необхідною умовою є вимір струму. Тому характеристики виміру струму потенціостатом є одними з найголовніших. Отже характеристиками виміру напруги в потенціостаті є наступні, що відбивають функціональні спроможності потенціостата.

Струмові діапазони (Current Ranges). Характеристика визначається максимальним та мінімальним значенням діапазону виміру струму в якому зберігається визначена точність виміру струму. Зміна діапазонів в багатьох потенціостатах виконана з декадним інтервалом. В класичній схемі потенціостата, перевантаження сигналу за струмом унеможливорює

контрольовано здійснювати поляризацію електрохімічної ячейки. Отже в багатьох потенціостатах є функції контролю струму та автоматичної зміни діапазону його виміру. Базова точність потенціостата щодо виміру струму пов'язана з первинним перетворенням струму до напруги, однак, у випадку дуже слабких струмів, в потенціостатах не виключено використання додаткових підсилювачів. Оскільки подальші каскади підсилюють також шуми перетворювача струм-напруга та власні шуми, це призводить до зменшення відносної точності виміру струму для діапазонів, де використовується додаткове підсилення, але це дозволяє збільшити чутливість схеми виміру струму.

Роздільна здатність для виміру струму (Current Resolution). Ця величина пов'язана як з можливостями схеми перетворювача струм-напруга так і роздільною здатністю аналого-цифрового перетворювача. Фактично є добутком чутливості перетворювача (та додаткових каскадів підсилення, якщо вони використовуються) на виліну роздільної здатності аналого-цифрового перетворювача. Останнє є значенням напруги, що призводить до зміни вихідного коду АЦП на один біт. Таким чином ця характеристика показує мінімальну величину зміну струму, що може бути зареєстровано. В специфікації частіш за все наводиться максимальна чутливість для мінімального діапазону струму, або чутливість кожного зі струмового діапазонів, чи роздільна здатність аналого-цифрового перетворювача.

Точність виміру струму (Current Accuracy). Ця характеристика частіш за все відбиває метрологічні спроможності схеми виміру струму щодо різниці між реальним струмом у ячейці та виміряного його значення. Частіш за все наводиться відносна точність для всіх діапазонів, оскільки вона не залежить від чутливості, а залежить від точності та роздільної здатності АЦП та точності елементної бази (резисторів у ланцюгу зворотного зв'язку перетворювача струм-напруга). Або уточнюється при використанні додаткових підсилювачів, безпосередньо для певного діапазону виміру струму.

Полоса частот виміру струму. Характеристика відбиває швидкісні можливості схеми перетворювача та збору даних в потенціостаті. Іноді до цієї величини наводиться (максимальна) швидкість роботи АЦП. Відповідно наводиться гранична частота сигналу, який може бути зареєстровано в системі без спотворення.

Обмеження полоси частот виміру струму (Bandwidth limit filter). Ця характеристика відбиває наявність в схемі потенціостата додаткової функції щодо фільтрації вихідного сигналу. Обмеження частотного діапазону зверху, тобто фільтрами низьких частот, виміром низькочастотного сигналу дозволяє збільшити відношення сигнал-завада за рахунок втрат у динамічних можливостях. Оскільки високочастотні компоненти сигналу фільтруються, динаміка зміни сигналу на збудження уповільнюється у вихідному сигналі, що буде зареєстровано. Однак їх додавання збільшує відношення сигнал-шум для низькочастотних електрохімічних сигналів. Виробники зазначають можливість використовувати один з декілька фільтрів (характерними величинами 3-5 фільтрів), або проводити виміри без додаткової фільтрації в межах повного діапазону робочих частот потенціостата.

Наявність додаткових функцій в потенціостаті є важливим в аспекті проведення точних аналітичних досліджень. Однією з таких функцій є наявність компенсації омичних втрат в ячейці. В комерційних використовується дві схеми компенсації: за допомогою позитивного зворотного зв'язку між каскадами виміру струму та потенціостатування – компенсація за рахунок позитивного зворотного зв'язку (Positive Feedback), іншою можливістю є використання короткочасного перервного розмикання вимірної ячейки задля визначення втрат та додавання напруги компенсації до поляризуючої напруги – динамічна компенсація (Dynamic iR). Необхідність проведення омичної компенсації, принцип роботи потенціостата в кожному з режимів, переваги та недоліки кожного з методів компенсації буде розглянуто в п. 1.1.4. та 1.1.5.

Зазначені характеристик не є вичерпними у світлі виробництва аналітичних приладів з подвійним функціоналом, а саме потенціостатичних та гальваностатичних режимів проведення електрохімічного експерименту. Також важливою методикою досліджень є проведення електрохімічної імпедансоспектроскопії. Що потребує від схеми потенціостата або гальваностата наявності вельми гарних швидкісних характеристик як збудження так і адекватного детектування фазових змін вихідного сигналу струму або напруги.

Реалізація потенціостата з високими характеристиками за всіма показниками є вельми складною задачею, частіш вирішується використанням модульної конструкції, що еквівалентно реалізації базової схеми потенціостата на різній схемотехніці, за для можливості обирати які властивості потрібні від приладу. Наприклад великі струми електролізу, чи висока чутливість з низькими шумами перетворювача струм-напруга. Отже вибір кожної з моделей потенціостатів має ґрунтуватися на аналізі спектру аналітичних завдань, що вирішуватимуться за допомогою цього обладнання.

Корпорація AMTEK[®] Scientific Instrument до складу якої входить дві компанії, що виробляють потенціостати: Solatron Analytical та Princeton Applied Research. Їх потенціостати задовольняють різноманітним вимогам, наприклад потенціостати 12XX серії, що мають великий індекс цитування у науково-технічній літературі, відзначає довіру науковців до цього обладнання. Та якщо звернутися до метрологічних характеристик обладнання роздільна здатність до 1 мкВ відносно електрода порівняння (при абсолютній похибці біля 100 мкВ) та мінімальний вхідний струм 1 пА для робочого електрода вже не є дуже визначними. Та залишають дане обладнання конкурентоспроможним для використання в аналітичних задачах де рівень шумів та чутливість є принциповими. Відмінністю потенціостата є гальванічна ізоляція всіх електродів, що дозволяє більш довільно конфігурувати вимірну ячейку.

Чудовим зразком сучасного модульного рішення для різноманітних задачах ModuLab XM ECS електрохімічна станція від компанії Solatron

Analytical. Наявність модуля ЦАП з швидкістю генерації сигналу 1 Мвибірка/с та АЦП з відповідною швидкістю у сукупності зі операційними підсилювачами, що забезпечують високу швидкість зростання сигналу понад 10 В/мкс дає змоги працювати з лінійною розгорткою сигналу до 25кВ/с. Це є одним з найвищих показників серед комерційних потенціостатів. Але цього не достатньо для переходу досліджень в режим надшвидкої поляризації електродів зі швидкістю понад 100 кВ/с.

З огляду сучасного ринку комерційних продуктів, що відрізняються вельми добрим розмаїттям як за функціональністю, технічними характеристиками, так і вартістю, однак, впливає відсутність потенціостатів, що можуть працювати в режимі надшвидкої поляризації електродів, що є важливим з точки зору досягнення високої часової та просторової роздільної здатності в електрохімічних дослідженнях.

1.1.2 Аналіз принципів (методів) побудови електрохімічних потенціостатів

Розвиток елементної бази та створення доступних операційних підсилювачів в інтегральному виконанні визначило їх переважне використання для побудови схем сучасних потенціостатів [63, 64].

Основна задача потенціостата – підтримання потенціалу робочого електрода на заданому рівні при наявності електричних або хімічних змін на електроді. Потенціостат підтримує заданий потенціал робочого електрода шляхом зміни величини струму, що проходить крізь ячейку. Слід зауважити, що термінологія поляризації робочого електрода ЕХ ячейки, що використовується в аналітичній хімії, не відповідає термінології що зазвичай має місце в електротехніці. Тому слід зауважити, коли річ йде про потенціал робочого електрода, а він більш за все цікавить дослідника, то є фізично потенціал на межі інтерфейсу між робочим електродом та розчином! В більшості схем потенціостатів робочий електрод має потенціал близький до

потенціалу загальної шини, оскільки він підключається до схеми перетворювача струм-напруга на операційному підсилювачі. «Заземлення» неінвертуючого входу вимушую операційну схему підтримувати тій самий потенціал і на інвертуючому вході. Таким чином потенціостат коректно працює, поки не перевантажен за струмом, що є важливим. Оскільки при виникненні невідповідності обраного струмового діапазону, операційна схема неспроможна контролювати потенціал робочого електрода, що призведе до невизначеності у вимірах, коли різниця в напрузі між розчином та робочим електродом невизначена, або змінюється не відповідно до програми методики збудження сенсора.

Потенціостат, в найбільш простому випадку, має три виходи, які відповідають робочому, допоміжному електродам та електроду порівняння, відповідно [63-64]. У випадку такого підключення, між робочим та допоміжним електродами протікає основний струм поляризації, а між робочим електродом та електродом порівняння – незначний керуючий струм, необхідний для виміру рівноважного потенціалу розчину. Величина керуючого струму має бути такою, щоб не призвести до поляризації електрода порівняння, тому схема його виміру має бути з великим значенням вхідного імпедансу.

Для забезпечення можливості широкої зміни струму та потенціалу, потенціостат повинен мати такі характеристики: великі величини вихідного струму і напруги (між робочим та допоміжним електродами), гарну швидкодію, високу чутливість до зміни потенціалу, низький керуючий струм.

Принцип роботи потенціостата наступний: сигнал неузгодженості, який представляє собою різницю між опорною напругою і потенціалом робочого електрода, виміряним щодо електрода порівняння, після посилення викликає зміну струму через ячейку в напрямку зменшення величини неузгодженості.

1.1.2.1 *Аналіз схемотехніки електрохімічного потенціостата.*

Потенціостат являє собою електронну схему для управління потенціалом та виміром струму, що має три функціональні виходи, які з'єднані з трьома

електродами: робочим, допоміжним електродами та електродом порівняння. В потенціостаті відбувається порівняння потенціалу між робочим електродом та електродом порівняння із зовнішнім довільним потенціалом, що надходять від генератора. Прилад повинен реагувати на різницю цих потенціалів за допомогою негативного зворотного зв'язку таким чином, щоб ця різниця зводилася до нуля. Струм, що протікає через електрод порівняння, повинен бути якомога меншим. Ці вимоги реалізуються за допомогою використання операційних підсилювачів, які мають великий коефіцієнт підсилення і хорошу стабілізацію. Будь який операційний підсилювач можна представити у вигляді чотириполіусника, як показано на рис. 1.1. Зазвичай один з виводів заземляється, тому іноді операційний підсилювач зображують у вигляді трьохполіусника [63]. Такий операційний підсилювач можна застосувати в потенціостаті, де зворотний зв'язок проходить від виходу підсилювача через допоміжний електрод, через що різниця потенціалів між входами прагне до нуля. Від характеристик операційного підсилювача залежить точність і швидкість цієї операції.

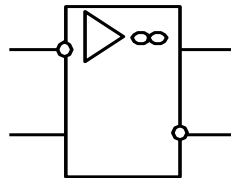


Рисунок 1.1 - Графічне зображення операційного підсилювача

Для забезпечення операції порівняння необхідно використовувати еталонний опір для вимірювання струму, який протікає через ячейку та генератор. Залежно від того, як ми розташовуємо ці елементи в зовнішніх ланцюгах, застосування потенціостата може бути різним. Зовнішній ланцюг потенціостата можна проаналізувати на прикладі властивостей окремих замкнутих контурів, які його утворюють [63-64]. Схема таких контурів приведена на рис. 1.2.

Ми маємо чотири таких контури. Два з них можна віднести до зовнішнього ланцюга від будь-якого виходу до відповідного інверсного входу. Вони відносяться до петлі зворотного зв'язку, включають в себе допоміжний електрод та електрод порівняння, вхід і вихід підсилювача (верхній). Нижній контур зворотного зв'язку складається тільки з нижнього входу і виходу підсилювача. Третім контуром є контур передачі струму, який складається з допоміжного і робочого електродів та двох низькоомних виходів підсилювача (рис. 1.2). З цього контуру струм може вільно протікати від підсилювача до ячейки, так як контур включає в себе тільки низькоомну частину. Тому, будь-який пристрій, що використовується для вимірювання струму, необхідно розташовуватися в цьому контурі. У схемі, що на рис. 1.3, існує три місця включення вимірників струму [63].

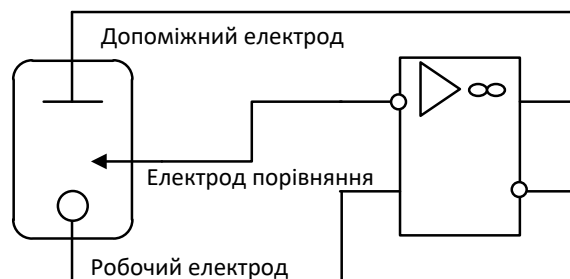


Рисунок 1.2 - Схема замкнутих контурів зовнішніх ланцюгів потенціостата

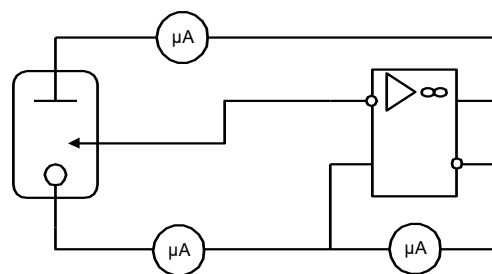


Рисунок 1.3 - Способи включення виміру струму

Четвертий контур складається з робочого електрода, електрода порівняння та високоомних входів підсилювача. Це контур порівняння, тут зовнішній потенціал порівнюється з напругою ячейки. Щоб отримати сигнал

корекції в результаті операції порівняння, необхідно включити послідовно з ячейкою генератор. В цьому випадку одержуємо, що напруга між робочим електродом та електродом порівняння дорівнює напрузі генератора, так як сума потенціалів вздовж замкнутого контуру повинна дорівнювати нулю та сигнал корекції дорівнює нулю. Це можна розглядати як метод прямого порівняння напруги. Генератор збудження також може підключатися в трьох місцях. За допомогою різних включень генератора та вимірювача струму можна отримати дев'ять схем включення потенціостата. Всі вони наведені на рис. 1.4. Головне в цих схемах - це зв'язок між контуром передачі струму і контуром порівняння. У кожній схемі один елемент є спільним для обох цих контурів. Якщо розташування вимірювача струму або генератора відповідає рис. 1.4 (с, f; g; h, i), то завдяки протіканню струму в контурі передачі струму, падіння напруги $I \times R$ призведе до такого ж падіння напруги в контурі порівняння.

Якщо, наприклад, загальним елементом є генератор (див. рис. 1.4), повний струм повинен протікати через його вихідний опір. Так як це падіння напруги входить в ланцюг контуру порівняння, воно включається в сигнал порівняння на вході підсилювача і проявляється як деякий потенціал між робочим електродом та електродом порівняння. Ці схеми можуть привести до ефективного потенціостатичного управління тільки в тому випадку, коли падіння напруги в генераторі є меншим, ніж помилка, допустима при зміні напруги ячейки. Той же ефект виходить і в разі, коли спільним елементом є вимірювач струму (див. рис. 1.4 d), але в цьому випадку падіння напруги одночасно реєструється вимірником струму. Величина падіння напруги не впливає на чутливість пристрою, що реєструє, та може змінюватися від 1мВ для чутливих реєстраторів до сотень мілівольт [65].

Однією з важливих проблем є проблема заземлення системи «джерело живлення - потенціостат». Як правило, джерело живлення заземлене та діє як потенціал землі для всієї схеми. Більшість операційних підсилювачів випускається з однією вихідною клемою, друга заземлена [66]. Для таких

операційних підсилювачів можливі дві схеми заземлення. Як приклад можна привести схему, зображену на рис. 1.5 а.

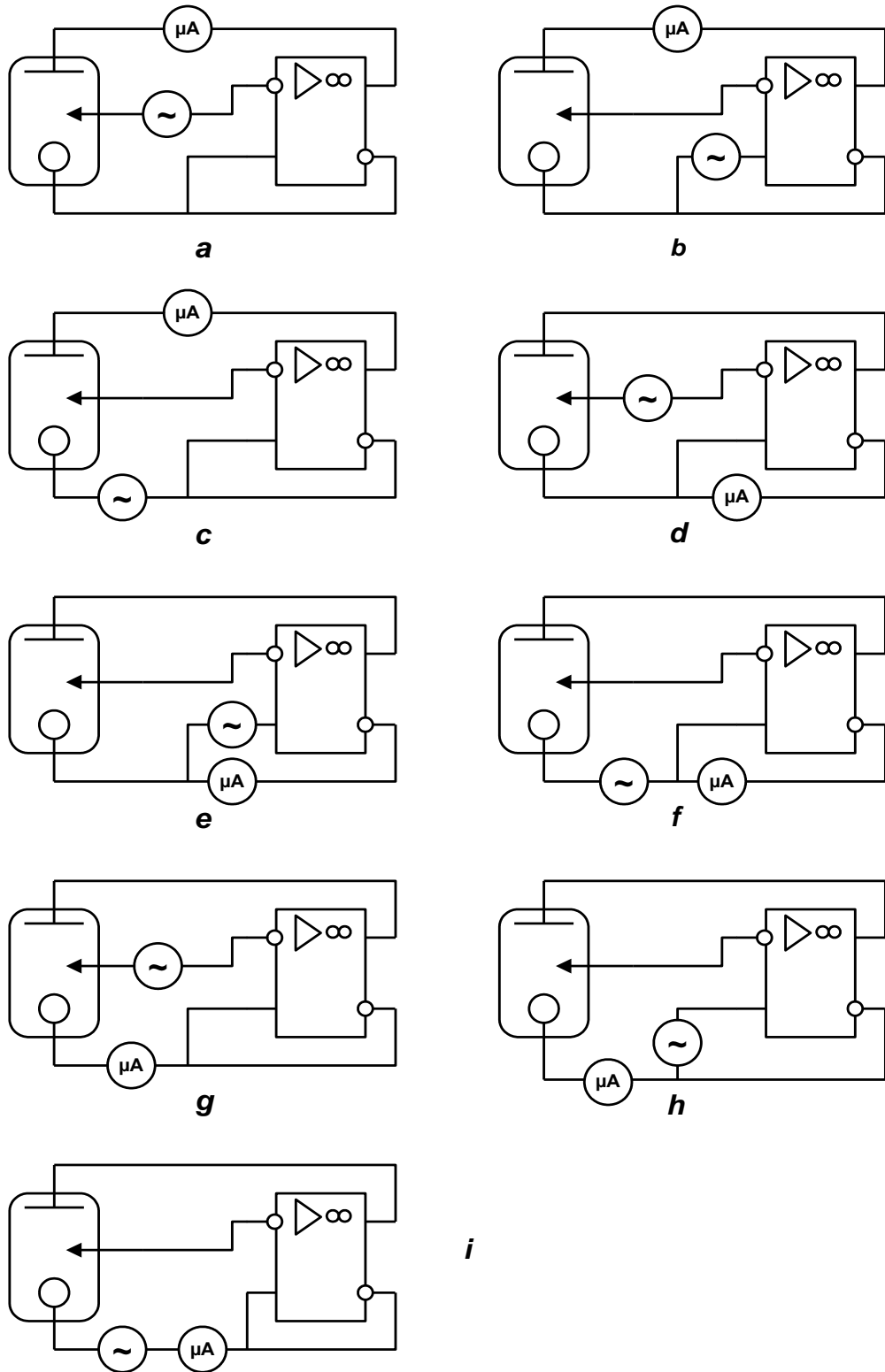


Рисунок 1.4 - Схеми включення потенціостата

Хоча елементи двох схем, представлених на рис. 1.5, мають однакові характеристики, існують важливі відмінності між цими типами заземлення.

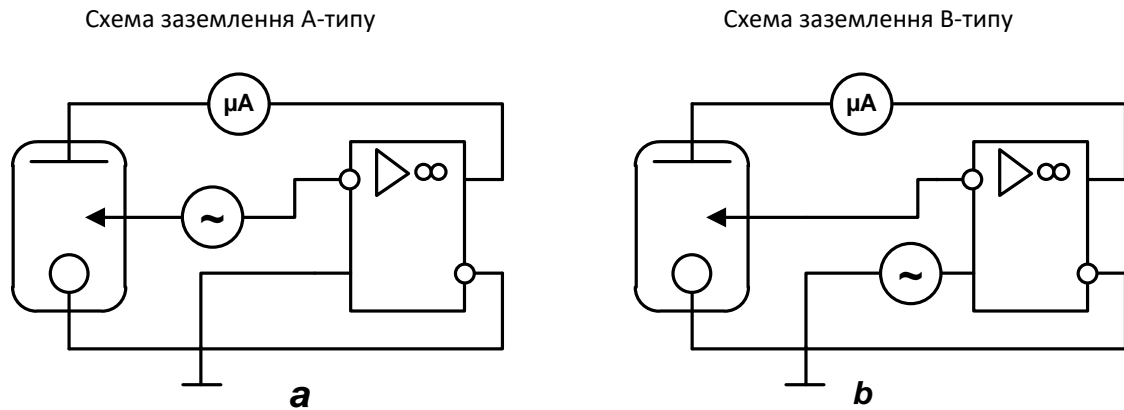


Рисунок 1.5 – Схеми заземлення операційного підсилювача

По-перше, генератор не входить в простий ланцюг, і його важко ізолювати від землі. Таким чином, серед дев'яти схем А-типу (див. рис. 1.5) тільки в b-, c-, h- та i-схемах генератор можна заземлити. Для всіх схем В-типу генератор повинен бути ізольований. По-друге, якщо один кінець струмовимірюючого опору заземлено, пристрій, що реєструє струм, також можна заземлити.

Будь який операційний підсилювач має дрейф. За оптимальних умов величина цього дрейфу може бути дуже малою (кілька мВ за день), але без спеціальних заходів дрейф може стати значно більшим. Хороший ефект досягається застосуванням додаткового операційного підсилювача, що включений між входами основного підсилювача. Це включення виконується для ланцюга негативного зворотного зв'язку, який не містить ніяких елементів. Для прикладу на рис. 1.6 показані методи стабілізації для схем А- та В-типу. Тут ОП2 - стабілізуючий підсилювач.

Основна відмінність цих двох схем у тому, що в схемі А-типу стабілізуючий підсилювач діє відносно потенціалу землі, а в схемі В-типу стабілізуючий підсилювач повинен бути ізольованим від землі. Однак, всі вище перераховані схеми знаходять обмежене застосування, так як мають

один підсилювач. Кращі результати дають схеми з застосуванням токового повторювача або повторювача напруги.

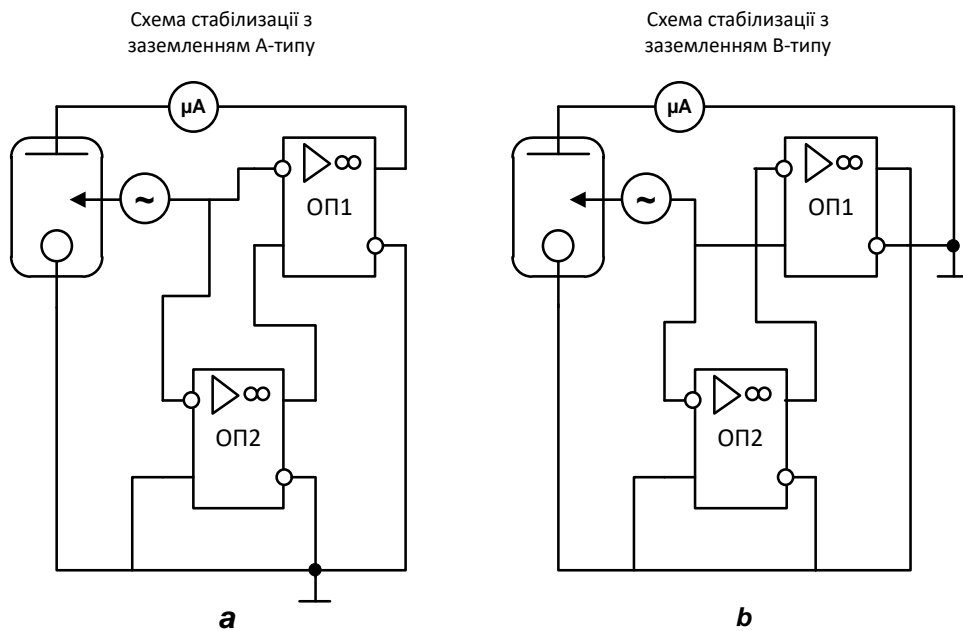


Рисунок 1.6 - Схема стабілізації ОП1

Розглянемо схемотехнічні реалізації окремих елементів потенціостата. Схема повторювача в загальному вигляді наведена на рис. 1.7.

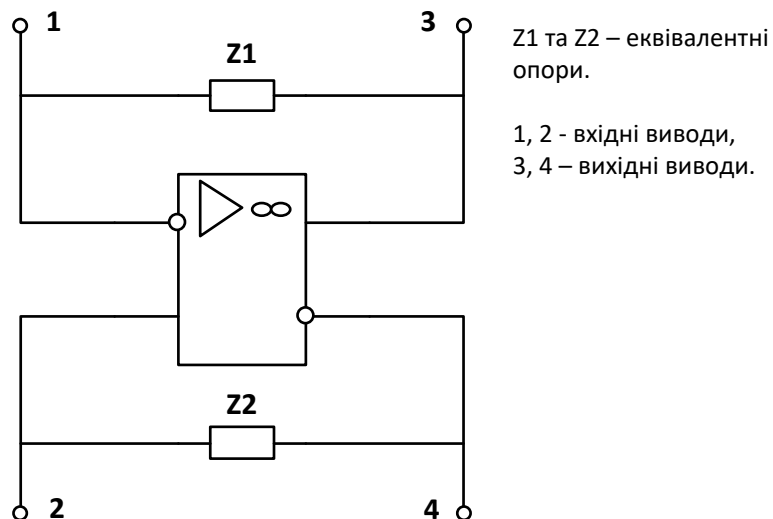


Рисунок 1.7 – Схема повторювача в загальному вигляді

Повторювач застосовується для узгодження. Наявність чотирьох виводів необхідна для того, щоб з'єднати повторювач з іншою схемою. Тут є

два негативні зворотні зв'язки, які при роботі регулюються вихідною напругою так, що різниця потенціалів між входами дорівнює нулю. Ця схема також може бути стабілізована, якщо $Z1$ або $Z2$ дорівнюють нулю, тобто в одній з петель зворотного зв'язку немає елементів.

Повторювач напруги може бути отриманий з загальної схеми, допускаючи, що $Z1 = 0$, а $Z2 \rightarrow \infty$. Ця схема з підключенням до вхідних затискачів генератором показана на рис. 1.8 а.

Генератор працює при високому вихідному опорі підсилювача, в той час, як вихідний опір повторювача напруги дуже малий.

Відповідно до двох способів заземлення можна отримати два типи простих повторювачів напруги (див. рис. 1.8). Так як $Z1$ в повторювачі напруги дорівнює нулю, схема може бути стабілізована, як вказувалося раніше.

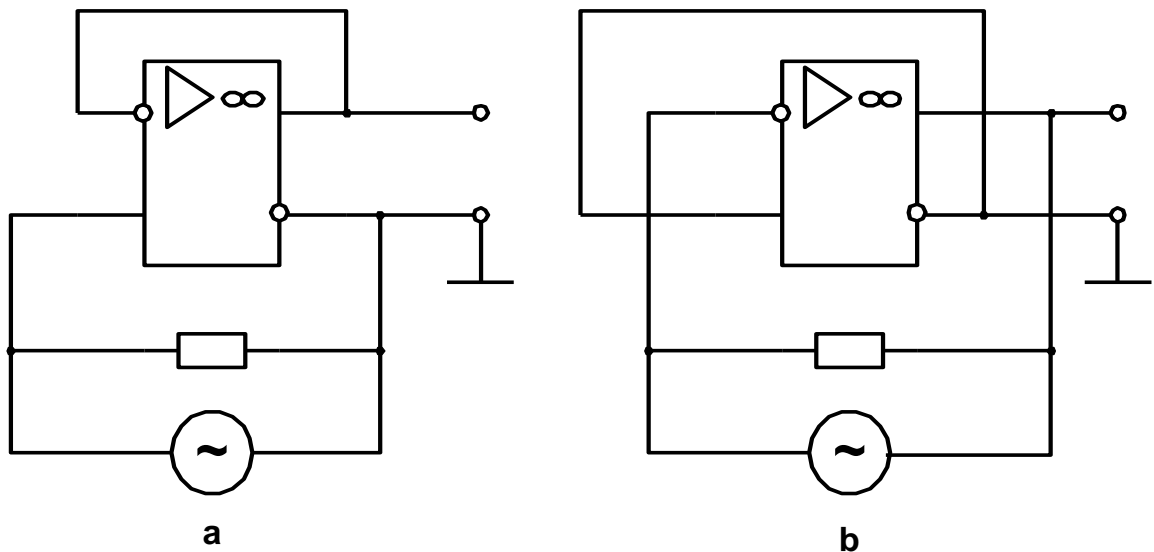


Рисунок 1.8 – Два способа заземлення повторителів напруги

Перетворювач струм-напруга може бути отриманий з загальної схеми, приймаючи $Z2$ рівним нулю та допускаючи $Z1$ рівним кінцевому опору вимірювача струму. Ця схема показана на рис. 1.9.

Струм, що тече від вхідного виводу 1, прямує шляхом низького опору через вимірювач струму та вхід підсилювача до виводу 2.

Оскільки два входи знаходяться під однаковими потенціалами, ефективний вхідний опір перетворювача струм-напруга практично дорівнює нулю та струм може бути вимірний напряму, а не за допомогою еталонного опору. Якщо вимірювач струму являє собою еталонний опір, то падіння напруги на ньому, а, отже, вихідна напруга, прямо пропорційна струму.

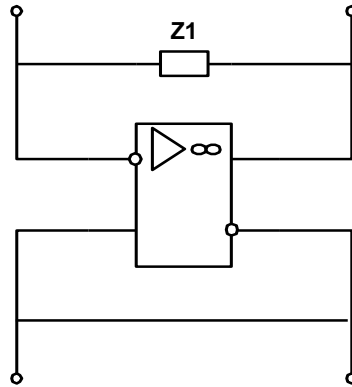


Рисунок 1.9 – Схема перетворювача струм-напруга

Якщо до схеми потенціостата з одним підсилювачем додати струмовий повторювач і повторювач напруги, то можна усунути падіння напруги на елементах, загальних для контуру виміру струму та контуру порівняння напруг. Наприклад, якщо в схему (див. рис. 1.3) включити простий повторювач напруги між генератором і вимірювальним ланцюгом, то можна усунути падіння напруги на генераторі, як показано на рис. 1.10.

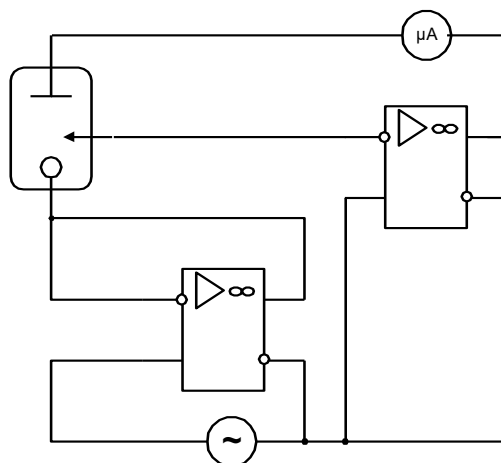


Рисунок 1.10 - Включение повторителя напряжения между генератором и измерительной цепью

Точно так же в схемі (див. рис. 1.5 d) можна застосувати струмовий повторювач, що компенсуватиме падіння напруги на вимірнику струму. Включення токового повторювача забезпечує низький опір ланцюга для струму комірки. З додаванням другого операційного підсилювача до схеми потенціостата проблема заземлення стає більш складною. При використанні одного джерела живлення повинна бути загальна точка заземлення для повторювача та керуючого підсилювачів. Така загальна точка заземлення можлива в будь-якій наведеній схемі, якщо тільки генератор або пристрій вимірювання струму мають природний зв'язок із землею [66]. Якщо ж ці елементи ізолювані, повторювач також повинен бути ізолюваний і для його живлення необхідне окреме ізолюване джерело живлення. Якщо в схемах застосовується заземлення А-типу, обидва підсилювача можуть бути заземлені. Для схем із заземленням В-типу, повторювач струму або напруги повинен бути ізолюваний. Всі ці схеми призначені для методу прямого порівняння, який заснований на прямому порівнянні напруг на генераторі та ячейці. Крім того, існує метод непрямого порівняння.

1.1.2.2. Вимірний міст. Методи непрямого порівняння засновані на вимірі струму, що протікає через омичне навантаження, під дією одного з джерел напруги. Порівняння цих струмів відбувається в простій мостовій схемі, яка може з'єднуватися зі схемою управління потенціалом, як наведено на рис. 1.11.

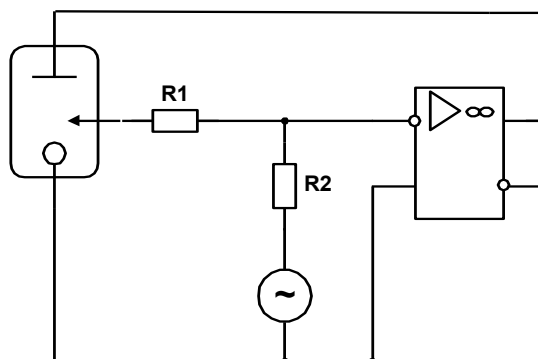


Рисунок 1.11 – Проста мостова схема

Чотири плеча моста утворюють два джерела напруги (напруга генератора і напруга на ячейці) і два навантажувальних опори. Величина струму, що протікає через ячейку, така, що підтримує різницю входних потенціалів підсилювача рівною нулю, тобто зберігає міст збалансованим. У даних схемах можливе підключення додаткових джерел напруги послідовно або паралельно з мостом. Незважаючи на те, що в схемі на рис. 1.11 виконуються всі вимоги, які висуваються до схем з потенціостатичним управлінням, для роботи моста порівняння потрібно значний струм, що протікає через електрод порівняння. Якщо ми будемо використовувати повторювач напруги як пристрій для узгодження, то труднощі, що виникають при наявності великого струму, можна з успіхом подолати (див. рис. 1.12).

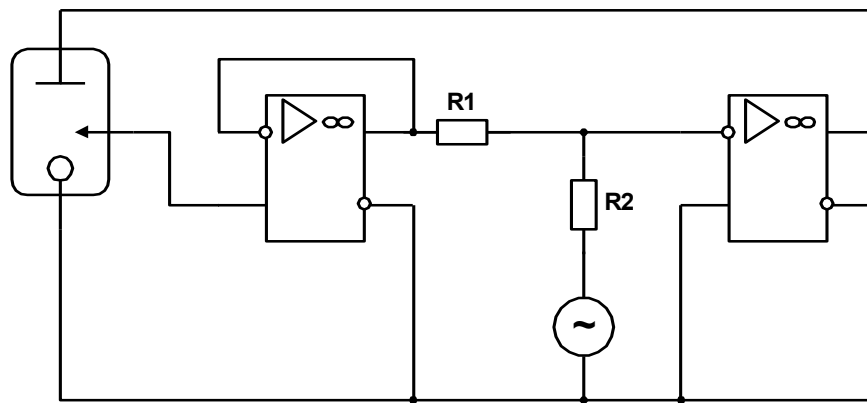


Рисунок 1.12 – Повторювач напруги як пристрій для узгодження

Аналіз схеми мостового порівняння з питання заземлення та місця розташування токовимірюючого пристрою може бути проведено за допомогою методів, що використані при аналізі схеми потенціостата з одним підсилювачем. Розглянемо найбільш застосовувані схеми, в яких обидва підсилювача і генератор заземлені. У цих схемах можливі три способи включення пристрою для виміру струму до контур, що передає струм. Для А-типу заземлення призначені схеми, показані на рис. 1.13 а, б, с. На рис. 1.14 показані схеми В-типу заземлення.

Вимірювач струму, розташований, як показано на рис. 1.13 б, вносить падіння напруги $I \times R$ в ланцюг порівняння, а ланцюг виміру струму,

зображено на рис. 1.14 с, перешкоджає стабілізації керуючого підсилювача. Жодна схема В-типу не може бути стабілізована. З усіх схем найбільш важливою є схема, показана на рис. 1.14 б. Доповнивши її струмовим повторювачем, як говорилося вище, можна позбутися впливу падіння напруги.

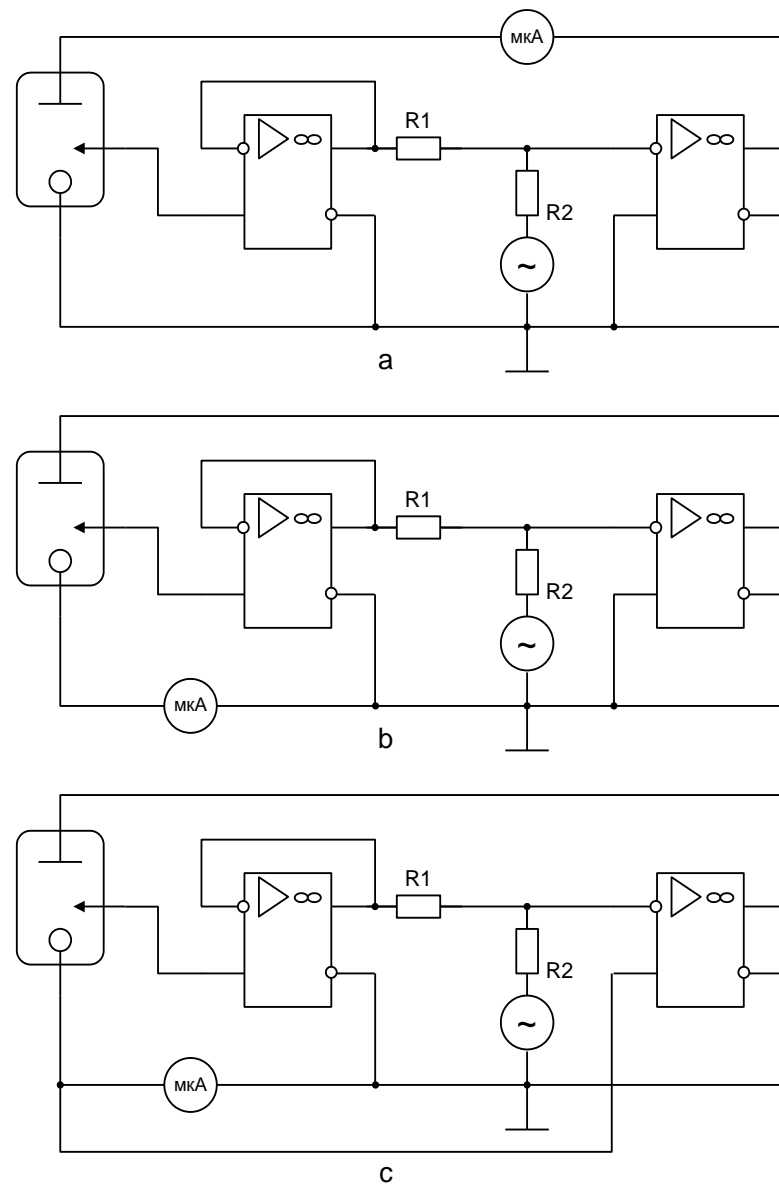


Рисунок 1.13 – Способи включення пристрою виміру струму з заземленням А-типу

Запропонована Дефордом, ця схема знайшла широке застосування [65-66].

Необхідно враховувати, що при роботі з великими струмами для кожного підсилювача ланцюга, що задає струм, потрібен додатковий підсилювач. Наприклад, для схеми (див. Рис. 1.13 б) з струмовим повторювачем, необхідні два додаткових підсилювача. Для схеми, показаної на рис. 1.13 а, потрібен тільки один додатковий підсилювач, але пристрій виміру струму при цьому не можна заземляти.

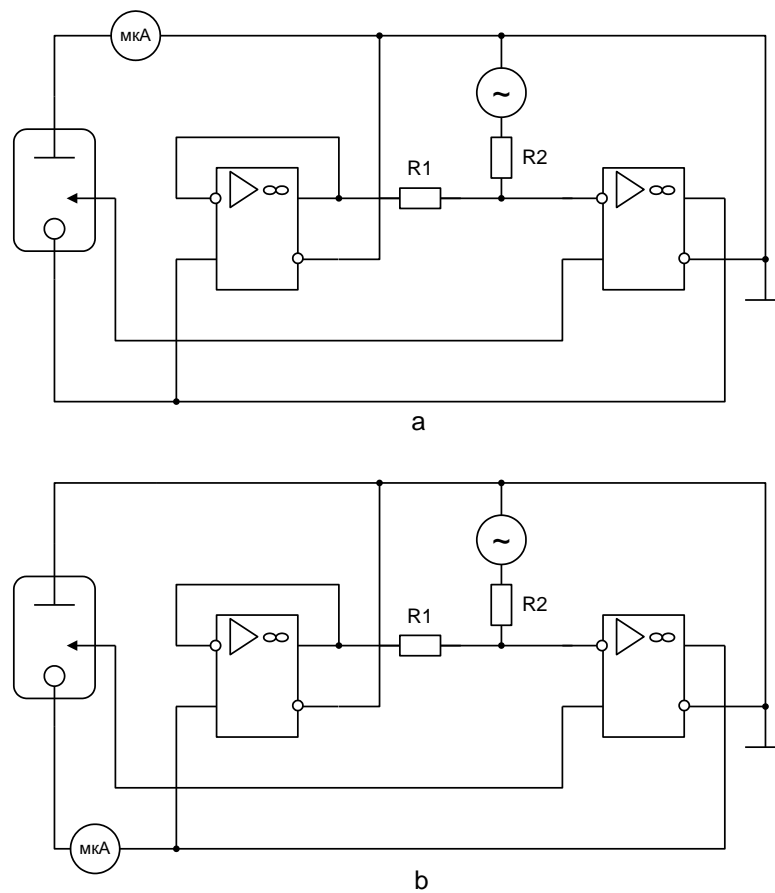


Рисунок 1.14 – Способи включення токоизмерительного устройства с заземлением В-типа

З усіх наведених схем потенціостата для реалізації надшвидкого режиму збудження найбільш придатною видається схема, що наведена на рис. 1.13 б, яка тем не менш потребує переробки відповідно до вимог надшвидкого збудження електрохімічної ячейки.

1.1.3 Омичне падіння напруги в розчині

Практика електрохімічних досліджень свідчить про вірогідність виникнення вагомих втрат в електрохімічній ячейці. Основними причинами виникнення омичних втрат в ячейці є:

- низька провідність розчину електрохімічної ячейки (композиції);
- достатньо великі вимірні струми;
- не ідеальна геометрія вимірювальної ячейки.

Наявність хоча б одного з зазначених факторів, є передумовою приділити зусилля для усунення впливу омичних втрат в ячейці на результати досліджень. Особливо важливе це робити за умови проведення кількісних досліджень, результати яких у подальшому будуть використані в обрахунках, наприклад, швидкості корозії, константа рівноваги або постійної швидкості електрохімічної реакції. Основним методом усунення цієї перешкоди у вимірах є шляхом проведення компенсації омичних втрат, що здійснюється безпосередньо під час експерименту. Хоча існує певна можливість в постобробці (після проведення виміру), однак це призводить до варіативності швидкості розгортки потенціалу, наприклад, або певній невідповідності реального потенціалу поляризації проти програми поляризації. *Отже задля забезпечення точності, достовірності, відтворюваності компенсація омичних втрат є важливим фактором проведення адекватних аналітичних електрохімічних досліджень.*

Фактори, що наведено вище, не містять будь яких чисельних даних, та , безумовно, носять суб'єктивний характер. Для отримання кількісної оцінки та надання об'єктивної вагомості кожному з факторів потрібно більш детально розглянути проблему омичних втрат в ячейці. Це надасть кількісну оцінку та розуміння необхідності здійснювати компенсацію омичних втрат для певного дослідження.

Для оцінки кількісного впливу омичного падіння напруги розглянемо потенціостатування електрохімічної ячейки та процеси, що виникають під час

електролізу розчину. Для цього потрібно звернутися до фізичної моделі електрохімічної ячейки. Трьохелектродна вимірна ячейка в спрощеному вигляді може бути представлено наступною схемою (фізичною моделлю), що наведена на рис. 1.14. Вона включає наступні елементи: потенціостат, протиелектрод (допоміжний електрод), електрод порівняння, капіляр Лугіна (не обов'язковий елемент), робочий електрод, електроліт (робочий розчин, робоча композиція). За виключенням першого, наведені елементи розміщуються в якомусь об'ємі – ячейці, що носить допоміжний характер, функціонально організуючи геометрію проведення експерименту, взаємне розміщення електродів, утримання розчину та інш.

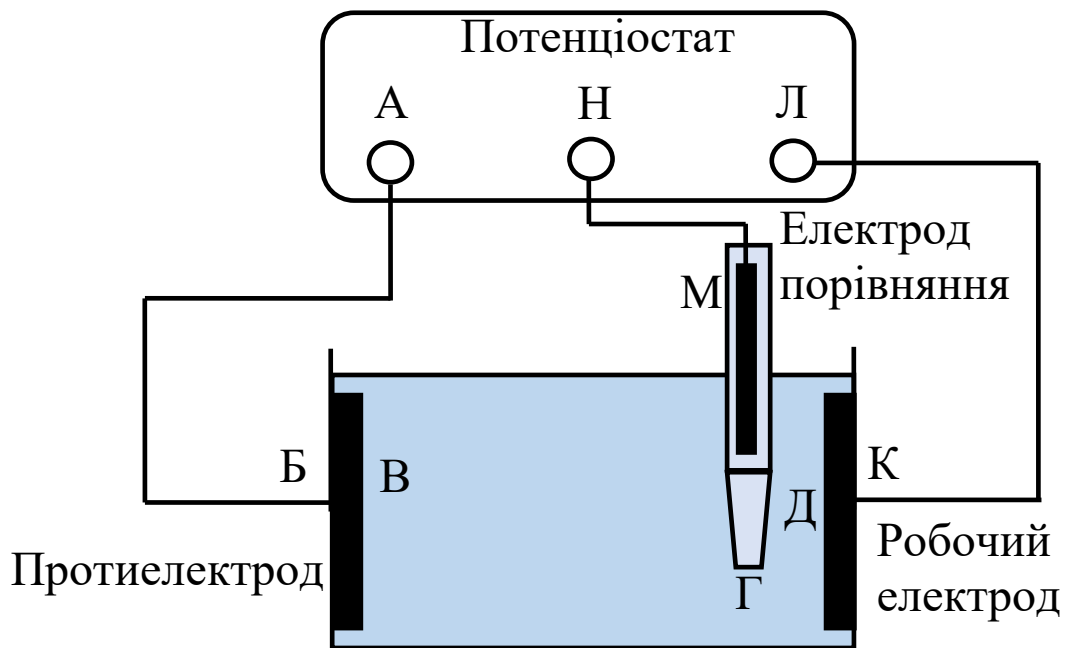


Рисунок 1.14 – Схема фізичної моделі підключення потенціостата до електрохімічної ячейки (сенсора) за трьохелектродною схемою

На схемі, що наведена на рис. 1.14 відзначимо характерні точки (місць). А – точка підключення провідника, що підключає протиелектрод (допоміжний електрод) ячейки (сенсора), Б – точка підключення провідника, що поєднує потенціостат з протиелектродом, В – точка контакту розчину з протиелектродом, Г - точка розміщення електроду порівняння (місце контакту

розчину ячейки з розчином електрода порівняння), Д – точка контакту розчину з робочим електродом ячейки (сенсора), К – точка підключення провідника, що поєднує робочий електрод з потенціостатом, Л – точка підключення провідника, що підключає робочий електрод до потенціостата, М – точка виміру рівноважного потенціалу, та місце контакту внутрішнього провідника з внутрішнім розчином електрода порівняння, Н – точка підключення провідника, що підключає електрод порівняння до потенціостата.

Аналіз поведінки вимірної ячейки під час електрохімічного збудження будемо розглядати в аспекті проходження електричного струму через її елементи, та сигналів, що формуються на відповідних виводах потенціостата (виводах підключення електродів).

Поведінка кожного з інтерфейсів між провідником першого роду та провідником другого роду (межа між двома фазами) може бути змодельована за допомогою електричної моделі конденсатора та резистор, що поєднані паралельно. Відповідно ємність конденсатора відіграє поведінку ємності подвійного електричного шару, що виникає на межі фаз електрод-розчин. Одиниця ємності на кожний 1 см² електроду складає величину 20...70 мкФ [67]. Відповідно до розмірів електродів електрохімічної ячейки можна оцінити величину конденсаторів в моделі. Перенос електрону через енергетичний бар'єр, що є результатом різної енергії електронів у зоні провідності контактуючих фаз, може бути модельовано спротивом резистора. Його величина є модельним еквівалентом спротивом переносу заряду (спротив поляризації), тобто швидкості реакції переносу електрона. Остання залежить від багатьох факторів, природи розчину та його електроактивних компонентів, їх кількості, природи електродного матеріалу, температури та потенціалу. Рівняння Баттлера-Волмера (Butler-Volmer equation) дає опис цій залежності [64]

$$i = i_0 \left(\exp\left(\alpha \frac{nF}{RT} \eta\right) - \exp\left(-(1-\alpha) \frac{nF}{RT} \eta\right) \right)$$

де i – струм через електрод, А; i_0 – струм обміну, А; η – потенціал електрода відносно рівноважного потенціалу (перенапруга активації), $V : T$ – абсолютна температура, К; n – кількість електронів, яка бере участь в електродній реакції; F – стала Фарадея; R – універсальна газова стала; α – катодний коефіцієнт переносу заряду, безрозмірний; $(1 - \alpha)$ – коефіцієнт анодного переносу заряду, безрозмірний.

Відповідний перенос заряду у розчині може бути також модельовано резистором, що є електричним еквівалентом проходження електричного струму через електроліт. Мобільність іонів, їх концентрація, температура, геометрія розповсюдження струму у ячейці все це впливає на величину спротиву цього резистора.

Наведена фізична модель обрано як найбільш відома та часто використовується модель полу елемента – спрощена ячейка Ренделя (Simplified Randles Cell). Вона застосовується як відправна точка для побудови більш складних моделей, що описує реальні електрохімічні ячейки.

В нашому випадку трьохелектродної ячейки це поєднання трьох спрощених моделей Ренделя за схемою зірки (рис. 1.15).

Відповідні конденсатори та резистори мають індекси відповідно до назв електродів: $C_{пе}$, $R_{пе}$ – конденсатор та резистор межі протиелектрод-розчин, $C_{еп}$, $R_{еп}$ – конденсатор та резистор межі електрод порівняння-розчин, $C_{ре}$, $R_{ре}$ – конденсатор та резистор межі робочий електрод-розчин.

До схеми додано ще три елементи, ключ К1, що використовується в роз'ясненні принципу дії одного з методів компенсації омичних втрат в ячейці, паразитна ємність кабелю $C_{каб}$ підключення протиелектрода та вимірний резистор $R_{вим}$, що є вхідним опором потенціостата з виходу підключення робочого електрода.

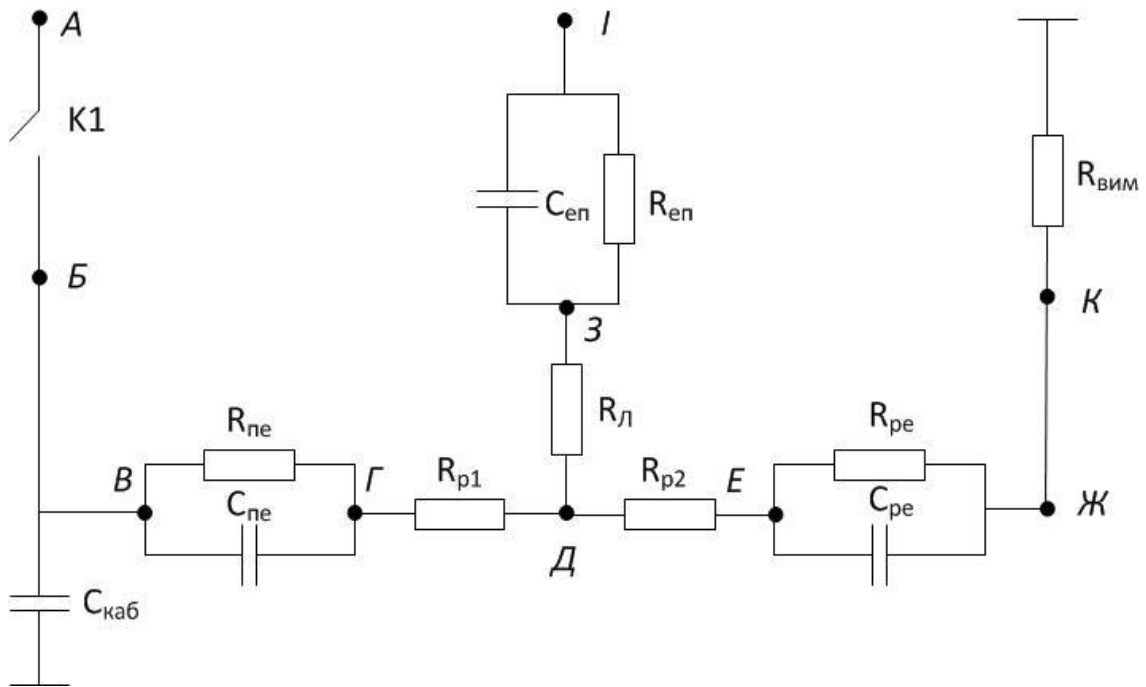


Рисунок 1.15 – Електротехнічна модель трьох-електродної електрохімічної ячейки (сенсора)

Для подальшого викладу матеріалу визначимося з характерними точками в цій моделі (схемі).

А - точка підключення керуючого підсилювача потенціостата;

Б – точка підключення кабелю поєднання потенціостата з протиелектродом;

В – поверхня протиелектрода;

Г – поверхня розчину на межі з проти електродом;

Д – точка в розчині де розташовано кінець капіляра Лугіна;

Е – поверхня розчину на межі з робочим електродом;

Ж – поверхня робочого електрода;

З – поверхня розчину на межі з електродом порівняння;

І – точка підключення кабелю поєднання потенціостата з електродом порівняння;

К - точка підключення кабелю поєднання потенціостата з робочим електродом.

Більшість аналітичних потенціостатів проводить вимір струму робочого електрода, для чого він підключається до вимірного ланцюга перетворювача струм-напруга, який приводить потенціал підключеного кабелю до загальної шини. Оскільки в нашій моделі ми винесли з огляду спротив між точками K та $Ж$, вони можуть вважатися еквіпотенціальними з потенціалом загальної шини потенціостата. (Випадок, з врахуванням спротиву кабелю між робочим електродом та потенціостатом буде розглянуто пізніше, де буде проаналізовано схему чотирьох електродного підключення електрохімічної ячейки). Тому точки A та B тут будемо вважати еквіпотенціальними, а ключ $K1$ замкнутим.

Суть роботи потенціостату це контроль напруги між точками E та $Ж$. Відповідно це інтерфейс розчин-робочий електрод, а напруга є напругою поляризації робочого електрода. Предмет вольтаметричних досліджень вимір функціональної залежності струму через робочий електрод при певній напрузі поляризації робочого електрода $U_{\text{эф}}$ (ефективна напруга).

Однак напругу поляризацій можливо застосувати до електрохімічної ячейки тільки прикладуючи її між двох електродів.

Вимір потенціалу розчину $U_{\text{роз}}$ здійснюється в точці D . Оскільки для виміру потенціалу використовується високоімпедансна схема з метою попередження протікання великого вимірного струму. Це попереджує поляризацію електрода порівняння, а також дає змоги знехтувати падінням напруги на капілярі Лугіна, та внутрішньому спротиві електрода порівняння. Отже, в більшості випадків можна розглядати точки D та I еквіпотенціальними також.

Таким чином, для роботи потенціостата не принципово (за певними зауваженнями) як поділиться потенціал між інтерфейсами. Розміщуючи електрод порівняння (капіляр Лугіна) у безпосередній близькості до робочого електроду можливо визначитися з його величиною відносно загальної шини потенціостата. Оскільки потенціал поляризації ячейки $U_{\text{пол}}$, тобто потенціал в

точці Б, відомий – це вихідна напруга потенціостата, що контролювано їм генерується. Звідси функція потенціостата зводиться до наступної операції:

$$U_{\text{пол}} = U_{\text{еф}} + U_{\text{роз}} .$$

Тобто сигнал у вигляді потенціалу розчину використовується як сигнал корекції та додається до значення напруги поляризації робочого електрода. Отримана напруга є напругою поляризації протиелектрода, що має продукувати потенціостат. Це було б дійсно так якби то не існувало проблеми розміщення електрода порівняння та не існувало певної кількості розчину між капіляром Лугіна (електродом порівняння) та робочим електродом.

Потрібно зауважити, що розміщення електрода порівняння має принциповий характер з огляду не тільки близькості до поверхні, а також щільності струмів через ячейку, що протікають в його близькості. Існують фактори заважаючи «правильному» розташуванню, експериментатор вимушений використовувати «зручне» розташування електродів. Таким чином спротив розчину поділяється на дві частини. Одна частина між проти електродом та електродом порівняння точки D та G охоплено зворотним зв'язком електрода порівняння, та компенсується відповідно роботою вимірного тракту рівноважного потенціалу ячейки. Друга частина спротиву розчина, що виникла, між електродом порівняння та робочим електродом, тобто між точками D та E , виключена з зворотного зв'язку. Звідси потенціал поляризації що накладено до ячейки буде складатися з

$$U'_{\text{пол}} = U'_{\text{еф}} + U'_{\text{роз1}} + U'_{\text{роз2}} .$$

Оскільки вимір потенціалу здійснюється тільки для точки D . $U'_{\text{роз1}} \equiv U_{\text{роз}}$. При збереженні принципу роботи $U'_{\text{пол}} = U_{\text{пол}}$, буде таким як до цього. Таким чином

$$U_{\text{еф}} + U_{\text{роз1}} = U'_{\text{еф}} + U'_{\text{роз1}} + U'_{\text{роз2}} .$$

Враховуючи, що $U'_{\text{роз1}} \equiv U_{\text{роз}}$, ми маємо

$$U_{\text{еф}} = U'_{\text{еф}} + U'_{\text{роз2}} .$$

Тобто до робочого електрода електрода буде накладено потенціал

$$U'_{\text{еф}} = U_{\text{еф}} - U'_{\text{роз2}} .$$

Таким чином розміщення електрода порівняння відносно робочого електрода впливає на точність поляризації. Отже похибка у поляризації робочого електрода збільшується пропорційно струму через електрохімічну ячейку та пропорційно росту не скомпенсованого омичного опору розчину. Вирішенням цієї проблеми є додавання до вихідного сигналу потенціостата для збудження електрохімічної ячейки напруги

$$U'_{\text{пол}} = U_{\text{пол}} + U'_{\text{роз2}}.$$

Проблема яку потрібно технічно рішення – це визначення $U'_{\text{роз2}}$, та додавання її величини до потенціалу поляризації протиелектрода.

Методичними засобами усунення впливу омичних втрат є підвищення провідності електроліту (композиції) за рахунок додавання носіїв зарядів у вигляді солі, що дисоціює, кислоти або луги, так званих допоміжних електролітів. Вони мають збільшити провідність розчину, при цьому бути хімічно нейтральними до речовин та продуктів електрохімічної реакції, що досліджується. Зазначену умову щодо певної інертності фонового електроліту не завжди можливо виконати в повному обсязі. Отже існують випадки коли цим способом не можливо скористатися.

Додавання фонового електроліту впливає на електрохімію, навіть якщо іони фонового електроліту безпосередньо не залучаються до реакції. Вони будуть змінювати склад подвійного шару (C_f), що може вплинути на розчинність або структуру реагентів або продуктів. Або призвести до зміни структури атомних шарів поверхні. Коли метою дослідження є вивчення електрохімічної поведінки певної речовини, а не речовини за умови певного фонового електроліту, додавання останнього виключено. Прикладом може слугувати дослідження корозійної здатності речовини в певному розчиннику за відсутності додаткових (надлишкових) компонентів фонового електроліту.

Іншим способом є мінімізувати відстань між електродом порівняння (капіляром Лугіна) та робочим електродом. Це обумовлює певну конструкцію вимірної ячейки, що спроектовано таким чином, щоб мінімізувати цю відстань. Безумовно цей метод теж має свої обмеження у застосуванні. Не завжди є

можливість виготовити певну конструкцію, або провести дослідження в певній геометрії розміщення електродів, тобто мають механічні обмеження. Іншим важливим моментом є те, що електроліт є гідродинамічним середовищем в якому розповсюджується струм. Якщо розмістити певний об'єкт на шляху розповсюдження струмів, це призведе до їх перерозподілу в об'ємі. Отже розміщення капіляра Лугіна або електрода порівняння дуже близько до робочого електрода призводить до зміни щільності струму по його поверхні, роблячи походження реакції не рівномірною на електроді (рис. 1.16). Таким чином змінюється ефективна геометрія робочого електрода. Останнє певним чином відбивається на аналітичному сигналі.

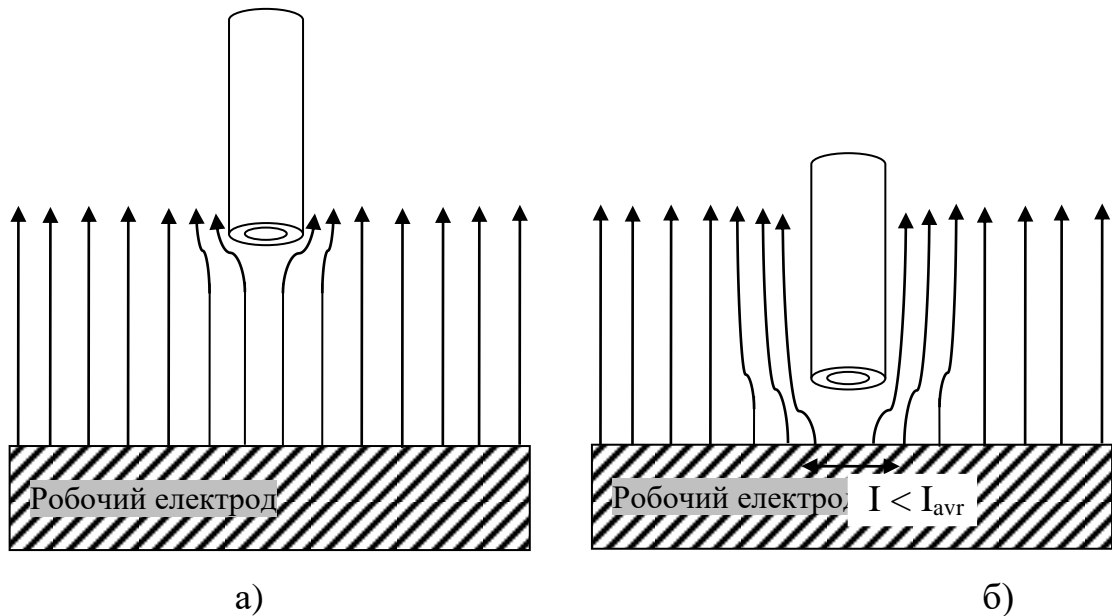


Рисунок 1.16 – Вплив розміщення електрода порівняння біля робочого електрода: а) ефект слабкий (ліній струмів огинають об'єкт, їх щільність рівна у поверхні робочого електрода), б) ефект суттєвий (ліній струмів, огинаючи об'єкт, розподілені на поверхні робочого електрода нерівномірно, щільність струму під електродом порівняння менша ніж на інших ділянках $I < I_{avr}$).

Оцінку похибки потенціалу поляризації можна визначити при умові відомої величини омичних втрат в ячейці. Отже вимір останніх є принциповим для аналізу суттєвості омичних втрат для певного експерименту та необхідності проведення їх компенсації.

Вимір омичних втрат можливо здійснювати декількома методами, що поділяються на постійно струмові, та змінно струмові.

Для розгляду процесу виміру повернемося до обраної моделі, в якій визначимо характерні величини спротиву переносу електрона через інтерфейс в 2000 Ом, омичного спротиву розчину 100 Ом та ємність подвійного електричного шару 0,5 мкФ. Обрані величини є наближеними до реальних значень більшості макроячейок, з якими працюють дослідники. Оскільки для виміру спротиву не принципово здійснювати вимір рівноважного потенціалу, а у випадку симетричних електродів (робочого електрода та протиелектрода) можливо спростити модель до наступної форми (рис. 1.17), де в послідовно поєднані резистор омичного спротиву, з паралельно поєднаними резистором та ємністю, що описують інтерфейс розчин-електрод.

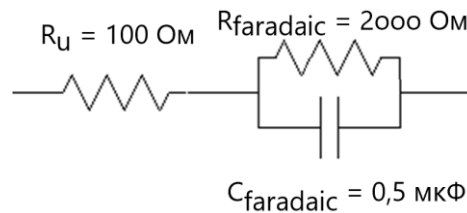


Рисунок 1.17 – Електрична модель ячейки при вимірі її провідності на змінному струмі (модель Ренделя)

Аналіз поведінки цієї електричної моделі є ключем в розумінні принципу виміру спротиву електроліту. На постійному струмі ефект присутності ємності відсутній. Вплив мають тільки послідовно з'єднані резистори. Оскільки при збільшенні частоти переважає провідність ємності над провідністю резистора його ефект зменшується, та при достатньо великій провідності ємності (що можливо як при її великій ємності або великій частоті змінного струму) спротив розчину визначатиме струм в послідовному ланцюгу. Тобто амплітудно-частотна характеристика цього ланцюга має вигляд, що наведено на рис. 1.18, показуючи перерозподіл впливу елементів на провідність ячейки в цілому. Цю поведінку електрохімічної ячейки можливо дослідити методом імпеданс-спектроскопії.

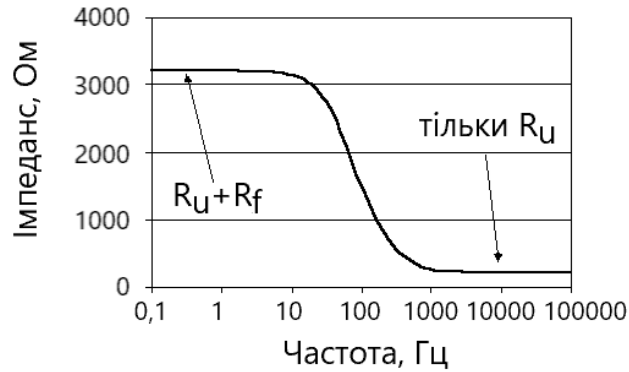


Рисунок 1.18 – АЧХ поведінка моделі електрохімічної ячейки

Отже проводячи вимір на великій частоті можливо оцінити спротив розчину R_u . Знаючи його величину надалі можливо визначити величину похибки потенціалу, для чого достатньо перемножити величину виміряного струму під час експерименту на величину цього спротиву. Так, наприклад, для обраного спротиву у 100 Ом при струмі через ячейку 10 мкА похибка потенціостатування складатиме лише $100 \text{ Ом} \cdot 20 \text{ мкА} = 2 \text{ мВ}$, що в багатьох випадках електрохімічних процесів не є суттєва.

Іншим наслідком моделі, що розглянуто, є те що у випадку значно більшого спротиву, що відповідає переносу електрону, над спротивом електроліту вплив останнього не є суттєвим. Оскільки струм через ячейку визначатиметься здебільшого процесами переносу електрона на межі розчин-електрод, де й буде реалізовано потенціал поляризації електрохімічної ячейки.

Однак збільшення швидкості поляризації електрода призводить до збільшення електрохімічного струму через ячейку, це в свою чергу призводить до збільшення падіння напруги на спротиві розчину ячейки. Більш детально про цей ефект, його наслідки буде розглянуто в п.1.2.

1.1.4 Компенсація омичних втрат з їх імпульсно-безперервним виміром

Оцінка омичних втрат в ячейки шляхом змінно-струмового виміру імпедансу не завжди є зручним способом, оскільки потребує додаткового

інструментарію для проведення вимірів на високій частоті. Іноді омична провідність розчину є функцією потенціалу поляризації ячейки. Звідси виникає проблема постійного виміру омичних втрат під час експерименту та їх неперервна компенсація відповідно до струму через ячейку та поточної провідності розчину.

Для виміру омичного спротиву ячейки (провідності розчину) використовується метод перервних струмів. Для чого в схемі потенціостата передбачається розмикач (рис. 1.19). Потенціал в ячейці вимірюється до розмикання, та відразу після розмикання, в такому випадку виходячи з фізики процесів в ячейці потенціал на електроді порівняння швидко зміниться на величину омичних втрат в ячейці. Оскільки за відсутності струму (при розриві ланцюга) через ячейку, електрод буде вказувати потенціал в ячейці. Він визначатиметься потенціалом до якого буде заряджено ємність подвійного електричного шару робочого електрода. Подалі ця ємність буде розряжатися, тож після виміру різниці (стрибка потенціалу), схема повертається до попереднього стану, шляхом підключення протиелектрода при замиканні розмикача.

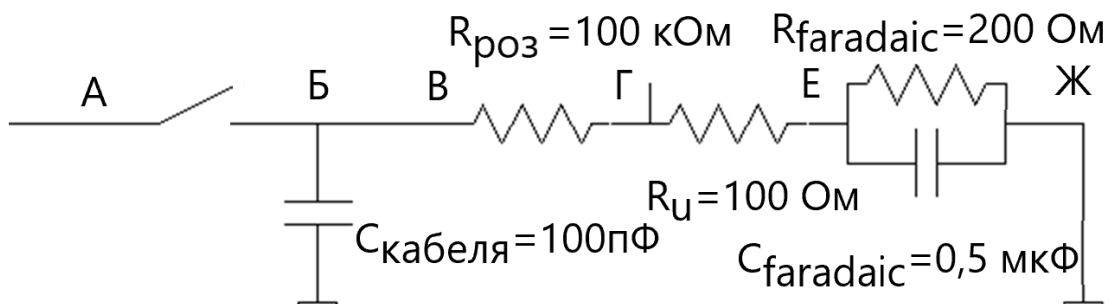


Рис. 1.19 – Модель ячейки з урахуванням підключеного потенціостата

З першого погляду, цей принцип виміру достатньо простий, але є певні ускладнення, що обмежують точність цього методу виміру омичних втрат. Такі фактори як швидкість вибірки даних (оцифрування) та величина вихідної ємності потенціостата, наявність перешкод у вигляді шуму сигналу.

Швидкість вибірки даних є важливим за для швидкого виміру стрибка потенціалу, оскільки відразу після розмикання розпочинається розряд ємності подвійного шару через спротив R_{faradaic} . Якщо проводити декілька вимірів то екстраполюючи можливо отримати оцінку омічних втрат. Однак, для екстраполяції в реальному часі зазвичай використовується лінійна модель, процес розряду має експоненціальний характер, отже визначитися з параметрами експоненти та екстраполяції заважко. Експериментатори виходять з постійної часу для електрохімічної ячейки $\tau = RC$. Тобто часу розряду ємності в e раз. Для обраних параметрів ячейки $\tau = 2000 \cdot 0,5 \cdot 10^{-6} = 1$ мс. Беручи з 10-разовим запасом, швидкодія пристрою вибірки сигналу має становити 0,1 мс та менше. У випадку коли постійна ячейки менша, необхідно відповідне зменшення часу вибірки, тобто підвищення швидкодії АЦП. Однак при зменшенні часу вибірки впливовим стає інший фактор – вихідна ємність потенціостата.

Вихідна ємність потенціостата, виходячи з наведеної вище моделі, складається з двох компонентів, це ємність кабелю підключення виходу потенціостата до протиелектрода та паразитна ємність розмикача на платі потенціостат. Наприклад, для кабелю марки RG-174 1м кабелю має ємність 101 пФ, а розмикач на базі польових транзисторів приладу KAQY212, має паразитну ємність в 6 пФ. Таким чином в момент розмикання до ячейки залишається підключеним заряджений конденсатор.

Оскільки на момент розмикання компенсація спротиву R_{solution} відсутня, оскільки потенціостат переводиться в режим виміру рівноважного потенціалу. Розряд ємності $C_{\text{кабеля}}$ проходить з великою сталою. Таким чином поведінка потенціалу на електроді порівняння матиме характер, як це зображено на рис. 1.20.

Для отримання адекватного виміру омічних втрат необхідно забезпечити час вибірки, коли ємність кабелю $C_{\text{кабеля}}$ вже розряджена, але ємність подвійного шару C_{faradaic} ще залишається зарядженою. Тобто

аналізуючи часову поведінку розряду цих ємностей, потрібно обрати ділянку між двома кривими (рис. 1.21).

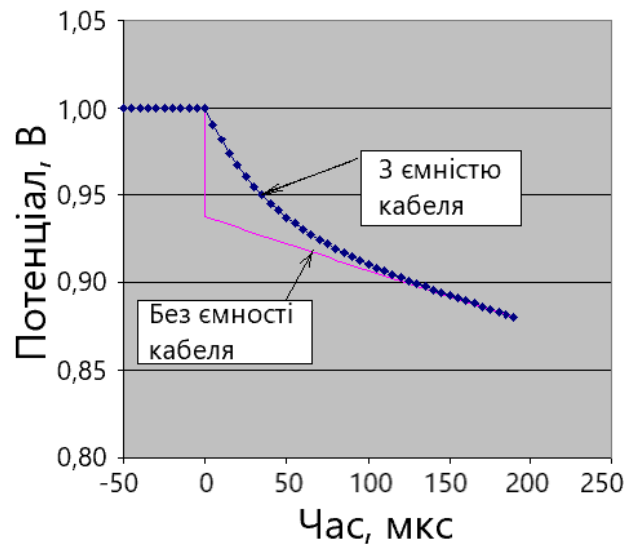


Рис. 1.20 – Вплив розривання лінії керування на вимір потенціалу ячейки

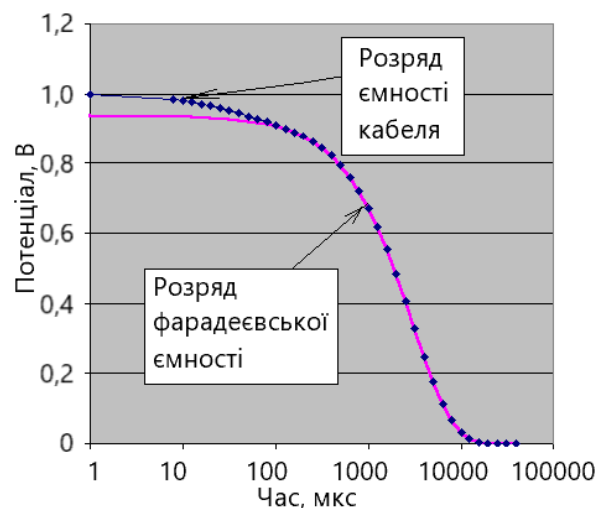


Рисунок 1.21 – Розряд ємностей моделі електрохімічної ячейки

В нашому випадку це проміжок між 10 мкс та 10 мс. Якщо забезпечити це не можливо, коли ємність кабелю порівняна з ємністю подвійного шару, компенсація методом перервних струмів не можлива.

Іншою проблемою цього методу є чутливість його до електрохімічних шумів. В системах де цей метод застосовується ефективно, величина зміни потенціалу під час розриву струму (тобто необхідної компенсації) складає від кількох мілівольт до декількох сотін мілівольт. Оскільки компенсація

базується на різниці у напругах до та після розриву, ці виміри рознесені в часі, до різниці входить шум кожного з вимірів, що звеличує похибку визначення компенсації, більш ніж для виміру поточного потенціалу. Зважаючи те, що виміри потенціалів потрібно здійснювати з малою постійною часу, застосувати фільтрацію унеможливлено без суттєвої зміни вихідного сигналу.

Отже для подолання впливу використовуватиметься:

- електростатичне екранування вимірної ячейки (клітка Фарадея) для виключення зовнішніх завад з вихідного сигналу ячейки,
- застосування середньої величини сигналу для зменшення вірогідності підсиленого шуму;
- використання синхронного детектування за умови відомої частоти шуму, виключає зростання шуму у вимірі;
- якщо шуми занадто великі в компенсації використовується середня величина двох вимірів після розриву струму в чепкі без використання екстраполяції.

Попередній опис стосувався безпосередньо виміру омічних втрат в ячейці. Оскільки вимір не є самоціллю інтерес викликає безпосередньо принцип компенсації. В більшості потенціостатів сигнал, що надходить з програмного генератора (ЦАП або інший пристрій), що синтезує сигнал збудження ячейки корегується сигналом зворотного зв'язку з електрода порівняння. Сигнал, що буде прикладений до потиелектроду ячейки поєднує ці два сигнали. Додавання до цих двох сигналів третього – сигналу корекції омічних втрат можливо як за рахунок програмної корекції сигналу що генерується програмним генератором, так і сумування додаткового сигналу, що формується окремим генератором на підставі вимірної напередодні омічних втрат. Тобто можливі програмні або інструментальні засоби реалізації цього методу компенсації, що може бути загально описано наступним виразом:

$$U_{\text{пол}}(t) = U_{\text{прог}}(t) - U_{\text{втр}}(t-1),$$

де $U_{\text{пол}}(t)$ - напруга поляризації, що подається на протиелектрод; $U_{\text{прог}}(t)$ -

напруга, що має бути реалізовано на межі розчин-робочий електрод;
 $U_{\text{втрат}}(t-1)$ – величина омічних втрат в ячейці.

Алгоритм корекції працює відповідно з нульових початкових умов. З виміром струмового сигналу та відповідно визначення омічних втрат на подальшому кроці здійснюється корекція напруги, що поляризує ячейку, відповідно програми та виміряних втрат. Процес виміру повторюється як для струму так і омічних втрат, замикаючи цикл. Отже на кожному кроці здійснюється більше наближення, та більш точне визначення омічних втрат.

Слід зауважити, що зміна омічних втрат під час експерименту в цьому методі буде автоматично виміряна та компенсована, що є основною перевагою методу.

Перевагами цього методу компенсації є:

- відсутність необхідності в попередній інформації про омічні втрати в ячейці;
- зміна омічні втрати в ячейці під час експерименту не призводить до виникнення похибки компенсації;
- компенсація не залежить від діапазону виміру струму, тому вона може використовуватися в експериментах з автоматичною настройкою діапазону виміру;
- здійснюється автотипна корекція швидкості поляризації протиелектрода та граничного потенціалу поляризації відповідно до втрат.

Компенсація омічних втрат з їх імпульсно-безперервним виміром добре зарекомендований метод, але обмеження що існують в ньому не дозволяють його використовувати в дослідженнях деяких електрохімічних композицій. До обмежень методу, що складають недоліки методу, слід віднести:

- необхідність наявності великої фарадеєвської ємності;
- обмеження швидкодії;
- спротив фарадеєвських процесів має бути більшим за спротив омічних втрат;

- спротив омичних втрат має бути обмежено.

Необхідність великої фарадеєвської ємності для працездатності метода зумовлено тим, що під час розриву електрохімічної ячейки (відключення протиелектрода) електричний потенціал зберігається на ємності подвійного електричного шару робочого електрода (фарадеєвська ємність). Замала ємність призводить до того, що система виміру втрат завищує їх оцінку, це призводить до неpritаманне великого струму та перевантаженню потенціостата. В багатьох випадках ця ємність має бути в декілька мікрофарад, за умови одиниці ємності на поверхні металевого електрода $20 \dots 50 \text{ мкФ/см}^2$. Площина електрода має бути не менш 1 см^2 . Наявність різноманітних ізолюючих покриттів (плівок), що зменшують ємність, виключають можливість використання цього метода також.

Обмеження швидкості стосується необхідності проведення розриву електрохімічної ячейки. Час на вимір рівноважного потенціалу розірваної ячейки має бути значно меншим ніж час, що необхідний для проведення виміру під час експерименту в певній точці програми розгортки потенціалу. Раніше обговорювалося, що час виміру залежить від параметрів ячейки та струмового діапазону. Отже необхідно зміна цих параметрів відповідно до умов експерименту (струмового діапазону). Діапазон переривання струму лежить в межах $10 \text{ мкс} \dots 100 \text{ мс}$, таким чином здійснювати розгортку потенціалу можливо тільки з достатньо малою швидкістю до 10 мВ/с .

Можливість проведення компенсації також унеможливлена якщо омичне падіння напруги значно перевищує потенціал поляризації на робочому електроді. У випадку, якщо омичний спротив більш ніж в $10 \dots 20$ разів перевищує спротив, що відповідає переносу електрона на межі робочий електрод-розчин, вимір омичних втрат в ячейці є вельми неточними, що робить подальшу компенсацію неефективною. Отже для виділення омичних втрат має спостерігатися обмеження омичних втрат певною величиною. На практиці для отримання достовірних чисельних даних щодо характеристики

електрохімічного процесу рекомендується, щоб спротив омичних втрат не перевищував межі $1/10$ від фарадеевського спротиву.

1.1.5 Компенсація омичних втрат за рахунок позитивного зворотного зв'язку

Підсумовуючи розглянуте вище, метод компенсації омичних втрат з їх імпульсно-безперервним виміром є корисним, коли досліджуються електрохімічні явища з повільною динамікою, наприклад, реакції корозії або характеристики пристроїв зберігання енергії (батареї, акумуляторів, суперконденсаторів). Та є непридатним для швидкоплинних процесів. Прикладом таких вимірювань є експеримент з швидкістю розгортки 1000 V/s за методом циклічної вольтамперометрії для дослідження кінетики електрохімічних процесів.

Суттєво кращі результати за швидкісними показниками дає метод позитивного зворотного зв'язку, що дозволяє подолати обмеження попереднього метода.

Цей метод є за змістом введенням додаткового зворотного зв'язку до схеми потенціостата. Оскільки переважна більшість аналітичних потенціостатів здійснює вимір струму через електрохімічну ячейку. Є можливість додати до сигналу збудження додатковий сигнал, що є пропорційним струму через ячейку, тобто еквівалентними омичним втратам. Оскільки сигнал на виході додатково збільшує сигнал (напругу) поляризації протиелектрода, зворотний зв'язок носить позитивний характер. За умови постійності омичного спротиву електрохімічної ячейки, цей метод є достатньо ефективним.

Викладений принцип реалізується за наступною схемою рис.1.22.

На малюнку струмовий сигнал з виходу через масштабний підсилювач AD4 надходить в точку сумування сигналів в класичній схемі потенціостата. Це точка струмового додавання сигналу від генератора, що задає сигнал збудження, сигнал від'ємного зворотного зв'язку з електрода порівняння, та

сигнал позитивного зворотного зв'язку компенсації омичних втрат в ячейці. Для сумування використовується поєднання резисторів зіркою однакової величини R . Відповідно масштабуючий підсилювач позитивного зворотного зв'язку має коефіцієнт передачі за напругою відповідно до співвідношення $R_{fb2} / (R_{fb1} + R_{fb2})$, враховуючи коефіцієнт перетворення струму до напруги, відповідно значення резистора, що відповідає омичним втратам в схемі визначається рівнянням $[R_{fb2} / (R_{fb1} + R_{fb2})]R_{cv}$. Тобто виходячи з струмового діапазону виміру необхідне відповідне завдання масштабованого коефіцієнта для перетворювача. Оскільки в багатьох випадках вихідний сигнал оцифровується, значно гнучкіша схема виходить з використанням цифро-аналогового перетворювача, що задає сигнал корекції відповідно до рівня вимірюваного струму через ячейку. У випадку використання прямого цифрового синтезу сигналу можливе задіяти програмну корекцію коду, що надходить до ЦАП генератора сигналу збудження, з урахуванням омичних втрат.

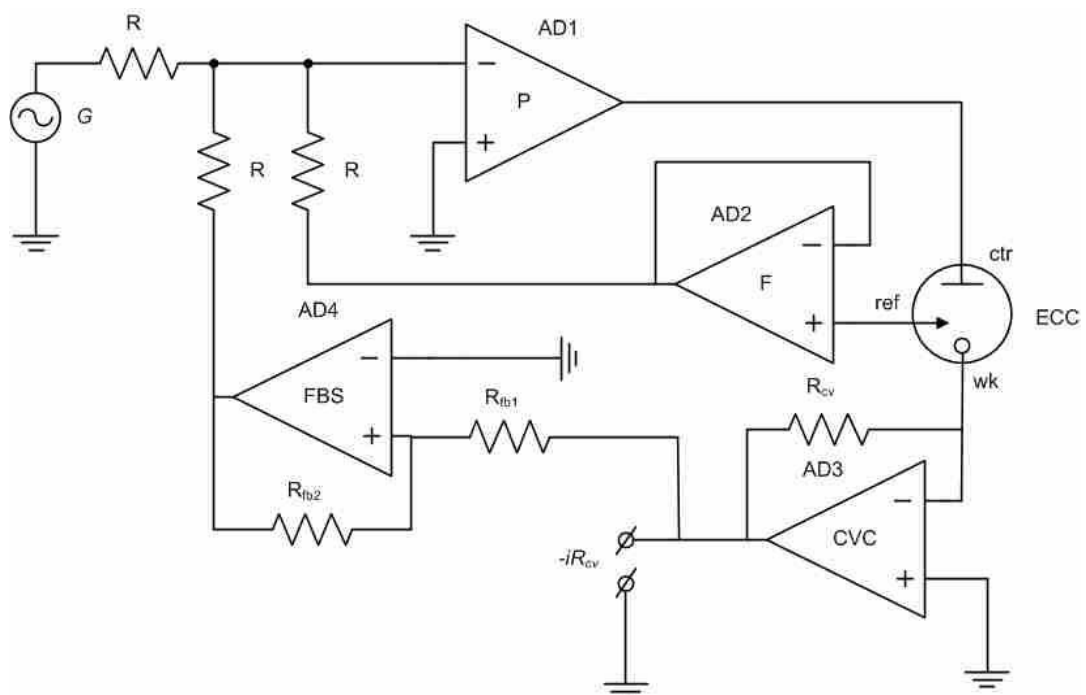


Рисунок 1.22 – Потенціостат з позитивним зворотним зв'язком

До переваг цього методу компенсації слід віднести:

- можливість використання компенсації в широкому частотному діапазоні (тобто для достатньо швидкого експерименту, але не надшвидкого. Цю проблему буде обговорено в наступній главі 2.2)
- здійснюється корекція як межі розгортки потенціалу поляризації протиелектрода, так і швидкості розгортки потенціалу поляризації протиелектроду.

Недоліками метода, що обумовлюють можливість його практичного застосування, є:

- необхідність попереднього визначення величини омічних втрат;
- можливість виникнення помилки компенсації в наслідок зміни реального значення омічних втрат під час експерименту;
- зміна токового діапазону виміру під час експерименту потребує відповідної зміни коефіцієнту зворотного зв'язку для збереження значення величини спротиву, що компенсується;
- позитивний зв'язок може призводити до осциляцій в потенціостаті.

Останнє є принциповим фактором, що обмежує можливість використання цього методу компенсації омічних втрат в надшвидкому потенціостаті.

1.2 Концепція надшвидкого потенціостата

Збільшення швидкодії потенціостата це не тільки збільшення часової роздільної здатності, за рахунок часових обмежень електрохімічного експерименту можливо отримати додаткове просторове обмеження того об'єму розчину, що буде залучено в процес електролізу. Оскільки зменшення часу електролізу призводить до зменшення шару дифузії речовини, вихід на мікросекундного експерименту зменшує об'єм речовини, що залучена до електродних процесів шаром в декілька нанометрів. (більш детально див. п. б.)

Зростання інтересу до області аналізу окремих молекул, застосування наноматеріалів в електрохімії, досліджень плівок, та електрохімічних

досліджень каталітичних реакцій, все це стимулює дослідження, що спрямовані на збільшення швидкісних можливостей потенціостата.

1.2.1 Аналіз робіт інших авторів

Потенціостат прилад для реалізації компенсації омичного падіння напруги в електрохімічній ячейці (сенсорі) та/або вимірному тракті електричної схеми, та здійснення поляризації електродів електрохімічної ячейки. Для реалізації найпростішої електрохімічної ячейки необхідно два електроди розділені електропровідним середовищем (частіш за все розчином) з носіями зарядів – іонами. Кожний з електродів можна розглядати як напівелемент, та відокремити процеси на них один від другого. Таким чином дослідження можна спрямувати на вивчення процесів тільки на одному електроді (що зветься робочим електродом), інший електрод (допоміжний) та процеси на ньому виключити з розгляду. В електрохімічних дослідженнях інтерес викликає залежність електрохімічного струму від потенціалу, що реалізовано на межі між робочим електродом та розчином. Проблема дослідження полягає у необхідності виміру потенціалу ззовні електрохімічної ячейки. Отже для вирішення проблеми виміру потенціалу між середовищем (електролітом) та робочим електродом в аналітичній електрохімії використовується трьохелектродна ячейка. Третій електрод є електродом порівняння, потенціал якого є незмінним у наслідку використання неполяризованого електрода, тобто якому притаманний певний потенціал у середовищі за рахунок оборотної електрохімічної реакції на ньому. Для зменшення зміни потенціалу внаслідок його виміру здійснюється обмеження струму через електрод порівняння, щоб не змінювати термодинамічний баланс оборотної електрохімічної реакції. Розміщуючи електрод порівняння достатньо близько до робочого електроду, можлива компенсація падіння напруги на межі допоміжний електрод/середовище та падіння напруги на омичному опорі середовища між допоміжним електродом та електродом порівняння. Таким чином можливе керування ззовні потенціалом на інтерфейсі розчин/робочий електрод, змінюючи потенціал прикладений між

допоміжним та робочим електродами, вимірюючи потенціал електрода порівняння, та здійснюючи відповідну корекцію потенціалу поляризації. Схеми потенціостатів, що частіш за все використовуються для побудови комерційних приладів базуються на схемі, що наведено, наприклад в роботах [66-68], яку взято за прототип.

Базовими елементами наведеної схеми є: каскад, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки; повторювач напруги; електрохімічна ячейка, що містить робочий, допоміжний електроди та електрод порівняння; перетворювач струм-напруга; ланцюг позитивного зворотного зв'язку для компенсації омичного падіння напруги в ячейці.

Повторювач напруги здійснює вимір рівноважного потенціалу на електроді порівняння в електрохімічній ячейці. Цей сигнал додається до сигналу розгортки потенціалу поляризації проти електрода. До них додається сигнал компенсації, що задається ланцюгом позитивного зворотного зв'язку. Сигнал до останнього надходить з перетворювача струм-напруга. Сума цих сигналів є вхідним сигналом керування каскадом, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки.

Недоліком цієї схеми є низька швидкодія. Це зумовлено декількома факторами. По-перше, великий опір електроду порівняння та наявність паразитних ємностей в ланцюзі виміру рівноважного потенціалу на електроді порівняння обумовлюють велику сталу часу для цього каналу. Малий струм через електрод порівняння та наявність зовнішніх завад унеможливають проводити вимір рівноважного потенціалу з високою швидкістю. Оскільки для каскада, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки негативний зворотній зв'язок реалізовано через канал виміру рівноважного потенціалу, він є вельми повільним. Для попередження збудження електричної схеми потенціостата здійснюється частотне обмеження підсилення каскаду на високих частотах. Таким чином на високих частотах функція потенціостата не підтримується, що перешкоджає проводити поляризацію електродів з високою швидкістю.

Окрім цього, залишається проблема відсутності компенсації омичного опору розчину ячейки. Розміщення електроду порівняння в безпосередній близькості до робочого електроду не завжди можливо, або ускладнено, наприклад, мініатюризацією електродної системи електрохімічної ячейки. Отже залишається частина не скомпенсованого омичного опору в розчині між електродом порівняння та робочим електродом і в класичній схемі.

Проблема компенсації омичного падіння напруги в ячейці вирішується в комерційних потенціостатах шляхом введення позитивного зворотного зв'язку між каскадом виміру струму та каскадом, що задає потенціал. На великих швидкостях розгортки потенціалу поляризації електрохімічної ячейки цей міжкаскадний зворотній зв'язок може переважати над зворотнім зв'язком каналу виміру рівноважного потенціалу та бути додатковим джерелом збудження схеми, що унеможливує її функціонування.

Однією з центральних проблем конструювання надшвидкого потенціостата є проблема зменшення часу відгуку приладу зі збереженням чутливості в електрохімічних вимірюваннях. Так автор [69] стверджує, "здатність до вимірювання нА та пА струмів в наносекундних часових масштабах залишається проблемою". Це проблема традиційна для інженерів, та полягає у одночасному зниженні діапазону вимірювання струму та часу відгуку, тобто збільшення чутливості потенціостата з розширенням смуги його пропускання для аналітичного сигналу. Щоб зрозуміти цю проблему потрібно проаналізувати сутність електричного струму, отже $i = dQ / dt$ [64]. Тут математичний вираз dt відповідає часу вимірювання, dQ є кількість заряду, що доступна для реєстрації аналітичний сигнал, тобто струму i . Підвищення діапазону частот сигналу відповідає зниженню часу вимірювання dt для потенціостата, а отже і кількості зарядів. Для збереження поточної чутливості необхідне зниження межі виявлення сигналу, яке обмежене технологією електронних компонентів. Як приклад цієї проблеми розглянемо сучасний операційний підсилювач LMP7721 від компанії Texas Instrument, який має типовий струм зміщення входу 3 фА, та наведений до

входу шум струму $0,01 \text{ пА} / \text{Гц}^{-1/2}$ [71]. Якщо задатися рівнем вхідного сигналу 10 фА (що тільки втричі більше шумі на вході) ми маємо пропускну здатність (швидкодію вимірювань) в 1 Гц , тобто часова роздільна здатність вимірювання складає 1 сек , кількість електронів для виявлення підсилювачем, велике, понад 6000 електронів. Фізична межа сучасної електронної технології більше, ніж рівень реєстрація одного електрона для реальної схеми потенціостата. Електронні компоненти, дроти, напівпровідників мікропроцесорів, резисторів та інші електронні компоненти мають шуми, які визначають рівень виявлення в електричному ланцюзі аналітичного сигналу. Зниження цього рівня до абсолютного нуля практично неможливо.

З іншого боку використання нових методів виміру та сучасних компонентів електронної техніки може дозволити подолати обмежуючі фактори. У цій роботі проаналізовано конструкції класичних потенціостатів з метою вирішення проблеми зменшення часу відгуку до наносекундного рівня та визначення чутливості, які ми може бути отримати з комерційними операційними підсилювачами.

Дослідження можливості побудувати надшвидкого потенціостата та його використання були розглянуті в різних статтях [72-90]. Теоретичною основою електрохімії в швидких режимах поляризації досліджено Х. Аматоре і співавторами [91]. Розумні дослідження також представити в [92-94].

Схему надшвидкого потенціостата, було запропоновано в роботі [77] та [78], де детально описано, принцип компенсації омичних втрат в зазначеній схемі. Недоліками цієї схеми, що зумовлено особливостями її будови, можна віднести наявність багатьох міжкаскадних зв'язків, які потребують узгодження, та відповідно утворюють умови для виникнення осциляцій та нестабільної роботи потенціостата. В схемі використано поєднання виходів підключення протиелектрода та електрода порівняння за допомогою ємності, що вносить додаткове ємнісне навантаження в схему. Останнє є небажаним для нормальної роботи операційного підсилювача каскаду, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки. Також, позитивний зворотний зв'язок, що

використано в схемі, охоплює два каскади – перетворювача струм-напруга та каскад, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки. Таким чином, потенціостат потребує достатньо точної настройки цих ланцюгів для попередження виникнення осциляцій в роботі. Ці недоліки було усунуто в запропонованій схемі надшвидкого потенціостату.

Комерційні потенціостати мають можливості для стабільної роботи з різними ячейками та системами електродів, як правило, вони мають характеристики, що дозволяють проведення вимірів з низькою часовою роздільною здатністю. В деяких з них реалізується компенсація омичного падіння напруги за рахунок виміру струму розряду під час створення розриву у вимірних ланцюгах. Таким чином компенсація омичного падіння напруги обмежує можливу швидкість поляризації електрода, а отже впливає на ширину полоси пропускання.

Зворотній зв'язок ланцюга вимірювання струму також обмежує ширину смуги пропускання потенціостата. Іншим класичним рішенням компенсації омичного падіння напруги є введення міжкаскадного ланцюга позитивного зворотного зв'язку між підсилювачем потенціостата та перетворювачем струму в напругу (рис.1.22).

В конструкціях надшвидких потенціостатах, що використовують міжкаскадний зворотний зв'язок з позитивним коефіцієнтом, виникає потреба в обмеженні швидкісних можливостей потенціостата, оскільки додатковий каскад вносить як затримку, так і додатковий зсув фази сигналу. У сукупності .

1.2.2 Нові принципи побудови надшвидкого потенціостата

В основу винаходу поставлено *задачу* підвищення швидкодії електрохімічного потенціостату шляхом вдосконалення принципів його будови відповідно до вимог, які накладено необхідністю його роботи на високих швидкостях розгортки потенціалу поляризації. Для чого

обґрунтовано необхідні зміни в будові схеми потенціостата. *Згідно винаходу*: а) введено частотно-селективний ланцюг зворотного зв'язку в каскад, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки, це забезпечує переведення схеми потенціостата в режим повторювача потенціалу на високих частотах, б) введено фільтр низьких частот між каскадами виміру рівноважного потенціала та каскадом, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки, в) компенсація всього омичного падіння напруги в ячейці у всьому діапазоні робочих частотах потенціостата здійснюється шляхом введення місцевого (внутрішньокаскадного) позитивного зворотного зв'язку в каскаді виміру струму, тобто у перетворювачі струм-напруга.

Вирішення вищезазначених проблем класичної схеми здійснено за рахунок використання нових принципів побудови схеми надшвидкого потенціостата. Стабільність роботи потенціостата на великих швидкостях розгортки потенціалу та висока часова роздільна здатність досягається за рахунок побудови схеми відповідно до наступних принципів:

- відсутність міжкаскадного зворотного зв'язку для компенсації омичного падіння напруги,
- використання місцевого зворотного зв'язку в каскаді, що задає потенціал, задля контролю коефіцієнта підсилення на високих швидкостях розгортки потенціалу,
- використання місцевого зворотного зв'язку для забезпечення компенсації омичного падіння напруги в каскаді виміру струму.

Зазначені технічні вимоги обумовлені факторами, що лімітують можливості класичної схеми до її роботи на високих швидкостях розгортки потенціалу поляризації. А саме наявність міжкаскадного зворотного зв'язку в класичній схемі лімітує частотний діапазон його використання, зменшуючи його. Зі збільшенням частоти відбувається збільшення розбіжності зсуву фаз сигналів потенціостата. Отже від'ємний зворотний зв'язок з електроду порівняння та позитивний зворотний зв'язок з каскаду перетворювача струм-напруга, можуть негативно вплинути на роботу каскаду, що задає

потенціал поляризації електрохімічної ячейки. Отже традиційним рішенням є частотне обмеження коефіцієнта підсилення цього каскаду, шляхом пригнічення його коефіцієнта підсилення до нуля. Таким чином унеможливується формування сигналу поляризації на високих частотах, тобто здійснення швидкісної розгортки потенціалу поляризації.

Задля усунення зазначених обмежень класичної схеми потенціостата запропонована схема, що відповідає сформульованим принципам швидкодійності потенціостата, та яка наведена на рис. 1.23. До її складу входять наступні складові частини (нумерація каскадів обрана для збереження спадкоємності між запропонованою та класичною схемами потенціостатів):

- 1 – каскад, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки;
- 2 – неінвертуючий повторювач;
- 3 – електрохімічна ячейка;
- 4 – перетворювач струм-напруга;
- 5 – ланцюг позитивного зворотного зв'язку (внутрішньокаскадний);
- 6 – ланцюг від'ємного зворотного зв'язку (внутрішньокаскадний);
- 7 – фільтр низьких частот,
- 8,9 – буфери,
- 10 – вчитач,
- 11 – вхідний буфер з коефіцієнтом підсилення $\times 2$.

Функціональне призначення частин схеми надшвидкісного потенціостата є наступні.

Як і в класичній схемі допоміжний електрод в електрохімічній ячейці підключено до каскаду, що задає напругу електрохімічної ячейки. Електрод порівняння підключено до неінвертуючого повторювача. Робочий електрод електрохімічної ячейки підключено до перетворювача струм напруга.

Вхідний каскад 11, яким є підсилювач напруги з коефіцієнтом $\times 2$, виконує відтворення амплітуди сигналу збудження з генератора після його проходження довгою лінією з прикінцевим термінатором, наприклад, омичним

навантаженням 50 Ом. Яка зазвичай використовується для передачі сигналів високої частоти на значну відстань.

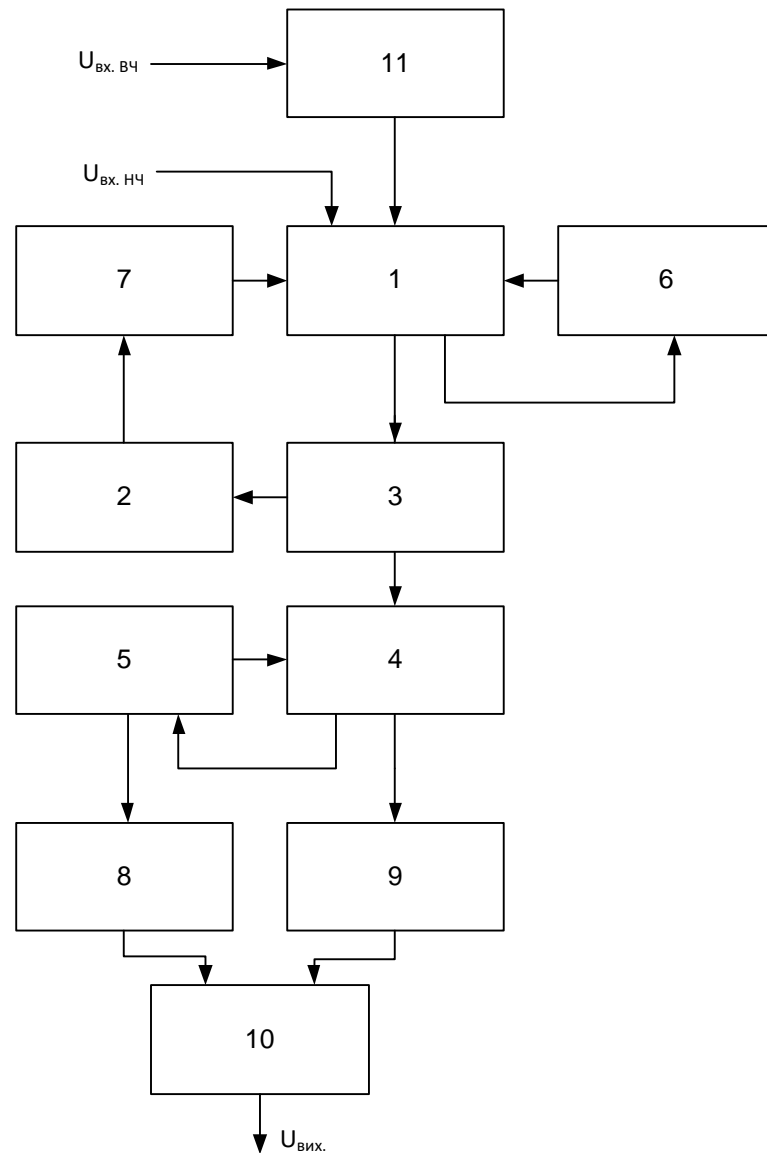


Рисунок 1.23 – Структурна схема надшвидкого потенціостата

Наступним елементом є каскад 1, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки. Його побудовано за схемою суматора з відкритою петлею зворотного зв'язку як і в класичній схемі потенціостата. Додатковий ланцюг місцевого зворотного зв'язку 6, що є фільтром високих частот, діє як ланцюг від'ємного зворотного зв'язку. Його побудовано таким чином, що для високочастотного сигналу каскад працює в режимі повторювача напруги. Ця особливість роботи надшвидкого потенціостату є суттєвою відмінністю до

інших схем потенціостатів у принципі організації каскаду 1, що задає потенціал полризації електрохімічної ячейки 3. Для більшості відомих конструкцій обмеження швидкодії здійснюється шляхом повного пригнічення підсилення на високих частотах.

Сигнал зворотного зв'язку для каскаду 1 на низьких частотах надходить з каскаду 2. Каскад 2 є токовим бустером, що реалізовано за схемою неінвертуючого підсилювача з коефіцієнтом $\times 1$, тобто повторювачем напруги. Він виконує функцію підсилення за струмом слабкого сигналу з електроду порівняння, що вимірює рівноважний потенціал в розчині в електрохімічній ячейці 3. Як і в традиційній схемі, цей сигнал використовується в подальшому для компенсації падіння напруги в електрохімічній ячейці між допоміжним електродом та електродом порівняння. Завдяки чому досягається можливість контролювати потенціал на межі між розчином та робочим електродом. Таким чином відокремлюється в дослідженні вплив допоміжного електроду, дослідження проводяться в аспекті вивчення полу елемента, що визначається композицією розчину та матеріалом робочого електрода. Збереження цієї функціональності з класичної схеми потенціостата (фіг. 1) має місце в схемі запропонованого надшвидкісного потенціостата. Оскільки величина рівноважного потенціалу визначається термодинамічними властивостями системи, що частіш за все не є швидкозмінними, отже відсутня функціональна значимість швидкісного виміру рівноважного потенціала.

Для забезпечення стабільної роботи потенціостата запас фазового зсуву схеми виміру рівноважного потенціалу повинен бути достатнім для попередження переходу ланцюга зворотного зв'язку з від'ємного до позитивного для каналу виміру рівноважного потенціалу. На відмінність від класичної схеми, для усунення впливу високочастотних компонент сигналу, де фазовий зсув може набувати великих значень, підключення каскаду виміру рівноважного потенціалу 2 здійснюється за допомогою частотно-селективного ланцюга 7, що виконує функцію фільтра низьких частот. Частотне обмеження сигналу дозволяє запобігти наявності в сигналі

зворотного зв'язку високих частот для каскаду 1, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки. Та здійснювати його передачу тільки в діапазоні де фазовий зсув відповідає необхідним умовам стабільності потенціостата.

Фільтр низьких частот 7, що відокремлює каскад виміру рівноважного потенціалу 2 від каскаду 1, що задає потенціал поляризації ячейки, узгоджується з частотно-селективним ланцюгом 6 місцевого зворотного зв'язку каскаду 1, що задає потенціал поляризації ячейки, таким чином, щоб отримати монотонну амплітудно-частотну характеристику. Монотонність передаточної функції забезпечує поступовий перехід роботи надшвидкого потенціостата з режиму класичного потенціостата до режиму повторювача сигналу генератора на високих частотах. Це зменшує можливість появи артефактів, пов'язаних з селективним підсиленням певних високих частот.

Особливістю експлуатації надшвидкого потенціостата запропонованої конструкції є використання несиметричних за площиною допоміжного та робочого електродів.

За наявності великої різниці між робочим електродом та допоміжним розподіл потенціалу в ячейці буде нерівномірним. Оскільки допоміжний електрод обирається більшої площини, подвійний електричний шар, що утворюється на ньому при зануренні електрода до розчину, має значно більшу ємність ніж ємність подвійного електричного шару робочого електрода, що має зазвичай меншу площину. Перенос електрона через межу між електродом та розчином можливо описати в першому наближенні омичним опором, який підключено паралельно до конденсатора, ємність якого відповідає ємності подвійного електричного шару. Відповідно на деякій частоті, ємнісна провідність буде переважати омичну, таким чином реактивні параметри схеми переважатимуть у впливі на розподіл потенціалу в ячейці. Оскільки струм буде обмежено меншою з ємностей у послідовному з'єднанні, отже ємність робочого електрода буде вирішальною в цьому питанні. Іншими словами, на ємності робочого електрода, що матиме менше значення, буде переважно

реалізовуватися падіння потенціалу. Тобто матиме місце наступне, потенціал прикладений до ячейки 3 буде зосереджено в значній мірі на межі робочого електрода до розчину ячейки, а отже робота потенціостата зводиться тільки до компенсації компоненти потенціалу, що падає на омичному спротиві розчину. Таким чином, на високих швидкостях розгортки потенціалу поляризації (сигналу збудження) електрохімічної ячейки 3 достатньо повторення амплітуди сигналу з генератора, що синтезує сигнал збудження. Точність встановлення потенціалу на межі робочий електрод – розчин буде тим більша, чим більше співвідношення площин робочого електрода до допоміжного електрода. Отримання великого значення цього співвідношення можливо шляхом використання мікро- та нанорозмірних робочих електродів в комбінації з класичним допоміжним макроелектродом.

Вирішення проблеми компенсації омичного падіння напруги у ячейці 3 виконується в запропонованому надшвидкому потенціостаті за місцем виміру струму, тобто каскаді перетворювачі струм-напруга 4. Ця особливість відрізняє запропоновану схему потенціостата від класичної схеми, в якій для компенсації омичного падіння напруги сигнал з перетворювача струм напруга подається до каскаду потенціостатування. Отже використовується ланцюг міжкаскадного зв'язку, що є додатковим джерелом нестабільності при роботі на високих частотах. Тобто робота якого унеможливлена на високих частотах, де розбіжність фаз значна між каскадом перетворювача струм-напруга 4 та каскадом 1, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки. В запропонованій конструкції компенсація здійснюється в рамках роботи одного каскаду перетворювача струм-напруга 4.

Вимір струму через робочий електрод здійснюється за допомогою перетворювача струм-напруга 4, класичну схему якого удосконалено додатковим ланцюгом місцевого зворотного зв'язку 5 для реалізації компенсації омичного падіння напруги у ячейці. Оскільки функція компенсації частини омичного падіння напруги за класичною схемою роботи на низьких швидкостях вимикається разом з пригніченням сигналу зворотного зв'язку

електрода порівняння на високих частотах фільтром низьких частот 7, в схемі забезпечено незалежний механізм компенсації омичного падіння напруги. Запропонований ланцюг 5 позитивного місцевого зворотного зв'язку незалежно забезпечує компенсацію омичного падіння напруги в ячейці в частотному діапазоні, що відповідає швидкодії схеми перетворювача струм-напруга 4. Оскільки схеми компенсації є незалежними одна від іншої, як за місцем виміру, так і місцем компенсації, їх робота не залежить одна від іншої. Коли сигнал компенсації електрода порівняння пригнічується на високих частотах, робота ланцюга зворотного зв'язку 5 продовжується.

Каскади 8-10 використовуються для формування вихідного сигналу. В класичній схемі сигнал з перетворювача струм-напруга є вихідним сигналом потенціостату, величина напруги кого пропорційна струму через робочий електрод. В запропонованій схемі вихідний сигнал перетворювача струм-напруга 4 містить як сигнал, величина напруги якого є пропорційною струму через робочий електрод, так і сигнал, з напругою, що є компенсацією омичних втрат в ячейці 3. Це зумовлено принципом дії запропонованої схеми перетворювача струм-напруга 4 з додатковим ланцюгом позитивного зворотного зв'язку 5. Відповідно для виділення корисного першого сигналу, що несе інформацію про струм через робочий електрод, від сигналу компенсації, що додано на виході перетворювача струм-напруга 4, використовується вчитач 10. Останній здійснюється віднімання сигналу компенсації та формування вихідного сигналу запропонованого потенціостата, напруга якого пропорційна струму через ячейку. На каскадах 8, 9 побудовані симетричні буфери для розділення перетворювача струм-напруга 4 від схеми вчитача 10, коефіцієнт підсилення яких за напругою $\times 1$. Таким чином, прикінцевим вихідним сигналом потенціостата є напруга пропорційна електрохімічному струму через ячейку, як це має місце в класичній схемі потенціостата.

Наявність декількох послідовно з'єднаних каскадів 5, 8 - 10 не впливає на загальну стабільність схеми, оскільки відсутній зворотний зв'язок між

каскадами. Забезпечивши відповідність полос робочих частот підсилювачів для цього ланцюга можливо задати швидкодію всього потенціостата загалом. Часова затримка у розповсюдженні сигналу в схемі виміру струму може бути компенсована, за рахунок того, що сигнали компенсації та вихідний сигнал перетворювача струм-напруга 4 формуються разом на виходах каскаду 4, проходять послідовно симетричні каскади 8, 9 та каскад 10. Затримка розповсюдження сигналу є фіксованою та визначається часом розповсюдження сигналу у відповідних каскадах, отже може бути врахована при реєстрації залежності струм-напруга для електрохімічної ячейки.

Таким чином наявність міжкаскадного з'єднання для компенсації омичного падіння напруги в ячeyці в запропонованій схемі потенціостата усунуто.

1.3 Схемна реалізація надшвидкого потенціостата

Для перевірки запропонованої концепції надшвидкого потенціостата проведено розробку його схемотехнічної реалізації.

1.3.1 Схеми електрична-принципова

Реалізація запропонованої концепції побудови надшвидкого потенціостата відтворена у вигляді схеми електричної на 7 каскадах операційних підсилювачів (рис. 1.24). Мінімізація кількості операційних підсилювачів є важливою з точки зору низки факторів, таких як зменшення небажаного фазового набігу між каскадами потенціостата, підвищення швидкодії, зменшення часу розповсюдження сигналу в схемі, та інші.

Розглянемо технічну реалізацію запропонованої концепції побудови надшвидкого потенціостата.

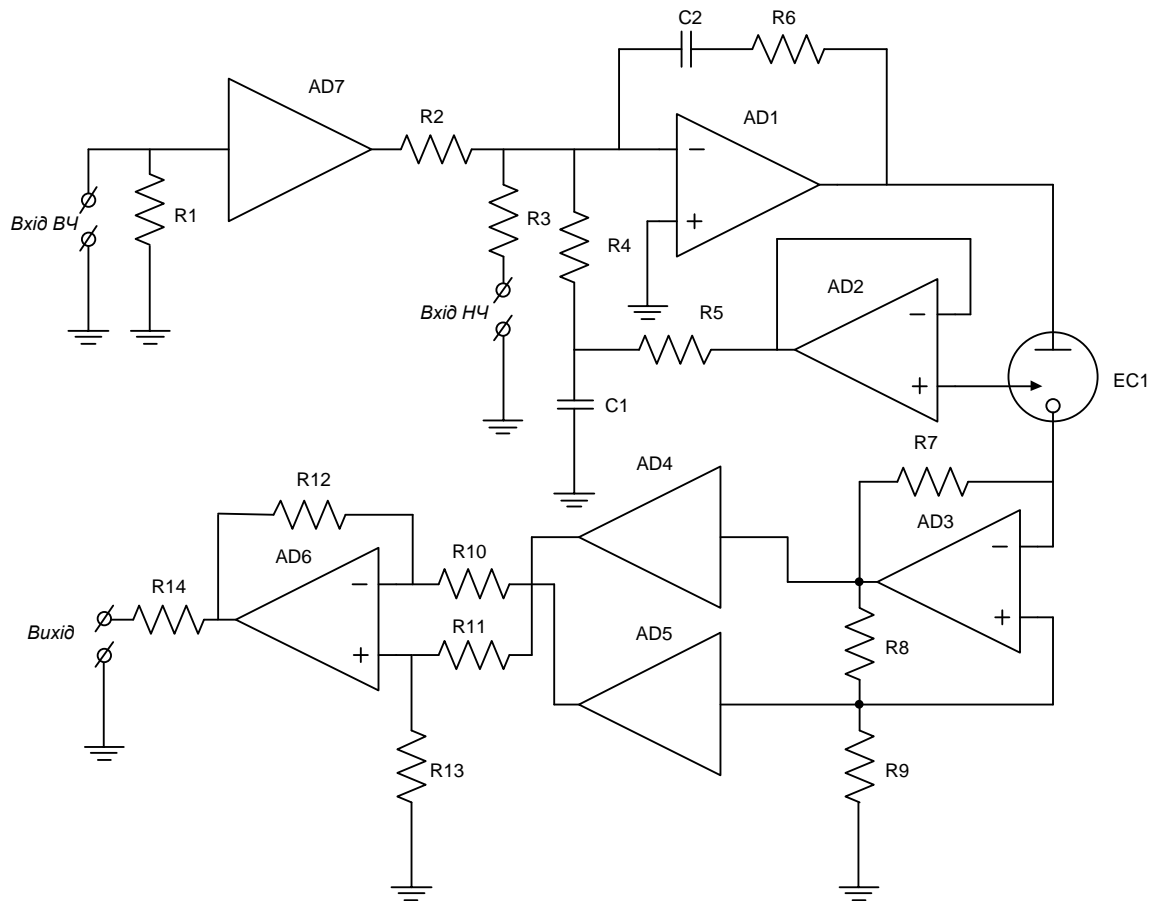


Рис. 1.24 – Схема електрична принципова надшвидкого потенціостата

Резистор R1 є омичним навантаженням 50 Ом – термінатором довгої лінії, що передає сигнал збудження з генератора до потенціостата. Цим генератором може бути довільний генератор ВЧ сигналу, який може працювати на довгу лінію з навантаженням 50 Ом, та підтримує синтез необхідної форми сигналу, наприклад, яка лінійно змінюється з часом, та може бути довільно задано потенціали мінімуму та максимуму поляризації, що необхідно для проведення циклічної вольтамперометрії.

Вхідний каскад 11 є неінвертуючий підсилювач напруги з коефіцієнтом підсилення $\times 2$ на швидкодійному операційному підсилювачі AD7 з низьким значенням зсуву вхідної напруги, наприклад, LM7171 від Texas Instrument Inc. Після відновлення амплітуди сигнал надходить до каскаду 1, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки, через резистор R2. Поєднання резисторів R2, R3, R4 в одній точці використано для додавання відповідних сигналів. А саме, сигналу зворотного зв'язку з електрода порівняння,

відтвореного швидкодійного сигналу збудження електрохімічної ячейки, низькочастотного (нешвидкодійного) сигналу, що може використовуватися для завдання початкових умов поляризації електрохімічної ячейки.

Сигнал зворотного зв'язку з електрода порівняння проходить через фільтр низьких частот 7, що зібрано на елементах R4, C1, R5. Т-подібний фільтр обрано як фільтр першого порядку, та за рахунок відокремлення резисторами ємності зменшено її вплив на каскади операційних підсилювачів AD1 та AD2.

Каскад 1, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки побудовано на швидкодійному операційному підсилювачі AD1 з низьким значенням зсуву вхідної напруги, LM7171 від Texas Instrument Inc. Його побудовано за схемою суматора з відкритою петлею зворотного зв'язку на низькій частоті.

Ланцюг від'ємного зворотного зв'язку 6, який побудовано на елементах C2, R6, є фільтром високої частоти, що визначає частоту перемикання каскаду 1 в режим повторювача напруги.

Відповідно до функціональної необхідності здійснювати контроль потенціалу електрохімічної ячейки, резистори R2, R3, сума резисторів R4 та R5, та R6, мають бути однакового номіналу.

Каскад 2 неінвертуючого повторювача, побудовано на швидкому операційному підсилювачі AD2 з малим вхідним струмом та працездатністю при одиничному підсиленні, наприклад, OPA627 від Texas Instrument Inc.

Перетворювач струм-напруга 4 виконано на операційному підсилювачі AD3 з ланцюгом від'ємного зворотного зв'язку R7, що визначає коефіцієнт перетворення струм-напруга. Основними вимогами до операційного підсилювача в цьому каскаді є надширока полоса робочих частот підсилення, при забезпеченні низьких вхідних струмів. Прикладом операційного підсилювача, що може бути використано в цьому каскаді, є THS4631 від Texas Instrument Inc.

Ланцюг позитивного зворотного зв'язку 5 для каскаду перетворювача струм-напруга 4 зібрано на резистивному подільнику з резисторів R8, R9. Їх співвідношення визначатиме величину напруги компенсації. З урахуванням величини спротиву ланцюга від'ємного зворотного зв'язку R7 опор $R_{\text{комп.}}$, що компенсується схемою перетворювача струм напруга 4 з позитивним зворотним зв'язком 5, визначається виразом:

$$R_{\text{комп.}} = R7 \cdot R9 / R8.$$

Відповідно до струму через електрохімічну ячейку буде формуватися сигнал компенсації падіння напруги на спротиві $R_{\text{комп.}}$ в електрохімічній ячейці, що буде подаватися на неінвертуючий вхід операційного підсилювача AD3, заставляючи його змінювати й потенціал інвертуючого входу на відповідну величину. Таким чином, на електрохімічній ячейці виникатиме додаткова напруга поляризації, що додається до напруги поляризації з каскаду 1, яка задається генератором.

Вихідний сигнал перетворювача струм-напруга та сигнал компенсації напруги омичних втрат через повторювачі напруги (буфери) AD4 та AD5 надходять до каскаду вчитача AD6. В якості буферів AD4 та AD5 обрано підсилювачі з коефіцієнтом підсилення $\times 1$, з надвисокою швидкістю та малим часом розповсюдження сигналу. Прикладом операційного підсилювача, що може бути використано в цьому каскаді, є OPA633 від Texas Instrument Inc.

Вчитач зібрано на операційному підсилювачі AD6, з ланцюгами зворотного зв'язку на однакових резисторах R10 - R13, що забезпечують одиничне підсилення різниці між вихідним сигналом перетворювача струм-напруга та сигналом компенсації. Таким чином, вихідним сигналом є напруга пропорційна струму через робочий електрод $I_{\text{роб. ел.}}$ відповідно до виразу:

$$U_{\text{вих.}} = - R7 \cdot I_{\text{роб. ел.}},$$

де $I_{\text{роб. ел.}}$ – струм через робочий електрод. Для реалізації цього каскаду, як наприклад, може бути використано операційний підсилювач LM7171 від Texas Instrument Inc.

Сигнал з вчитача подається на вихід потенціостата через резистор R14, який ізолює вихідний каскад AD6 від довгої лінії на виході надшвидкого потенціостата.

Технічна реалізація на базі наведених у прикладах операційних підсилювачів для запропанованої схеми побудови надшвидкого потенціостата дозволяє реалізувати надшвидкий потенціостат, який може здійснювати поляризацію електрохімічної ячейки з максимальною швидкістю розгортки потенціалу 2 МВ/с, що лімітується швидкодією схеми на межі 20 МГц, та здійснювати вимір струму робочого електрода в діапазоні від 100 пА до 80 мА.

1.3.2 Моделювання роботи схеми в пакеті MultiSim 11.0

Аналіз роботи потенціостата було здійснено в три етапи: роздільне визначення параметрів кожного з функціональних вузлів потенціостата (основної частини, перетворювача струм-напруга) та моделювання роботи всього потенціостата, що підключено до тестової ячейки. Для моделювання були використані PSpice моделі компонентів схеми в Multisim 11.0 – програмного забезпечення від National Instrument, Inc. Також були досліджено ефект впливу значень компонентів схеми на амплітудні та частотні характеристик схеми. Монотонність амплітудної характеристики відгуку в частотному діапазоні було обрано як оптимум. Це важливо для усунення коливань, та запобігання збуджень потенціостата, що необхідне для забезпечення основної роботи до наведеної вище ідеології потенціостат.

Фільтри першого порядку були використані в петлі зворотного зв'язку для підсилювача потенціостата та повторювача напруги. Вони були необхідні для реалізації монотонної функції відгуку для схеми. Моделювання показало, що менше і більше значення ємності для RCR-фільтра кола зворотного зв'язку призводить до появи локального максимуму або мінімуму, та лише оптимальне значення зберігає монотонність характеристику зміни струму в робочому діапазоні частот. Моделювання зі зміною значення конденсатора контуру зворотного зв'язку в потенціостат та у фільтрі дозволило спростити

вибір конденсаторів. Так параметри обох конденсаторів і резисторів, використовуваних повинні бути уточнені відповідно до обраної межі граничної частоти потенціостата. У нашому випадку вони мають значення 10 нФ для контуру зворотного зв'язку та 5,6 нФ для фільтра. Резистори R1, R2, R5 510 Ом і R3, R4, 250 Ом і 260 Ом відповідно. Моделювання впливу на схему резистора, у перетворювачі струм-напруга показало, що рівень спотворення сигналу не перевищує 0,1% до частоти 14 МГц, частота обмеження підсилення починається з 110 МГц (рис. 1.25).

Відповідні амплітудно-частотні та фазочастотні характеристики для перетворювача струм-напруга наведені на рис. 1.26. Відзначається постійність значення характеристик з їх спадом на високих частотах, де відбувається обмеження можливостей підсилювача.

Головним елементом у ланцюзі перетворювача струм-напруга є перший підсилювач. Його контур зворотного зв'язку визначає пропускну здатність всього потенціостата. Вище ми обговорили межу визначення струму та її зв'язок з частотною пропускну здатністю потенціостата. Практичний інтерес для обраної конструкції моделювання роботи з резистором зворотного зв'язку першого підсилювача в діапазоні 1 ... 100 кОм. Невелика ємність в негативному зворотному зв'язку перетворювача струм-напруга необхідна для стабільності підсилювача.

Результати моделювання (рис. 1.25-1.26) показують, що обмеження пропускання має місце після 20 МГц для зворотного зв'язку 10 кОм та 2 пФ. Цього достатньо для реалізації швидкості лінійної розгортки потенціалу 1 МВ/с.

Аналіз роботи потенціостата з приєднаною тестовою моделю електрохімічної ячейкою, що включала в собі функціональні аналоги електродних інтерфейсів до розчину для кожного електрода. Для спрощення моделі вони були змодельовані паралельним з'єднанням резистора та конденсатора. Лінійність характеристики потенціостата залишалися до ємності навантаження до 2000 пФ (рис.1.27), що є достатньо великим

значенням, враховуючи факт використання мікроелектродів. Отже потенціостат може працювати з різноманітними ячейками, та електродними системами.

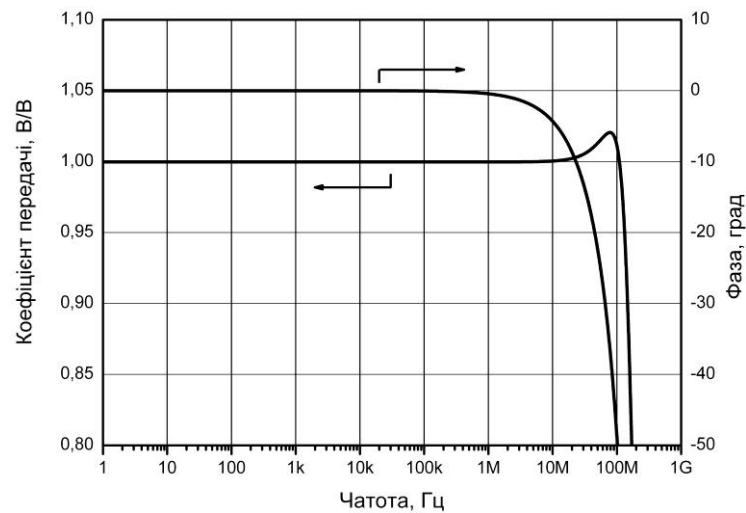


Рис. 1.25 – Амплітудо-частотні та фазово-частотна характеристики для вузла потенціостатування

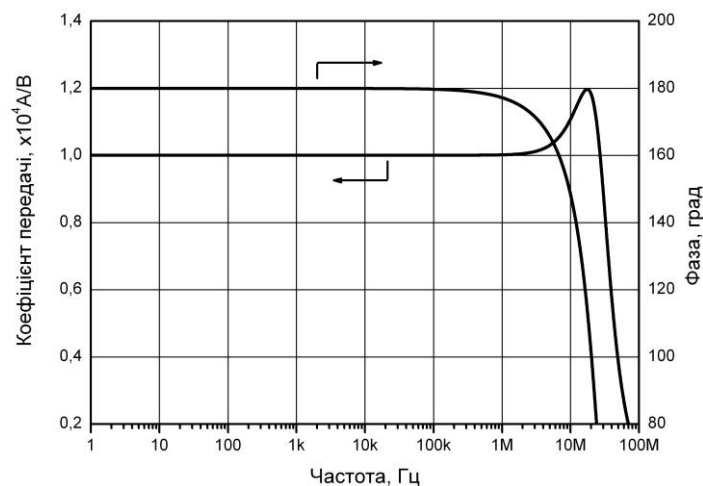


Рисунок 1.26 – Амплітудо-частотні та фазово-частотна характеристики для перетворювача струм-напруга

Шляхом моделювання була перевірена компенсація омичного падіння напруги шляхом введення відповідного опору до моделі ячейки. Додавання відповідного резистора до резистивного подільника в позитивному зворотного зв'язку в перетворювачі струм-напруга компенсує втрату напруги в ячейці в усьому частотному діапазоні смуги пропускання перетворювача струм-напруга.

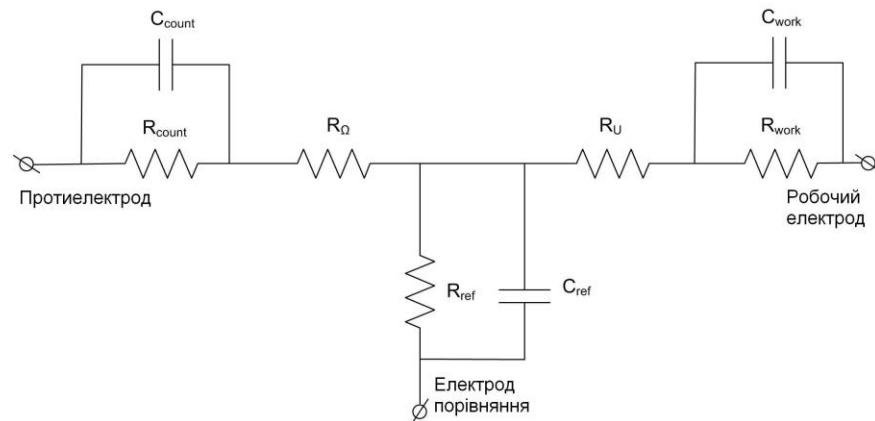
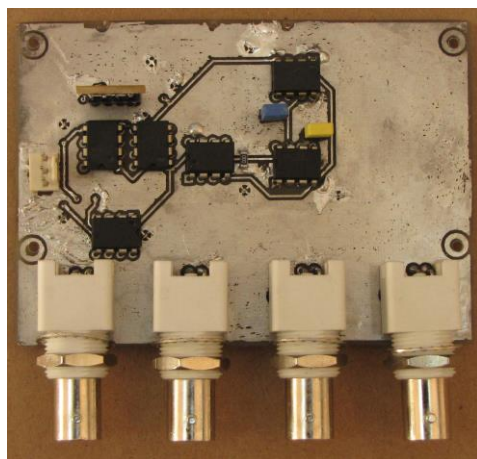
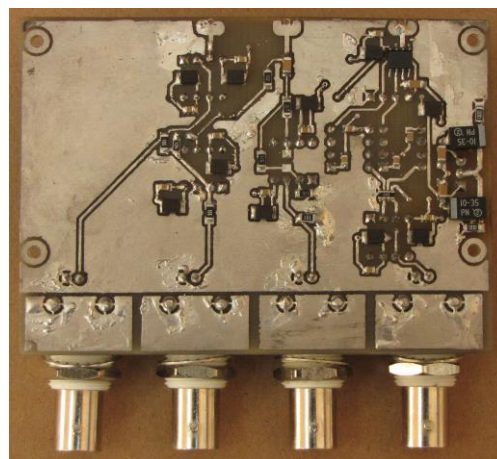


Рисунок 1.27 – Тестова модель електрохімічної ячейки (у вимірах частотних характеристик: C_{count} – ємність подвійного електричного шару противоелектрода 0,1 мкФ, R_{count} – еквівалентний опір для переносу електрона через межу противоелектрод - розчин – 1 кΩ, C_{work} – ємність подвійного електричного шару робочого електрода 2 пФ, R_{work} – еквівалентний опір для переносу електрона через межу робочий електрод - розчин – 10 кΩ, C_{ref} – ємність подвійного електричного шару електрода порівняння 10 пФ, R_{ref} – еквівалентний опір для переносу електрона через межу електрод порівняння - розчин – 50 кΩ, спротив розчину між противоелектродом та електродом порівняння R_{Ω} та спротив розчину між електродом порівняння та робочим електродом R_U було 0 Ом, для моделювання визначення межі стабільності потенціостата: C_{work} – змінювалась в діапазоні 2...2000 пФ, $R_{\Omega} + R_U$ – змінювалась в діапазоні 0...1 кΩ).

За результатами досліджень, включаючи моделювання в САПР Multisim 12.0, та відповідно до відповідно до розробленої схеми електричної принципової виготовлено надшвидкий потенціостат, зовнішній вигляд друкованої плати якого наведено на рис. 1.28.



а)



б)

Рисунок 1.28 – Зовнішній вигляд плати надшвидкого потенціостата:
а) вид зверху, б) вид знизу.

1.4 Висновки за розділом

Спираючись на проведені дослідження науково-технічних джерел, продемонстрована необхідність розробки надшвидкого потенціостата, як інструментального забезпечення аналітичних методів електрохімічного аналізу у швидких режимах роботи. Визначено основні недоліки відомих схем побудови потенціостатів. Вперше запропоновано концепцію побудови надшвидкого потенціостата, що базується на наступних принципах:

- відсутність міжкаскадного зворотного зв'язку для компенсації омичного падіння напруги,
- використання місцевого зворотного зв'язку в каскаді, що задає потенціал, задля контролю коефіцієнта підсилення на високих швидкостях розгортки потенціалу,
- використання місцевого зворотного зв'язку для забезпечення компенсації омичного падіння напруги в каскаді виміру струму.

Виявлені недоліки та обмеження сучасних комерційних потенціостатів та наявних розробок інших авторів, що можуть працювати в режимі надшвидкої розгортки потенціалу, вирішено шляхом а) введення частотно-селективного ланцюга зворотного зв'язку в каскаді, що задає

потенціал поляризації електрохімічної ячейки, який забезпечує переведення схеми потенціостата в режим повторювача потенціалу на високих частотах, б) введено фільтр низьких частот між каскадами виміру рівноважного потенціала та каскадом, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки, в) компенсація всього омичного падіння напруги в ячейці у всьому діапазоні робочих частотах потенціостата здійснюється шляхом введення місцевого (внутрішньокаскадного) позитивного зворотного зв'язку в каскаді виміру струму, тобто у перетворювачі струм-напруга.

Відповідно до системи наведених принципів запропоновано схема електрична принципова, що базується на використанні 7 операційних підсилювачів, що реалізує основні та додаткові функціональні вузли надшвидкого потенціостата. Мінімізація кількості операційних підсилювачів є важливою з точки зору низки факторів, таких як зменшення небажаного фазового набігу між каскадами потенціостата, підвищення швидкодії, зменшення часу розповсюдження сигналу в схемі, та інші.

Для побудови вхідного каскада підсилювача з коефіцієнтом підсилення $\times 2$, каскада вчитача, каскада, що задає потенціал поляризації електрохімічної ячейки, обрано LM7171 від Texas Instrument Inc. Для каскаду виміру рівноважного потенціалу обрано OPA627 від Texas Instrument Inc. Для каскаду перетворювача струм-напруга обрано THS4631 від Texas Instrument Inc., як буфери використано OPA 633 від Texas Instrument Inc.

Оскільки, ланцюг виміру струму через електрохімічну ячейку складається з послідовно включених каскадів перетворювача струм-напруга, буферів та вчитача. Затримка розповсюдження сигналу збудження (поляризації електрохімічної ячейки) та її відгук має постійний характер. Для обраної схемотехнічної реалізації вона складає

Використання САПР Multisim 11.0 дозволило провести оцінку режимів роботи потенціостата, визначити параметри пасивних елементів його схеми. Моделювання роботи надшвидкого потенціостата дозволило провести його функціональну відповідність. Визначено, що для обраної елементної бази

можливе отримання полоси пропускання понад 20 МГц для схеми зі зворотним зв'язком 10 кОм та 2 пФ у каскаді перетворювачі струм-напруга. Цього достатньо для реалізації швидкості лінійної розгортки потенціалу 1 МВ/с. Моделювання з метою визначення межі стабільності потенціостата визначили масимальну еквівалентну ємність електрохімічної ячейки в 2000 пФ, та можливість здійснювати компенсацію омичних втрат до 1 кОм для використання 10 кОм в зворотному зв'язку перетворювача струм-напруга. Ця еквівалентна ємність, що моделювала поведінку електрохімічної ячейки, значно більша ніж ємність притаманна мікроелектродам з характерними значеннями 5-10 пФ. Отже, працездатність розробленого потенціостата забезпечена для використання різноманітних мікро-, ультрамікроелектродів та наноді у різних робочих середовищах електрохімічних сенсорів.

Стабільність потенціостата дозволяє здійснювати циклічне накладання збуджуючого сигналу без пауз, що є його суттєвою перевагою та можливістю використання таких методів електрохімічного аналізу як циклічна вольтамперометрія в надшвидкому режимі розгортки потенціалу поляризації.

Ці та інші параметри було перевірено шляхом проведення експериментальних досліджень на низці електрохімічних композицій, результати яких наведено в розділі 6.

Результати, які набуто при виконанні наведених робіт в 1 розділі, було опубліковано в наступних публікаціях автора [4, 6] та опробовано на міжнародних конференціях [33, 36, 38-46].

2. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА СЕНСОРІВ НА ОСНОВІ МІКРО-, УЛЬТРАМІКРО- ТА НАНОЕЛЕКТРОДІВ

В першому розділі обговорювалась необхідність застосування мікро- та ультрамікро- та наноелектродів для проведення наноелектрохімічних досліджень. Їх застосування дозволяє легко отримати велике співвідношення протиелектрода з робочим електродом. Основною їх перевагою є можливість додаткового просторового обмеження області проведення електролізу, що важливо в аспекті реалізації досліджень на високому рівні просторової роздільної здатності.

Неодмінно слід вказати, що зменшення характерних розмірів робочої ділянки електрода призводить до зміни характеру масо-переносу речовини поблизу електрода. Так при використанні ультрамікроелектрода вдається підняти її питоме значення, таким чином збільшити відношення сигнал/шум для для сенсорів, що будуються з їх використанням. Отже цей метод підвищення аналітичних можливостей сенсорних систем є цікавим та перспективним для побудови сенсорних систем.

В цьому розділі проведено класифікація та огляд властивостей ультрамікроелектродів. Обговорено поточні проблеми у створенні сенсорів на їх основі. Для вирішення технологічних проблем запропоновано дві конструкції та відповідні технології мікроелектрода та ультрамікроелектрода для аналітичних застосувань, опис якої міститься у розділі. Наведено результати дослідження виготовлених зразків мікроелектродів та ультрамікроелектродів за розробленими технологіями. Обговорено перспективи їх застосування в різних галузях.

Результати дослідження цього розділу викладено автором в наступних публікаціях [6, 10, 11, 15, 33, 34, 36, 43].

2.1 Мікроелектроди як електрохімічні сенсори

Група електродів, що зроблені з дуже тонкого електричного провідника різноманітної геометрії з одним з розмірів робочої поверхні у кілька мікрометрів називаються *мікроелектродами*. Використання УМЕ набуває поширення в наслідок розповсюдження методів, що застосовують їх як унікальний електрохімічний інструментарій. Поширення досліджень в таких областях як тунельна мікроскопія [95-96], скануюча електрохімічна мікроскопія [97], електрофізіологія [96], хімічна кінетика [97], нанолітографія [98] зумовили інтерес та відповідний ріст публікацій за тематикою виготовлення та використання ультрамікроелектродів, включаючи їх застосування в надшвидких режимах електрохімічних методів аналізу.

Здатність до високих часової та просторової роздільної здатності мікроелектродів робить їх незамінним інструментарієм для електрохімічних досліджень, що спрямовані на дослідження кінетики швидких хімічних реакцій [94, 96, 97], проведення *in-vivo* вольтамперметричних вимірів в живих тканинах [98], та дослідження характеристик функціонування окремих клітин [99], вивчення змін провідності окремих іонних каналів мембранних структур [100], ефективного детектування аналітів в методі капілярного електрофорезу [101], підвищення характеристик електроерозійних та електролітографічних методів [102], а також проведення картографії окисно-відновлюваних характеристик поверхні методом скануючої електрохімічної мікроскопії. У зазначених проблемних областях, можливості методів до просторової та часової роздільної здатності зворотно пропорційні до геометричних розмірів робочої поверхні електродів, що використовуються. Відповідно зменшення розмірів електродів, паразитних параметрів, покращення механічних характеристик та їх технологічності є важливим аспектом розвитку зазначених методів.

Потреба у цих електродах для вирішення завдань у різних галузях обумовлює необхідність: реалізації хімічної інертності електроду до

широкого спектру розчинників з якими буде контактувати електрод у процесі роботи без його руйнування, простоти виробництва, мати точні розміри, які можливо виміряти простими методами та відтворено вироблятися. Мікроелектрод з провідником з металевого дроту платинової групи або дроту зі скловуглеця, що розташовано у ізолюваному корпусі відомі. Такі мікроелектроди описані в наступних літературних посиланнях [94, 102]

Найменші відомі УМЕ, що повідомлялися у літературі, та мають достатньо гарний електрохімічний відгук, характеризуються радіусом робочої поверхні 0,1 мкм [103], та більш відомі та поширені електроди з радіусом робочої поверхні в діапазоні 1,0-25,0 мкм. Особливу увагу сучасних досліджень приділено винаходженню технології виготовлення нанодів, тобто електродів з розмірами робочої поверхні менші за 1 мкм. Використання останніх, як різновиду УМЕ з ще меншою робочою поверхнею, в більшому ступені проявляє особливості властивостей, які притаманні УМЕ. Однак технічні труднощі, пов'язані як з необхідністю викисання спеціалізованого обладнання, так і великі часові затрати на виготовлення мікроелектродів, роблять ці дослідження обмеженими. Однак розвиток відповідних технологій масового (рутинного) виробництва, безумовно, сприятиме росту інтересу та відповідного використання даного інструментарію, як наноди [103].

Використання нанорозмірних електродів дозволяє вивчати константи швидкості переносу електрону, які значно вищі, ніж це можливо зі застосуванням класичних електрохімічних методів.

Термін «ультрамикроелектрод» застосовується в електрохімічній аналітиці до мікроелектродів, що характеризуються переважним проявом сферичної дифузії електрогенерованих на електроді речовин над лінійною дифузиею, що характерна для електродів великих розмірів.

Особливостями мікроелектродів є висока швидкість встановлення стаціонарного режиму фарадеєвських процесів на електроді, збільшення відношення фарадеєвських процесів до ємнісних процесів подвійного

електричного шару, що створюється на електроді, необхідність компенсації омичного падіння напруги у вимірній комірці зменшується у наслідку малих струмів відгуку мікроелектрода, мала паразитна ємність мікроелектрода дозволяє здійснювати дуже швидко поляризацію електроду, збільшення відношення сигнал-шум у порівнянні зі звичайними електродами більш великих розмірів досягається вимірюваннями у стаціонарному режимі, який більш швидко встановлюється на мікроелектродах, ніж на макроелектродах, зменшення розмірів робочої ділянки електроду дозволяє пропорційно зменшити об'єм зразка, що може досліджуватися. Отже зменшення розмірів робочої поверхні електрода є функціонально важливим задля отримання принципово нових властивостей від електроду, як інструментарію для аналітичних досліджень.

Зменшення розмірів робочої поверхні електроду до субмікронних та нанорозмірів, значно підсилює прояв зазначених ефектів, тому є теоретично та практично цікавим питання розробки відповідної простої технології виготовлення таких електродів. При виробництві електродів з надмалими електродними поверхнями на перше місце виходить питання їх технологічної простоти реалізації. Ультрамикроелектроди з різноманітними матеріалами робочої поверхні вже відомі.

Такі ультрамикроелектроди, наприклад, описані в наступних літературних посиланнях [104-105].

Спосіб виготовлення мікроелектродів базується на застосуванні мікродроту, що розташовують в ізольованому корпусі. Розмір робочої поверхні формується геометрією мікродроту, що застосовується при виготовленні. Зменшення розміру мікродроту менш декількох мікрометрів є вкрай складним технологічним процесом. Мікроелектроди виробляються наступним чином: кінець скляної трубки витягують у капіляр та в капіляр втягують провід або нитку з благородного металу або скловуглецю. Потім дріт запаюють в скляній трубці при її розігріві. Товщина ізоляційного шару з епоксидної смоли або скла не перевищує декількох міліметрів. Виробництво

рівномірної товщини ізоляційного шару по всій довжині електрода не потрібне, оскільки частіш за все інтерес представляють процеси на торці мікроелектрода, тобто на границі між неізолюваною ділянкою дроту на запаяному кінці мікроелектрода та розчином до якого частково занурюється електрод у процесі роботи.

Іншим способом виготовлення електрода є вкриття епоксидною смолою провідника. Для чого провідник вкривають ізоляційним шаром шляхом розпилювання чи занурення у епоксидну смолу чи резину. Або здійснюють формування корпусу у формі шляхом заливки форми епоксидною смолою чи резиною. Попередньо у формі закріплюють мікродріт. [106]

Слабкими містами описаних конструкціях є складність організації контакту між мікроелектродом та провідником, що використовується для підєднання, та підвищення інертності корпусу мікроелектрода, оскільки полімерна смола чи резина менш інертні ніж скло.

2.2 Спосіб виготовлення мікроелектрода

В роботі проведена розробка технології виготовлення мікроелектрода, що включала розробку його конструкції та певної послідовності технологічних операції для її реалізації. Підвищення технологічності конструкції при обмежених технологічних можливостях було однією з основних умовою и розробки, та вирішення недоліків відомих конструкцій мікроелектродів.

Відмінністю винаходу є простота та ефективність виробництва мікроелектроду зі скляним корпусом.

В основу винаходу поставлено задачу підвищення технологічних показників виготовлення мікроелектроду шляхом залучення простих та ефективних технологічних процесів зі збереженням високих метрологічних характеристик мікроелектроду.

Ця задача вирішена наступним чином.

У мікроелектроді, що містить мікродріт з скловуглецю чи металу, що запаюний у скляному корпусі, *згідно винаходу*, контакт до мікродроту здійснено за допомогою провідника, який виготовлено з металу з температурним коефіцієнтом розширення еквівалентним до температурним коефіцієнтом розширення матеріалу корпусу, та поєднано з мікродротом через металеву гільзу.

Поєднання декількох матеріалів (матеріалу мікродроту та матеріалу провідника) для створення мікроелектроду у скляному корпусі дозволяє отримати більш технологічну конструкцію, яка може виготовлятися автоматизовано з перевітками на кожному етапі на протязі всього процесу виготовлення. Це дає змоги контролювати процес виготовлення, знизити вибраковку та витрати за рахунок більш оперативного виявлення браку. Завдяки цьому досягається підвищення технологічності конструкції та отримуються більш якісні експлуатаційні характеристики.

У способі виготовлення мікроелектроду шляхом запаювання мікродроту у скляний корпус, *згідно винаходу*, додано етапи очищення мікродроту хімічним способом, поєднання мікродроту з провідником, який виготовлено з металу з температурним коефіцієнтом розширення еквівалентним до температурним коефіцієнтом розширення матеріалу корпусу мікроелектрода, за допомогою металевої гільзи, що перетискається в двох місцях, розміщення конструкції мікродріт-гільза-провідник у скляному корпусі, який розташована вертикально, фіксація конструкції мікродріт-гільза-провідник з боку провідника у трубці так, щоб забезпечити розміщення вздовж осі симетрії корпусу, запаювання скляного корпус з двох кінців, при чому з боку мікродроту скляний корпус запаюється у вакуумі.

Можливість у процесі виготовлення точної вертикальної орієнтації мікродроту у скляному корпусі під час запаювання кінця корпусу з боку робочої поверхні ультра мікроелектроду забезпечує точнішу геометрію робочої поверхні мікроелектроду, що відповідатиме профілю латерального перетину мікродроту. Розділення процесу виготовлення на декілька

запропонованих етапів дає можливість контролювати процес виготовлення на кожному етапі.

Об'єктом винаходу є мікроелектрод і спосіб його виготовлення. Мікроелектрод має скляний корпус, що забезпечує ізоляцію провідника від розчину та характеризується стійкістю електроду до хімічних і механічних впливів. Запропонована конструкція електроду дозволяє без перешкод проводити вимір сигналів, включаючи сигнали, що отримані при високих швидкостях поляризації електроду. Запропонований мікроелектрод може виготовлятися з високою продуктивністю, відтворюваністю та високою адгезією між корпусом та провідником, що утворює електродну поверхню.

На рис. 2.1 наведена будова мікроелектрода, що виготовляється запропонованим способом. Основними конструктивними елементами є: 1 – вивід електроду для підключення зовнішніх пристроїв, 2 – герметичний кінець електроду з боку контакту до зовнішніх пристроїв, 3 – електричний провідник з матеріалу, що має температурний коефіцієнт лінійного розширення еквівалентний до матеріалу корпусу, 4 – скляний корпус, 5 – гільза для з'єднання провідника з мікродротом, 6 – мікродріт з матеріалу, що утворює робочу поверхню електроду (профіль перетину завдає геометрію робочого електроду у разі його шліфування), 7 – герметичний кінець електроду з боку робочої поверхні, 8 – відкрита ділянка мікродроту, що є робочою частиною електродної поверхні.

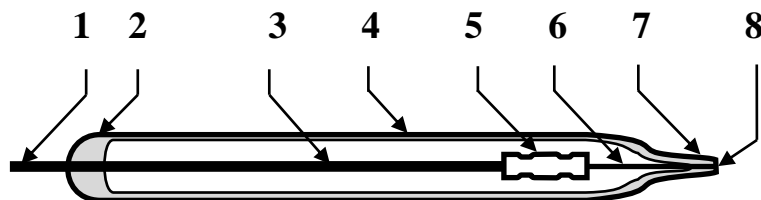


Рисунок 2.1 – Будова мікроелектрода: 1 – вивід електроду для підключення зовнішніх пристроїв, 2 – герметичний кінець електроду з боку контакту до зовнішніх пристроїв, 3 – електричний провідник з матеріалу, що має температурний коефіцієнт лінійного розширення еквівалентний до

матеріалу корпусу, 4 – скляний корпус, 5 – гільза для з'єднання провідника з мікродротом, 6 – мікродріт з матеріалу, що утворює робочу поверхню електроду (профіль перетину завдає геометрію робочого електроду у разі його шліфування), 7 – герметичний кінець електроду з боку робочої поверхні, 8 – відкрита ділянка мікродроту, що є робочою частиною електродної поверхні.

Запропонована конструкція мікроелектроду має наступні ознаки.

Товщина ізоляційного шару корпусу складатиме від 0,1 до 3,0 міліметрів і мікродріт діаметром від 0,1 до 100 мікрометрів. Робоча поверхня мікроелектрода може бути у формі диска або як ділянка мікродроту вільна від ізоляційного матеріалу корпусу на одному кінці мікроелектроду.

З іншого кінця мікроелектрода реалізовано контактна ділянка, наприклад, як вільний від ізоляційного матеріалу провідник з діаметром від 0,1 мм з електропровідного матеріалу, що має тотожній коефіцієнт лінійного розширення з матеріалом корпусу, наприклад, ковар, платиніт, платина та інші. Або контактна ділянка до мікроелектрода може бути реалізовано у вигляді кільця з матеріалу дроту, що є провідником, та яке зафіксовано термопластичною трубкою на корпусі. Або для організації контактної ділянки до мікроелектрода може використовуватися припаяна до провідника гільза з електропровідного матеріалу, переважно металу (мідь, бронза, латунь, та інш.).

Втілення електрода показані на рис. 2.2. Поздовжні розрізи совісно дискового мікроелектрода, що виконано з різними варіантами конструкції електричного контакту до електрода. Рис. 2.2 а – варіант зі стрижнем з дроту , як виводом електричного контакту до електрода. Рис. 2.2 б – варіант з гільзою, як виводом електричного контакту до електрода. Фіг. 2.2 в – варіант з петлею дроту, як виводом електричного контакту до електрода.

Запропонована технологія виготовлення мікроелектроду складається з наступних етапів.

травильного розчину, а потім промивається та сушиться.

Потім дана конструкція мікродріт-гільза-провідник розміщується у скляному корпусі (4). Попередньо у скляної трубки чи капіляру відтягується кінчик після його розігріву та запаюється з відтягнутого кінця. На даному етапі можливе точне розміщення зібраної конструкції мікродріт-гільза-провідник у скляному корпусі, та їх фіксація перед подальшими етапами виготовлення мікроелектроду. Можливість фіксації мікродроту у вигляді зібраної конструкції провідник-гільза-мікродріт забезпечує точнішу аксіальну орієнтацію конструкції під час запаювання робочого кінця ультра мікроелектроду. Тобто для отримання аксіального перетину з формою круга та попередити не аксіальне розміщення мікродроту у корпусі, яке при відшліфовуванні робочої поверхні на кінцевому етапі може привести до отримання еліптичної форми робочої поверхні, що частіше є не бажаною.

Скляний корпус з розміщеним у середині поєднаними мікродротом, гільзою та провідником підключається через відкритий кінець до вакуумного насосу за допомогою вакуумного шлангу відповідного діаметру. Після створення вакууму у середині корпусу відтягнутий кінець корпусу розігривається. За рахунок зовнішнього тиску в місті розігріву електрод здавлюється покриваючи ізоляційним шаром з матеріалу корпусу мікродріт дріт у місці розігріву. Після отримання достатньої довжини запаюної ділянки кінчика (7) мікроелектрода з мікродротом у середині процес нагріву переривається та корпус електроду охолоджується. Наступним кроком є запаювання іншого кінця скляного корпусу (2) шляхом його розігріву вище температури плавлення. Це можливо здійснювати як під вакуумом чи після відключення від вакуумної лінії заготовки мікроелектрода. Рознесення у просторі мікродроту та кінця електроду, де буде здійснюватися підключення до мікроелектрода, дозволяє підіймати температуру в місті запаювання цього кінця достатньо високо не призводячи до окислення чи руйнації мікродроту, що є особливо важливим, наприклад, при використанні скловуглецевого

мікродроту при виготовленні мікроелектрода. При запаюванні другого кінця корпусу мікроелектрода забезпечується наявність відкритої ділянки дроту провідника, який у наступному використовуватиметься як електричний контакт до мікроелектрода та слугуватиме для підключення зовнішніх пристроїв (1). Відповідно даний кінець оформлюється як стрижень, петля чи підпаюється до контактної гільзи, переважно металевої. Наведені конструкції показані на рис. 2.2.

На наступному етапі кінчик електрода механічно звільняється від ізолятора, шліфується та полірується для отримання відповідної якості робочої поверхні електроду (8).

Після виготовлення електроду його робоча поверхня (8) може бути модифікована фізичними та/або хімічним та/або електрохімічним процесом/процесами. Як наприклад, електрохімічне нанесення благородного металу на поверхню електроду зі скловуглецю.

Використання корпусу з достатньо великою товщиною ізоляції зменшує ємнісний зв'язок між ниткою або дротом, що знаходиться у корпусі та зовнішнім середовищем, відповідно забезпечується збільшення відношення сигнал/шум, завдяки цьому зменшуються паразитні ємнісні струми при роботі з електродом. Висока напруга пробоя та високий електричний опір матеріалу корпусу електроду зменшують паразитні токи витіку майже до нуля, що також позитивно відбивається на зростанні відношення сигнал/шум.

Запропонований мікроелектрод може виготовлятися з дуже маленькою електроактивною робочою поверхнею, та характеризується струмами в діапазоні пікоамперів та використовуватися для вимірювань в частотній області до десятків МГц.

Наведений мікроелектрод є корисним особливо в біохімічних та медичних областях, наприклад, в якості амперометричного або потенціометричного датчиків, як стимулюючих електродів, або в якості електродів для кількісного аналізу, особливо для зворотної вольтамперометрії.

Одним з варіантів використання цього мікроелектрода може бути потенціометричні мікросенсори в яких робоча поверхня електроду вкрита іон-селективним шаром, який містить іон-селективний матеріал. Для виготовлення іон селективного матеріалу можливо використання, наприклад, слабких розчинів солей металів або іонно-обмінних смол, краун ефірів, складних систем з декількох компонентів, тощо, які вбудовані в матрицю полімеру (наприклад, полівінілхлориду, силіконові гуми та т.п.). Функцією іон-селективного шару мембрани на поверхні електроду є забезпечення доступу до електроактивної ділянки електроду тільки речовинам, які будуть визначатися.

Сукупність цих технічних рішень дозволило підвищити чутливість точність вимірювань методами які використовуватимуть мікроелектроди даної конструкції, зменшити рівень шумів, які лімітують межу визначення речовин. Тобто зменшення шумів призводить до можливості точніше визначати аналітичний сигнал, що безпосередньо пов'язаний з кількістю речовини, що досліджують. Збільшити відношення сигнал/шум, поліпшити технологічність процесу виготовлення мікроелектроду.

Для проведення досліджень було виготовлено серію мікроелектродів, з золотим мікродротом $\varnothing 42$ мкм (рис. 2.3) та $\varnothing 25$ мкм, та зі скловуглецю $\varnothing 6$ мкм.

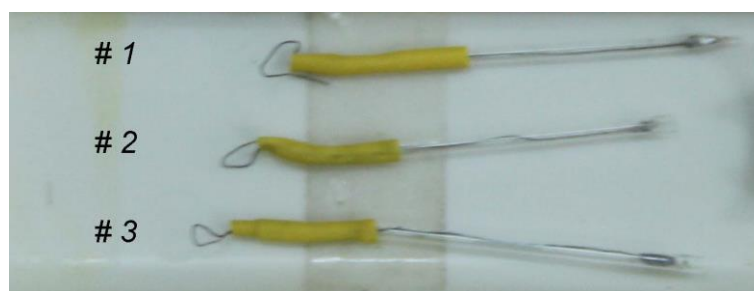


Рисунок 2.3 – Зовнішній вигляд зразків мікроелектродів

Результати полірування зразків наведено на рис. 2.4. Зображення отримано на метало-графічному мікроскопі МИК-4 (Фірма Ломо, м.

Ленінград, ССРСР) в темному полі. Результати досліджень виявили те, що робоча поверхня має форму правильного круга з діаметром еквівалентним діаметру золотого дроту 42 мкм.

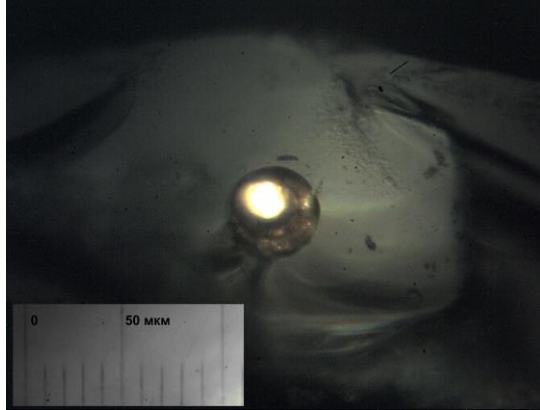
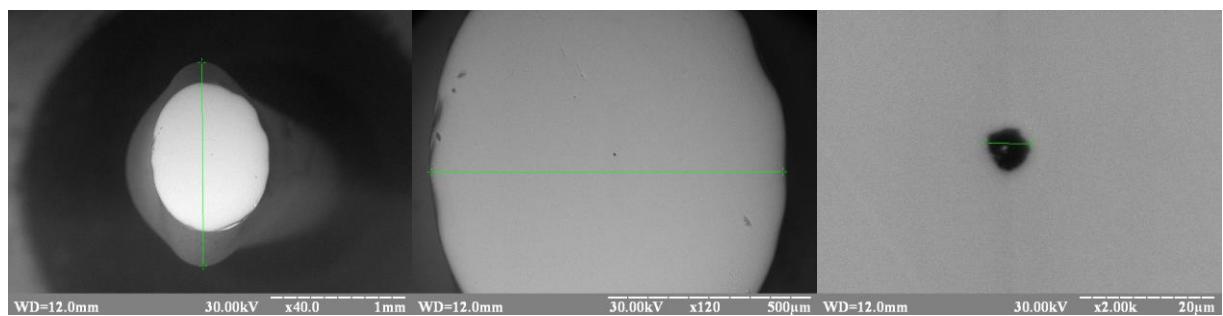


Рисунок 2.4 – Оптичне зображення поверхні мікроелектроду (круг в центрі – робоча поверхня золотого електрода $\varnothing 42$ мкм)

Також дослідження проводилися за допомогою скануючої електронної мікроскопії (СЕМ). Отриманні зображення мікроелектродів зі скловуглеця (СВ) наведені на рис. 2.5. Діаметр робочого диску збігається з результатами вимірювання діаметра СВ волокна, що використовувалося при виробництві зразків.



А)

Б)

В)

Рисунок 2.5 – СЕМ зображення поверхні мікроелектроду з різним масштабуванням поверхні. Розмір шкали відрізу: А) 1 мм, Б) 500 мкм, В) 20 мкм (темний круг в центрі – робоча поверхня електрода зі скловуглецю $\varnothing 5$ мкм).

2.3 Спосіб виготовлення ультрамікроелектрода

Недоліками виготовлення мікроелектродів наведеними вище способом та ті, що наведені у зазначених вище посиланнях, полягає у неможливості або вкрай високої складності реалізації електродів з субмікронними розмірами. Оскільки робота з надтонким мікродротом обумовлює високі ризики розриву мікродроту під час технологічних операцій, що зумовлює брак при виробництві електрода. Механічна міцність такого мікродроту теж мала, це ускладнює або унеможлиблює використання деяких процесів для виготовлення електрода. Наприклад, занурення мікродроту у ізоляційний розчин (смола), для створення захисного покриття, та створення таким чином мікроелектрода. Також ускладнено його використання як самонесучого електрода внаслідку малої механічної міцності.

Найбільш близькими до запропонованого винаходу є спосіб і мікроелектрод, що описані нижче [105]. Спосіб виготовлення мікроелектрода шляхом запаювання мікродроту у скляний корпус, потім на мікродріт, який попередньо очищений хімічним способом, наносять металеве покриття, наприклад, з міді, після чого мікродріт поєднують з провідником за допомогою металевої гільзи, яку перетискають у двох місцях, ділянку дроту, що буде робочою поверхнею електрода, очищують шляхом занурення кінчика мікродроту до травильного розчину, після вивільнення від металу робочої ділянки мікродріт промивають та сушать, далі конструкцію мікродріт-гільза-провідник розміщують у скляному корпусі, причому один кінець провідника фіксують на кінці трубки, яка розташована вертикально, так щоб забезпечити розміщення вздовж осі симетрії корпусу, потім скляний корпус запаюють з двох кінців, причому з боку мікродроту скляний корпус запаюють у вакуумі.

Мікроелектрод, що зроблено за цим способом, містить мікродріт зі скловуглецю чи металу, що запаєний у скляному корпусі, контакт до мікродроту здійснено за допомогою провідника, який виготовлено з металу з

температурним коефіцієнтом розширення еквівалентним температурному коефіцієнту розширення матеріалу корпусу, через металеву гільзу.

Виготовлення мікроелектрода можливе з застосуванням технологічних способів [105], однак, зазначений спосіб не дозволяє отримувати розміри робочої поверхні менші за розміри мікродроту, що використовуються при виготовленні.

Цей недолік вирішується, наприклад, за наступним способом [107], в якому виготовлення мікроелектрода здійснюють шляхом хімічної модифікації поверхні мікродроту задля забезпечення ізоляційних властивостей речовиною, що ковалентно зшивають з матеріалом мікродроту. Вказаний спосіб дозволяє виготовляти мікроелектроди з достатньо хорошими технологічними показниками, відтворювати геометричні характеристики електроду.

Однак недоліком цього способу виготовлення мікроелектроду є використання як ізолюючого матеріалу полімерних багат шарових покриттів, що є менш інертними ніж скляні. Невеликі розміри ізолюючого покриття також обумовлюють високу паразитну ємність між електродом та робочим розчином, що відбивається на зниженні співвідношення сигнал/шум. Це призводить до потреби зменшення вказаних перешкод для досягнення високих експлуатаційних показників. Також не вирішується питання механічної міцності електроду.

В основу винаходу поставлено задачу зменшення робочої поверхні електроду до субмікронних розмірів зі збереженням технологічних показників виготовлення мікроелектроду шляхом залучення простих та ефективних технологічних процесів.

Ця задача вирішена наступним чином. В ультрамікроелектроді, що містить мікродріт з металу, що запаяний у скляному корпусі, контакт до мікродроту здійснено за допомогою провідника, який виготовлено з металу з температурним коефіцієнтом розширення еквівалентним температурному коефіцієнту розширення матеріалу корпусу, та поєднано механічно та електрично, згідно винаходу, робоча поверхня, що утворена поперечним

перерізом електрода, менша ніж початковий переріз запаяного мікродроту, що використовують при виготовленні ультрамікроелектрода, а саме має субмікронні розміри. Причому, в ультрамікроелектроді в залежності від використаних матеріалів товщина ізоляційного шару корпусу складатиме від 0,1 до 3,0 міліметрів, мікродріт діаметром від 1 до 100 мікрометрів.

У способі виготовлення ультрамікроелектрода шляхом запаявання мікродроту у скляний корпус, мікродріт, який попередньо очищений хімічним способом, поєднують з провідником механічно та електрично за допомогою металевої гільзи, що фіксує обидва елементи, далі конструкцію мікродріт-провідник розміщують у скляному корпусі, з боку провідника конструкцію фіксують на кінці трубки, яка розташована вертикально, так щоб забезпечити розміщення вздовж осі симетрії корпусу, потім скляний корпус запаяють з кінця розміщення мікродроту у вакуумі, **згідно винаходу**, здійснюють одночасно витягування цього кінця для зменшення площини робочої поверхні мікродроту, а також корпусу, що можливо завдяки термопластичності матеріалу мікродроту, для реалізації етапу витягування виконують розігрів ділянки мікроелектрода з запаяним мікродротом, після витягування обробляють переріз електрода за допомогою шліфування та полірування таким чином, щоб після шліфування та полірування на кінці електроду було відкрито початок конусної частини мікродроту, тобто ділянка звуження матеріалу мікродроту є зрізаним конусом, крім того, скляний корпус запаяють з обох кінців. Причому, у способі обидва елементи за допомогою металевої гільзи фіксують зварюванням, або запаяванням.

Відмінністю винаходу є технічна простота процесів, що використано у способі виробництва ультрамікроелектроду зі скляним корпусом. Цей спосіб реалізує конструкцію ультрамікроелектрода, яка відрізняється можливістю отримувати розміри робочої площини ультра мікроелектрода значно менші за розміри перетину мікродроту, що використовується при виробництві.

Використання додаткового технологічного етапу не призводить до значного ускладнення технології, оскільки в базовій технології виготовлення

за якою виготовлено прототип матеріал корпусу електрода витягується на одному з етапів виготовлення. Отже залучення нового обладнання не відбувається. Завдяки цьому зберігається технологічність виготовлення конструкції ультрамікроелектрода.

У способі виготовлення ультрамікроелектрода додано етап додаткового витягування мікродроту. Його здійснюють після запаювання мікродроту у скляний корпус. Для реалізації етапу витягування виконують розігрів ділянки мікроелектрода з запаяним мікродротом. Це можливо здійснити, наприклад, завдяки мініатюрному нагрівачу у вигляді ніхромової спіралі з внутрішнім радіусом трохи більшим за зовнішній діаметр скляного корпусу ультра мікроелектрода. Температуру підбирають таким чином, щоб після швидкого розігріву за час, що не призводить до деформації або руйнування електрода, прикладування невеликого зусилля було достатньо для витягування кінчика електроду та розтягування мікродроту. Разом з витягуванням корпусу завдяки термопластичності матеріалу мікродроту здійснюють витягування і матеріалу мікродроту. В місці розігріву має місце звуження матеріалу ізоляційного корпусу на мікродроту в цьому корпусі. Таким чином зменшується величина розмірів перерізу мікродроту. Після витягування виконується та обробляється переріз електроду, ділянку перерізу вибирають таким чином, щоб після шліфування, та полірування на кінці електроду була відкрита конусна частина мікродроту, тобто ділянка звуження матеріалу мікродроту.

Завдяки процесу витягування вдається значно зменшити розміри робочої поверхні мікроелектроду, дозволяючи виготовити ультрамікроелектрод з габаритними розмірами та достатньою механічною міцністю, яка забезпечує зручну роботу при маніпуляціях ультрамікроелектродом, як наприклад установка його у вимірну ячейку або переміщення електроду у дослідному зразку.

Можливість у процесі виготовлення ультрамікроелектрода отримати значно меншу робочу поверхню електрода ніж діаметр мікродроту, що використовується у процесі виготовлення, дозволяє зберегти технологічність

процесу виготовлення, зменшити кількість або виключити брак при виробництві, що пов'язаний з розривом мікродроту. Зменшення розмірів робочої поверхні електрода дає можливість отримати зазначені вище властивості притаманні мікроелектродам. Таким чином можливе отримання принципово нових аналітичних характеристик для ультрамікроелектродів, спосіб виготовлення яких запропоновано.

За цим способом зроблено ультрамікроелектрод. Ультрамікроелектрод має скляний корпус, що забезпечує ізоляцію провідника від розчину та характеризується стійкістю електрода до хімічних і механічних впливів. Запропонована конструкція електрода дозволяє без перешкод проводити вимір сигналів, включаючи сигнали, що отримані при високих швидкостях поляризації електрода

Запропонований мікроелектрод може виготовлятися з високою продуктивністю та високою адгезією між корпусом та провідником (мікродротом), що утворює електродну поверхню.

На рис. 2.6 наведена будова мікроелектрода, що виготовляється запропонованим способом, та вказані конструктивні елементи: 1 – вивід електрода для підключення зовнішніх пристроїв, 2 – герметичний кінець електрода з боку контакту до зовнішніх пристроїв, 3 – електричний провідник з матеріалу, що має температурний коефіцієнт лінійного розширення еквівалентний до матеріалу корпусу, 4 – скляний корпус, 5 – ділянка з'єднання провідника з мікродротом, 6 – мікродріт з металу, 7 – ділянка звуження ультрамікроелектрода, що утворена витягуванням його кінця, 8 – ділянка додаткового витягування завареного мікродроту у скляному корпусі задля зменшення робочої поверхні мікродроту, 9 – відкрита ділянка витягнутого мікродроту, що є робочою поверхнею ультрамікроелектрода.

Запропонована конструкція ультрамікроелектроду має наступні ознаки.

Товщина ізоляційного шару корпусу складатиме від 0,1 до 3,0 міліметрів і мікродріт діаметром від 1 до 100 мікротметрів.

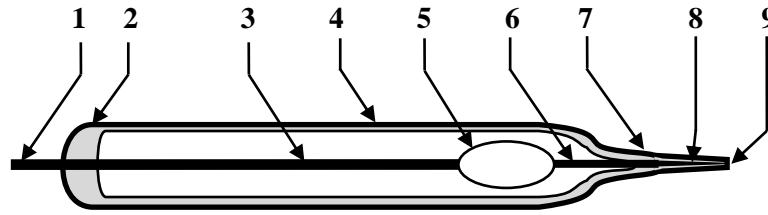


Рисунок 2.6 Будо́ва ультрамікроелектрода: 1 – вивід електроду для підключення зовнішніх пристроїв, 2 – герметичний кінець електроду з боку контакту до зовнішніх пристроїв, 3 – електричний провідник з матеріалу, що має температурний коефіцієнт лінійного розширення еквівалентний до матеріалу корпусу, 4 – скляний корпус, 5 – ділянка з’єднання провідника з мікродротом, 6 – мікродріт з металу, 7 – ділянка звуження ультрамікроелектрода, що утворена витягуванням його кінця, 8 – ділянка додаткового витягування завареного мікродроту у скляному корпусі задля зменшення робочої поверхні мікродроту, 9 – відкрита ділянка витягнутого мікродроту, що є робочою поверхнею ультрамікроелектрода.

Робоча поверхня мікроелектрода, що отримана після шліфування та полірування, як відкрита ділянка латерального перетину мікродроту в місці звуження, має значно менші розміри діаметру ніж мікродріт в десятки разів. При використанні малих діаметрів мікродроту можна досягти зменшення діаметру до субмікронних та нанорозмірів робочої поверхні.

З іншого кінця мікроелектрода реалізовано контактна ділянка, наприклад, як вільний від ізоляційного матеріалу провідник з діаметром від 0,1 мм з електропровідного матеріалу, що має тотожній коефіцієнт лінійного розширення з матеріалом корпусу, наприклад, ковар, платиніт, платина та інші. Або контактна ділянка до мікроелектрода може бути реалізована у вигляді кільця з матеріалу дроту, що є провідником, та яке зафіксовано термопластичною трубкою на корпусі. Або для організації контактної ділянки до мікроелектрода може використовуватися припаяна до провідника гільза з електропровідного матеріалу, переважно металу (мідь, бронза, латунь, та інш.).

Запропонований спосіб виготовлення мікроелектроду складається з наступних етапів.

На першому етапі мікродріт (6) з матеріалу, що буде робочою поверхнею електрода, попередньо очищують хімічним способом, щоб видалити зовнішній шар матеріалу, який може зменшувати адгезію поверхні дроту до матеріалу корпусу (скла), чи ускладнювати з'єднання мікродроту з провідником, що застосовується як контактний вивід електроду.

На наступному етапі здійснюють поєднання мікродроту з дротом, що буде виконуватися як електричний провідник (3). Для чого може застосовуватися спосіб поєднання шляхом перетискання допоміжної гільзи в двох місцях, або спаювання мікродроту з дротом, або зварювання. Відповідно утворюється ділянка поєднання дроту з мікродротом (5).

Потім поєднану конструкцію мікродріт-провідник розміщують у скляному корпусі (4). Попередньо у скляної трубки чи капіляру витягують кінчик після його розігріву та запаюють з витягнутого кінця. На даному етапі можливе точне розміщення зібраної конструкції мікродріт-провідник у скляному корпусі, та її фіксація перед подальшими етапами виготовлення ультрамікроелектрода. Можливість фіксації мікродроту у вигляді зібраної конструкції провідник-мікродріт забезпечує точну аксіальну орієнтацію конструкції під час запаювання робочого кінця ультрамікроелектрода. Тобто для отримання аксіального перерізу з формою круга та попередити неаксіальне розміщення мікродроту у корпусі, що є небажаним.

Скляний корпус з розміщеним у середині мікродротом, що поєднаний з провідником підключають через відкритий кінець до вакуумного насосу за допомогою вакуумного шлангу відповідного діаметру. Після створення вакууму у середині корпусу витягнутий кінець корпусу розігривають. За рахунок зовнішнього тиску в місті розігріву електрод здавлюється, покриваючи мікродріт ізоляційним шаром з матеріалу корпусу у місці розігріву. Після отримання достатньої довжини запаяної ділянки кінчика (7) мікроелектрода з мікродротом у середині процес нагріву переривають та

корпус електрода охолоджують.

Після охолодження знов здійснюють розігрів кінця електрода (7) з запаєним мікродротом (6) для подальшого витягування. Після досягнення температури пластичності матеріалів корпусу та мікродроту на ділянці додаткового витягування (8) здійснюють витягування шляхом прикладування невеликої сили. Наприклад, при вертикальному розташуванні корпусу здійснюють підвищенням вантажу до кінця з мікродротом нижче зони розігріву.

Наступним кроком є запаювання іншого кінця скляного корпусу (2) шляхом його розігріву вище температури плавлення. Місце для плавлення обирають таким чином, щоб забезпечити наявність відкритої ділянки дроту провідника, який у наступному використовується як електричний контакт до мікроелектрода та служить для підключення зовнішніх пристроїв (1). Відповідно даний кінець оформлюють як стрижень, чи як петля підпаюється до контактної гільзи, переважно металевої. Запаювання цього кінця можливо здійснювати при вакуумі в середині корпусу, це сприяє герметичному запаюванню і цього кінця електроду.

Рознесення у просторі ділянки мікродроту, що буде додатково витягнута, кінця електроду, де буде здійснюватися поєднання мікродрота з провідником, та ділянки провідника, де буде здійснено запаювання корпусу, дозволяє підіймати температуру для технологічних процесів достатньо високо не призводячи до окислення чи руйнації ані мікродроту, ані його з'єднання з провідником.

На наступному етапі кінчик електрода механічно звільняють від ізолятора шляхом його латерального перерізу, шліфують та полірують для отримання відповідної якості робочої поверхні електрода (9).

Після виготовлення ультрамікроелектрода його робоча поверхня (9) може бути модифікована фізичними та/або хімічним та/або електрохімічним процесом/процесами. Як наприклад, електрохімічне осадження іншого матеріалу з розчину.

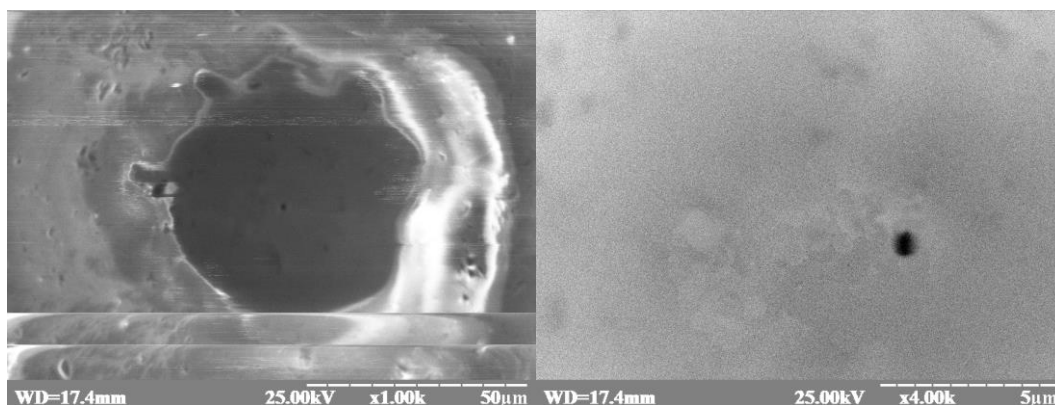
Використання корпусу з достатньо великою товщиною ізоляції зменшує паразитний ємнісний зв'язок між електродом та зовнішнім середовищем, відповідно зменшуються паразитні ємнісні струми при роботі з електродом, забезпечується збільшення відношення сигнал/шум, завдяки цьому. Висока напруга пробою та високий електричний опір матеріалу корпусу електрода зменшують паразитні токи витіку майже до нуля, що також позитивно відбивається на зростанні відношення сигнал/шум.

Запропонований мікроелектрод може виготовлятися з дуже маленькою електроактивною робочою поверхнею, та характеризується струмами в діапазоні пікоамперів. Може використовуватися для вимірювань в частотній області до десятків МГц.

Наведений мікроелектрод є корисним особливо в біохімічних та медичних областях, наприклад, як амперометричний або потенціометричний датчик, чи як стимулюючий електрод з високою локалізацією дії, або як електрод для кількісного аналізу, особливо для зворотної вольтамперометрії.

Сукупність цих технічних рішень дозволило підвищити чутливість та точність вимірювань способами, які використовують мікроелектроди як датчики. Збільшити співвідношення сигнал-шум, що визначає межу визначення речовин. Оскільки збільшення співвідношення сигнал-шум призводить до можливості використовувати більше підсилення в апаратному забезпеченні електрохімічного аналізу, отже при збереженні рівня шуму досягати більш низьким меж визначення сигналу, що безпосередньо пов'язаний з кількістю речовини, що досліджують. Таким чином досягти більш низької меж визначення, та більш високої чутливості способу визначення речовини.

На рис. 2.7 наведено СЕМ зображення робочої поверхні ультрамікроелектрода, що отримано з золотого мікродрота $\varnothing 25$ мкм. Шляхом введення додаткової технологічної операції з витягування мікродрота вдалося отримати зменшення діаметру робочої поверхні до розміру ~ 500 нм.



А)

Б)

Рисунок 2.7 – СЕМ зображення поверхні мікроелектроду з різним масштабуванням поверхні. Розмір шкали відрізка: А) 50 мкм, Б) 5 мкм (темний круг в центрі – робоча поверхня золотого електроду Ø500 нм).

2.4 Тестування золотих мікроелектродів

Окрім мікроскопічних досліджень конструкційних параметрів виготовлених мікроелектродів проведено електрохімічні дослідження функціональних характеристик мікроелектродів, що базуються на використанні зворотної електрохімічної реакції окислення та відновлення речовини на електроді. У якості такої системи обрано систему з двох речовин калій фероцен та калій фероціанат заліза $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ та $\text{K}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$. Ця пара має гарну зворотність електрохімічної реакції окислення-відновлення. Тому вона дуже часто використовується для тестування електродних матеріалів, включаючи наноматеріали.

Параметри електродної системи. Робочий електрод мікроелектрод з золотим мікродиском діаметром 42 мкм, відповідна площа 0,1385 мм². Матеріал ізоляції електроду – скло. Протиелектрод – платинова фольга площиною 400 мм². Електрод порівняння – Ag/AgCl, що занурено у насичений розчин KCl.

Тестовий розчин складався з розчинника – бідистильованої води, електроактивних речовин 10^{-2} М $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ та 10^{-2} М $\text{K}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$ та фонового електроліту KCl з концентрацією 0,1 М.

Результати дослідження наведено у вигляді відповідної вольт амперної характеристики (рис. 2.8) та графіку, що відбиває відгук 8 зразків виготовлених мікроелектродів (рис. 2.9).

Для дослідження обрано метод циклічної лінійної розгортки потенціалу. Параметри поляризації швидкість розгортки потенціалу складає 100 мВ/с. Потенціали реверсу поляризації 0,15 В та 0,75 В відносно стандартного водневого електрода.

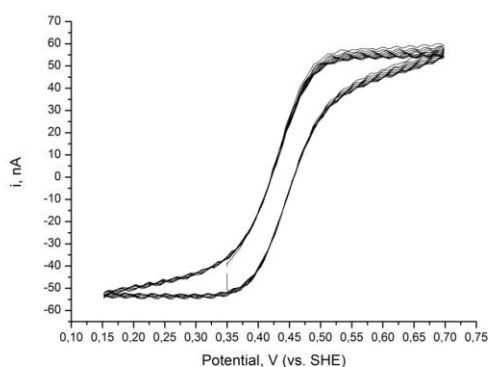


Рисунок 2.8 – Циклічна вольтамперограма мікроелектрода в тестовому розчині. Швидкість розгортки потенціалу 100 мВ/с.

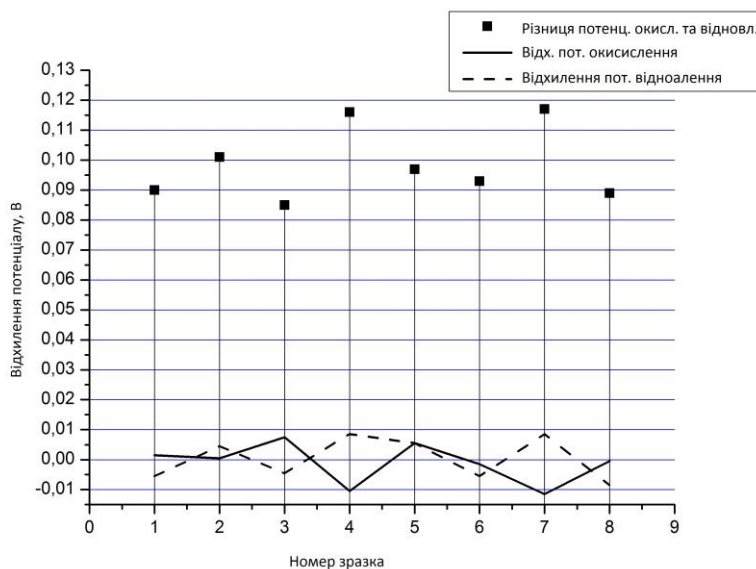


Рисунок 2.9 - Розбіжність відгука 8 зразків мікроелектродів. Квадрати – відхилення різниці між потенціалами піків окислення та відновлення, пунктирна лінія відхилення потенціалу відновлення відносно 0,3875В відносно стандартного водневого електрода, неперервна лінія відхилення потенціалу окислення 0,4845В відносно стандартного водневого електрода.

2.5 Висновки за розділом

Дослідження науково-технічної літератури за темою виготовлення мікроелектродів та наноелектродів виявило проблему складності та недосконалості наявних технологій їх виготовлення. Одну із важливих проблем складає забезпечення надійного контакту між мікродротом та провідником, який використовується як вивід для підключення мікроелектроду. Отримання певних конструкційних параметрів як діаметр робочої поверхні, її форма є важливими для відтворення певних функціональних характеристик, а також зменшення паразитних характеристик потребують розробки нових технологій виготовлення мікроелектродів. В розділі наведено опис розроблених технологій виготовлення мікроелектрода та виготовлення ультрамікроелектрода.

Особливістю технології виготовлення мікроелектроду складає те, що контакт до мікродроту здійснено за допомогою провідника, який виготовлено з металу з температурним коефіцієнтом розширення еквівалентним до температурним коефіцієнтом розширення матеріалу корпусу електрода, через металеву гільзу. Іншою особливістю є те, що на мікродріт, який попередньо очищений хімічним способом, наноситься металеве покриття, наприклад, з міді, після чого мікродріт поєднується з провідником за допомогою металеві гільзи, яка перетискається у двох місцях. Використання підшару забезпечує належний контакт між гільзою та мікродротом, його пластичні властивості поліпшують технологічний процес поєднання за допомогою здавлювання гільзи.

Подальшим розвитком технології стала її модифікація для створення ультрамікроелектродів. Особливістю конструкції якого є те, що робоча поверхня, яка утворена поперечним перерізом електрода, менша ніж початковий переріз запаяного мікродроту, що використовують при виготовленні ультрамікроелектрода, та має субмікронні розміри. Це було досягнуто за рахунок завдяки додаткової технологічної операції з одночасно

витягування мікродроту з робочого кінця мікроелектрода одночасно з витягуванням матеріалу корпусу, що можливо завдяки термопластичності матеріалу мікродроту, для чого виконують розігрів ділянки мікроелектрода з запаяним мікродротом. Зменшення площини перетину мікродроту для отримання ультрамікроелектродів з робочою поверхнею, що має розміри менші за первинний діаметр мікродрота, що використовувався. Додавання додаткової операції не призводить до суттєвого ускладнення технології, оскільки в технологічному циклі використовується теж саме обладнання, що і в інших операціях.

Виготовлені зразки мікроелектродів з матеріалом робочої поверхні електрода зі скловуглеця, та золота. Зразки ультрамікроелектродів виготовлялися з золотою робочою поверхнею. Для спрощення проведення технологічних операцій обох технологій використовувалися скляні трубки-капіляри зі скла типу Ругех з низькою температурою плавлення 565°C.

Отримані зразки досліджувалися за допомогою оптичної мікроскопії та скануючої електронної мікроскопії. Результати якої підтвердили відповідність конструкційних параметрів. Так встановлено діаметр мікроелектродів зі золота склав $\varnothing 42$ мкм та $\varnothing 25$ мкм (відповідно до розмірів перетину двох різних мікродротів, що використовувалися при виготовленні зразків.) Для скловуглецю діаметр робочої поверхні у формі диску складав $\varnothing 6$ мкм.

Для зразків ультрамікроелектрода виготовленого з золотого мікродроту вдалося отримати значення діаметру робочої поверхні біля 500 нм, що відповідає субнанометровому діапазону, та наближається до принципових розмірів нанодів.

Мікроскопічні дослідження зразків мікроелектродів підтвердили збереження форми перетину мікроелектрода під час його запаявання в скляний корпус. За технологією виготовлення мікроелектрода має місце відтворення діаметру та форми перетину мікродрота у робочої поверхні дискового мікроелектрода.

Електрохімічні дослідження за допомогою метода циклічної вольтамперометрії визначили невелику варіативність потенціалів окислення та відновлення ± 10 мВ, що свідчить про відсутність забруднення поверхні, відтворюваність технології отримання мікроелектродів та корелює з точністю виміру рівноважного потенціалу під час проведення експерименту.

Амплітуда відгуку зразків мікроелектродів на рівні 1% високу відтворюваність діаметра мікродоту в діаметрі робочої дискової поверхні мікроелектрода.

Результати дослідження цього розділу викладено автором в наступних публікаціях [6, 10, 11, 15] та апробовано на міжнародних конференціях [33, 34, 36, 43].

3. НАНОТЕХНОЛОГІЇ ДЛЯ СТВОРЕННЯ СЕНСОРНОГО ЕЛЕМЕНТА

3.1 Технологія алмазоподібних покриттів, що леговано азотом.

Опис технології алмазоподібних покриттів (АПП, та-C:N) містить опис установки для їх нанесення за умов осадження їх з газової фази. В розділі наведено результати дослідження фізичних та електрохімічних властивостей легованих азотом електропровідних алмазоподібних та-C:N покриттів.

Роботи щодо синтезу зразків виконувалися на експериментальному технологічному обладнанні Національного наукового центру «Харківський фізико-технічний інститут» в Лабораторії алмазних та алмазоподібних покриттів (науковий керівник д.ф.-м.н. Стрельницького В.Є.).

Алмазоподібний вуглець є альтернативою традиційним матеріалам, які використовуються як елект-рохімічні електроди. Алмазні й алмазоподібні електроди характеризуються стабільністю характеристик при роботі, відновлюваністю поверхні, довговічністю. Широке вікно потенціалу і вкрай малий фоновий струм роблять цей матеріал унікальним для електрохімії [16].

Аморфні алмазоподібні плівки (АПП) мають переваги в тому, що наносяться при температурі близькій до кімнатної, що розширює можливості їхнього застосування в електроніці при виготовленні, напри-клад, мікроелектродних сенсорів.

Перші досвіди з електрохімії алмазу відносяться до 1987 року [108]. АПП з цього погляду почали інтенсивно досліджувати з кінця 90х. На сьогодні маємо велику кількість робіт з вивчення електрохімічних властивостей електродів з алмазоподібними плівками [109-120].

3.1.1 Огляд робіт інших авторів

У літературі описано ряд методів одержання легованих АПП плівок. Азот є найбільш зручним екологічно безпечним легуючим елементом для АПП [121].

Введення азоту в АПП приводить до ряду ефектів [122, 123]. При малих концентраціях азот сприяє групуванню центрів sp^2 фази в кластери. Далі, при концентраціях понад 10% азот сприяє створенню нових центрів sp^2 фази. При цьому вміст sp^3 -фази в АПП істотно знижується. Нарешті, азот охоче формує нелегуючі (компенсовані) центри внаслідок різноманіття форм його конфігураційних зав'язків у вуглецевій матриці. Зі збільшенням вмісту азоту в покритті питомий електричний опір монотонно зменшується.

Леговані азотом алмазоподібні покриття набувають нових властивостей при збереженні хімічної інертності, що притаманна АПП. Змінюються їхні механічні (твердість, коефіцієнт тертя, зносостійкість) і електрофізичні (питомий електроопір) характеристики. Твердість алмазоподібних покриттів, легованих азотом, ($ta-C:N$), зі збільшенням концентрації азоту зменшується від 60 до 45 ГПа [124]. Має місце зменшення коефіцієнта тертя до $0,03 \div 0,04$ в умовах зниженої вологості (сухому азоті) [125]. Результати вимірювань показують, що в електрохімічних процесах електроди з такими покриттями дозволяють одержати широке вікно потенціалу, яке близьке до результату для кращих зразків алмазних електродів, що істотно розширює можливості їхнього застосування [126].

У літературі [127] існують дані, які свідчать про те, що питомий опір АПП плівок монотонно зменшується з 10^9 до 10 Ом·см при збільшенні вмісту азоту, що дозволяє одержувати плівки з електропровідністю і хімічною стійкістю, які необхідні для електрохімічних застосувань.

Розповсюдженим способом одержання АПП без домішки водню в умовах легування азотом є осадження плазми вакуумно-дугового розряду з графітовим катодом в атмосфері азоту. При цьому азот вводиться у вакуумну камеру у виді нейтрального газу [126], і його активація здійснюється в потоці вакуумно-дугової вуглецевої плазми. Інший варіант одержання $ta-C:N$ реалізується при використанні іонного пучка азоту від окремого джерела, що бомбардує поверхню АПП плівки в процесі осадження, або в ході наступної обробки.

3.1.2 Опис обладнання для нанесення АПП

В роботі досліджено перспективний метод одержання електропровідних алмазоподібних плівок з фільтрованої вакуумно-дугової плазми з легуванням азотом. Схему експериментальної установки приведено на рис. 3.1.

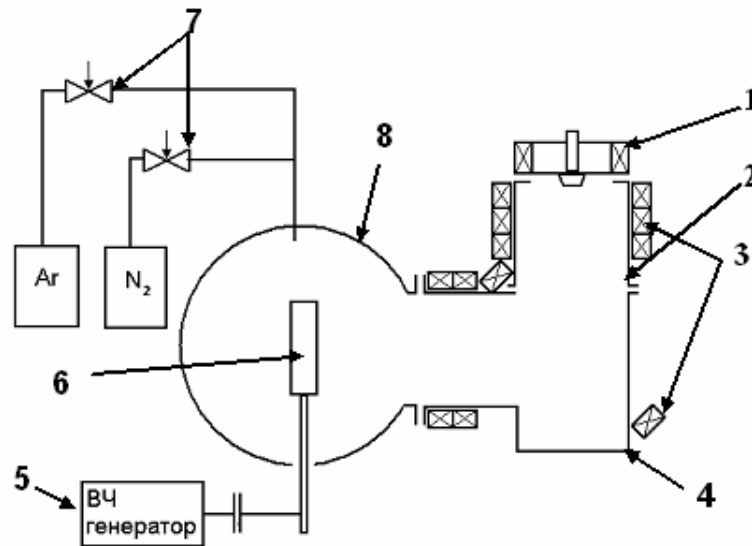


Рисунок 3.1 – Схема експериментальної установки для отримання та-C:N покриттів: 1 - вакуумно-дуговий випарник, 2 -анод, 3 - магнітні котушки фільтра макрочасток, 4 - 90° плазموпровід, 5 - ВЧ генератор, 6 - підкладкотримач, 7 - система напуску газів, 8 - вакуумна камера

Основними елементами установки є вакуумно-дуговий випарник, фільтр макрочасток, вакуумна камера з розташованим усередині неї утримувачем підкладки, система напуску робочого газу (суміш аргону й азоту), ВЧ генератор. Частота коливань ВЧ генератора складає ~ 10 МГц. Генератор підключений до утримувача підкладки через конденсатор. За рахунок цього під час горіння вакуумно-дугового розряду на утримувачі підкладки утворюється негативний відносно камери потенціал, що самопідтримується, величиною порядку 100-1000 В. Величину цього потенціалу можна регулювати, змінюючи амплітуду коливань ВЧ генератора.

Матеріалом катода у вакуумно-дуговому випарнику є особливо чистий графіт. Фільтр макрочасток [128] складається з плазмоведа у вигляді двох

циліндричних патрубків – вхідного і вихідного, які зварено під прямим кутом і магнітних котушок, що охоплюють плазмовод. Магнітне поле, яке створене магнітними котушками, дозволяє змінити напрямок руху потоку вуглецевої плазми і відокремити заряджені компоненти плазми від нейтральних. Усередині плазмовода розташовано діафрагми у вигляді ребер, що затримують макрочастки графіту, що вилітають з катода в процесі горіння вакуумно-дугового розряду. Насамкінець, на підкладку попадає потік іонів вуглецю, енергію яких можна регулювати шляхом подачі примусового (або такого що самостійно наводиться) електричного потенціалу. Наявність фільтра макрочасток дозволяє одержувати плівки високої якості з мінімальною кількістю дефектів, у тому числі наскрізних пір, що істотно впливають на електрохімічні характеристики електродів з покриттями.

У ході підготовки експериментальної установки було проведено випробування і налагодження системи напуску газів. Тиск робочого газу (азот + аргон) встановлювався в діапазоні $P=1 \cdot 10^{-4} - 8 \cdot 10^{-2}$ Торр. На верхній межі виникають труднощі з підтримкою тиску у вакуумній камері, пов'язані з тим, що необхідний для цього потік газу, що напускається, наближається до межі досяжної швидкості відкачки вакуумного агрегату. Крім того, як відзначали різні автори, у процесі горіння вакуумно-дугового розряду тиск у вакуумній камері істотно відрізняється від спочатку встановленого внаслідок процесів газовиділення зі стінок і відкачувальної дії вуглецевої плівки, котра щойно осаджена.

Утримувач підкладки має водяне охолодження, що дозволяє наносити покриття при температурі близькій до кімнатної.

3.1.3 Наноструктурні дослідження алмазоподібних покриттів атомно-силовим мікроскопом

Для пошуку оптимальних робочих параметрів синтезу алмазних та алмазоподібних покриттів сенсора в роботі проводилися дослідження

морфологічних особливостей на нанорівні та впливу на них параметрів технологічних режимів синтезу. Дослідження проводилися скануючим зондовим мікроскопом NT-206, контактним методом за допомогою зондів NSC-11 (Micromash Co.) (рис. 3.2).

Передусім було досліджено поверхні матеріалів, на які наносилися алмазні та алмазоподібні покриття, для отримання інформації про початковий стан поверхні, на яку здійснювалося осадження плівок.

Скловуглець. Для попередньої обробки підкладок зі скловуглецю використовувався метод шліфування за допомогою абразивних матеріалів (абразивного паперу з розмірами абразиву $\sim 1\text{мкм}$) та абразивної пасти (розмірами абразиву $\sim 1\text{мкм}$). Дослідження підкладки після шліфування дали можливість відзначити високій ступінь обробки - рис.3.3.



Рисунок 3.2 – Зовнішній вигляд атомно-силового мікроскопу NT-206

Незначна величина $R_a = 3,67\text{ нм}$ свідчить про високу гладкість поверхні. Наявність на зображенні паралельних смуг відображає морфологічну особливість підкладок на нанорівні, що проходять етап шліфування. Глибина борозен, що виникають під дією часток абразиву, які рухаються паралельно, складає близько 10 нм при ширині до 1 мкм , що відповідає діаметру абразиву. (рис. 3.4).

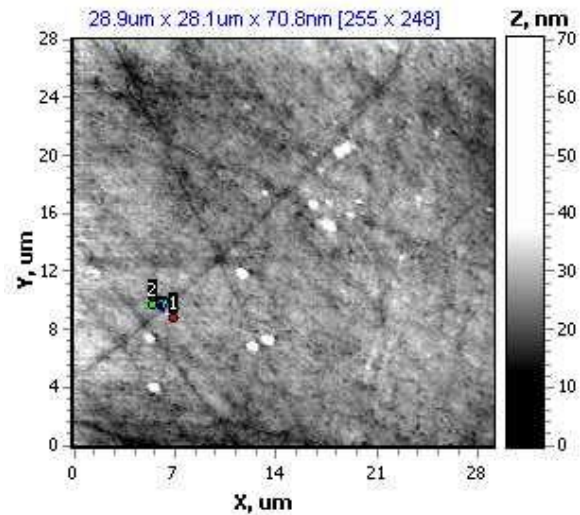


Рисунок 3.3 – Поверхня скловуглецевої підкладки, яка пройшла обробку абразивним матеріалом (1,2 – номери маркерів на поверхні ,необхідні для аналізу її розтину вздовж прямої між маркерів рис. 3.4)

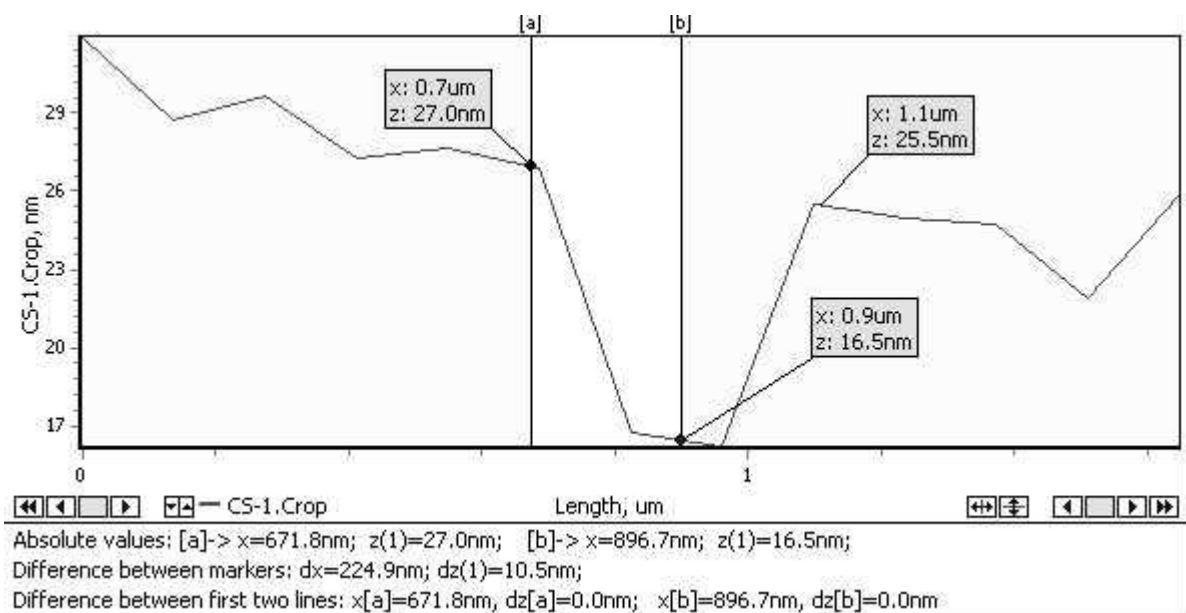


Рисунок 3.4 – Перетин поверхні вздовж прямої між маркерів 1,2 підкладки зі скловуглецю, що наведено на рис. 3.3

Молібден. Дослідження молібденових підкладок виявили їх полікристалічну структуру (рис. 3.5), яка впливає на процес утворення зародків – подальших центрів росту алмазних та алмазоподібних плівок. Як і на підкладках зі скловуглецю при обробці алмазними пастами спостерігається інтеркаляція часток абразиву (рис.3.6).

Кремній. З метою вивчення можливостей синтезу алмазних та алмазоподібних структур на поверхні кремнію були досліджені зразки кремнієвих підкладок, які використовувалися в роботі для нанесення АПП (рис.3.7). Усі зразки мають високу якість обробки поверхні.

У подальших роботах проводилися дослідження впливу способу обробки поверхні підкладки на процес формування АПП. На рис 3.8 наведені результати дослідження молібденових підкладок на етапі утворювання зародків.

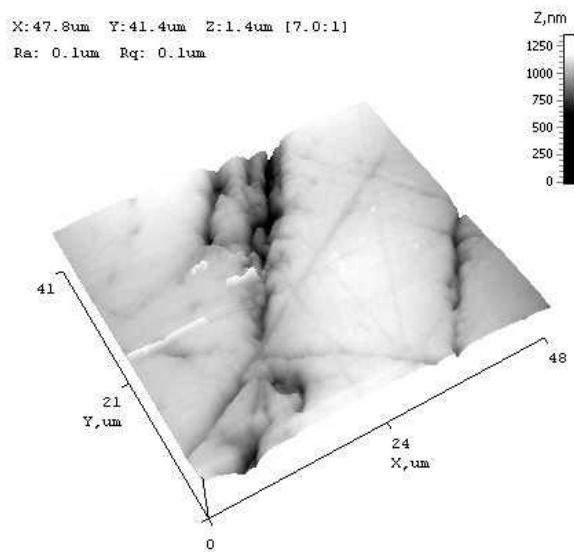


Рисунок 3.5 – 3D- зображення вихідної поверхні молібденової підкладки

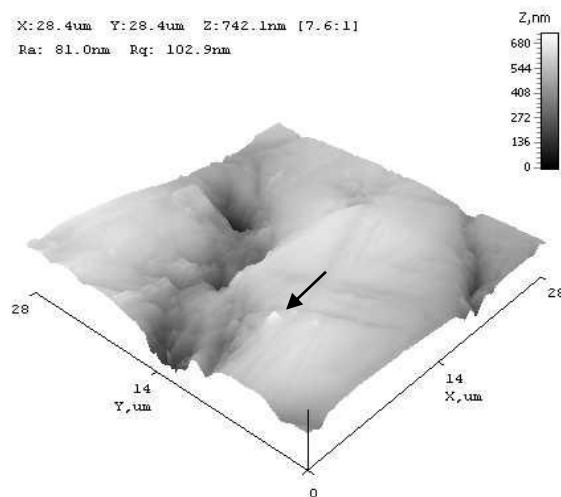


Рисунок 3.6 – 3D-зображення вихідної поверхні молібденової підкладки при обробці її шліфувальною пастою (стрілкою відзначено інтеркальоване зерно абразиву)

Для молибденової підкладки, що підготовлена тільки методом шліфування для нанесення АПП (див. рис. 3.8 а), спостерігається наявність острівної структури формувань з зерен, що мають розміри ~ 1 мкм. Між зернами є відкриті ділянки підкладки, на яких видно полікристалічну структуру підкладки. Морфологія цих ділянок добре корелює зі структурою поверхні, що отримана для молибденової підкладки у попередніх дослідження (рис. 3.5).

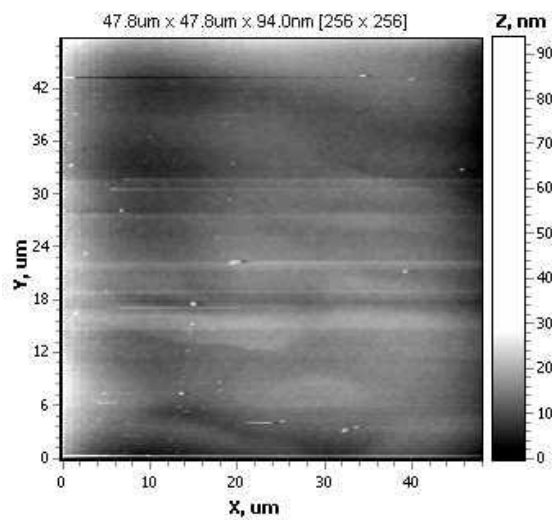


Рисунок 3.7 – 2D-зображення вихідної поверхні кремнію

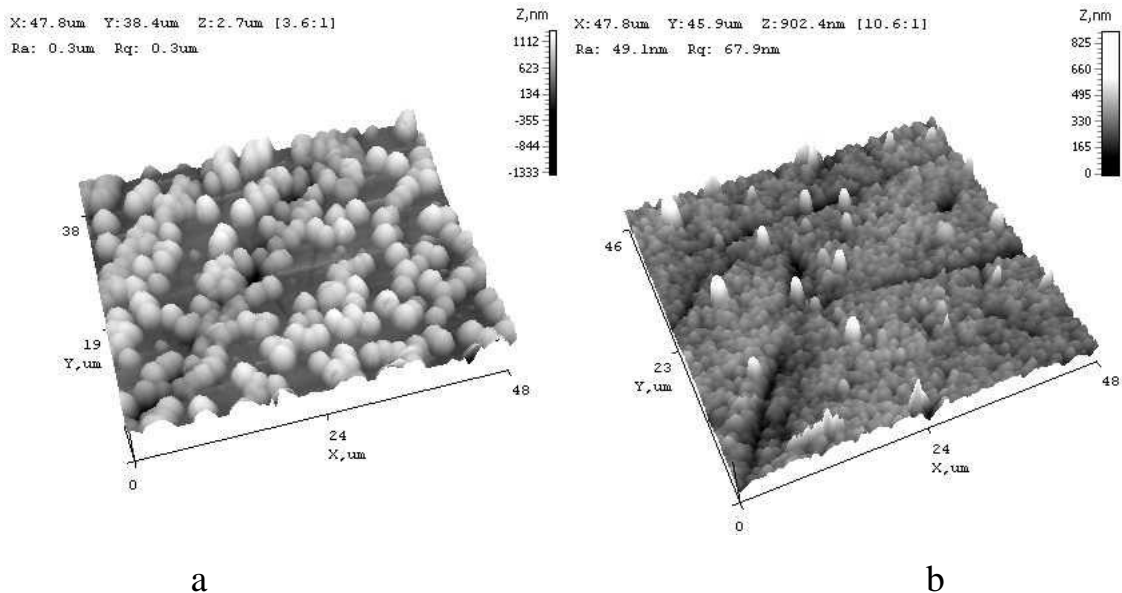


Рисунок 3.8 – Морфологія поверхні алмазних покриттів на молибденовій підкладці після росту протягом 1 години в однакових умовах синтезу: а) підкладка, що була оброблена тільки механічно; б) підкладка, оброблена механічно з наступним «засівом» з використанням алмазної пасти

Для зразка, що проходив окрім шліфування ще й засівання нанодисперсним алмазом спостерігається зменшення розмірів нанокристалітів та ущільнення їх пакування при нанесенні. Зовсім відсутні відкриті ділянки підкладки (рис. 3.8 б). Структурні особливості плівки з зародками алмазних нанокристалів відбивають поверхневу морфологію підкладки, що зумовлено малою товщиною плівки (близької до діаметру зерна).

У подальших морфологічних дослідженнях для алмазних та АПП на скануючому зондовому мікроскопі досліджувалася однорідність плівок. Контролювалася відсутність проколів та крупних кристалітів, що є дефектами синтезу плівок.

Для деяких досліджених структур була притаманна наявність краплин, які було ідентифіковано як частки абразиву (алмазної пасту), що використовувалась при шліфуванні (рис. 3.9).

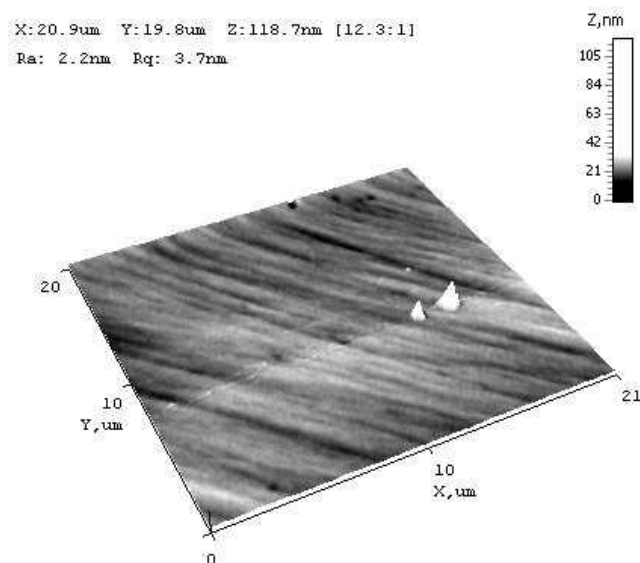


Рисунок 3.9 – Морфологічні дефекти алмазних покриттів - краплини матеріалу (підкладка зі скловуглецю)

Наявність на картинах кратерного ефекту свідчить про занурення цих часток вглиб поверхні під час технологічного процесу, та не є дефектами

початкової структури. На рис. 3.10 стрілкою 1 відзначено утворення складки попереду частки та невеличкої западини позаду – стрілка 2.

У подальшому процесі синтезу алмазоподібного покриття інтеркальовані частки служать центрами зародкоутворення. Присутність на інтеркальованих частках більш мілких зерен свідчить про наявність вторинного зародкоутворення на них при нанесенні АПП (рис. 3.11). Крім цього, деякі краплини, вірогідно, з'явилися у процесі синтезу АПП, що є результатом перенесення крупних часток матеріалу катода на підкладку при нанесенні.

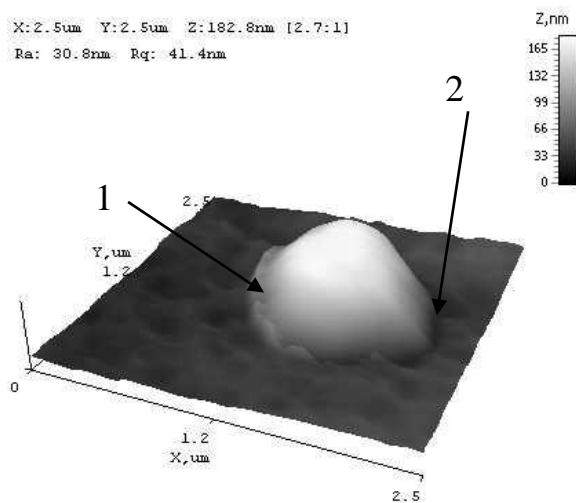


Рисунок 3.10 – Створення часткою кратеру у плівці: 1 – складка , 2 – западина (підкладка зі скловуглецю).

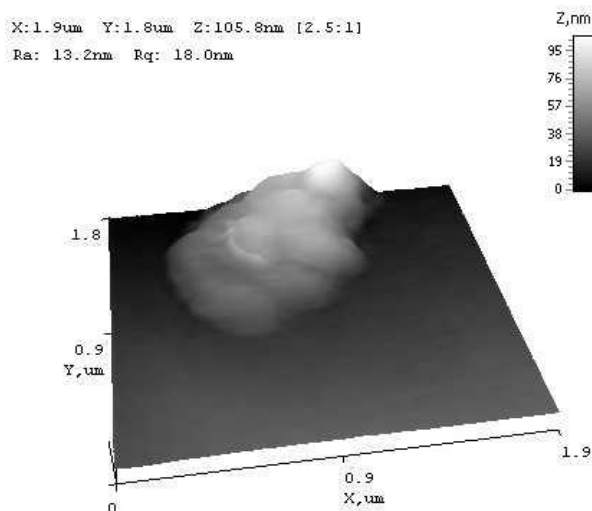


Рисунок 3.11 – Вторинне зародкоутворення на краплинах матеріалу (підкладка зі скловуглецю)

Іншим типом дефектів були проколи плівки (рис.3.12), що зумовлені зривами плазми (електричним пробоем плівки). Нестабільність плазми при тривалому часі її підтримування для нанесення товстих (>3 мкм) та щільних плівок приводила до збільшення цих дефектів, що потребувало пошуку режимів при яких плазма була більш стабільна.

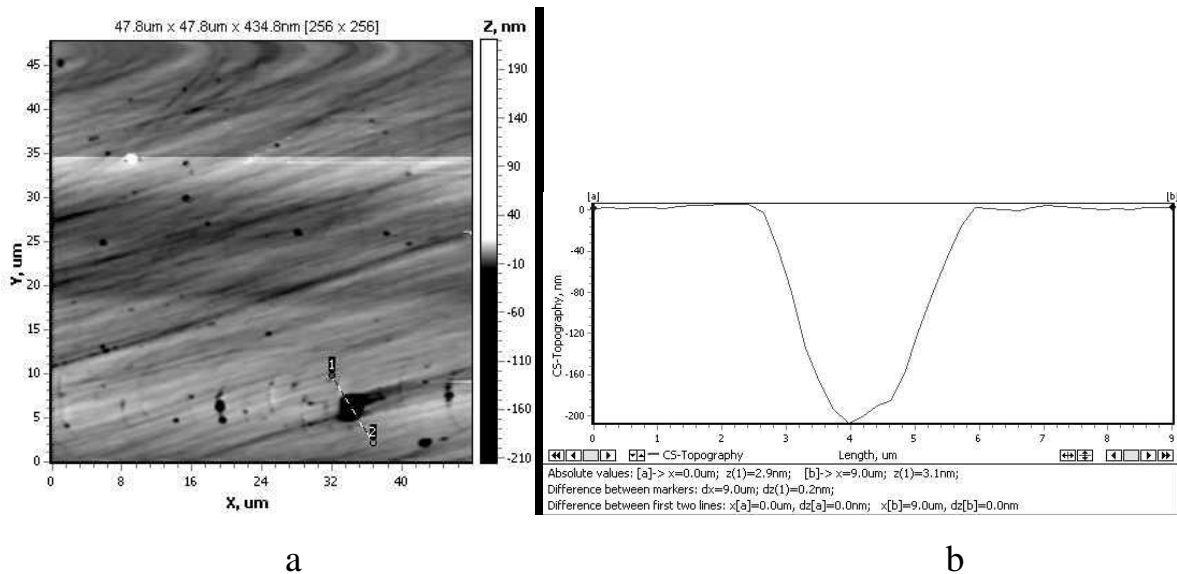


Рисунок 3.12 – Морфологічні дефекти алмазних покриттів: проколи плівки (а – 2D-зображення поверхні, б – розтин поверхні вздовж лінії між маркерами 1 та 2)

Дослідження впливу кількості легуючого газу виявило подрібнення наноалмазних зерен, що свідчить про більш щільну плівку, та можливість отримувати щільну плівку при меншій товщині рис. 3.13.

3.1.4 Дослідження електричних властивостей АПП

Покриття ta-C:N одержано з фільтрованої плазми вакуумно-дугового джерела з графітовим катодом в азоті за умов прикладення до підкладки ВЧ потенціалу 50-1000 В. Питомий електричний опір в напрямку поперек шару складає $5 \cdot 10^3 - 2.7 \cdot 10^7$ Ом·см. В електрохімічних вимірюваннях на електродах з ta-C:N покриттями одержано більш широку зону ідеальної поляризації та менший фоновий струм порівняно зі скловуглецем. У експериментальних дослідженнях визначено, що окислювально-відновлювальні реакції в системі $K_3[Fe(CN)_6] + K_4[Fe(CN)_6]$ є оборотними на отриманому матеріалі.

Стабільність та відтворюваність результатів вимірювань свідчить про хімічну стабільність одержаних та-C:N покриттів.

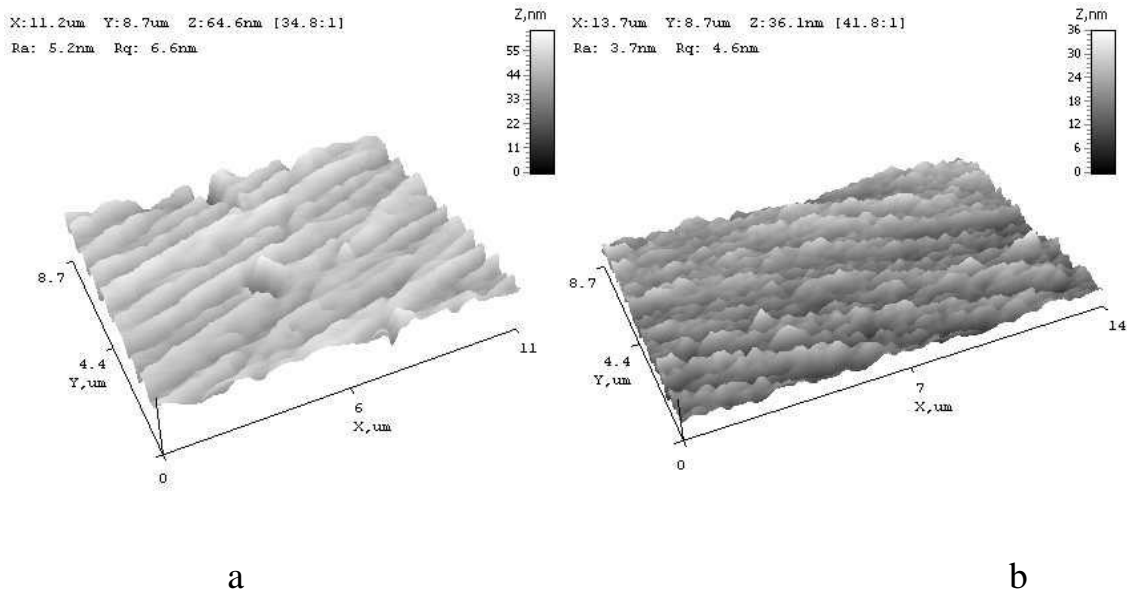


Рисунок 3.13 – Морфологія поверхні алмазних покриттів
(кількість азоту у газовій фазі при нанесенні: а – 0,1%; б – 2%)

Отримані покриття були темного кольору, непрозорі. Їх товщина була виміряна за допомогою інтерференційного мікроскопа МІІ-4, та становила $0,3 \div 0,6$ мкм. Вимірювання електричного опору ρ поперек шару дали наступні результати. Найбільший опір $\rho = 2,7 \cdot 10^6$ Ом \cdot см мали зразки, що отримані в першій серії (потенціал зсуву $50 \div 100$ В) при тиску азоту $1 \cdot 10^{-4}$ Торр. Найменший опір $\rho = 5 \cdot 10^3$ Ом \cdot см показали зразки, отримані в другій серії (потенціал зсуву 1000 В, тиск азоту $(1 \div 2) \cdot 10^{-4}$ Торр).

Залежність питомої електричного опору ρ від тиску азоту для зразків, отриманих в першій серії, є монотонно спадною (рис. 3.14). Зміна тиску на порядок викликає зміну ρ майже на два порядки.

3.1.5 Електрохімічні дослідження АПП

Електрохімічні дослідження включали порівняльні вимірювання характеристик електродів, виготовлених зі скловуглецю без покриття та з та-C:N покриттям, які отримані при потенціалі зміщення 1000 В. Методом

циклічної вольтамперометрії (ЦВАМ) були отримані вольтамперограми фонові системи $\text{H}_2\text{O} + 0,1 \text{ M LiClO}_4$ на електродах зі скловуглецю без покриття (СВ) та з та-С: N покриттям (АПП) в катодній (рис.3.15) та анодній (рис.3.16) областях. Виміри проведені при швидкості розгортки потенціалу $100 \text{ мВ} / \text{с}$.

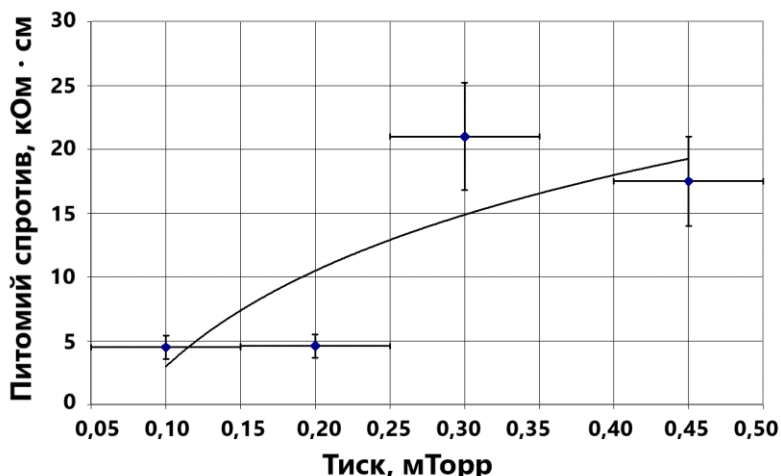


Рисунок 3.14 – Залежність питомої електричного опору від тиску азоту в процесі осадження та-С: N покриття при потенціалі зміщення на підкладці 1000 В .

Проведені дослідження показали, що електроди з та-С: N покриттям характеризуються значно меншим фоновим струмом, це дозволяє отримати значно вище відношення сигнал/шум для відомих аналітичних систем. Також спостерігається розширення області ідеальної поляризації, тобто діапазону робочих потенціалів, де можливо проводити окислення або відновлення реагентів, що дає можливість використання нових аналітичних систем для водних проб.

Наступним етапом вивчення властивостей та-С: N покриттів як електродного матеріалу було дослідження оборотності електрохімічних реакцій на даному електроді.

В якості тестової одноелектронної системи в роботі використано пару $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] + \text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ [129-131]. Відомо, що різниця між потенціалами піків окислення і відновлення для оборотних електрохімічних реакцій

становить величину ≈ 58 мВ. З вольтамперограмм (рис. 3.17) видно, що зразок №9 з нелегованої та-С покриттям характеризується: великою різницею амплітуд піків окислення і відновлення (амплітуда піку відновлення на 18% менше амплітуди піку окислення), різницею між піками в 750 мВ, нижчою щільністю струму по порівняння з платиновим електродом. Це свідчить про низьку провідності покриття та/або енергетичні труднощі перенесення електрона на даному електродному матеріалі особливо для катодної фази.

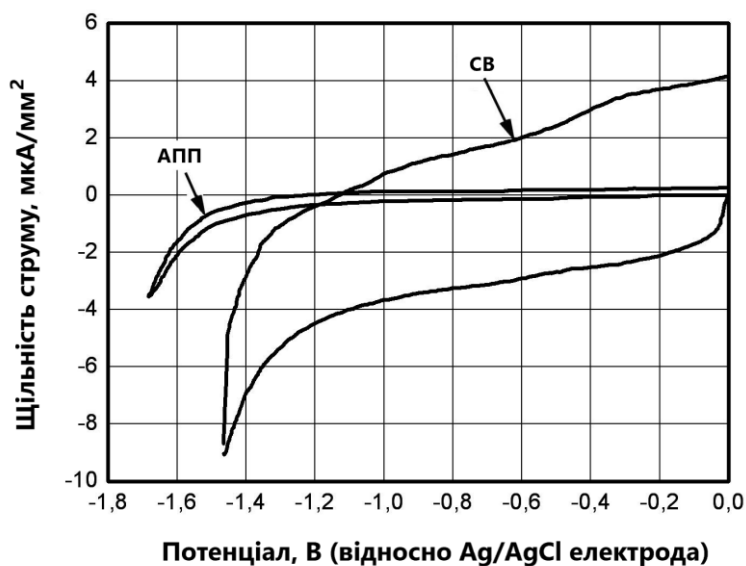


Рисунок 3.15 – Катодна область вольтамперограмм фонові системи $\text{H}_2\text{O} + 0,1$ М LiClO_4 , що отримано методом ЦВАМ на електродах зі скловуглецю (СВ) та АПП

Зразок №8 з та-С: N покриттям, отриманим шляхом осадження вакуумно-дугового вуглецевої плазми при тиску азоту $1 \cdot 10^{-3}$ Торр, характеризується набагато більш високою електропровідністю. Амплітуди піків і їх розташування на вольтамперограмі, отриманих для зразка №8 в якості робочого електрода, можна порівняти з характеристиками, платинового електрода, для якого не спостерігається енергетичних ускладнень в даній електрохімічній реакції (з цієї причини він був узятий в якості зразка). Вольтамперограма зразка №10 з та-С: N покриттям, отриманим при тиску азоту $2 \cdot 10^{-3}$ Торр, виявляє трохи більшу (на $10 \div 20$ мВ) різницю між піками й

зниження щільності струму процесів окислення та відновлення, що знаходиться у відповідності з більш високим опором цього покриття.

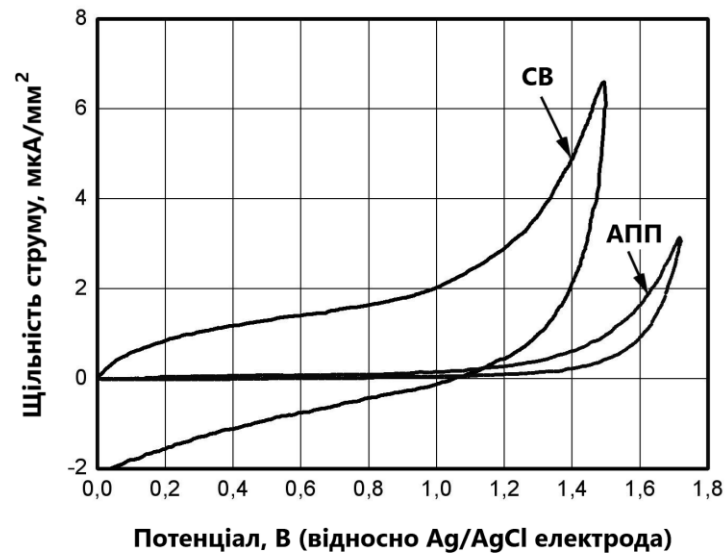


Рисунок 3.16 – Анодна область вольтамперограмм фонові системи H_2O + 0,1 М LiClO_4 , отриманих методом ЦВАМ на електродах з скловуглецю (СВ) і АУП

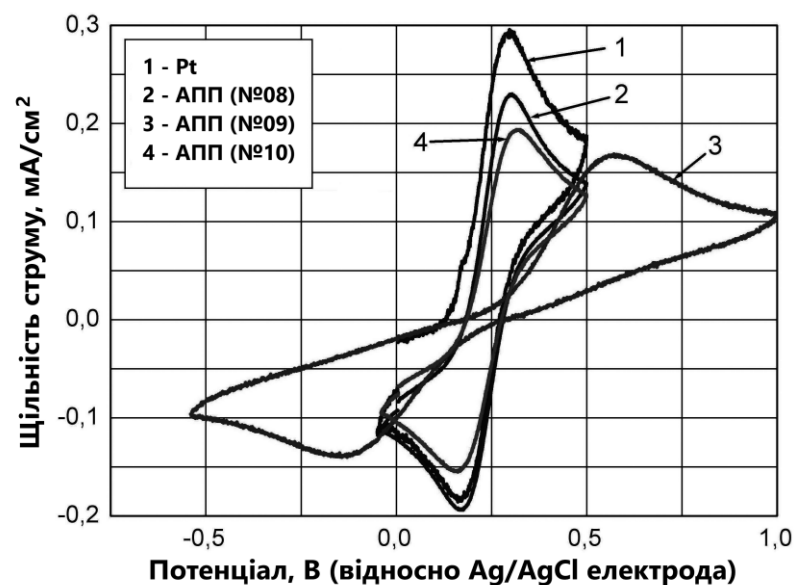


Рисунок 3.17 – Вольтамперограми отримані методом ЦВАМ на електродах з Pt - 1 та скловуглецю з АПП, отриманими при тиску легуючого газу (N_2): №08 - $1 \cdot 10^{-3}$ Торр, №09 - без легування, №10 - $2 \cdot 10^{-3}$ Торр, у розчині 1мМ $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ + 1,1мМ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ + 0,1М LiClO_4 в бідистильованій воді

Отримані результати збігаються з дослідженнями еволюції електрохімічних властивостей алмазних електродів при додаванні легуючих речовин [132,133]. Так у слабо легованого алмазу спостерігаються напівпровідникові властивості, при цьому вентильний ефект алмазних напівпровідникових електродів проявляється в асиметрії піків окислення і відновлення речовин для одноелектронних реакцій. Зі збільшенням концентрації легуючих речовин алмаз стає «металоподібними», і реакції більш зворотними [134-144].

3.2 Технологія Лангмюра-Блоджетт для формування конденсованих мономолекулярних плівок органічних сполук

Технологія Лангмюра-Блоджетт (ЛБ) дозволяє отримати моно- і мультишарові високоорганізовані плівки з контрольованою товщиною, орієнтацією і високою поверхневою щільністю люмінесцентних центрів. Однак існуючі найбільш ефективні електрохемілюмінофори, наприклад антраценового типу, або металоорганічні комплекси не є амфіфільними і не здатні самостійно утворювати однорідні і стабільні лангмюрівські моношари на поверхні водної субфази і, таким чином, ЛБ плівки.

Одним з підходів до вирішення такої проблеми є створення ЛБ-плівок змішаних бінарних систем на основі термодинамічно стабільних амфіфільних мономерних або полімерних сполук з іммобілізованими в них неамфіфільними хемілюмінесцентними молекулами. Головна вимога до компонентів системи – здатність утворювати фазово-однорідну систему.

При розробці технології створення впорядкованих структур з рубреном і піридинієвим комплексом рутенію було враховано те, що ці електрохемілюмінофори мають протилежні властивості відносно розчинності у водному середовищі, тому і технологія створення впорядкованих структур на їх основі буде різною. Крім того, для розробки такої технології необхідно враховувати основну вимогу – утворення фазово однорідної системи, що залежить як від властивостей електрохемілюмінофорів, так і від умов

проведення ЕХЛ-досліджень в сенсорі, що розроблюється, а саме вміст електроліту (розчинник, фоновий електроліт), матеріал електродів та умови електролізу. Враховуючи це, в якості лєнгмюрогенних матриць використані відомі лєнгмюрогенні як мономерні, так і полімерні сполуки – стеаринова кислота (СтК) і поліметилметакрилат (ПММА), досліджені умови їх формування та переносу моношарів на кварцові або прозорі струмопровідні (ІТО) підкладки, визначення люмінесцентних властивостей отриманих мультшарових ЛБ плівок і розробка на цій основі технології створення впорядкованих молекулярних структур з інкорпорованими електрохемілюмінофорами на підкладках з ІТО-електродами.

3.2.1 Технологія ЛБ-плівок системи ПММА/рубрен та СтК/рубрен

Площа проєкції молекули рубрену, що розрахована для модельної структури для її просторової орієнтації, коли її базова площина є паралельною межі поділу вода/повітря, складає $1,25 \text{ нм}^2$, а коли нормально до межі поділу — $0,64 \text{ нм}^2$. Величина A , отримана з π - A ізотерм для системи ПММА/рубрен при концентрації рубрену більше 20% мольн. складає $0,36 \text{ нм}^2$. Це значення суттєво менше того, що мало би місце для нормальної орієнтації базової площини молекули рубрену в ПММА. Це вказує на можливість фазового розподілу в моношарах системи ПММА/рубрен з утворенням агрегатів з молекул рубрену. Разом з тим, відтворюваність і достатньо високе значення тиску колапсу вказує на те, що частина молекул рубрену розчинені у полімерній матриці і орієнтовані таким чином, що тільки частина молекули рубрену (бокові бензольні групи) знаходяться між макромолекулами ПММА, а базова площина, внаслідок значної гідрофобності рубрену виштовхується на поверхню моношару. Залежність площини на молекулу рубрену від концентрації рубрену в моношарі системи ПММА/рубрен і від поверхневого тиску дозволяє зробити висновок, що просторова орієнтація молекул рубрену в моношарі може контролюватися саме цими параметрами.

Площа на молекулу рубрену в моношарі системи стеаринова кислота/рубрен (СтК/рубрен) для концентрації хемілюмінофору менше 20% (мольн.) складає приблизно $0,76 \text{ нм}^2$. У порівнянні з системою ПММА/рубрен – це значно більше. Тому можна припустити, що іммобілізація молекул рубрену їх просторова орієнтація в моношарі СтК/рубрен відрізняється від системи ПММА/рубрен. В першому випадку молекули хемілюмінофору розташовані своєю базисною площиною між алкільними радикалами молекул стеаринової кислоти. Зменшення площі на молекулу, що має місце при збільшенні концентрації рубрену в системі СтК/рубрен (табл. 3.1 і 3.2), також як і для системи ПММА/рубрен, обумовлено агрегацією молекул рубрену.

Таблиця 3.1 – Характеристика моношарів бінарних систем ПММА / рубрен для різних концентрацій рубрену в моношарах

$C_{\text{руб}},$ моль. %	Стисливість, δ , м/мН			$A_{12},$ нм ²	$\pi_k,$ мН/м	$A_{\text{руб}}, \text{нм}^2$
	$\pi=7, \text{ мН м}^{-1}$	$\pi =12, \text{ мН м}^{-1}$	$\pi=18, \text{ мН м}^{-1}$			
0	0,140	0,014	0,031	0,18	0,26	-
10	-	0,059	0,021	0,21	0,20	45
20	0,400	0,021	0,034	0,22	0,20	36
30	0,063	0,048	0,039	0,18	0,22	18.4
50	0,053	0,035	0,054	0,17	0,29	15

Тиск колапсу у ленгмюрівських моношарах системи СтК/рубрен значно вищий за тиск для ПММА/рубрен (рис. 3.18, 3.19). Коефіцієнт стиснення моношарів знижується при збільшенні поверхневого тиску, і в інтервалі значень $\pi = 12 \div 19 \text{ мН м}^{-1}$ (ПММА / рубрен) і $\pi = 25-50 \text{ мН м}^{-1}$ (СтК / рубрен) фазовий стан моношарів подібний до рідиннокристалічного.

Моношари систем ПММА / рубрен і СтК / рубрен при оптимальній концентрації рубрену (20% моль) стабільні на поверхні субфази і

переносяться на кварцові і струмопровідні (ІТО) підкладки з коефіцієнтом переносу, близьким до одиниці.

Таблиця 3.2 – Характеристика моношарів бінарних систем СтК / рубрен для різних концентрацій рубрену в моношарах*

C _{руб.} моль. %	Стисливість, δ , м/мН			A ₁₂ , нм ²	π_k , мН/м	A _{руб.} , нм ²
	$\pi = 5$, мН м ⁻¹	$\pi = 15$, мН м ⁻¹	$\pi = 30$, мН м ⁻¹			
10	0,074	0,019	0,013	0,22	58	0,66
20	0,039	0,024	0,006	0,32	58	0,76
30	0,173	0,017	0,011	0,32	55	0,56
50	0,059	0,005	0,005	0,24	46	0,27
0	0,072	0,019	0,044	0,20	58	-

* A_{руб.} – площа на одну молекулу рубрену в моношарі; C_{руб.} – концентрація (в мольн. %) рубрену в стеариновій кислоті, π_k – тиск колапсу, $\delta = -(1/A)(\partial A / \partial \pi)_T$, T – термодинамічна температура формування плівки.

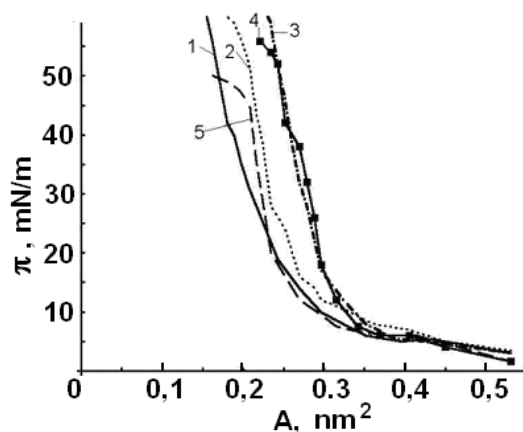


Рисунок 3.18 — π - A ізотерми бінарної системи ПММА / рубрен для концентрацій рубрену в моношарі: 1)- 0% — ПММА, 2) – 10%, 3) -20%, 4) – 30%, 5) – 50% (мольн.)

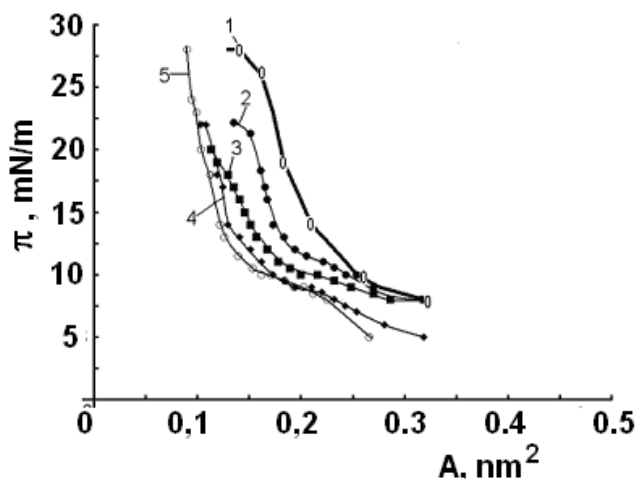


Рисунок 3.19 — $\pi - A$ ізотерми бінарної системи СтК / рубрен для концентрацій рубрену в моношарі: 1)- 0% - СтК, 2) – 10%, 3)-20%, 4) – 30%, 5) – 50% (мольн.)

Визначення факторів отримання однофазних ленгмюрівських моношарів дозволило виконати дослідження умов створення багат шарових ЛБ плівок з бінарних систем ПММА / рубрен і СтК / рубрен. Знайдено, що коефіцієнт переносу моношарів на прозорі кварцова підкладки для системи ПММА / рубрен забезпечує метод горизонтального ліфту. Оптимальний тиск, при якому здійснювалось нанесення моношарів на підкладку, становив 18 мН/м. Для системи СтК/рубрен найбільш оптимальним є метод вертикального ліфту, а тиск переносу становив 30 мН/м. Перед нанесенням моношарів підкладки з ІТО покриттям промивались у ізопропіловому спирті, хлороформі і воді. Кварцові підкладки – оброблялись у 35% розчині перекису водню при температурі 60°C і воді. Дослідження спектрів поглинання і люмінесценції рубрену в ЛБ плівці системи ПММА / рубрен, системи СтК / рубрен, а також розчину рубрену у хлороформі виявили наступні залежності. Вид спектрів відповідає описаному в літературі. Максимуми поглинання знаходиться при $\lambda_{\text{abs}} = 495\text{нм}$. Максимум люмінесценції рубрену в розчині хлороформу знаходиться поблизу $\lambda_{\text{lum}} = 559 \pm 1\text{ нм}$, в той час як в ЛБ плівках двох систем – при $\lambda_{\text{lum}} = 555 \pm 1\text{ нм}$. Малий гіпсохромний зсув, ймовірно обумовлений слабкою взаємодією молекул рубрену з матричними молекулами.

3.2.2 Атомно-силові дослідження ЛБ плівок

Застосування атомно-силової мікроскопії дозволило дослідити морфологічні аспекти формування шару ПММА/рубрен на поверхні ІТО електродів (рис. 3.20). В дослідженнях на великій площині виявлено формування рівномірної плівки невеликої шорхності, показники $R_a = 1,86$ нм та $R_q = 3,35$ нм, відповідно до досліджень характеристик поверхні (рис. 3.21), що наведено на рис. 3.20.

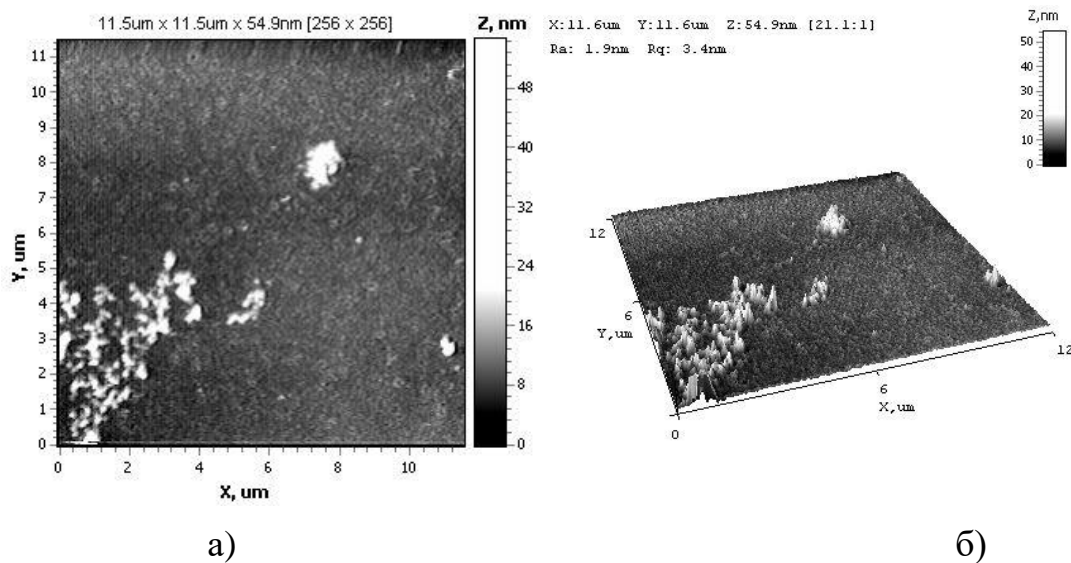


Рисунок 3.20 – Морфологія ІТО підклад з нанесеним шаром ПММА/рубрен, що нанесено при поверхневому натягу 18 мН/м та співвідношення рубрена до мономера ПММА 1:5. а)

Фрактальний аналіз поверхні електродів наведено на рис. 3.22. Функція залежності відношення логарифму периметру фрактала до площі поверхні фрактала дає добру лінійну залежність, коефіцієнт самоподібності складає 0,988. Розмір фракталу дорівнює 2,977. Характеризує рівномірність отриманої плівки.

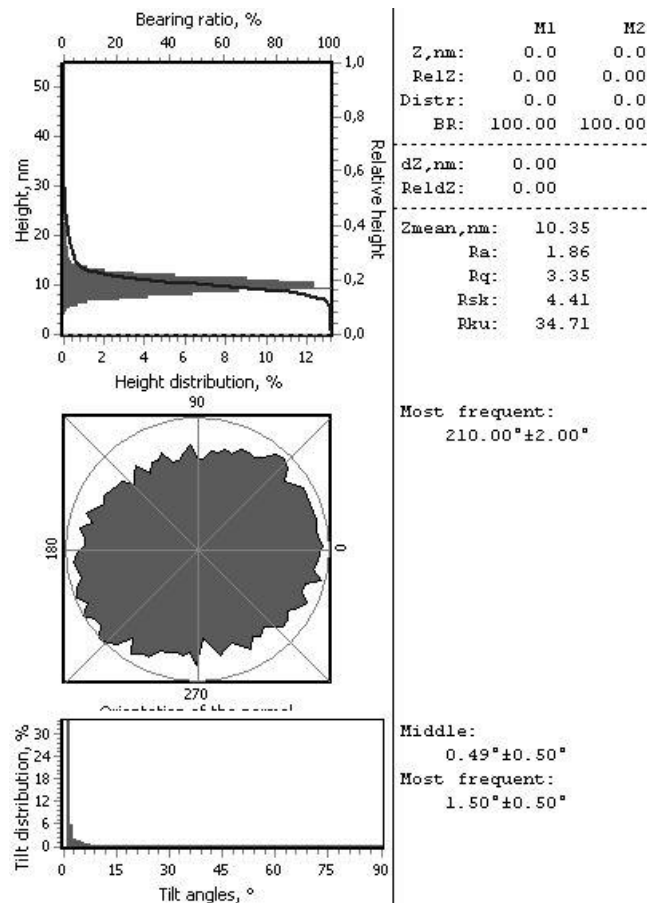


Рисунок 3.21 – Параметри поверхні ЛБ плівки з рис. 3.20. Зверху в низ: Розподіл висот, напрям кута нахилу нормалі до площині поверхні в точці, та розподіл кута нахилу нормалі до площині поверхні зразка в точці.

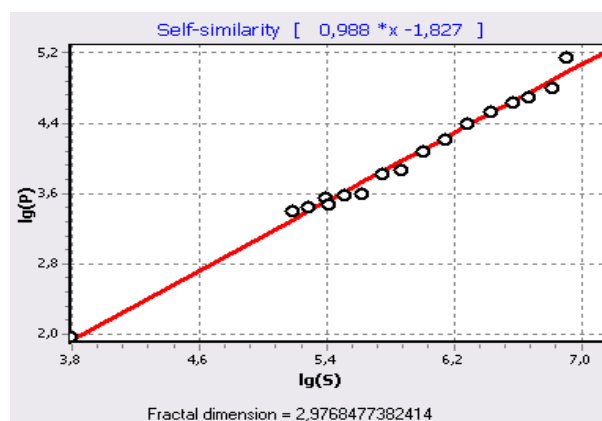


Рисунок 3.22 – Результати фрактального аналізу поверхні з рис. 3.20.

В дослідженнях на малих полях (рис. 3.23) вдалося виявити структуру формування полімера на поверхні у виді глобул з характерними значеннями

їхнього діаметру $207 \text{ nm} \pm 20 \text{ nm}$. Розбіжність у розмірах, вірогідніше є результатом різниці довжини ланцюгів полімеру відповідних молекул.

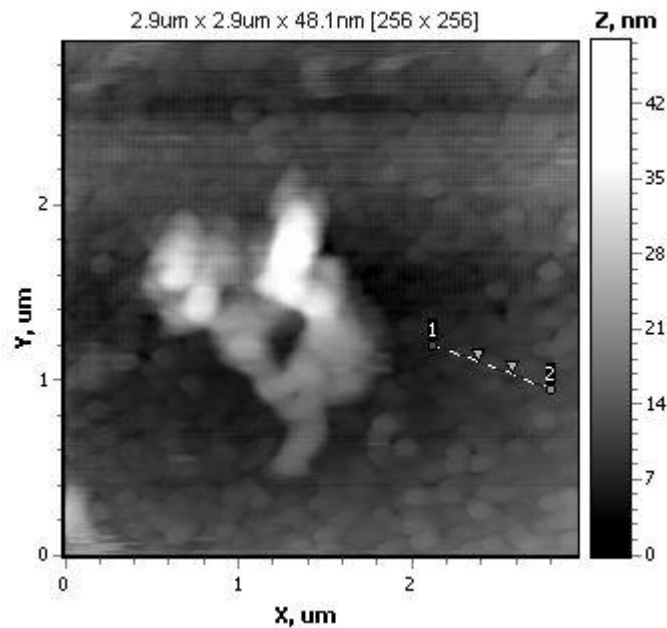


Рисунок 3.23 - Топографія поверхні ІТО електрода вкритого шаром ПММА/рубрен. (Лінія 1-2 маркує перетин поверхні, що наведено на рис. 3.24)

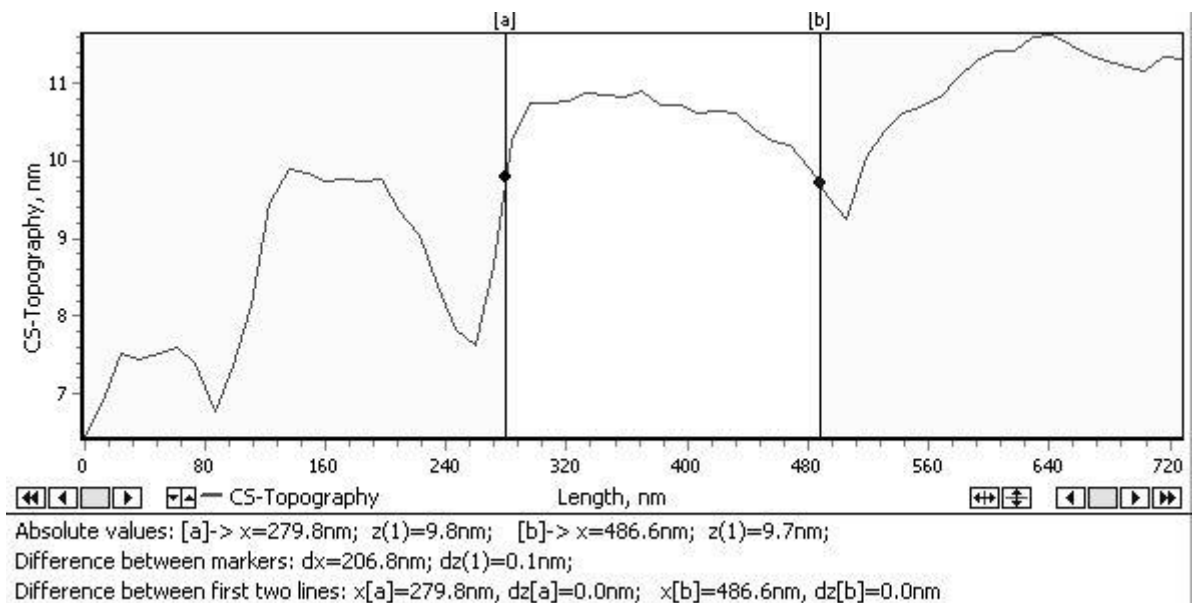


Рисунок 3.24 – Профіль перетину поверхні, що наведена на рис. 3.23.

Встановлена лінійна залежність інтенсивності лінії люмінесценції рубрену від кількості перенесених на підкладку моношарів для обох систем. На цій основі зроблено висновок про незалежність коефіцієнту переносу моношарів для обох систем від кількості попередньо перенесених моношарів.

Встановлено, що зі збільшенням поверхневого тиску, при якому здійснюється перенесення моношарів на підкладку, зростає інтенсивність люмінесценції. Тобто, зі збільшенням поверхневого тиску поверхнева щільність молекул рубрену у моношарі, і тим самим, об'ємна щільність зростає. Встановлено, що при однаковій кількості перенесених на підкладку моношарів інтенсивність люмінесценції для ЛБ плівок системи ПММА / рубрен приблизно у 2.5 рази більша, ніж для системи СтК / рубрен.

3.2.3 Технологія формування сенсорних елементів на базі ЛБ-плівок

На підставі експериментальних робіт, а також комп'ютерного моделювання розміщення молекул електрохемілюмінофорів у ленгмюрогенних матрицях — стеаринової кислоти (низькомолекулярна сполука) і поліметилметакрилату (високомолекулярна сполука), проведений комплекс досліджень для отримання впорядкованих тонкошарових структур з електрохемілюмінофорами — рубреном і піридинієвим комплексом рутенію в ленгмюрогенних матрицях. На цій основі розроблений технологічний процес створення надтонких органічних плівок з електрохемілюмінофорами на прозорих струмопровідних електродах. Технологія включає наступні основні процеси.

Для плівок з рубреном:

1. Підготовку поверхні струмопровідних підкладок.
2. Підготовку сумісного розчину електрохемілюмінофору і поліметилметакрилату.
3. Нанесення сумісного розчину рубрен /поліметилметакрилат на поверхню бідистильованої води у ленгмюрівській установці.
4. Створення конденсованого ленгмюрівського моношару.
5. Послідовне перенесення методом Шеффера ленгмюрівських моношарів на струмопровідні підкладки.
6. Просушування отриманих структур.

Для плівок з комплексом рутенію:

1. Підготовку поверхні струмопровідних підкладок.
2. Приготування водного розчину електрохемілюмінофору.
3. Приготування розчину жирної кислоти у неполярному розчиннику.
4. Нанесення розчину жирної кислоти на поверхню водного розчину комплексу рутенію у ленгмюрівській установці.
5. Формування конденсованого ленгмюрівського моношару на межі поділу вода/повітря.
6. Послідовне перенесення методом вертикального ліфту моношарів на струмопровідні підкладки.
7. Просушення отриманих структур в камері без доступу світла у повітрі при температурі $50^{\circ}\text{C} \div 60^{\circ}\text{C}$.

Результати ЕХЛ досліджень сенсорів на базі ЛБ плівок проведено в шостому розділі (див. п. 6.4).

3.3 Функціоналізація поверхні електрода вуглецевими нанотрубками

Одним з методів функціоналізації поверхні електродів є хімічна пришивка наноматеріалів на їх поверхню. В пункті наведено класифікація відомих технологій функціоналізації електродів вуглецевими нанотрубками (ВНТ), та опис технології функціоналізації поверхні електродів вуглецевими нанотрубками що було розроблено в роботі. Для чого запропоновано використання хімічної обробки поверхні електродів, що використовує альфа-ліпоєву кислоту для організації ковалентної зшивки вуглецевої нанотрубки з матеріалом електрода (золотом), що функціоналізується.

3.3.1 Класифікація методів функціоналізації електродів за допомогою ВНТ

Вуглецеві нанотрубки є перспективним матеріалом для електрохімічних застосунків [145-146]. Його властивості досліджується багатьма авторами, як і технології його модифікації [146-156].

Модифікація електрода через зв'язок Au-CNT можуть бути класифіковані відповідно до способів їх організації:

1) пряме поєднання Au-CNT, коли вуглецеві нанотрубки безпосередньо прикріплені до поверхні золотого електрода без будь-яких з'єднуючих молекул;

2) зв'язок Au-CNT, коли є деякі посередники між вуглецевими нанотрубками та золотим електродом.

Поверхневий зв'язок Au-CNT може бути додатково класифіковано як ковалентно зв'язані і не зв'язані ковалентно. Тут ми визначаємо ковалентно зв'язаними ті, що мають тільки з одну молекулу або групу між вуглецевою нанотрубкою та поверхнею золотого електрода та молекула ковалентно пов'язана з вуглецевими нанотрубками і має Au-S зв'язок із золотом. Інші типи називаються не ковалентно пов'язані Au-CNT зв'язки.

Серед не ковалентного зв'язку Au-CNT, існує кілька різних типів сил або взаємодій між вуглецевими нанотрубками та золотом, і з'єднуючими молекулами. Для взаємодії вуглецевих нанотрубок і з'єднуючих молекул (докладний опис нижче), вони включають:

- π - π стекинг,
- гідрофобні сили,
- електростатичну взаємодію.

Для взаємодії між золотими наноструктурами і молекулами-лінкерами (див. подробиці нижче), є:

- Au-S зв'язок,
- взаємодія аміногрупи і золота,
- електростатична взаємодія.

У деяких випадках є тільки одна молекула, яка пов'язує золотий електрод з вуглецевою нанотрубкою, в той час як інші можуть мати дві або більше молекул, які утворюють зв'язок.

Пряме осадження наночастинок золота на вуглецевих нанотрубках.

У методі прямого осадження вуглецеві нанотрубки осідають на немодифіковану або функціоналізовану поверхню електрода, але без будь-яких зовнішніх з'єднуючих молекул. Процес функціоналізації зазвичай використовується для створення деяких функціональних груп на поверхні вуглецевих нанотрубок шляхом розбивання С-С зв'язків і створення нових функціональних груп. Наприклад, обробка кислотою вуглецевих нанотрубок генерує -COOH групи на поверхні нанотрубок. Прямі методи осадження можна розділити на фізичні і «вологі» хімічні методи.

Фізичне осадження.

Термічне осадження нанотрубок на золотий електрод є одним з найбільш часто використовуваних фізичних методів. Автори [157] повідомив про метод термічного випаровування для нанесення золотих наноструктур на немодифіковані вуглецеві нанотрубки в закритій камері випаровування при 2×10^{-4} Па, де форми осадженого золота можуть бути невеликі сферичні частки або довгі дротоподібні структури.

Мокре хімічне осадження.

У порівнянні з фізичним осадженням, «вологі» хімічні методи, як правило, простіші, без необхідності вакуумного обладнання.

В процесі модифікації золота вуглецевими нанотрубками синтезуються до процесу осадження. Zhang і Wang [158], і Zhang і інш. [159] розробили методи *in situ* в один крок (рис. 3.25), щоб наносити золоті наночастки на очищені кислотою вуглецеві нанотрубки. Вуглецеві нанотрубки спочатку змішують із солями золота з утворенням прекурсора покриття на вуглецевих нанотрубках, і суміш потім нагрівають до кипіння з наступним додаванням цитрату натрію з утворенням наночастинок золота на нанотрубках. Розмір наночастинок золота можна регулювати шляхом простої зміни співвідношення цитрату натрію і HAuCl_4 . Ці наночастинки золота підвищили електрохімічний відгук біомолекул на електродах, вказуючи на біосенсорні застосування [160-163]. Автори [164] повідомили про *in situ* модифікацію вуглецевих нанотрубок наночастинками золота за допомогою мікрохвиль, де мікрохвильова обробка

функціоналізувала вуглецеві нанотрубки фрагментами $-\text{COOH}$ [165-166]. $-\text{COOH}$ фрагменти сприяли відкладенню наночастинок золота. Інший *in situ* метод [167], використовує метод, розроблений для електрохімічного осадження наночастинок золота на ІТО [164], де вуглецеві нанотрубки додатково модифіковані аміно-термінованою іонною рідиною. Крім того, УФ-опромінення може також викликати зростання наночастинок золота на вуглецевих нанотрубках з використанням ацетону в якості фоточутливого агента (Zhang і співавт., 2008).

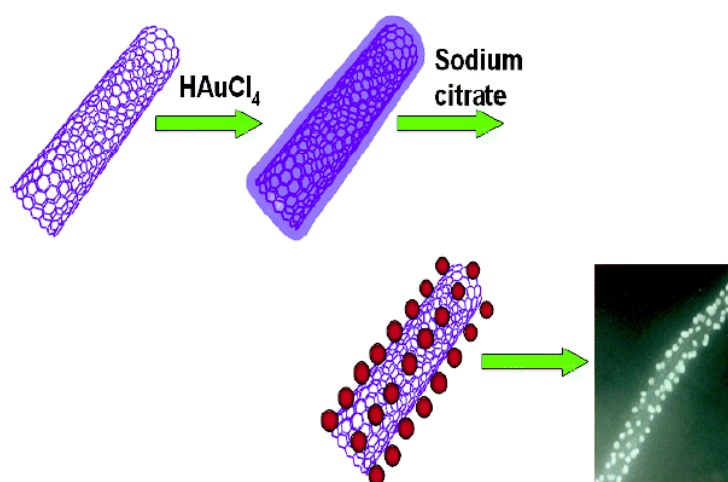


Рисунок 3.25 – *In situ* процедура осадження наночастинок золота на вуглецевих нанотрубках

Хімічні методи прямого осадження вуглецевих нанотрубок на золото ускладнено через низьку реакційну здатність вуглецевих нанотрубок. Автори [164] представили осадження вуглецевих нанотрубок за допомогою етанолу, який знижує поверхневий натяг між вуглецевими нанотрубками і покращує розчинність вуглецевих нанотрубок. В іншому методі [159] вуглецеві нанотрубки наносилися безпосередньо після 1-3 годин обробки ультразвуком, що призводить до зниження сплутування нанотрубок і дозволяло збирати переважно орієнтовані моношарові плівки.

2.2.2 Ковалентна модифікація золота вуглецевими нанотрубками.

Пряме осадження на золото не вимагає ніяких зв'язкових молекул між золотом і вуглецевими нанотрубками, і вони мають багато переваг, як простота процедури й чистота матеріалів. Проте, прямі методи осадження також має деякі недоліки, наприклад, сили між золотом і вуглецевими нанотрубками слабкі, таким чином, нанотрубки можуть бути відокремлені від золота при екстремальних умовах, таких як інтенсивна ультразвукова обробка. Хімічне осадження є складним процесом, що потребує частіше більше часу на обробку поверхні.

Як зазначено вище, зв'язок між вуглецевими нанотрубками і золотом може бути класифікований як ковалентних або нековалентний. Ковалентні зв'язки просто мають одну молекулу або групу між вуглецевою нанотрубкою і поверхнею золотого електроду. Ця молекула або група повинні мати один ковалентний зв'язок з вуглецевою нанотрубкою і Au - S зв'язок із золотим електродом. Альтернативно, може бути дві або більше молекул між ними, але ці молекули також мають бути ковалентно зв'язані. Нековалентний зв'язок може мати одну або більше молекул або груп між золотом і нанотрубками.

Автори [164-166] дали перший опис ковалентно функціоналізованих одностінних вуглецевих нанотрубок. Після цього було розроблено багато видів функціоналізації вуглецевих нанотрубок з ковалентними зв'язками. Wong з групою зробив огляду найбільш часто використовуваних способів модифікації вуглецевих нанотрубок, на основі окислених вуглецевих нанотрубок або вуглецевих нанотрубок без змін [167]. Окислені вуглецеві нанотрубки з карбоксилатними групами можуть бути використані для зв'язку з - OH, - NH₂, і іншими, а необроблені вуглецеві нанотрубки можуть бути безпосередньо функціоналізовані групою R-(CO)-O-(CO)-R, Li/NH₃ [167]. Ці методи ковалентного зв'язку були продемонстровані для осадження наночастинок на вуглецеві нанотрубки [168-169] модифікували багатостінні вуглецеві нанотрубки 2-аміноетантіолом (у присутності діциклогексилкарбодііміда) і зібрали наночастинок золота на цих вуглецевих нанотрубках шляхом зв'язування наночастинок золота до нанотрубки

тіолатними групамиами . Coleman і співавт. [170] ковалентно наносили наночастинки золота на одностінні вуглецеві нанотрубки з використанням реакції Бінгеля (Bingel) (рис. 3.26). Осадження засновано на реакції карбоксильних груп на вуглецевих нанотрубках з аміногрупами в 2-аміноетантіолі [171], і реакції тіольної групи в 2-аміноетантіолі з наночастинками золота. Zanella і співавт. [172] досліджували осадження наночастинок золота на різні алифатичні біфункціональні тіол модифіковані вуглецеві нанотрубки. Крім того, на основі карбоксильної групи на вуглецевих нанотрубках, $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ можуть бути змінені на вуглецевих нанотрубках шляхом реакції $-\text{OH}$ і $-\text{COOH}$ груп для іммобілізації на золоті [173].

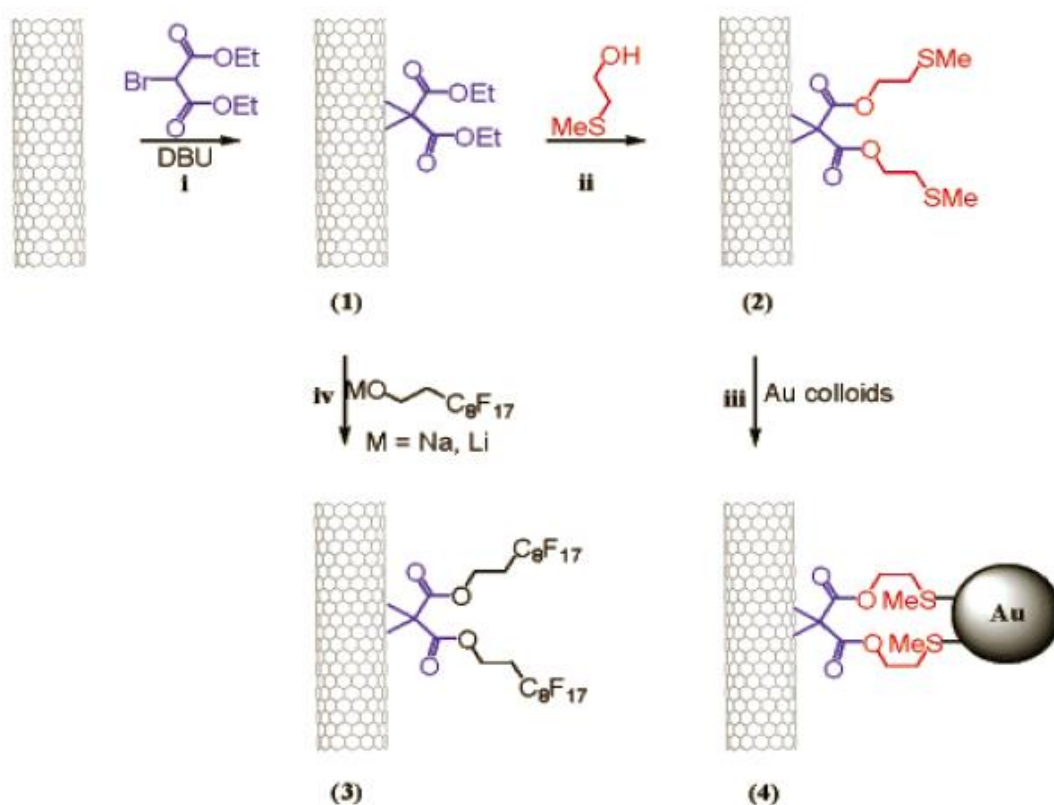


Рисунок 3.26 – Схематичне зображення хімії, що використовується для циклопропанування одностінних нанотрубок

Нековалентно пов'язані Au-CNT зв'язки

Ковалентне приєднання до вуглецевих нанотрубок наночастинок золота означає сильну іммобілізацію наночастинок золота на вуглецевих

нанотрубках, але процедури для функціоналізації вуглецевих нанотрубок і щеплення тіолових груп не є дуже простими. Крім того, в багатьох випадках, ковалентні зв'язки не є необхідними для подальшого застосування золотих нанокompatитів. Тому виробляються багато нековалентно пов'язаних нанокompatитів Au-CNT.

Як описано вище, існують різні сили або взаємодії між молекулами зв'язку та вуглецевими нанотрубками або наночастинками золота. Може бути одна або декілька молекул – зв'язків між вуглецевими нанотрубками та золотом. У цих випадках можуть бути прийняті три види процедур.

Тип 1: молекули – посередники спочатку прикріплені до золота, і потім наносяться наночастинки вуглецевих нанотрубок. [174]

Тип 2: молекули – посередники спочатку прикріплені до нанотрубок, а потім ці модифіковані нанотрубки з'єднані з золотом. [175]

Тип 3: Одразу і вуглецева нанотрубка і поверхня золота поєднані через молекулу за рахунок взаємодії молекули-посередника водночас з золотом та нанотрубкою. [176, 177]

3.3.2 Технологія функціоналізації електрода за допомогою ковалентної пришивки ВНТ через ліпоєву кислоту

Речовини, що мають тіолові групи мають можливість самоорганізувати молекулярні плівки на поверхні золота. В дослідженні вирішувалася задача розробки технології, що використовує інші хімічні речовини, а саме (\pm)- α -ліпоєва кислота (також відому як: (\pm)-1,2-дитиолан-3-пентанова кислота, 6,8-дитиоктанова кислота, DL- α -ліпоєва кислота, DL-6,8-тіоктова кислота, Lip(S₂)).

Для чого використовувався спеціально розроблений технологічний процес. Для його реалізації застосовувалися наступні речовини. В процесі модифікації розчином для хімічної обробки є ліпоєва кислота в етанолі, її концентрація становить 0,15 мг/мл.

Електродами слугували ситалові пластини з нанесеним на них шаром золота методом осадження в газовій фазі (товщиною в 5 мкм), що нанесено на підкладку через підшар хрому (300 нм). Підкладки були попередньо нарізані на пластини 15мм×15мм і товщиною 0,6мм, що і слугували основою для подальшої модифікації.

Процедура модифікації складалася з наступних кроків.

1) Попередньо пластини промивали ацетоном та етанолом за допомогою ультразвукової обробки (10 хвилин).

2) Після промивання вологі субстрати негайно занурювали в розчин для хімічної обробки (етанольний розчин ліпоєвої кислоти). Вони знаходились у розчині два дні при кімнатній температурі. Фіксації 1,2-дітіоланового кільця на поверхні золота здійснюється шляхом утворення зв'язків між атомами золота електрода з кожним атомом сірки в групі -S – S-, таким чином ланцюга пентанової кислоти розгорнуто у розчин. Його довжина сприяє наступну взаємодію з вуглецевими нанотрубками (ВНТ).

3) На наступному етапі сухі субстрати занурювали на 3 хвилини в тіонілхлорид, SOCl_2 - це рідина в нормальному стані. Цей реагент часто використовується для заміни -ОН групи в карбоксильній групі на Cl. Процедура хлорування використовується для проведення наступної стадії організації хімічного зв'язку ВНТ з поверхнею електрода.

4) Після вилучення з попереднього розчину субстрати підсушували у повітрі на протязі 10-30 с до випаровування залишків розчину. Потім його переносили в розчин ВНТ-СООН в толуолі, де залишали на 1 добу.

5) Після витримки в суспензії з ВНТ-СООН підкладки виймали з розчину. Для видалення надлишків ВНТ-СООН, що не прореагували з поверхнею електрода, їх промивали шляхом занурення у толуол і сушили на повітрі.

При розробці технології було виявлено наступні закономірності. Розподіл чорної фази ВНТ на деяких електродах пов'язано з розподілом SOCl_2 на електроді перед зануренням у розчин MWCNT. Тому просушення

електродів перед зануренням до розчину ВНТ є важливим. Надлишок розчину для хлорування у вигляді краплі може призвести до утворення зв'язків між нанотрубками за рахунок взаємодії з їх $-COOH$ групами. Подальша взаємодія з поверхнею може бути ускладнена за рахунок накопичення внутрішніх сил натягу за рахунок додаткових поєднань нанотрубок. Для зменшення цього впливу слід почекати випаровування тіонілхлориду з поверхні електродів перед зануренням електрода до розчину з ВНТ.

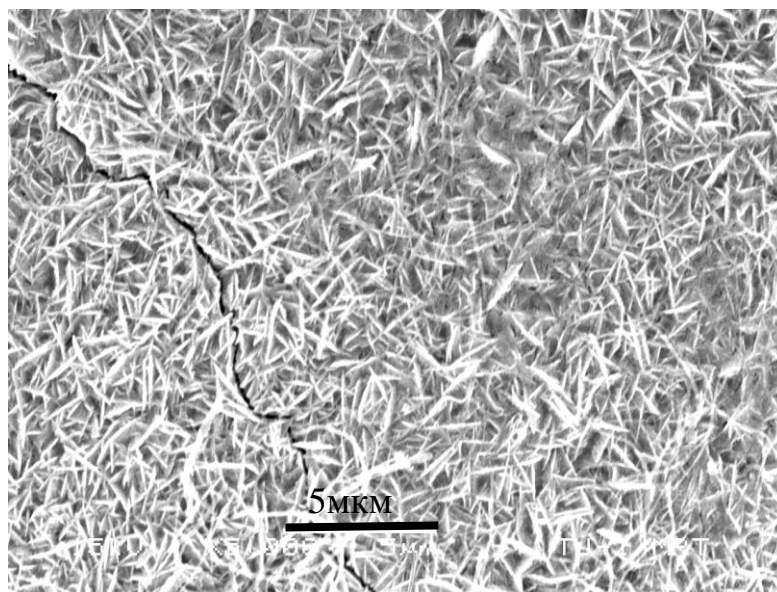


Рисунок 3.27 – SEM зображення поверхні золотого електрода, що модифіковано ВНТ (зображення отримано в Технічному університеті м. Ільмінау, скануючий електронний мікроскоп Hitachi S-4800 FE-SEM)

Використання суспензії ВНТ- $COOH$ з меншою варіативністю довжини дозволило отримати більш щільну плівку з меншою кількістю дефектів (рис. 3.27). Отже, запропонована технологія модифікація золотої частини мікроелектродів є можливою із застосуванням нового реагенту ліпоєвої кислоти.

Електрохімічні дослідження.

Підключення робочого електрода здійснювалося за допомогою мідного дроту в лаковій ізоляції, що поєднувався з поверхнею робочого електрода за допомогою провідного клею на основі срібної пудри в полімерній матриці. Для запобігання контакту розчину з відкритою ділянкою мідного дрота та

області нанесення провідного клею, вони оброблялися ізоляційним лаком. Площа електрода становила 1.52 cm^2 . В якості метода дослідження обрано циклічну вольтамперометрію, експеримент проводився зі швидкістю розгортки потенціалу 100 mV/s . Фоновим розчином для досліджень властивостей електродів був фосфатний буфер з різними значеннями рН (5,0; 7,0; 9,0).

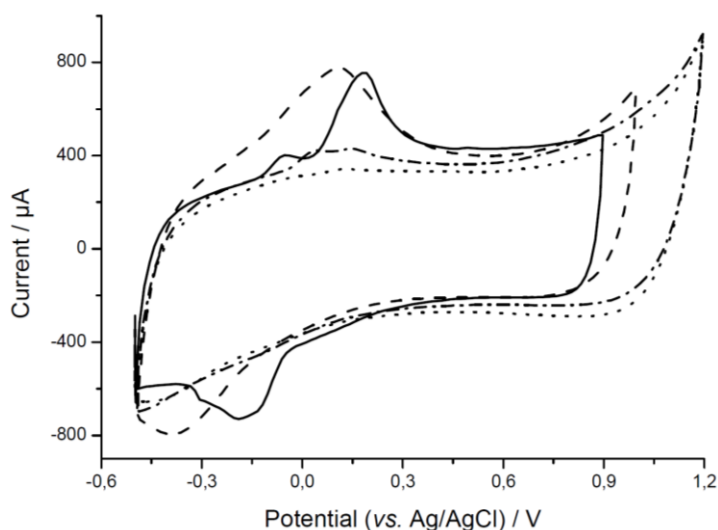


Рисунок 3.28 – Циклічна вольтамперограма для розчину аскорбінової кислоти (980 μM) на золотому електроді, що модифіковано ВНТ. (Пунктирна лінія – фоновий розчин без додавання аскорбінової кислоти, неперервна лінія – розчин АК з рН=5.0, штрихована лінія – розчин АК з рН=7.0, штрих-пунктирна лінія – розчин АК з рН=9.0).

3.4 Висновки за розділом

Аналіз науково-технічної літератури виявив проблему обмеженості традиційних електродних матеріалів у можливості проводити дослідження у водних розчинах при певних потенціалах, що пов'язано з розрядом розчину з одного боку та більш високими необхідними потенціалами для перебігу електрохімічного процесу з аналітом.

Іншою проблемою, що визначена для вирішення, це замала кількість доступних електрохемілюмінофорів для проведення аналізу в водних

розчинах, що обмежує можливості стосовно розробки ЕХЛ методик та відповідних сенсорів. Це обмежує список речовин, що можуть визначатися за допомогою цього методу.

Для вирішення зазначених проблем в розділі проведено розробку перспективних технологій: 1) створення алмазоподібних покриттів, що леговано азотом, 2) технології формування впорядкованих плівок методом Лангмюра-Блоджетт, 3) модифікації поверхні вуглецевими нанотрубками за рахунок ковалентного зв'язку через молекулу посередник. Ці технології виділено на підставі аналізу перспективи їх застосування в сенсоріці та активності публікації в цих напрямках.

При розробці технології створення алмазоподібних покриттів досліджувалися аспекти отримання високопровідного покриття з щільною структурою та відсутністю дефектів плівки, що отримується, що дозволяє отримати розширення вікна потенціалів поляризації. Визначено, для отримання провідних покриттів методом осадження з газової фази, за допомогою магнетронного розпиленням матеріалу та його фільтрування в магнітному сепараторі, що оптимальними умовами нанесення є створення тиску азоту $(1 \div 2) \cdot 10^{-4}$ Торр. Потенціал зсуву 1000 В від ВЧ генератора з частотою 10 МГц, накладався на підкладку. Товщина АПП плівок була виміряна за допомогою інтерференційного мікроскопа МІІІ-4, та становила $0,3 \div 0,6$ мкм. При обробці підкладок алмазною пастою з зернистістю ≤ 1 мкм товщина легованих алмазних покриттів без відшарувань могла бути доведена до 8 – 12 мкм і більш. Зразки, отримані в зазначених умовах характеризувалися опором поперек шару $\rho = 5 \cdot 10^3$ Ом · см, та показали гарні характеристики в електрохімічних дослідженнях. Поведінку зразка №8 в якості робочого електрода, можна порівняти з характеристиками, платинового електрода, для оборотної електрохімічної реакції різниця між піками окислення та відновлення наближалася до теоретичної межі біля 58 мВ. Амплітуда сигналу була менша на 19,64% від платинового електрода, що обумовлено більшим спротивом плівки, та вірогідно меншою активною

площиною ніж платинового електрода, за рахунок нерівномірності розподілу азоту в кристалічній решітці зерна алмаза. Оскільки нелегований алмаз є ізолятором, це залишає неактивним в електрохімічних реакціях. Це підтверджується фактом більш високих електрохімічних характеристик на зразках, що отримані зі зменшенням розмірів кристалітів до нанорозмірних 100...300 нм. Доведено, що технологія АПП дозволяє розширити вікно потенціалів поляризації речовин в водних розчинах, отримати деякі каталітичні властивості в електрохімічних процесах, та

Показано, що за рахунок розробки технології ЛБ формування впорядкованих молекулярних покриттів, можливо проводити фіксацію водонерозчинних електролюмінофорів в матриці плівкоорганізуючої органічної сполуки для проведення аналітичної реакції в водному розчині. За рахунок гетерогенного характеру сенсорної структури вдається отримати необхідну концентрацію люмінофора безпосередньо на поверхні електрода, тобто в безпосередній близькості до місця проходження аналітичної реакції. Речовина, що може визначатися може вільно контактувати з поверхнею плівки, впливаючи на відгук сенсора в оптичному діапазоні. Таким чином відкрита принципова можливість використання водонерозчинних люмінофорів, що розширює аналітичні можливості сенсорів з використанням методу ЕХЛ аналізу.

В дослідження бінарних композицій стеаринової кислоти з рубреном та стеаринової кислоти з ПММА з рубреном для формування сенсорного шару ЕХЛ сенсора визначено оптимальні умови формування шарів на поверхні ІТО електродів. Так оптимальним поверхневим натягом плівки для її перенесення на підкладку становило для композиції ПММА/рубрен 18 мН/м, а для композиції стеаринова кислота/рубрен – 30 мН/м. Визначено що для композиції ПММА/рубрен можна отримати в 2,5 рази більшу поверхневу концентрацію люмінофору в плівці, що дозволяє отримати більш високий відгук сенсора.

Використання вуглецевих нанотрубок з метою надання каталітичних властивостей електродні поверхні сенсорів, та застосування ВНТ як платформи для створення кон'югатів або подальшої модифікації є перспективним напрямом, що витікає з аналізу науково-технічної літератури. Одним з перспективних методів функціоналізації є застосування ковалентного поєднання ВНТ з поверхнею електрода. В роботі запропоновано використання нового посередника – (\pm) - α -ліпоевої кислоти, для організації зв'язку між ВНТ-СООН та поверхнею золотого електрода. Послідовність операцій з застосуванням хімічної «мокрої» технології організації шару ВНТ підтверджено за допомогою СЕМ досліджень функціоналізованої поверхні. Вони виявили наявність щільного вкриття електродної поверхні багатостінними нанотрубками довжиною приблизно 3 мкм. Електроди, що модифіковані цим матеріалом, продемонстрували певні каталітичні властивості в окисленні аскорбінової кислоти. У модельних дослідженнях з аскорбіновою кислотою отримано можливість визначати її вміст при потенціалі окислення 0,125 В (рН = 5,0), що є більш меншим значенням ніж для традиційних електродних матеріалів.

Під час розробки технології було виявлено наступні закономірності. Розподіл чорної фази ВНТ на деяких електродах пов'язано з розподілом SOCl_2 на електроді перед зануренням у розчин ВНТ. Тому просушення електродів перед зануренням до розчину ВНТ є важливим. Надлишок розчину для хлорування у вигляді краплі може призвести до утворення зв'язків між нанотрубками за рахунок взаємодії з їх -СООН групами. Подальша взаємодія з поверхнею може бути ускладнена за рахунок накопичення внутрішніх сил натягу за рахунок додаткових поєднань нанотрубок. Для зменшення цього впливу слід зачекати випаровування тіонілхлориду з поверхні електродів перед зануренням електрода до розчину з ВНТ.

Результати дослідження цього розділу викладено автором в наступних публікаціях [7, 20, 22] та апробовано на міжнародних конференціях [25, 31, 34, 35, 37, 47, 51, 54-59].

4. МЕТОДИ РЕЄСТРАЦІЇ ОПТИЧНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ З ФОТОННИХ СЕНСОРІВ

4.1 Реєстрація за допомогою сенсорів кольору

Одним з методів, що є конкурентним до спектроскопічного у визначенні кольорових координат світла, є порівняння випромінювання, що досліджується, зі зразком, що отриманий шляхом суміші трьох спектрально чистих кольорів. Іншим методом є проведення досліджень за допомогою трьох світлоперетворювачів, що мають різну спектральну чутливість.

Виміри кольорових координат випромінювання, без дослідження його спектру, проводять у колориметрах за допомогою виміру світлового потоку, що проходить через систему спеціальних світлофільтрів, які виділяють з нього красну, зелену та синю спектральні складові (для визначення кольорових координат RGB). Така конструкція значно здешевлює вартість колориметра у порівнянні зі спектрофотометром. Безумовно, це відбивається на адекватності результатів отриманих при дослідженні на рефлектометрі, відповідно це зменшує діапазон його використання. Однак, за умови проведення калібрування та побудови градуовальних характеристик можливо досягнення високих метрологічних показників та отримання точних і достовірних даних.

Досягнення у мініатюризації оптичних перетворювачів дозволили створити у цій області новітні оптичні елементи – датчики кольору. Структурно ці елементи являють собою матрицю фотодіодів, що розміщені на одному кристалі, та вкриті системою оптичних фільтрів, що дозволяють проводити оптичні дослідження у певній спектральній смузі. Частіш за все за систему кольорових досліджень обирається RGB-система з оптичними фільтрами на відповідні діапазони: червоного, зеленого, синього та канал без фільтрів (для деяких датчиків). Останній канал використовується для отримання загальної (інтегральної за спектром) інтенсивності оптичного сигналу.

На сучасному ринку радіоелектроніки датчики кольору представлені двома компаніями – Hamamatsu [178] та Avago [179], обидві є лідерами у побудові оптичних перетворювачів. Попит у дешевих та надмініатюрних сенсорах, що інтегрують у собі можливості дослідження інтенсивності оптичного сигналу у кольоровому форматі RGB є постійно зростаючим.

4.2 Реєстрації за допомогою фотоелектронного помножувача оптичного сигналу сенсорів.

Визначення надслабких оптичних сигналів є складною задачею, що досі вирішується насамперед шляхом використання фотоелектронних помножувачів (ФЕП) [180]. Їх застосування можливо в двох режимах включення, що відрізняються первинним каскадом підсилення та методом подальшого детектування сигналу, у струмовому та лічильному режимах.

Головною перевагою ФЕП є високий коефіцієнт посилення сигналу, який визначає широкий спектр їх застосування. Цей тип датчика може продемонструвати до 10^7 разів посилення сигналу, що недосягне іншими пристроями. Вихідний сигнал ФЕП помножується на фотострум у диодній системі ФЕП, тому його перетворення в напругу за допомогою транспімьедансного підсилювача є простим рішенням для інтеграції датчика в вимірювальну систему. Характеристики феноменального посилення ФМТ достатньо для отримання вихідного електричного сигналу, який можна виявити в результаті однофотонної адсорбції фотокатодом. Цей режим роботи називається режимом підрахунку фотонів. Тут є кілька достатніх зауважень: випромінювання не збирається повністю ФЕП, і не кожна фотонна взаємодія з фотокатодом виробляє фотоелектрон. Ефективність збору датчика та квантова ефективність фотокатодного матеріалу описують ці процеси. Статистика генерації імпульсів пов'язано з конструкцією ФЕП, для реєстрації окремих фотонів намагаються отримати виріб, що відповідає розподілу Пуассона. На ньому базується оцінка рівня шуму, що буде розглянуто нижче.

Проведено порівняння цих двох методів реєстрації сигналу та запропоновано відповідний комплекс обладнання для реєстрації оптичного випромінювання як в струмовому режимі (прилад «Spark») так і в режимі лічби імпульсів (прилад «Pulsar»), що будуть розглянуті в п'ятому розділі.

Для порівняння методів реєстрації слабкого світла за допомогою ФЕП, можна спростити формулювання до проблеми досягнення того ж самого рівня невизначеності у реєстрації сигналу. Досягти роздільної здатності одного фотона можна різними методами, найвищий рівень відношення сигнал-шум описує лічильний режим. Інші методи потребують більшого обсягу вимірювань, тому вони менш точні, якщо час їх вимірювання порівнянний, або повільніші, для отримання рівня невизначеності. Оцінка переваги лічильного режиму над струмовим режимом має квантову ефективність 1,2. Математична формалізація обробки сигналів може бути здійснена шляхом аналізу виразу для відношення сигнал/шум.

Струмовий режим реєстрації характеризується рівнем шуму

$$\text{SNR} = \frac{I_{ph}}{\sqrt{2eNFB(I_{ph} + 2(I_b + I_d))}} \quad (1)$$

де I_{ph} – фотострум, що виникає в наслідок опромінення ФЕП, e – заряд електрона, NF – коефіцієнт шуму ФЕП, B - полоса пропускання вимірної системи, I_b – струм фотокатода в наслідок фонового опромінення, та I_d – струм фотокатода у темряві (без опромінення).

У режимі лічби фотонів відношення сигнал-шум описується формулою:

$$\text{SNR} = \frac{N_S \sqrt{T}}{\sqrt{2(N_S + 2(N_b + N_d))}} \quad (2)$$

де N_s – потік імпульсів/с, що виникає в наслідок опромінення ФЕП, N_b – потік імпульсів/с в наслідку фонового опромінення, та N_d – потік імпульсів/с у темряві (без опромінення), T – час виміру.

Припустимо наступні параметри вимірювальної системи для порівняння цих двох режимів роботи ФЕП. $B = 1$ Гц відповідно $T = 1/2B = 0,5$ с. Різниця між цими виразами зводиться до коефіцієнта шуму NF . Таким чином, режим підрахунку фотонів є кращим, тому що дискримінатор ефективно видаляє компонент шуму від темного струму з вихідного сигналу ФЕП. Крім того, схема підрахунку фотонів вільна від витоку постійного струму протягом тривалого часу вимірювання. Це усуває шуми попереднього підсилювача, оскільки їх також придушує дискримінатор.

Цей ефект, отриманий внаслідок використання дискримінатора в інтерфейсному ланцюзі в схемі підрахунку імпульсів, є привабливим. Інші режими роботи ФЕП менш ефективні для отримання високого відношення сигнал-шум для слабких оптичних потоків.

Оскільки вирази для відношення сигнал-шум демонструють різницю між режимами лише в NF (коефіцієнті шуму), важливе розуміння фізичної сутності його виникнення у формулі. Цей коефіцієнт відповідає впливу системи диодів на реакцію ФЕП, тобто коефіцієнт підсилення (розмноження електронів) у ФЕП. Цей шум пов'язаний з нестабільністю коефіцієнта помноження ФЕП. Дискримінатор достатньо ефективно вирішує цю проблему. Однак у вимірювальному каналі є шуми, пов'язані з фотокатодом, в обох режимах. Тривалий час експозиції для накопичення сигналу або багаторазових повторень для експерименту дозволяє досягти рівня роздільної здатності сигналу до одного фотона з певною надійністю в обох схемах.

Ефективне пригнічення шумів ФЕП вимагає точних налаштувань дискримінатора, відповідно до статистики генерації імпульсів, що спостерігається для певного ФЕП. Використання готових модулів ФЕП з імпульсним виходом дозволяє уникнути процесу дослідження статистики

генерації імпульсів, оскільки обґрунтовані настройки були проведені виробником при виробництві модуля.

Зниження рівня шуму не таке велике, але довготривала стабільність режиму підрахунку фотонів покращує повторюваність вимірювань. У режимі лічби імпульсів стабільність досягається відсіканням повільних процесів, що включають коливання та дрейф. Амплітудний дискримінатор в схемі інтерфейсної електроніки ФЕП ефективно усуває шуми, що генеруються на внутрішніх каскадах ФЕП. Нормалізація імпульсів робить інтерфейсну електроніку нечутливою до зміни амплітуди імпульсів (в певних межах). Робота імпульсного сигналу робить можливим обмеження полоси пропускання, коли варіація сигналу незначна, але присутній шум.

Реєстрація акту взаємодії з детектором відбувається в спектральній області імпульсів. У той же час щільність потоку імпульсів зберігає зв'язок з низькочастотною складовою сигналу, тому імпульсна обробка сигналу не вносить спотворення. Переваги режиму підрахунку фотонів ФЕП компенсують складності інтерфейсної електроніки для режиму лічби імпульсів.

4.3 EXЛ візуалізація та мікроскопія

Аналіз зображень на основі електрохімілюмінесценції (EXЛ) є перспективним методом. Його застосування не обмежується дослідженнями окисно-відновлювальних властивостей електродів, а дозволяє проводити вивчення кінетики електрохімічних реакцій на мікроскопічному рівні. Також швидко розвивається технологія біоаналізу з високою просторово-часовою роздільною здатністю, високою пропускну здатністю та візуалізацією. У порівнянні з іншими мікроскопами, EXЛ мікроскопія не потребує оптичного збудження у візуалізації, отже підхід позбавлений фонових шумів, що призводить до можливості отримати низьку межу визначення. В роботі розглянуто проаналізовані та систематизовані роботи, що використовують

метод ЕХЛ для мікроскопічних досліджень різноманітних об'єктів. Сформульовані основні принципи візуалізації за допомогою явища ЕХЛ, розібрана його специфіка та надані рекомендації стосовно розробки сенсорних систем за цією технологією. Обговорені перспективи подальшого використання ЕХЛ мікроскопії.

Дослідження робіт останніх років з проблеми візуалізації ЕХЛ та використання цього явища у мікроскопічних дослідженнях проведено в роботі [3]. Цей напрям досліджень розпочато в лабораторії аналітичної оптохемотроніки Харківського національного університету радіоелектроніки [181]. Де показано перспективність використання цього методу для дослідження електродної поверхні та визначення властивостей електроактивних ділянок зразків на мікроскопічному рівні.

Оскільки анігіляційни шлях ЕХЛ реакції суттєво ускладнений у водних розчинах, його спостереження можливе здебільшого в апротонних розчинниках, що обмежує його застосування для біовізуалізації. Переважна більшість найновіших досліджень з візуалізації ЕХЛ для біоаналізів спрямовано на застосування механізму, що включає ЕХЛ реакцію зі співреагентом. Комплекс $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ зі співреагентами на основі амінів, такими як трипропіламін (ТПА) або 2-(дибутиламіно)етанол, на сьогодні є найбільш поширеними системами для візуалізації ЕХЛ. Оскільки комплекси $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ може легко зв'язуватися з білками, він в основному використовується для імуноаналізів. Люмінол, який реагує з перекисом водню, утворюючи світло, також є ще одним люмінофором для візуалізації ЕХЛ. Оскільки емісія ЕХЛ для люмінолу суттєво залежить від кількості H_2O_2 , ця система візуалізації викликає інтерес для біоаналітичних застосувань, що включає дослідження активних форм кисню та окислювальний стрес [182]. Крім того, це дозволяє контролювати діяльність оксидази, яка відповідає за утворення пероксиду водню в її присутності.

Досліджувати розмір, форму та розташування конкретної активної поверхні можна за допомогою емісії світла, як наслідок ЕХЛ реакції, що проходить на електрохімічно активних областях [183].

Тип електродного матеріалу, природа розчинника, рН середовища, наявність поверхнево-активної речовини, концентрації сореагенту, концентрація люмінофору та гідрофобність поверхні електрода є основними експериментальними параметрами, що впливають на ефективність ЕХЛ реакції. Залежно від того, як окислюється комплекс $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, ЕХЛ зображення на основі ЕХЛ реакції $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ з ТПА можна поділити на два основні типи. Перший тип передбачає прямий шлях, коли $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ безпосередньо окислюється, випромінюючи ЕХЛ (рис. 3а). Однак за цим механізмом ЕХЛ реакція не може бути застосовано для візуалізації ЕХЛ, що спостерігається при низьких потенціалах окислення, та для проведення імунологічних аналізів на гранулах. Другий шлях включає лише безпосереднє окисленням сореагенту ТПА на поверхні електрода, і потім генеруються проміжні радикали, $\text{TPA}\cdot$ та $\text{TPA}\cdot^+$, дифузію цих речовин до $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ для отримання збудженого стану в реакції та випромінювання світла (з довжиною хвилі ~ 615 нм). ЕХЛ цієї системи ефективно і за умови фізіологічного значення рН, при цьому люмінофор регенерується *in-situ* (рис. 3б). Другий шлях, який іноді називають гетерогенним процесом ЕХЛ, є основним механістичним шляхом для аналізів на основі гранул та для ЕХЛ мікроскопії за допомогою мічених клітин (*vide infra*) [184, 185]. Однак слід усвідомлювати, що ЕХЛ зосереджено в мікрометричному шарі поблизу поверхні електрода, де проміжні радикали ($\text{TPA}\cdot$ та $\text{TPA}\cdot^+$) знаходяться у найбільшій концентрації, оскільки вони продукуються на електроді. Це означає, що лише люмінофори, що зосереджені поблизу певної ділянки поверхні електрода, сприяють емісії сигналу ЕХЛ. Варіація потенціалу окислення та зміна умов експерименту дозволяють спостерігати різні механізми генерації ЕХЛ для системи люмінол/ H_2O_2 . Для депротонування люмінолу необхідний лужне середовище, щоб утворити окислений проміжний

продукт діазахінон, з наступним його розкладом у 3-амінофталат у збудженому стані на поверхні електрода. Останній переходить до основного стану і випромінює фотони з довжиною хвилі максимуму 425 нм (рис. 3в).

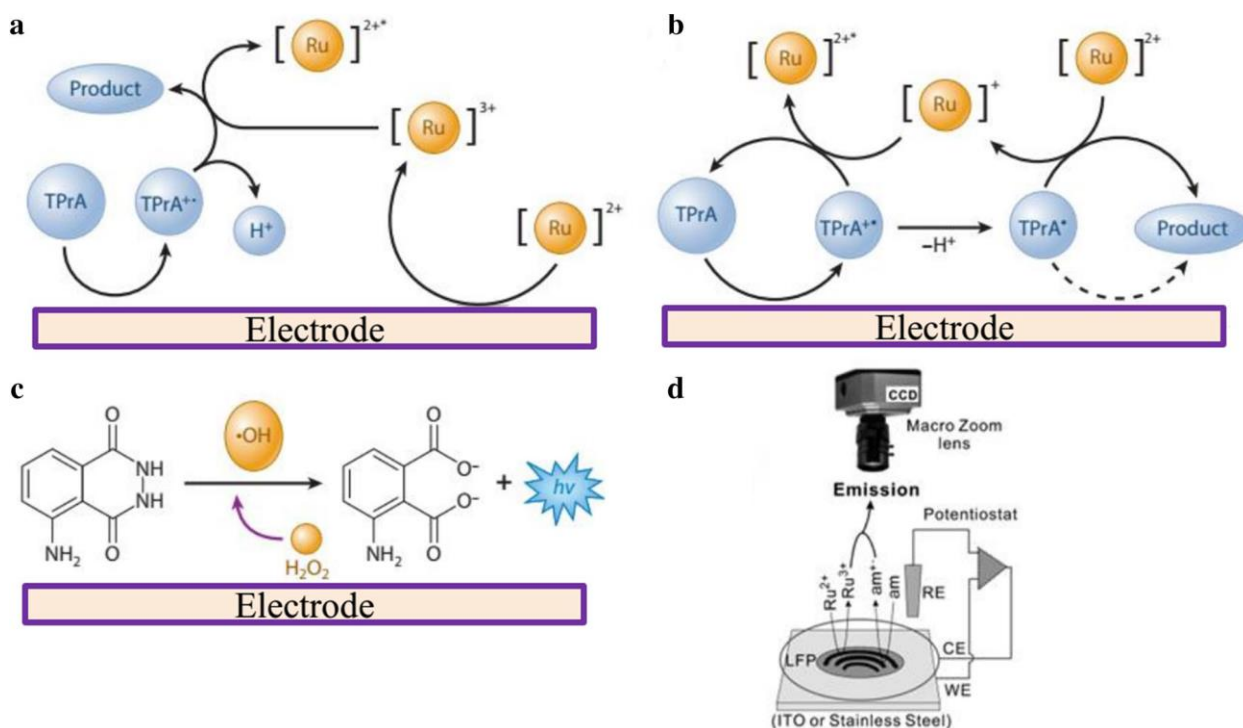


Рисунок 4.1 – Базові ЕХЛ принципи для аналітичної реакції Ru(bpy)₃²⁺/ТПА та люмінол/пероксид водню композиціях. а) Ru(bpy)₃²⁺ та ТПА окислюються на електроді в окисно-відновлювальній ЕХЛ реакції, б) ЕХЛ емісія що виникає тільки в результаті окислення ТПА на електроді та залучення люмінофору у гетерогенній реакції з радикалами ТПА, с) аніон люмінола та перекис водню окислюються на поверхні електрода з емісією ЕХЛ, [182] д) Схема приладу для проведення реєстрації ЕХЛ зображень (мікроскопії) Скорочення: RE – електрод порівняння; CCD – ПЗЗ, прилад з зарядовим зв'язком; WE – робочий електрод, CE – протиелектрод; am - амін, Ru - люмінофор. [187]

У системі люмінол-H₂O₂ реакційними є кисневі радикали, такі як супероксид (O₂ sing), синглетний кисень (¹O₂) або гідроксид (HO•), які утворюються на електроді електрохімічно та сприяють генерації збудженого стану 3-амінофталату для яскравої ЕХЛ реакції. ЕХЛ система люмінолу вимагає нижчого анодного потенціалу (тобто ~ 0,4 В), ніж Ru(bpy)₃²⁺, що

більш підходить для візуалізації живих клітин. Однак, на відміну від $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, окислення люмінолу є незворотним явищем, що означає, що він може випромінювати фотон лише один раз у процесі реакції, а не повторно, як це може $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. [182, 186]

Можливість застосування люмінесцентних напівпровідникових полімерних наночастинок (Pdots) привернула увагу в області ЕХЛ візуалізації, завдяки своїм нетоксичним властивостям, простоті в розробці мультиімунаналізу білків шляхом зчеплення з подвійною спіраллю ДНК та їх біосумісності. Наночастки полімеру отримані шляхом нанопреципітації полі[(9,9-діоктилфуореніл-2,7-дііл)-альт-ко-(1,4-бензо-[2,1',3]-тіадіазолу)] у присутності полі(стирол-ко-малеїнового ангідриду) і функціоналізовано ДНК, яка гібридизована з другою ДНК з маркером пригнічувачем збуджених станів для самогасіння ЕХЛ емісії, що використовувались для виявлення канцероембріонального антигену, фрагменту цитокератин-19 та нейрон-специфічної енолази, які є специфічними біомаркерами у випадку раку легені [188].

Полі [2-метокси-5-(2-етилгексилокси)-1,4-(1-ціановінілен-1,4-фенілен)] (CN-PPV) полімерні наночастки демонстрували відмінні аналітичні показники для Fe^{3+} з широким лінійним діапазоном від 100 пМ до 100 мкМ та межею виявлення 67 пМ [189]. Хитозан та модифікований нано- TiO_2 фторид оксида олова провідне скло (FTO / TiO_2 / CS) також застосовували для аналізу H_2O_2 , що виділяється з клітин, що досліджувалися на мікроскопічному рівні [190].

На відміну від флуоресцентної візуалізації, яка потребує світла збудження, ЕХЛ візуалізація не використовує джерело світла збудження. Це відносно спрощення потребує значної чутливості детектора оптичного випромінювання. На малюнку 3d показана установка для ЕХЛ візуалізації прихованих відбитків пальців, що підтримує високу роздільну здатність на мікрометровому рівні. Вона включає електрохімічний модуль (ЕХ ячейка та потенціостат) та оптичний модуль для запису зображення за допомогою пристрою з зарядовим зв'язком (ПЗЗ). Скануючий електрохімічний мікроскоп

(SECM), обладнаний ультрамікроелектродом з використанням ФЕП для зйомки зображень ЕХЛ, використовувався наприкінці 1990-х [191, 192]. Однак ця установка візуалізації здебільшого вимагала точних приладів, дорогої та складної підготовки зразків, що обмежує більш широке застосування методу ЕХЛ для візуалізації. Недоліки попиксельного отримання зображення були подолані з появою ПЗЗ-камер, які дозволяють швидко отримувати зображення, що забезпечує високу продуктивність аналізу. Властивості ПЗЗ як висока роздільна здатність для зйомки оптичного зображення цілком доречні для візуалізації деталей. Однак, зі збільшенням коефіцієнту масштабування об'єкту знижується яскравість зображення, що отримується. Низька чутливість ПЗЗ є основним недоліком на шляху отримання ЕХЛ зображень високої роздільної здатності. Цю властивість можна покращити за допомогою використання ПЗЗ з електронним помноженням (EMCCD), в деяких режимах чутливість якого може сягати рівня окремих фотонів. EMCCD поступово стають одним із найбільш широко використовуваних детекторів для мікро- / наномасштабної ЕХЛ візуалізації. В роботі [193] розроблена платформа для мікрофлюїдної ЕХЛ візуалізації на папері для визначення нікотинаміду, 2-дибутиламіноетанолу, аденіндинуклеотиду (NADH).

Іншим напрямком ЕХЛ візуалізації є використання камера смартфона (рис. 4.2). Застосування камери мобільного телефону як інструменту зчитування робить її економічно ефективною та придатною для проектування систем тестування на місці для різноманітних цілей. Це може сприяти швидкому розвитку та широкому використанню ЕХЛ візуалізації як інструменту аналізу [9].

Найбільш поширеними методами реєстрації емісії ЕХЛ, включаючи спектральні дослідження, вимір інтенсивності та отримання зображень, базуються на застосуванні фотоелектронного помножувача (ФЕП), фотодіода (ФД), КМОН та ПЗЗ матриць фотодетекторів. Енгстром та ін. в піонерській роботі повідомив про можливість застосування методу ЕХЛ для візуалізації

[183] та дослідження кінетики електродних процесів на неоднорідностях електродів на мікроскопічному масштабі.

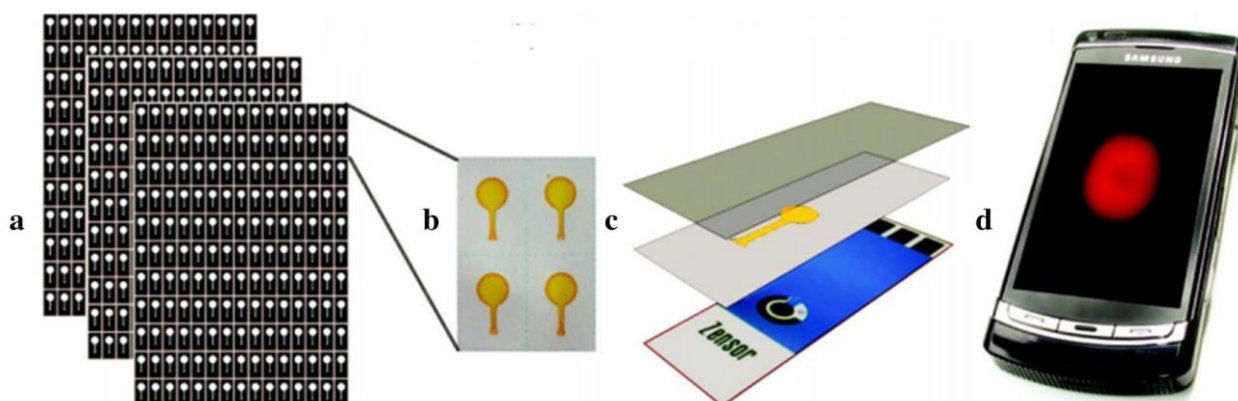


Рисунок 4.2 - Конструкція та принцип роботи EXЛ давача на основі мікрорідинного паперу: а) Мікрорідинний папір організується за допомогою класичного струменевого принтера. б) Перед сушінням, кожен паперовий елемент вирізають, та додають 10 мМ розчин $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ до гідрофобної області. с) Потім паперову підкладку розташовують на верхній стороні напечатаної електродної ячейки, та покривають прозорою пластмасою пластиную. d) Рідкий зразок додається через невеликий отвір у пластиковій трубці внизу каналу, коли зона детектування буде повністю зволожена, мікрорідинний сенсор розміщується поблизу об'єктива камери телефона, та накладається напруга 1,25 В, відразу реєструється та аналізується емісія EXЛ. [193]

Продовження робіт з EXЛ візуалізації на масивах мікроелектродів дали важливу інформацію, щодо процесів, які проходять у вимірній ячейці з високою роздільною здатністю та чутливістю [194, 195]. Ці досягнення забезпечують інноваційний підхід до візуалізації електрохімічних процесів, становлять основу для одночасного визначення зразків або візуалізації електрохімічних та/або біологічних явищ, таких як нерівномірність потоку речовини біля клітин, пов'язаний з циркуляцією екзоцитотичних мікродоменів у клітинах. Рис. 4.3 описує часові рамки різних визначних

досягнень у ЕХЛ візуалізації. 1964 р., перший експеримент з візуалізації ЕХЛ [196, 197]; 1987 р., спостереження поверхні електродів за допомогою ЕХЛ [183, 198]; візуалізація ЕХЛ з часовою роздільною здатністю, 1990 р. [198]; візуалізація ЕХЛ на рівні мікроелектродів, 1993 р. [199]; візуалізація ЕХЛ з застосуванням скануючого електрохімічного мікроскопа, 1998 [181]; 2003 р., візуалізація ЕХЛ на масиві мікроелектродів [200]; 2008 р., візуалізація ЕХЛ на рівні окремих наночасток [201]; 2012 р., візуалізація різнокольорової ЕХЛ [202] та візуалізація ЕХЛ на прихованих відбитках пальців [203]; 2015 р., ЕХЛ візуалізація окремих клітин [204]; 2017 р., ЕХЛ візуалізація для діагностики та лікування раку [205, 206].

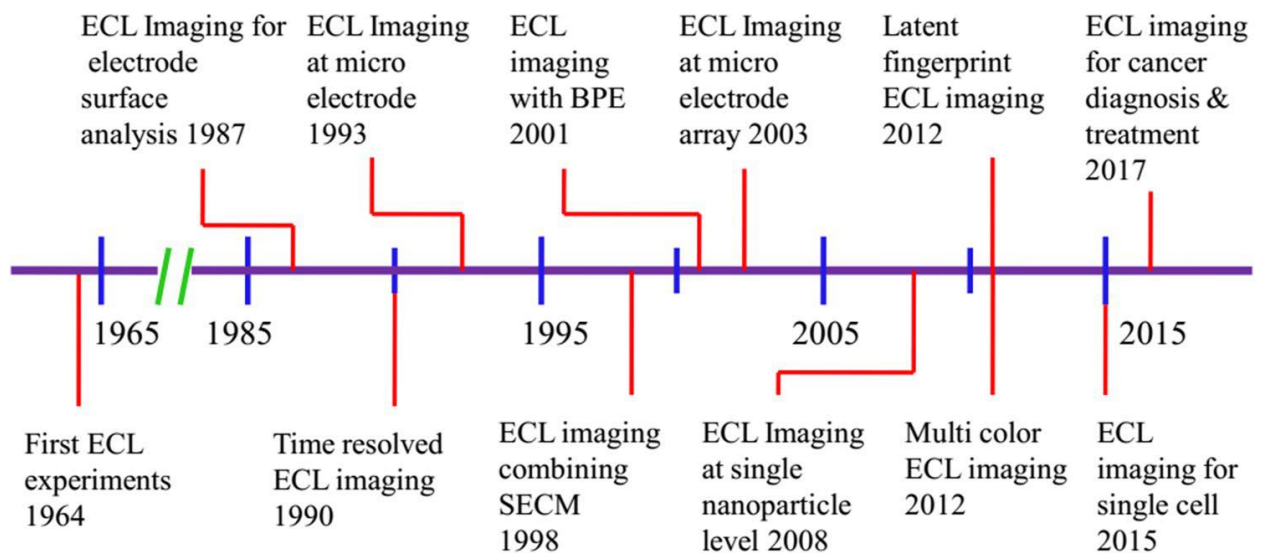


Рисунок 4.3 - Часові шкала візуалізації ЕХЛ.

З моменту перших детальних досліджень ЕХЛ візуалізації просування цього підходу є відносно повільним порівняно з флуоресцентною візуалізацією. У флуоресцентній мікроскопії зображення формують люмінофори, які поглинають фотон і збуджуються до синглетного стану, повернення в основний стан призводить до випромінювання фотона з більшою довжиною хвилі. Однак процес ЕХЛ вільний від необхідності оптичного збудження, а фотони випромінюються внаслідок електрохімічних процесів. Тому основною проблемою для ЕХЛ візуалізації є обмежена

кількість фотонів, що генеруються люмінофором на ділянці електрода, які іноді важко фіксувати навіть однофотонним лічильниками. Деякі методичні прийоми дозволяють підвищити квантовий вихід ЕХЛ реакції, такі як: використання надлишку реагенту або підвищення рН середовища. Важливим також є вирішення проблеми біологічної сумісності реагентів для ЕХЛ візуалізації, що обмежує використання цього методу для біоаналізу [182, 207-210]. З розвитком однофотонних лічильників, мікроскопічних об'єктивів з більшою числовою апертурою та розробкою світловодів, ефективність виявлення слабкої люмінесценції значно підвищилася за останні роки. Поява нових матеріалів з чудовою електрохімічною активністю полегшує швидкість реакції люмінофорів. У поєднанні з новими конструкціями електродів та системою виявлення, просторова та часова роздільні здатності у ЕХЛ мікроскопії досягають рівня нанометрів та мілісекунд відповідно. Таким чином можливе досягнення просторової роздільної здатності об'єктів необхідної для вирішених задач з візуалізації у біоаналізі за допомогою метода ЕХЛ з високою ефективністю [183].

В роботі [211] повідомлялось про застосування одноелектродної електрохімічної системи, що може використовуватися як для одоточкового експерименту, так і мультиплексних експериментів. Суть метода полягає у формуванні градієнту електричного поля в розчині вздовж одного електрода за рахунок його відносно великого спротиву вздовж поверхні. Градієнту електричного поля в межах однієї ячейки достатньо для керування електролізом електрохімічно активних речовин в ній. Для реалізації мультиплексних експериментів було розроблено прилад який створювався шляхом прикріплення самоклеючої пластикової плівки з кількома отворами на ІТО електрод, відповідно. Це дозволяє проводити мультиплексний ЕХЛ аналіз з високою чутливістю при дуже низькій безпечній напрузі, використовуючи смартфон як детектор (рис. 4.4).

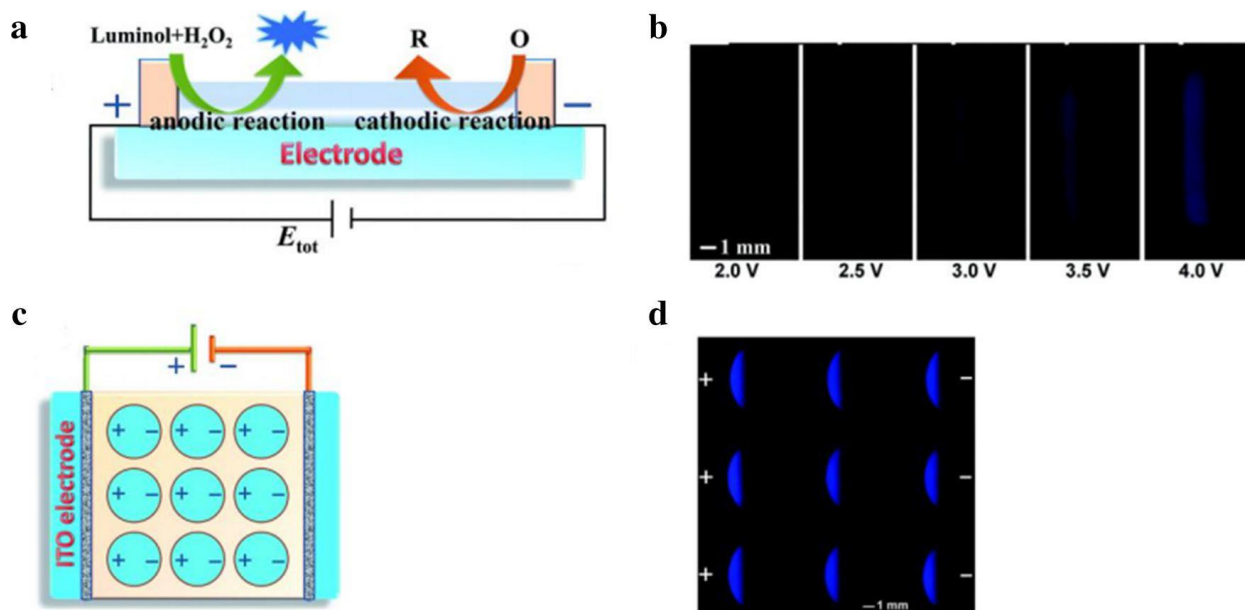


Рисунок 4.4 – Використання одноелектродного ЕХ сенсора (ОЕХС): а) механізм процесів на ОЕХС; б) Зображення ЕХЛ, що отриманеза допомогою смартфона при різній напрузі поляризації. Розчин: 0,1 М карбонатний буфер; рН 11,0; 1,0 мМ люмінола; 1,0 мМ H_2O_2 ; с) Схематичне зображення 9 мікроячейок на поверхні ОЕХС (вид згори); д) Зображення ЕХЛ емісії композиції люмінол- H_2O_2 з 9 мікроячейок на поверхні ОЕХС. Розчин: 0,1 М карбонатний буфер; рН 11,0; 1,0 мМ люмінола; 1,0 мМ H_2O_2 ; напруга 10 В. [211]

Застосування ЕХЛ візуалізації в біоаналізі.

Відповідно до властивостей ЕХЛ методу можливо виявляти кількість як люмінофору, так і сореагенту. Це дозволяє застосовувати ЕХЛ візуалізацію в аналізі різних типів біомолекул, таких як ферменти, білки та нуклеїнові кислоти. Крім того, ЕХЛ візуалізація, як і будь який метод візуалізації, просторово розділяє джерела світла, тобто різних центрів емісії фотонів на поверхні електрода. Таким чином, навіть при одночасному збудженні всіх центрів випромінення в масиві, зображуються цих центрів дає можливість мультиплексних ЕХЛ аналізів, тобто проведення паралельно дослідження багатьох зразків, або в одній пробі проводити аналіз багатьох компонентів. Слід зауважити, для застосування у біоаналізі, ЕХЛ візуалізація добре

поєднується з відомими технологіями ферментативного аналізу, скринінгу генотоксичності та імуноаналізу для виявлення певних біомолекул.

Аналізи на основі ферментів

Речовини, що є співреагентами, наприклад, такі як дегідрогенази, так і оксидази можуть бути визначені за допомогою ЕХЛ з використанням $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ і люмінолу [212]. Люмінол реагує з перекисом водню, що утворюється оксидазами, тобто відповідними ферментами-реагентами. З іншого боку, оскільки кофермент NADH містить аміногрупу, він може брати участь як співреагент в ЕХЛ реакції з $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Таким чином, NADH-залежна система дегідрогеназної реакції може досліджуватися за допомогою ЕХЛ, що включає окислення реагенту та одночасне відновлення NAD^+ до NADH. Мультиплексні ферментативні масиви були розроблені шляхом зв'язування різних відповідних оксидаз у гібридних матеріалах хітозану та багатостінних вуглецевих нанотрубок на ІТО електродах. Одночасний аналіз глюкози, лактату та холіну при різних концентраціях проводили шляхом вимірювання інтенсивності люмінесценції ЕХЛ зображень (рис. 4.5 I) [213]. Специфічну активність кожної біосенсорної ділянки-плями (глюкоза, холін, глутамат, лізин, лактат та сечова кислота) реєстрували без суттєвої перехресної реактивності [214]. Щоб підвищити щільність електродів, групи Жанг [215] та Сентік [209] виготовили наноігольчаті електроди, здатні генерувати ЕХЛ на нанорозмірному наконечнику, посилюючи масообмін люмінофору та/або співреагенту на мікроелектроді - кінчику. Глюкозооксидазу іммобілізували на поверхні покритого нафіоном електрода, і інтенсивність ЕХЛ, що генерується усіма наноіголками, фіксувалася у вигляді зображення. В цих роботах визначення концентрації глюкози проведено в діапазоні 0,5 мкМ до 5 мМ, продемонструвало можливість аналізу з дуже високою щільністю центрів, міст аналізу (ячейок) ($> 4 \times 10^3$ ячейок/мм²) (рис. 4.5 II).

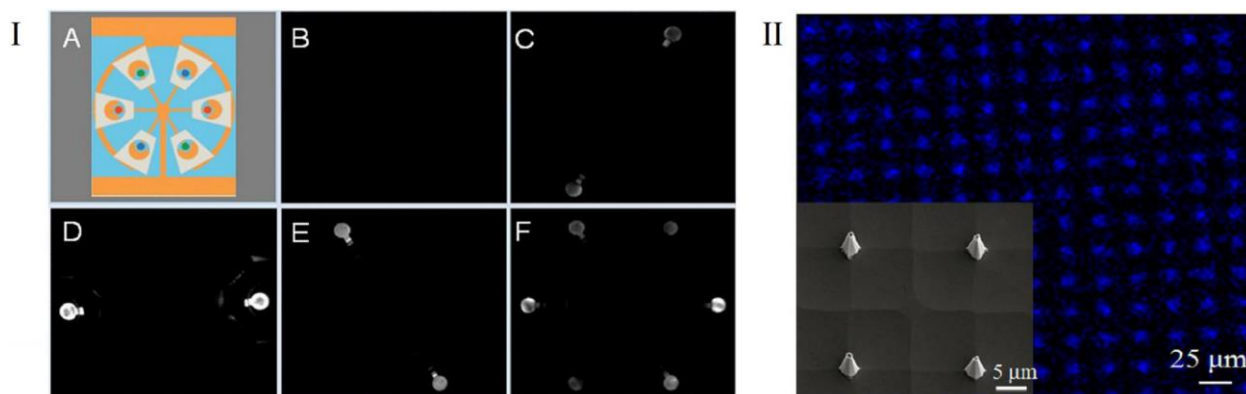


Рисунок 4.5 – I) (A) показує масив із радіально розміщених електродів, модифікованих попарно. Зображення ЕХЛ, зроблені для: В) контрольного розчину, С) розчин, що містить 1 мМ холін хлориду, D) 2 мМ лактату, Е) 1,0 мМ глюкози, F) суміші, що містить 1 мМ хлорид холіну, 1 мМ лактат та 1 мМ глюкози. [213] II) Люмінесцентне зображення для модифікованої глюкозооксидазою наноігльними електродами поверхні для аналізу глюкози. (Вставка – СЕМ зображення наноігльних електродів). [215]

Імуноаналіз.

Виявлення та ідентифікація білків-біомаркерів має принципове значення в ранній діагностиці та моніторингу лікування. В даний час на ринок продається велика кількість тест-систем імунологічного аналізу для ряду біомаркерів захворювань, включаючи серцеві, інфекційні захворювання, аналізу пухлини щитовидної залози. Інтерлейкін-6 (ІЛ-6) та антиген раку передміхурової залози (PSA) у сироватці крові пацієнта були успішно виявлені за допомогою ЕХЛ візуалізації в роботі [216]. В цій роботі використовувалися мікролунки з інтегрованими в них одностінними вуглецевими нанотрубки (SWCNT), що покриті антитілами. Лунки мають гідрофобні полімерні стінки. Такий наноструктурований модифікований електрод має високоактивні ділянки поверхні для іммобілізації великої кількості антитіл-перехоплювачів для сендвіч-імуноаналізу.

Для посилення ЕХЛ сигналу в сенсорі використовували наночастки діоксиду кремнію, що були леговані $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Отримано межу визначення для ІЛ-6 та PSA еквівалентну до комерційних систем аналізу в потоці на

мікросферах. ЕХЛ-активні ділянки були добре розподілені просторово на підкладці, що витікає з аналізу отриманого ЕХЛ зображення. Ця відмінність ЕХЛ методу забезпечує перевагу над вольтамперометричним мультиплексним імуноаналізом на матриці електродів, через відсутність необхідності в окремих електричних підключеннях до окремих лунок або сенсорних ділянок.

Ця мікрорідинна система була розширена для виявлення чотирьох білків, таких як простатоспецифічний мембранний антиген (PSMA), простатоспецифічний антиген (PSA), інтерлекін-6 (IL-6) та фактор тромбоцитів-4 (PF-4) у сироватці крові Рис. 4.6 а) [217]. Сю та ін. [187] також розробив пристрій ЕХЛ візуалізації, який візуалізував приховані відбитки пальців як у негативному, так і в позитивному режимах. Відсутність або зменшення ЕХЛ сигналу спостерігалось в режимі негативу при візуалізації через сальний (багатий шкірним салом) відбиток пальця, що покриває ІТО електрод. Таким чином, ЕХЛ емісія виникає головним чином з відкритої поверхні ІТО електрода у присутності ТПА. У цьому режимі не застосовується жодна попередня або післяобробка зразка, яка, як правило, є складною та необхідною у більшості сучасних методів виявлення відбитків.

Відбиток пальця іммобілізовано з похідною комплексу рутенію в позитивному режимі. Ці мічені люмінофором відбиток продукує ЕХЛ внаслідок реакції з співреагентом, що легко дифундує. Дана методика була також поширена на імуно візуалізацію виділень поту людини, присутніх у прихованих відбитках пальців із використанням пероксидази хрому (HRP) як міток та люмінолу, як люмінофору [218]. На рис. 4.6 b) показано зображення за допомогою ЕХЛ імуноглобуліну G (hIgG) на відбитку людського пальця.

Застосування ЕХЛ візуалізації для мультиплексного виявлення нуклеїнових кислот фокусується головним чином на скринінгу генотоксичності, який використовує масив сенсорних ділянок, що містять ДНК, різні ізоформи цитохрому P450 та ЕХЛ активного металополімеру $\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{ППФ}_{10}^{2+}$ (рис. 4.6 c) [219]. Ряд вдосконалених методів розроблено і

застосовується в ЕХЛ імуносенсорних масивах. Ці методи важливі для отримання ЕХЛ зображень для підвищення співвідношення сигнал/шум на зображеннях. Завдяки стратегії подвійного підсилення ДНК у поєднанні з використанням полімерних точок інтенсивність ЕХЛ емісії була підвищена [220].

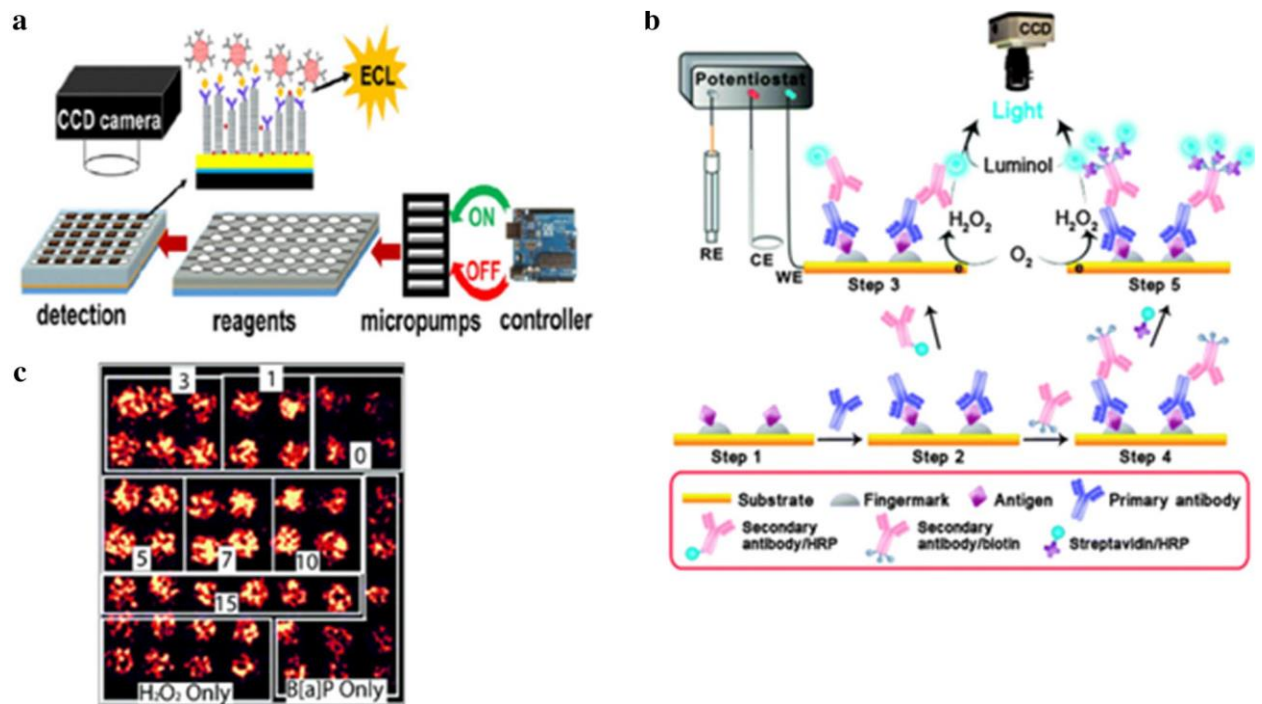


Рисунок 4.6 – а) мікрорідинна система (автоматизована), що містить матрицю з 30-мікроячейок, які підключені до керованих мікронасосів та касети для зразків/реагентів. Мікроконтролер Arduino запускає програму мікронасоса для проведення процедури аналізу. [217] б) Опис процесу визначення антигенних залишків, наявних у відбитку пальця, за допомогою ЕХЛ візуалізації та імуноферментного аналізу. [218] в) ЕХЛ зображення отриманого за допомогою ПЗЗ з масиву 49 окремими плям рутенія полівініл піридину/ДНК/ферменту, що містять цитохром сyt P450 1B1. На плями впливали 0,5 мМ H_2O_2 + 100 мкМ бензпирену протягом позначеного часу (хв). Елементи внизу сенсора змішували з H_2O_2 або бензпиреном для часу реакції від 1 до 7 хв, що спостерігали справа наліво (не відображається на рисунку для ясності). [219]

Це було досягнуто в імуноаналізах за рахунок збільшення кругообігу олігонуклеотидних ланцюгів, а потім ферментативно циклічного вивільнення полімерних точок із самогасаючих зондів. Полімерні точки виявляли в 11 разів вищу ефективність ЕХЛ порівняно з раніше повідомленими системами, а осадження золота на ІТО електрод посилює ЕХЛ сигнал у 100 разів. Крім того, висока ефективність гасіння чорних дір забезпечує низький фоновий шум при отриманні ЕХЛ зображення.

Кольоровий ЕХЛ аналіз

Кольорова ЕХЛ візуалізація була продемонстрована для електрохімічного ДНК-мікрочипа, що був виготовлений як мікрорідинна платформа з системою відкритих біполярних електродів [221]. У наведених попередніх прикладах можливості мультиплексування ЕХЛ зображень залежать головним чином від різноманіття масиву датчиків. Але ефективність може бути покращена шляхом налаштування кольору ЕХЛ емісії. Двойний кольоровий відгук від синьо-зеленого до червоного було помітно при селективному збудженні комплексів іридію та рутенію шляхом сканування потенціалу поляризації біполярного електрода. З аналізу зображень, коли колір переходить від синього зеленого світла до червоного, дозволило виявити множинні біомаркери раку передміхурової залози (PSA, мікроРНК-141, що циркулює та саркозин) (рис. 4.7 а) [222].

Цей тип аналітичних платформ із використанням ферментів або білків демонструє переваги проведення мультиплексованих аналізів на базі явища ЕХЛ. Для розмежування кількох ЕХЛ люмінофорів існує два можливі способи: (1) оптимізація необхідних потенціалів збудження (2) налаштування довжин хвиль випромінювання. В даний час налаштування довжини хвилі ЕХЛ здійснюється шляхом вибору потенціалу збудження для збудження ЕХЛ реакції від одного і того ж розчину, що містить різні люмінофори. Фотони, ЕХЛ емісії люмінофора, що випромінює зелене світло $[\text{Ir}(\text{df-ppy})_2(\text{BPS})]^-$, та люмінофора, що випромінює червоне світло $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})]^{2+}$ (L = N4,N4'-біс((2S)-1-метокси-1-оксопропан-2-іл)-2,2'-біпіридил-4,4'-дикарбоксамід) з

використанням ТПА як загального співреагенту спостерігали ПЗЗ-камерою із середнім окислювально-відновним потенціалом, виявлено, що збуджується лише комплекс $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})]^{2+}$ у присутності $[\text{Ir}(\text{dfppy})_2(\text{BPS})]^-$, в той же час ЕХЛ сигнал від двох комплексів спостерігається при більш високих потенціалах, що дозволяє чітко налаштувати довжину хвилі від червоної до зеленої [203].

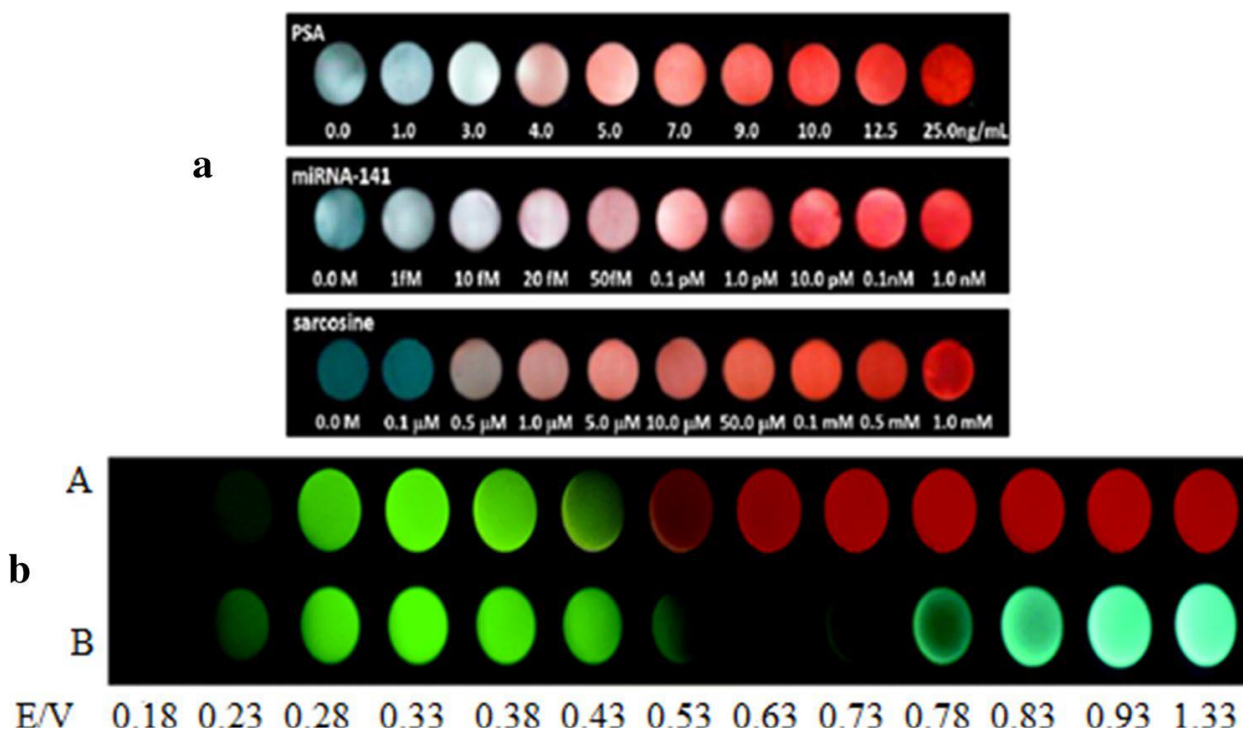


Рисунок 4.7 – ЕХЛ зображення: а) масиву біполярних електродів із збільшеною кількістю PSA, miRNA-141 та саркозину. [222] б) поверхні електрода (діаметром 3 мм) з різним потенціалом (наведено нижче ячейки у вольтах) для подвійних систем. Верхнє зображення (система А) отримано в розчині 0,05 мМ $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})]^{2+}$ та 0,25 мМ $\text{Ir}(\text{ppy})_3$ з 0,1 М гексафторфосфатом тетрабутиламонію (TBAPF_6), як фоновий електроліт, та 10 мМ ТРгА, як сореагент, в ацетонітрилі. Умови для отримання нижнього зображення (Система Б) були однаковими, за винятком того, що комплекс рутенію був змінений на 0,1 мМ $\text{Ir}(\text{df-ppy})_3$. Час експозиції для кожного зображення був однаковий.

Група Доевена [223] поширює ці принципи на специфічне збудження в бінарних сумішах за допомогою вмикання/вимикання шляхом контролю

потенціалу (рис. 4.7 б). Система А містила $\text{Ir}(\text{ppy})_3$ та $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})]^{2+}$, зелені та червоні люмінофори; Система В включає випромінювачі зеленого та синього кольорів $\text{Ir}(\text{ppy})_3$ та $\text{Ir}(\text{dfppy})_3$ відповідно. З візуалізованої серії ЕХЛ зображень цих двох бінарних сумішей з різними потенціалами помічено, що зелене світло від $\text{Ir}(\text{ppy})_3$ спеціально «ввімкнено» в умовах низького потенціалу та «вимкнено» для більш високих потенціалів окислення.

Електрохімічний аналіз окремих об'єктів

Електрохімічний аналіз окремих об'єктів, включаючи поодинокі частки та клітини, набув розвитку, що включає перевірку екзоцитотоксичних виділень на поверхні клітини та характеристику взаємозв'язку функції з структурою частки. Уточнення цих основних біологічних та фізичних явищ важливе для глибокого розуміння гетерогенності окремих клітин/часток, що може використовуватись у діагностиці та терапії різних захворювань, так і для проектування ефективного електрокаталізу. Поточний стан проблеми у цій галузі полягає у необхідності реєстрації сигналу для окремої цілі від фонового, що обмежує отримання просторової та/або часової інформації про неоднорідні події, що відбуваються на цих об'єктах. Інтеграція електрохімії на окремих об'єктах та ЕХЛ має переваги через низький фоновий сигнал та високу чутливість ЕХЛ аналізу. Таким чином, привабливе використання ЕХЛ візуалізація локальної електрохімії, що не потребує складних мікроприладів. У цьому контексті одномоментна ЕХЛ візуалізація стала дуже перспективною технікою візуальної інспекції біологічної та каталітичної активності окремих ділянок різноманітних об'єктів.

Окремі клітини.

Дослідження з високими просторовою та часовою роздільною здатністю окремих живих клітин надає важливу інформацію про природу клітин, пов'язаних із клітинною подій. Хоча флуоресцентна мікроскопія клітин є популярним методом дослідження складу та розподілу біомолекул, виготовлення специфічних флуоресцентних зондів для малих молекул займає багато часу, і особливості цих зондів часто обмежують перелік об'єктів

дослідження. Крім того, низьке відношення сигнал/шум на флуоресцентних зображеннях клітин ускладнює візуалізацію білків мембрани з низьким вмістом. Для ЕХЛ мікроскопії окремих клітин комерційно доступні оксидази, що можуть використовуватися для реакції з відповідними дрібними реагентами в клітинах, що виробляють пероксид водню. H_2O_2 генерує інтенсивну ЕХЛ люмінолу, і, як доведено, інтенсивність ЕХЛ на зображенні корелює з кількістю реагенту [224]. Мікролунки розміром з клітини були виготовлені на ІТО електроді для іммобілізації окремих живих клітин для ЕХЛ мікроскопії групою Сю [225]. Емісія ЕХЛ сигналу в реакції люмінолу з H_2O_2 до концентрації 500 нМ було зафіксовано на нанолистах $g\text{-C}_3\text{N}_4$, що використовувалися для функціоналізації ІТО електрода. Це дозволяло виявляти паралельно низькі концентрації холестерину в окремих клітинах. Після додавання оксидази для взаємодії із реагентом на клітинній мембрані реакція мембранних молекул та оксидази негайно завершувалася. Показано, що безперервна генерація H_2O_2 на поверхні клітини та її вільний розподіл у розчині в лунці забезпечує майже стійку концентрацію на відкритих ділянках ІТО електрода протягом певного періоду часу. В роботі [206] мембранні білки візуалізували за допомогою поверхнево-обмеженої ЕХЛ мікроскопії. На відміну від класичної флуоресцентної мікроскопії, випромінювання ЕХЛ було виявлено лише на мітках $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, що були закріплені на мембрані клітини, розташованих у безпосередній близькості від електрода (рис. 4.8 І). Цей результат невід'ємно пов'язаний з унікальним механізмом генерації ЕХЛ в реакції з співреагентом ТПА, як наслідок обмеженого часу життя електрогенерованого радикала ТПА.

Дослідження окремих часток

Мікро- та наночастки з високою електричною ємністю та електрокаталітичними властивостями пропонуються як нові електродні матеріали для фундаментальних досліджень процесу переносу електронів, електрохімічного зондування та електрокаталізу. Дослідження на рівні окремих частинок сприятиме з'ясуванню зв'язку між структурою та функцією

часток [226]. Дослідницька група Барда повідомила про новаторську роботи з ЕХЛ аналізу окремих наночасток. Закріплені окремі наночастки полімеру з діаметром 25 нм на предметних стеклах візуалізували за допомогою ЕХЛ реакції з співреагентом. ЕХЛ сигнал в 1500 фотонів протягом 100 с надходив від кожної наночастки, показує можливість використання цієї технології аналізу для біосенсорів [227].

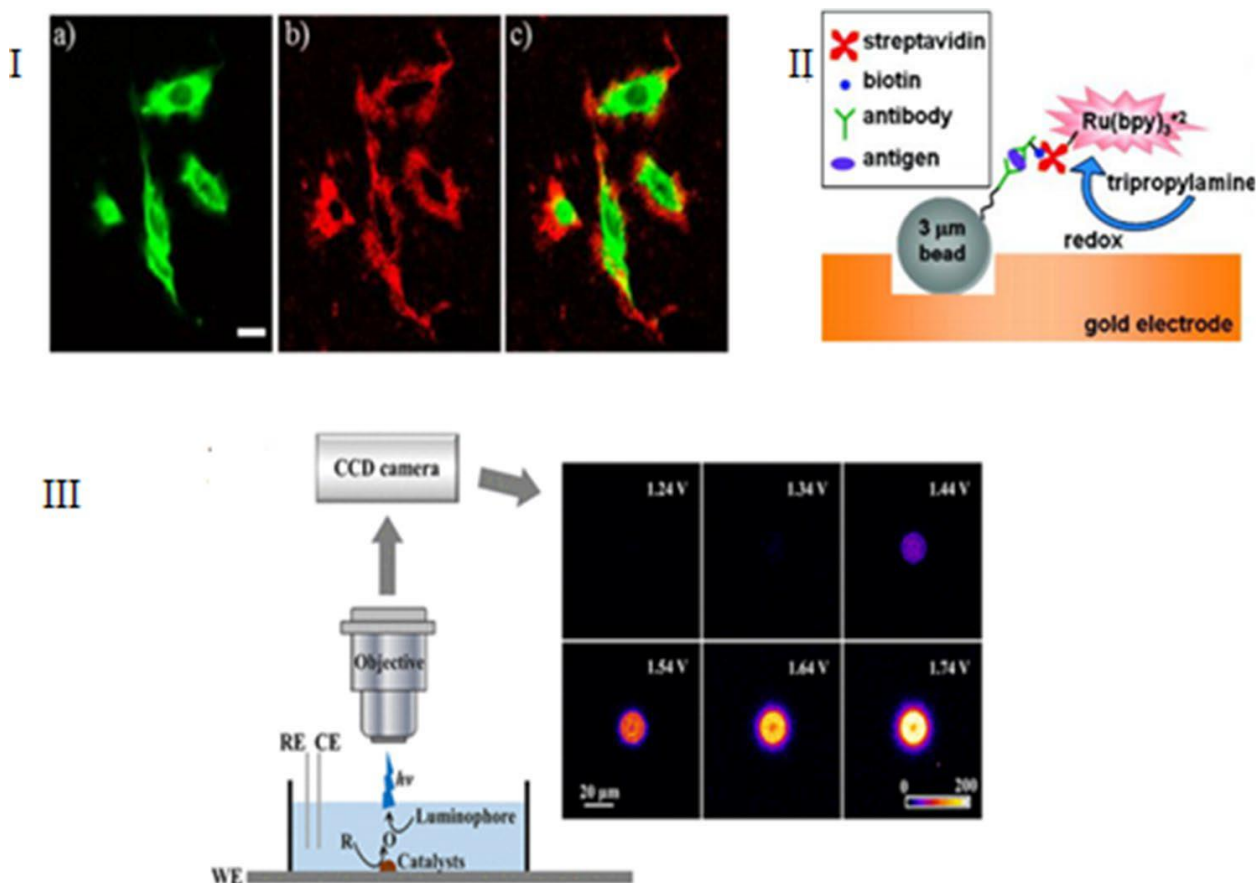


Рисунок 4.8 - I) а) Фотолюмінесценція, б) ЕХЛ та с) накладені обидва зображення клітин яєчників китайського хом'яка, вирощених на скловуглецевому електроді. [206] II) ЕХЛ зображення мультиплексних сендвіч-імунологічних досліджень досліджуваного розчину. [185] III) ЕХЛ зображення окремих частинок, що модифіковані квантовими точками, з різним потенціалом поляризації. [228]

Також повідомлялося про використання ЕХЛ візуалізації для аналізу полістирольних мікросфер з розміром ~3,1 мкм, що були модифіковані

антигенами, як приклад біосенсора [184]. Після реакції антитіла що марковано $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, емісія фотонів відбувалася з цілої кульки, таким чином було продемонстровано можливість проведення мультиплексованих імуноаналізів із використанням ЕХЛ візуалізації (рис. 4.8 II). Оскільки кожний тип мікросфер в масиві окремо визначався за допомогою ЕХЛ візуалізації що проходила одночасно в мультиплексованому ЕХЛ аналізі. Крім того, повідомлялося, що ЕХЛ візуалізація спроможна до використання у дослідженнях електрокаталітичної реакційної активності окремих квантових точок, на прикладі мікрочасток діоксиду кремнію, що застосовуються при розщепленні води [228]. В умовах анодного потенціалу електроактивні окислювально-відновлювальні центри квантових точках CdSeTe виробляли на їх поверхні видів гідропероксид як співреагент, який у подальшому збільшував інтенсивність ЕХЛ люмінолу, що використовувався для візуалізації наночасток (рис. 4.8 III). Лінійна кореляція між ЕХЛ сигналом і потоком фотоні показує, що інтенсивність ЕХЛ може бути використана як візуальний сигнал для відображення електрокаталітичної активності окремих часток. [212].

4.4 Мультиканальний аналіз

Аналіз науково-технічної літератури показує привабливий потенціал явища електрогенерованої хемілюмінесценції (ЕХЛ) як високочутливий аналітичний метод, що легко автоматизується [229-241]. В цьому методі під аналітичним сигналом мають на увазі емісію фотонів під час електрохімічних реакцій. Цей аналітичний метод вже знайшов своє місце у імуноаналізі, виявленні біомолекул, моніторингу навколишнього середовища та харчових продуктів та інших [242-253], оскільки характеризується низьким фоновим сигналом, високою чутливістю, коротким часом аналізу та відсутністю потреби у зовнішньому джерелі світла.

Зазвичай, прилади для ЕХЛ аналізу поєднують електрохімічну робочу станцію та люмінесцентний аналізатор [241, 246-247], що є дорогим, не портативним обладнанням. Тому розробка приладів ЕХЛ для дешевих, портативних, швидких досліджень є важливою проблемою.

В роботі пропонується використання матриці електродів, що розміщені на чипі для електрохімічних досліджень, а також поєднати з застосуванням матричного оптичного датчика для реєстрації світла. Це підвищує продуктивність і відтворюваність аналітичних приладів. Сучасна технологія КМОН (компліментарних метал-оксид-напівпровідників) для матричних оптичних датчиків швидко розвивається з виробництвом стільникових телефонів та заміщує розвинену технологію приладів з зарядовим зв'язком (ПЗЗ), оскільки ціна виробництва КМОН-датчики нижча. Тож їх використання є привабливою альтернативою дорогим спеціалізованим люмінесцентним аналізаторам. У той же час можливість використання простих методів біполярного електролізу для електрохімічного збудження аналітичної реакції в сенсорі не потребує складного електрохімічного обладнання, і це може бути реалізовано бездротовим способом.

Електрохемилюмінесцентна реакція трис-біпіридил-рутенію $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ з трипропіламіном достатньо добре відома. [248] Ця реакція, як і реакції з похідними $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, широко використовується в численних наукових роботах і може вважатися еталонною ЕХЛ реакція для порівняння результатів та апробації нових аналітичних систем (композицій). Це також репрезентативно і корисно для порівняння різних приладів. [12, 249-252]

Метою роботи є дослідити взаємозв'язок аналітичних можливостей розробленої ЕХЛ сенсорної системи з технічними параметрами приладів, що використані для її побудови.

Багато факторів, включаючи ефективність реакції ЕХЛ, конфігурація комірки, режим збудження, ефективність збору світла, коефіцієнт пропускання для оптичної системи, розмір матриці сенсора та розмір сенсорного елемента, роздільну здатність аналогово-цифрового перетворення

в датчику, шум в електроніці і схема драйвера разом, впливають на доступну межу виявлення, лінійність та чутливість сенсорної системи. Отже, визначення чутливості, лінійності та межі виявлення для колориметричного ЕХЛ аналізу шляхом налаштування фотокамери на основі датчика КМОН та бездротового чіпу з матрицею електродів. Також у роботі обговорюється обробка зображень, необхідна для отримання відповідних аналітичних даних.

Експериментальний розділ

Хімічні речовини та матеріали. Трис(2,2'-біпіридил) дихлоррутенію (II) гексагідрат ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$) та трипропіламін (ТПА) від Aldrich, фосфат натрію (Na_2HPO_4) і фосфат натрію (NaH_2PO_4), що придбано у Beijing Chemical Reagent Company. Основний розчин трис-біпіридилрутенію гідрохлориду (5мМ) готували розчиненням 7,5 мг трис(2,2'-біпіридил) дихлоррутенію (II) гексагідрату в 2 мл буферного розчину, а потім розбавляли до відповідної концентрації буферним розчином з ТПА (10 мМ). Останній готували шляхом розчинення 38 мкл ТПА в 20 мл буферного розчину. 0,2М буферного розчину $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ (рН 6,7) використовували для приготування розчинів та ЕХЛ досліджень. Бідистильовану воду використовували для приготування буферного розчину.

Прилади. Для виміру інтенсивності використано ЕХЛ аналізатор на базі приладу "Spark" та ФЕП CR-105 від Hamamatsu Photonics Co. Для направлення світла від мікросхеми до АТГ використовувався акриловий світловід з діаметром волокна 3 мм, придбаний у компанії YaGeer Building Materials Company.

Для фотореєстрації був задіяна цифрова дзеркальна фотокамера Canon 600D з об'єктивом EF-S 18-135mm f / 3.5-5.6 IS STM з фокусною відстанню $f = 113\text{мм}$ та діафрагмою $f / 5.6$. Камера була підключена до світлозахисної камери. Висота вимірної системи разом габаритними розмірами камери становила 0,39 м (найближча фокусна відстань) при розміщенні бездротового чіпу внизу камери.

Поляризація електродів, що розміщена на чипі здійснювалася модулем бездротової передачі енергії індукційним способом, що придбаним у компанії Xinketai. Катушка індуктивності модуля з мідного дроту розміщувалася на відстані 5мм від бездротового чипу, що має вісім пар електродів кільце-диск, які з'єднані паралельно. Діаметр центрального дискового електрода - 3,175 мм, зовнішній діаметр кільцевого електрода - 5,715 мм, а відстань між кільцевим та диском - 0,635 мм. Кількість витків планарного індуктора на чипі, що приймає енергію та розміщено в центрі чипу, становить по 17 витків по обидва боки чипа. Випрямний діод для отримання однополярних імпульсів є високочастотний діод типу 1SS422.

Тримач чипу та котушки модуля передавача, а також накладка були надруковані на 3D принтері за допомогою ABS-пластику. Накладка має висоту 1 см з 8 циліндричними вікнами навпроти електродів. Стінки накладки не контактують з електродами, тому крапля розчину в 30 мкл фіксується на електродах силою поверхневого натягу. Накладка попереджає засвічування області сусідніх електродів, розділяючи вимірні ділянки чипу. Таким чином вплив сусідів був придушений на чипі з масивом електродів (рис. 4.9).

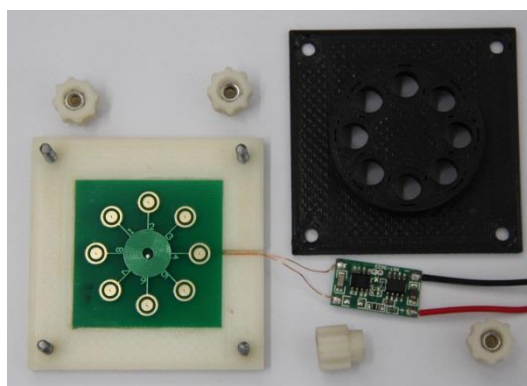


Рисунок 4.9 – Бездротовий чіп з масивом 8 електродних пар у тримачі, накладка та модуль драйвера.

Процедура визначення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ за допомогою аналізатора РМТ. Серію з 1 мл, 0,2 М буферних розчинів ($\text{pH} = 6,7$), що містить 0,01 М ТРА та різні концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, готували послідовним розведенням вихідного

розчину (концентрація $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ була: 250, 125, 64, 32, 16, 8, 4, 2 мкМ відповідно). Потім 30 мкл розчину, що досліджувався, переносили на бездротовий сенсорний чип та виміряли за допомогою аналізатора бази приладу “Spark” та ФЕП CR-105. У кожному вимірі одна ячейка з прикріпленим світловодом заповнювалась зразком, а інші ячейки - буферним розчином, що містив лише ТПА (для забезпечення подібного навантаження бездротового приймача чипу, подібно до умов експерименту з як у фотографування ЕХЛ). Цей експеримент повторювали для кожної концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Напруга фотопомножувача складала 1100 В. Період запису ЕХЛ був таким самим, як і період експозиції для процедури фотографування.

Процедура виявлення фотографії $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. У дослідженнях досліджено той самий діапазон концентрацій розчину $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, що і в дослідженнях за допомогою аналізатора ФЕП, описаний вище. 30 мкл кожного розчину наносили на пару золотих електродів, тому чіп містив 8 пар золотих електродів, заповнених розчинами $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ різної концентрації. Електрохімічне збудження синхронизувалося з початком реєстрації ЕХЛ за допомогою простого перемикача з двома контактними групами. Одна група використовувалася для підключення джерела живлення до бездротового модуля, інша – керувала затвором фотокамери. Для обробки даних, що отримані від фотодатчика, файли зображень у форматі Canon CR2 були перетворені в нестиснуті 16-розрядні файли за допомогою програмного забезпечення UFRaw 0.19.2 з відкритим кодом. Він масштабував наші початкові 14-бітові дані у форматі CR2 і трансформував дані із сенсального в піксельний домен. Ми змінили налаштування камери за замовчуванням для індексів множення каналів на коефіцієнт посилення одиниці і не використовували жодних профілів управління кольором (гамма-корекція та параметри лінійності були встановлені на 1). Тож вихідний файл tiff містив лише розширені до 16-бітового простору вихідні дані з матриці сенсора фотокамери. Обробка зображень проводилась у програмі з відкритим кодом

ImageJ 1.49. Процедура визначення інтенсивності включає наступні етапи. Початкові темні (фонові) зображення отримували з використанням тих самих режимів фотозйомки. Вони використовувались для виключення інформації із гарячих пікселів із зображень. Гарячі пікселі на матриці визначали за пороговим рівнем, встановленим на максимальну ентропію інформації для кожного кольорового каналу. Після цього фонові зображення віднімали із “світлих” (зразків) зображень. Оброблені зображення використовуються для визначення інтенсивності ЕХЛ від зразків. Для зменшення шумів, обчислення проводилися для ділянок, які охоплювали область електродної пари диск-кільце. Було проведено аналіз для кожного кольорового каналу та даних їх композиції. Інтенсивність композитного каналу визначали як середню арифметичну:

$$I = \frac{R + G + B}{3}$$

де R, G та B - кольорові координати (інтенсивність пікселя в кожному каналі кольору).

Процедура вимірювання фонові ЕХЛ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Вихідний розчин $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ розбавляли до концентрації 1 мМ буферним розчином (рН = 7,3). Частина цього розчину додатково змішували з буфером у об’ємній пропорції 2:1, отримуючи 0,66 мМ розчину $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Цей етап повторювали 7 разів для отримання діапазону концентрацій $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$: 1; 0,66; 0,44; 0,29; 0,19; 0,13; 0,08; 0,05 мМ.

Процедура аналізу фонового рівня ЕХЛ від $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ була подібна до процедури виявлення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Всі дані були зібрані з використанням чутливості ISO-6400.

Процедура визначення ТПА методом фотографування.

Використовували партію 100 мкМ розчинів $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ з різною концентрацією ТПА. 30 мкл кожного розчину наносили на пари золотих електродів, тому чіп містив 8 заповнених ячеек з ТПА різної концентрації: 500, 250, 125, 63, 32, 16, 8, 4 мкМ. Процедура аналізу виявлення ТПА була

подібною до процедури виявлення $Ru(bpy)_3^{2+}$. Всі дані були зібрані з використанням чутливості ISO-6400.

Визначення $Ru(bpy)_3^{2+}$.

Детально принцип роботи бездротового сенсорного чипу наведено в [253, 254]. Коротко, принцип роботи наступний. Модуль передавача виробляє синусоїдальний сигнал, який індукує електромагнітне поле навколо підключеного індуктора. Котушка приймача надрукована на друкованій платі сенсорового чипу отримує енергію від модуля, коли чип знаходиться на відповідній відстані від передавача. Включений діод в схемі приймача перетворює синусоїдальний сигнал на імпульси з однією полярністю. Полярність діода в ланцюзі визначає, який електрод в парі диск-кільце буде катодом або анодом. Таким чином, поданий сигнал збудження до електродів мікросхеми є імпульсною послідовністю однієї полярності. В нашому випадку це запобігає циклу відновлення після окислення на дисковому електроді.

Контрольне вимірювання досліджуваних розчинів проводилося ЕХЛ аналізатором на базі приладу “Spark” та ФЕП CR-105. Він застосовувався для оцінки процедури підготовки зразків та поведінку бездротового чипа. Оскільки вікно ФЕП розташоване внизу світлозахисної камери, ми використовували світловодне волокно для направлення оптичного сигналу від верхньої кришки бездротового чипа до ФЕП. Вимірювання показали передбачувану лінійну залежність між логарифмом інтенсивності ЕХЛ та логарифмом концентрації у всьому вимірюваному діапазоні (рис. 4.10). Рівняння калібрувальної кривої є $\log(I, \text{a.u.}) = 0.948 \log(c, M) + 6.873$ з коефіцієнтом кореляції $R^2 = 0.995$.

З літератури [255-257] також відомо, що лінійність зберігається до концентрацій одиниць пМ. Для того, щоб визначити доступний динамічний діапазон методу, необхідно отримати функцію відгуку датчика та визначити його межу виявлення.

Попередня інформація про те, що застосована камера має 14-розрядний ЦАП (цифро-аналоговий перетворювач), наводить на думку про оцифровку

динамічного діапазону 16383: 1, але реальні вимірювання спростовують цю ідею.

Одне явище, яке часто буває поза межами зору, - це розподіл інтенсивності сигналу. Вхідний сигнал повинен знаходитись всередині динамічного діапазону камери. У комерційному аналізаторі обробка сигналів включає інтеграцію, фільтрацію та масштабування сигналу, що запобігає перевантаженню аналого-цифрового перетворювача. Наші вимірювання показують, що сигнал від ячейки повинен становити не більше 2/3 загального динамічного діапазону датчика, щоб запобігти його перевантаженню. У цьому випадку розподіл світла не переходить верхню межу динамічного діапазону камери, і відхилення від лінійності датчика не спостерігається.

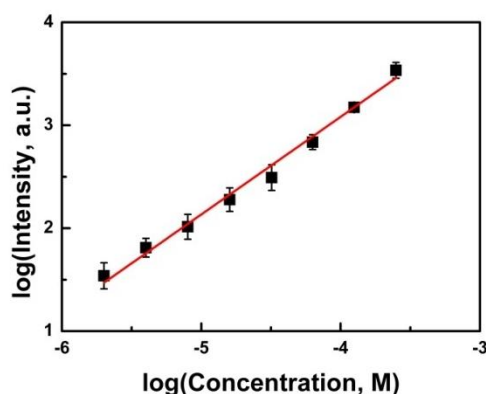


Рисунок 4.10 – Взаємозв’язок між логарифмом інтенсивності ЕХЛ та логарифмом концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ з (ТПА): 10 мМ в фосфатному буфері рН = 6,8. Напруга ФЕП: 1100В.

Щоб запобігти неконтрольованому спотворенню даних, ми не використовували жодного профілю для кольорової кривої, а використовували опцію абсолютних колориметричних вимірювань у програмному забезпеченні UFRaw, тому при перетворенні необробленого файлу CR2 у файл зображення TIFF було виконано лише масштабування з 14-бітового на 16-бітний вихід.

Іншим обмежуючим фактором приладобудування є шуми. Шум камери, що поєднує шум електроніки зчитування та середній шум сенсорного

елемента для ISO-100, становив 31,72 зі стандартним відхиленням 34,87 (для червоного каналу, для 14-бітового діапазону). Межа виявлення аналітичного сигналу обчислюється як значущий рівень [258, 259]:

Межа визначення = (середній шум+ квантиль × стандартне відхилення).

Квантиль залежить від рівня ймовірності та розподілу шуму, і його часто приймають у діапазоні від 1,645 (ймовірність 95%) до 3,091 (ймовірність 99,9%), тому межа виявлення сигналу зменшує динамічний діапазон.

Тому ефективний динамічний діапазон:

$$\begin{aligned} & \frac{\left(\frac{2}{3} \text{ динамічний діапазон камери}\right)}{\left(\text{середній шум} + 1.645 \times \text{станд. відхилення шуму}\right)} = \\ & = (2/3 \times 2^{14}) / (31.72 + 1.645 \times 34.87) \approx 122.6 \end{aligned}$$

або це дорівнює 6,9 біт, що є не настільки поганим результатом. Для більшої чутливості (великого ISO) цей діапазон нижчий.

Наступним кроком було записати зображення бездротового чіпа з розчинами різної концентрації, як описано у відповідному розділі процедури. Отримане зображення характеризується істотним зміщенням гістограми інтенсивності, яка не перекриває датчик камери (рис. 4.10). Дві клітини, що містять найнижчу концентрацію зразка, практично не демонстрували сигналу. Потім ми збільшили чутливість датчика камери з ISO-100 до ISO-6400. При більш високій чутливості елементи датчиків були підсвічені сигналом клітин з високою концентрацією зразка. Дуже важливою особливістю матриці CMOS є те, що сусідні елементи не страждають, коли якийсь елемент підсвічується. Отже, зображення клітинок можуть бути вирішені у випадку пересвітлення деяких з них. У нашому випадку поруч були розташовані дві клітини з найбільшою та найнижчою концентрацією. Аналіз зображення не визначив

перехресних розмов між елементами масиву. Отже, вимірювання в одній клітині не залежать від інтенсивності інших клітин.

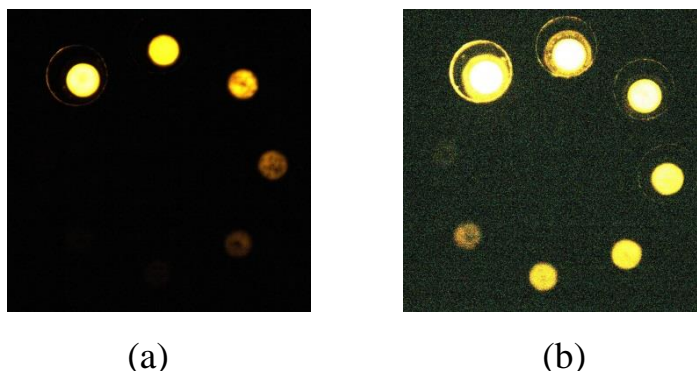


Рисунок 4.10 – Фотографія EXЛ системи. Концентрація $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$: від 250 до 2 мкМ (8 клітин, розведення 1:2), з 10 мМ ТПА в буферному розчині рН = 6,8. а) - ISO-100, б) - ISO-6400. Зображення були додатково оброблені для кращої печаті.

Дані, що отримані за різних чутливостей, нормалізувались до ISO-6400 (результати вимірювання з ISO-100 помножували на 64). Інтенсивність для 6-ї клітини, що отримано для одного й того ж розчину для двох різних чутливостей (ISO-100 та ISO-6400), була однаковою з різницею менше 2% (після нормалізації). Таким чином, комбінація даних з цих двох зображень було достатньо для побудови калібрувальної кривої в усьому діапазоні концентрацій тестових розчинів (рис. 4.11). Рівняння калібрувальної кривої для композитного каналу має значення $\log(I, \text{a.u.}) = 1450 \log(c, \text{M}) + 10,793$ з коефіцієнтом кореляції $R^2=0,996$.

Аналіз отриманих зображень (рис. 4.10) показує, що динамічний діапазон камери перевищує 100: 1 (2 в логарифмічному масштабі), що було передбачено з попереднього розрахунку.

Ще однією важливою перевагою використання кольорового CMOS-датчика є можливість обирати найбільш підходящий канал для кількісного визначення. У нашому випадку $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ має максимум випромінювання на 620 нм, отже червоний канал має в 2 рази вищу реакцію,

ніж зелений, і в 18 разів вищий, ніж синій. Нахил калібрувальних кривих однаковий, що свідчить про хорошу кореляцію між каналами. Спектр ECL не залежить від концентрацій, тому можна розширити динамічний діапазон, комбінуючи вимірювання з різних каналів.

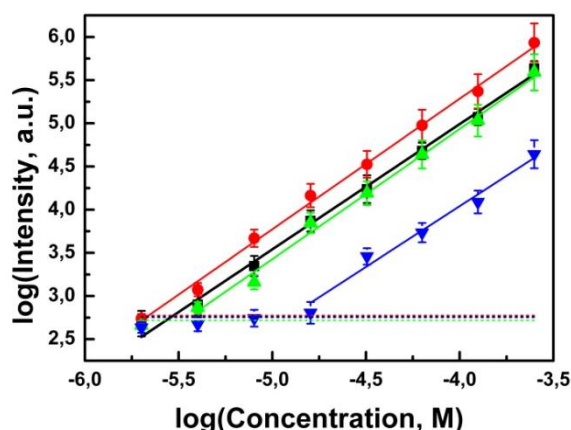


Рисунок 4.11 – Взаємозв'язок між логарифмом ЕХЛ інтенсивності та логарифмом концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Експериментальні дані та криві апроксимації: ■ і чорна лінія - композитний канал, ● і червона лінія - червоний канал, ▲ та зелена лінія - зелений канал, ▼ і синя лінія – синій канал. Горизонтальні короткі риски - це рівень шуму. У зеленому, композитному, червоному та синьому каналах вони подібні.

На рис. 4.11 показані експериментальні дані та калібрувальні криві для кольорових каналів. Низька чутливість синього каналу до випромінювання $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ та близька до рівня шумового сигналу відгук сенсора для малих концентрацій обумовило виключення 3 найменших концентрацій з процесу апроксимації. Як буде показано далі, ці 3 концентрації дуже близькі до межі виявлення (див. табл 4.2). Одна точка найменшої нижчої концентрації також була виключена з процедури обробки даних для зеленого каналу.

Рівняння калібрувальної кривої червоного каналу є

$$\log(I, \text{a.u.}) = 1,512 \log(c, \text{M}) + 11,331, \text{ коефіцієнт кореляції } R^2 = 0,996.$$

Рівняння калібрувальної кривої зеленого каналу є

$$\log(I, \text{a.u.}) = 1,508 \log(c, \text{M}) + 10,965, \text{ коефіцієнт кореляції } R^2 = 0,991.$$

Рівняння калібрувальної кривої синього каналу є

$$\log(I, \text{a.u.}) = 1,406 \log(c, M) + 9,666, \text{ коефіцієнт кореляції } R^2 = 0,971.$$

Порівняння нахилів калібрувальних кривих, отриманих за допомогою ФЕП та фотокамери, показує істотну різницю. Лінійність відгуку ФЕП добре відома, тоді як характеристики датчика фотокамери невідомі. Для аналізу реакції фотокамери використовували білий світлодіод (LW 541C-BWDW-6K9L Osram) як тестове джерело. Набір сірих фільтрів (з набору кольорового оптичного скла, ГОСТ 9411-75) використали для зміни інтенсивності зразкового джерела. Вимірювання підтвердили нелінійність відповіді (рис. 4.12). Калібрувальні криві для виявлення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ мають кінцевий нахил майже одиницю, якщо врахувати нелінійну реакцію датчика. Це збігається з лінійною залежністю ЕХЛ інтенсивності та концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, що відома з літератури [255-257] та наших досліджень з ФЕП.

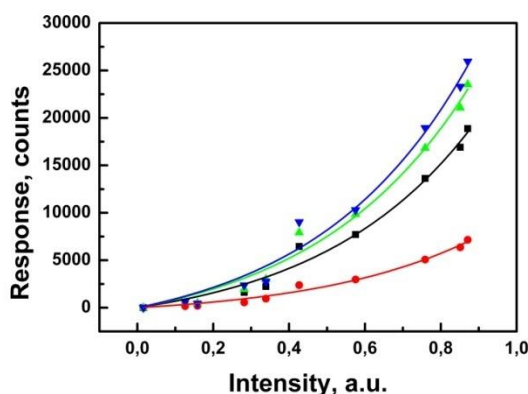


Рисунок 4.12 – Відгуку датчика Canon EOS 600D. Дані отримані з використанням тестового світлодіода та набору сірих оптичних фільтрів з різним поглинанням. Інтенсивність між каналами не нормалізується.

Як правило, оптичний датчик характеризується рівнем темного сигналу, який визначає межу виявлення. Оскільки вимірювання інтенсивності з комірки було багатоканальним та мультипиксельним вимірюванням, ми повинні проаналізувати стандартне значення похибки темного шуму. З темного зображення (без генерації ЕХЛ) ми отримуємо межу виявлення. Зображення отримується за тих самих експериментальних умовах, що і

вимірювання тестових зразків, з експозицією 30 с. Середнє значення та стандартне відхилення (StdDev) були розраховані для всього кадру. Стандартна помилка (StdErr) була розрахована для області вибірки, яка є колом діаметром 210 пікселів, що відповідає зображенню випромінювання ЕХЛ від дискового електрода. Пропорція між площами всього кадру та областю виділення становить $n = 18024930/34664$ (у пікселях на область), тому

$$\text{StdErr} = \frac{\text{StdDev}}{\sqrt{n}} = \frac{\text{StdDev}}{22.8}.$$

Межа виявлення сигналу була визначена для рівня ймовірності 0,95:

$$\text{LOD}_{\text{signal}} = \text{mean noise} + 1,645\text{StdErr} + 1,645 \text{StdDev}_{\text{signal}},$$

де StdErr - це стандартна помилка шумового сигналу для ячейки, що отримана в результаті аналізу темних кадрів, і стандартне відхилення $\text{StdDev}_{\text{signal}}$ сигналу для низької концентрації аналіту. Оцінка $\text{StdDev}_{\text{signal}}$ була отримана з припущення, що зміна сигналу відгуку є результатом зміни шуму та варіації зразка (вона включає підготовку зразка, розведення тощо). Якщо обидва розподіли є Гауссовими, тоді стандартне відхилення сигналу можна знайти як

$$\text{StdDev}_{\text{signal}} = \sqrt{\text{StdDev}_{\text{low conc.}}^2 - \text{StdDev}_{\text{noise}}^2},$$

де $\text{StdDev}_{\text{low conc}}$ - стандартне відхилення вимірюваної реакції зразка, отримане для низької концентрації аналіту, $\text{StdDev}_{\text{noise}}$ - стандартне відхилення шуму в вимірюваній комірці, яке дорівнює StdErr, отримане в результаті аналізу темних кадрів.

Вилучення стандартного відхилення варіації зразка від стандартного відхилення варіації відгуку для низької концентрації аналіту дозволяє використовувати темну рамку, записану в різних умовах (різна чутливість

ISO), і уникнути вимірювань зразків з низькою концентрацією для цих умов. Інформацію про варіацію сигналу у зразках з низькою концентрацією аналізу отримували шляхом аналізу 8 однакових зразків для кожного кольорового каналу. Для калібрування кожного кольорового каналу використовували 3 різні низькі концентрації (див. табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Стандартне відхилення сигналу відгуку* при низькій концентрації

Канал	ISO	StdDev _{low conc.}
Червоний	100	9.21**
Зелений	100	8.53**
Синій	100	9.16**
Композитний	100	8.76**
Червоний	6400	89.7
Зелений	6400	68.5
Синій	6400	84.1
Композитний	6400	80.5

* Дані в цій та наступних таблицях наводяться в одиницях для 16-бітового масштабованого діапазону зображень

** Дані не нормуються. Для нормалізації до ISO-6400 та одиниць калібрувальної кривої її слід помножити на 64.

Межа визначення для аналізу $Ru(bpy)_3^{2+}$ розраховували відповідно до встановлених калібрувальних кривих для різних чутливостей ISO та кольорових каналів (табл. 4.2).

Можливість розширення динамічного діапазону вимірювань за допомогою різних експозиції обмежена. Викид ЕХЛ $Ru(bpy)_3^{2+}$ пропорційний струму електрохімічного окислення. Динаміка випромінювання ЕХЛ не є лінійною, тому середнє значення випромінювання світла залежить від часу спостереження. Повне перекалібрування експерименту необхідне для кожного

значення експозиції. В наших експериментах ми використовували синхронізацію між затвором фотокамери та модулем бездротового передавача за допомогою простого перемикача з двома групами контактів, що покращує відтворюваність вимірювань.

Таблиця 4.2 – Шуми та межі виявлення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$

Канал	ISO	Середнє	StdDev	StdErr	Межа визн., мкМ
Червоний	100	31.72*	34.87*	1.529*	6.6
Зелений	100	27.90*	32.97*	1.446*	10.4
Синій	100	28.16*	33.30*	1.461*	38.9
Композ.	100	29.28*	33.77*	1.481*	8.9
Червоний	6400	420.2	474.5	20.81	2.2
Зелений	6400	382.2	451.3	19.79	3.4
Синій	6400	412.1	468.9	20.57	12.3
Композ.	6400	404.8	465.3	20.41	2.9

* Дані не нормуються. Для нормалізації до ISO-6400 та одиниць калібрувальної кривої її слід помножити на 64.

Вимірювання фонові ЕХЛ від $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$.

Добре відомо, що $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ дає ЕХЛ за відсутності ТПА у водному розчині, що часто асоціюється з реакцією між $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ та OH^\cdot . [257] Таким чином, відносно висока концентрація $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, що запобігає отриманню низької межі виявлення співреагенту ТПА. Тому необхідно було визначити варіацію фоновому сигналу цієї реакції. У нашому випадку необхідно знайти концентрацію $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, яка є достатньою для виявлення ЕХЛ за допомогою фотокамери, але дає досить низький рівень фоновому випромінювання. При цій концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ рівень фоновому сигналу повинен бути порівнянним або меншим, ніж шум фотодетектора, тому межа виявлення ТПА визначається рівнем шуму пристрою або коефіцієнтом вимірювань.

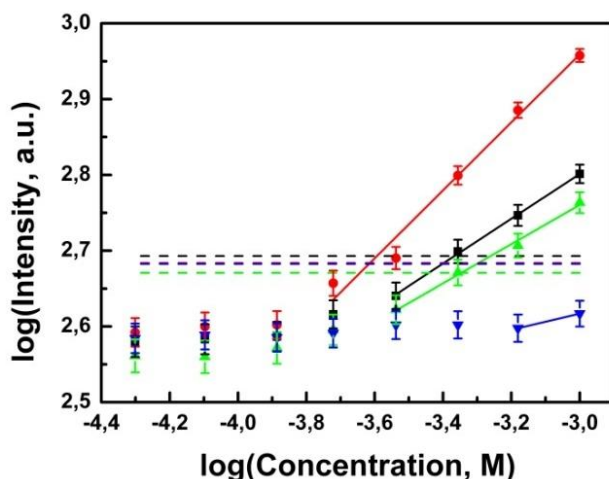


Рисунок 4.13 – Фоновий сигнал ЕХЛ для різних концентрацій $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ у буферному розчині, $\text{pH} = 7,3$. Кінцеві точки встановлених калібрувальних кривих вказують діапазон даних, що використовується в процедурі апроксимації, точки малих концентрацій були виключені.

Результати фонового емісії ЕХЛ для $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ наведені на рис. 4.13. Штрихові лінії представляють визначені порогові рівні шумів.

Процедура встановлення для отримання калібрувальної кривої була виконана для значень сигналу вище рівня шуму. Розрахунок меж визначення проводили за процедурою, що описано вище в розділі «Виявлення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ». Параметри кривих апроксимації та межа визначення представлені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3 – Шум та межа визначення для фонові ЕХЛ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$

Канал	Нахил	Перетин	R^2	Шум	Межа визн., mM
Комп.	0.296	3.689	0.998	2.693	0.432
Червоний	0.449	4.305	0.999	2.684	0.245
Зелений	0.259	3.537	0.997	2.671	0.453
Синій	0.107	2.938	1.000	2.680	3.870

Відповідно до процедури виявлення ТПА пропонується використовувати 100 мкМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, що більше ніж у два рази нижче межі визначення в червоному каналі (найбільш чутливому).

Визначення ТПА.

Для отримання експериментальних даних використовували 100 мкМ розчину $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ з різною концентрацією ТПА. Ця концентрація істотно нижча за визначену межу виявлення для фонові ЕХЛ.

Залежність концентрації реагенту в логарифмічній шкалі демонструє хорошу кореляцію з лінійною функцією. Отримані дані узагальнені в табл. 4.4. Аналіз даних проводить так само, як і для фонові ЕХЛ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$.

Залежність ЕСЛ від концентрації реагенту демонструє лінійну поведінку в логарифмічному масштабі (рис. 4.14). Для вибраного рівня надійності виявлення (95%) межа визначення для реагенту склала 31,1 мкМ для червоного каналу. У зв'язку з тим, що ТПА бере участь у різних незворотних хімічних та електрохімічних реакціях, його межа визначення більша ніж для $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, що є реагентом, який відновлюється у ЕХЛ реакції.

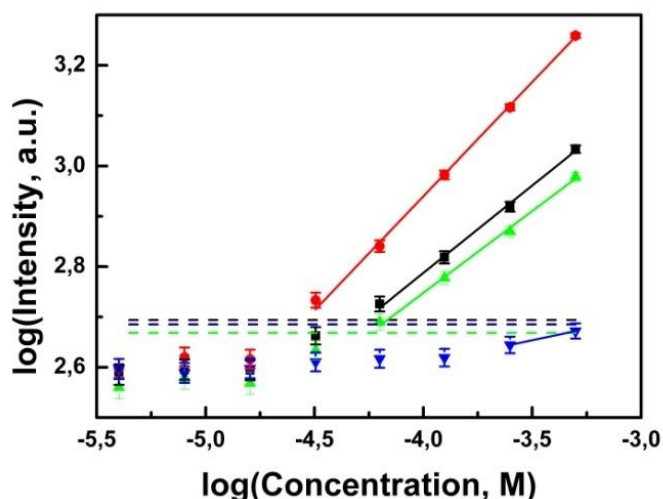


Рисунок 4.14 – Калібрувальна крива для виявлення співреагенту ТПА. 100 мкМ розчину $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, рН = 7,3. Кінцеві точки визначених калібрувальних кривих вказують діапазон даних, що використовується в процедурі апроксимації, точки менших концентрацій були виключені.

Таблиця 4.4 – Шум та межа визначенняТПА

Канал	Нахил	Перетин	R ²	Шум	Межа визн., мкМ
Комп.	0.348	4.178	0.999	2.694	54.4
Червоний	0.459	4.755	0.987	2.686	31.1
Зелений	0.325	4.049	0.993	2.668	56.3
Синій	0.092	2.975	1.000	2.685	704.4

Ефективність збору світла в оптичній системі є важливим фактором. Регулювання ефективності збору світла, наприклад використання більш прозорого об'єктива або більшої діафрагми покращує межу виявлення та чутливість. Масштабування зображення до матриці сенсора також впливає на чутливість вимірювальної системи. Зібране світло з зразка розподіляється між пікселями, тому розмір зображення на датчику визначає частку розподілу світла між пікселями. Чим більше зображення об'єкта, тим менша кількість світла на піксель, тобто збільшення роздільної здатності є зменшенням чутливості для аналітичної системи. Вибір відповідної лінзи для отримання ЕХЛ зображень залежить від аналітичного завдання та не має універсальної відповіді.

Для дослідження ЕХЛ зображень з високою чутливістю можливо використання декількох технологій покращення характеристик CCD фотодетекторів. Одним із таких прикладів є камери типу EM-CCD Princeton Instruments ProEM HS 512BX3. (Фото отримано в Ключовій національній лабораторії аналітичної електрохімії Інституту прикладної хімії м. Чанчунь, Китай, яку очолює проф. Гуобао Сю). Особливістю камери є електронне помноження, що відбувається перед считуванням та оцифровкою сигналу ячеек, це дозволяє знизити шуми камери за рахунок виключення (майже повного пригнічення) шумів, що пов'язані з оцифровкою. Однак залишаються шуми самого детекторного елемента (сенселя) та шуми пов'язані з переносом заряду між ячейками. Отже повністю шуми зчитування не виключені в цій камері. Також добре сказується на загальному зменшенні шумів охолодження

детектора хза допомогою двостадійного пельте елемента, що дозволяє працювати при робочій температурі матриці на рівні – 80 °С.



Рисунок 4.15 – EM-CCD Princeton Instruments ProEM HS 512BX3, що встановлено згори світлозахисної камери.

Використання ЕХЛ технології аналізу для реалізації мультиплікативного аналізу особливо зручне, оскільки є прямий електричний канал керування аналітичною реакцією. При відключенні одного з електродів сенсора, аналітична реакція на його поверхні не відбувається. При функціоналізації різними структурами, можливо отримати сенсор здатний проводити аналіз різноманітних сполук. А завдяки адресній активації сенсорних елементів (рис. 4.16) з'являється можливість проводити ту саму аналітичну реакцію, що необхідна. Отже ЕХЛ сенсор демонструє можливість гнучкого підходу реалізації сенсорних систем.

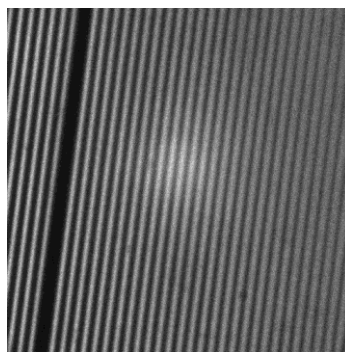


Рисунок 4.16 – Фотографія ЕХЛ сенсора з матрицею електродів (крок решітки 50 мкм), розчин 0.1 мМ біпіридилу рутенію з 1мМ ТПА, фосфатний буфер рН=7.0.

4.5 Висновки за розділом

Досліджено аспекти застосування сенсорного безпроводного чипу з матрицею електродів для колориметричного ЕХЛ аналізу. Розглянуто особливості використання КМОН матриці фотосенсора для багатоканального та багатопіксельного вимірювання світла. Визначено параметри обладнання, що впливають на чутливість та межу виявлення. Побудована система ЕХЛ, що містить сенсорний бездротовий чип та поєднано з фотокамерою, проведено дослідження системи в ЕХЛ реакції $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ з співреагентом ТПА, що широко використовується в ЕХЛ аналізі. Отримані калібрувальні криві для композитного каналу та окремих кольорових каналів. Червоний канал використовуваного фотосенсора показав найкращу чутливість серед інших каналів для обраної ЕХЛ реакції. Межа виявлення реакції згідно з аналізом темного шуму та отриманими калібрувальними кривими була визначена як 1,9 мкМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ та 31,1 мкМ ТПА. Описана методика обробки сигналу, яка покращує динамічний діапазон вимірювання випромінювання світла та зберігає лінійність калібрувальної кривої. Запобігання перевантаженню матриці оптичного датчика та втраті даних у нашому випадку було здійснено за допомогою програмного забезпечення, яке працює з файлом необроблених даних оптичного датчика з відомими алгоритмами обробки зображень. Колориметричні вимірювання добре корелюють з результатами, отриманими за допомогою аналізатором на базі ФЕП. Лінійний зв'язок між логарифмом концентрації аналіту та логарифмом інтенсивності ЕХЛ спостерігали для концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ в діапазоні від 2 мкМ до 250 мкМ. Калібрувальна крива для широкого динамічного діапазону була отримана в результаті аналізу зображення при різній чутливості камери (ISO-100 та ISO6400). Представлені результати показали високий потенціал матричного КМОН фотодатчика з бездротових сенсорним чипом з матрицею електродів для аналітичних застосунків.

5. КОМПЛЕКС ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ СЕНСОРНИХ СИСТЕМ

В розділі розглянуто аспекти побудови сенсорних систем на прикладі розробки їх складових елементів. Увагу приділено розробці таких приладів, що можуть використовуватися як окремо та і у складі складної сенсорної системи з використанням нанофотонних та наноелектрохімічних технологій. Для роботи з різноманітними індикаторними тест-системами, запропоновано колориметр «С 1001», що базується на КМОН сенсорі кольору. Електрохемілюмінесцентний аналізатор «ЕЛАН-3D» для проведення гомогенних та гетерогенних досліджень, включаючи використання електродів виготовлених з використанням нанотехнологій. Апарат «Spark» для контролю роботи та інтеграції ФЕП до вимірної системи, що може використовувати такі аналітичні методи як ХЛ та ЕХЛ, але не обмежується зокрема ними. Швидкісний лічильник імпульсів «Pulsar» для роботи з ФЕП, що працюють в режимі лічби імпульсів, призначений для реалізації оптичного каналу вимірювання сенсорної системи з високою часовою роздільною здатністю та максимальною чутливістю та межею визначення, що відповідає підрахунку окремих фотонів. Експериментальне обладнання для реалізації методу ЕХЛ в режимі надшвидкої поляризації електродів.

Основні результати розробки наведеного вище обладнання та його використання викладено в статтях [4, 6-8, 11, 12, 14, 15, 17-19, 21, 23] та апробовано на конференціях, симпозіумах, та сесіях [24-25, 27, 29, 31-33, 36, 41-43, 48-49, 52].

5.1 Колориметр «С 1001»

В даній роботі проведено розробку рефлектометра на базі датчику кольору S9037 від Hamamatsu Photonics, що на матриці оптичних перетворювачів (площею $0,32 \text{ мм}^2$) має оптичні фільтри на діапазони для червоного, зеленого та синього спектрів з спектральною областю чутливості $400 \div 720 \text{ нм}$. Окрім

цього датчик кольору включає до своєї структури попередні підсилювачі для трьох каналів кольору, 12-бітний аналогово-цифровий перетворювач та цифровий модуль, що керує процесом виміру та реалізує цифровий послідовний інтерфейс. [178]

Основними задачами, що вирішуються у даній роботі це огляд проблеми кольорових досліджень для твердих об'єктів, у якості яких виступають різноманітні індикаторні тест-системи для проведення аналізу хімічного складу біологічних проб, та розробка сучасного рефлектометра з USB-інтерфейсом, конструкції вимірювальної системи сучасного рефлектометра.

Структурну організацію рефлектометра для біомедичних досліджень, що розроблюється у даній роботі, наведену на рис. 5.1.

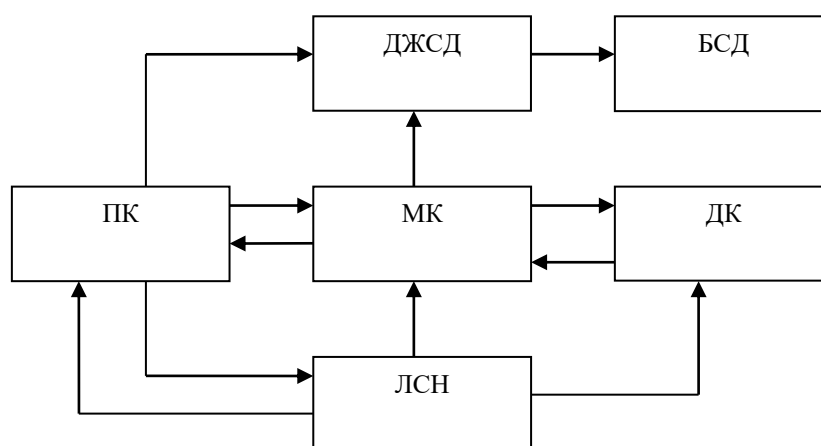


Рисунок 5.1 – Структурна схема рефлектометра: МК – мікроконтролер, ПК – персональний комп'ютер, ЛСН – лінійний стабілізатор напруги, ДК – датчик кольору, БСД – блок світлодіодів.

Для підсвічування зразка 3 використовується схема рис. 5.2 (а – вигляд з боку, б – вигляд знизу) у вигляді блоку з чотирьох світлодіодів 1 з вузькою діаграмою спрямованості, розташовані з чотирьох сторін від датчика та спрямовані під кутом у 45° до зразка. Датчик кольору 2 розташовується між світлодіодами на відстані у 7 мм від поверхні зразка, що досліджується. Для додаткового захисту від частки бокового випромінювання світлодіодів

сенсору використано непрозорий циліндричний екран. Вибір даної вимірювальної системи відповідає вимогам МКО (Міжнародної комісії з освітлення) та рекомендаціям з використання датчику кольору. Оскільки вольт-амперна характеристика світлодіодів не лінійна та враховуючи той факт що інтенсивність випромінювання пропорційна току через світлодіод, для обрання робочої точки на вольт-амперній характеристиці переважним є використання джерела струму у якості джерела живлення світлодіодів. Тому в структуру схему рефлектометра входить імпульсне джерело живлення підвищуючого типу, виконане за бустерною схемою DC-DC конвертера. Оскільки живлення рефлектометра здійснюється безпосередньо від шини USB, основними вимогами, що висувуються до нього, є висока ефективність, низькі шуми, стабільність.

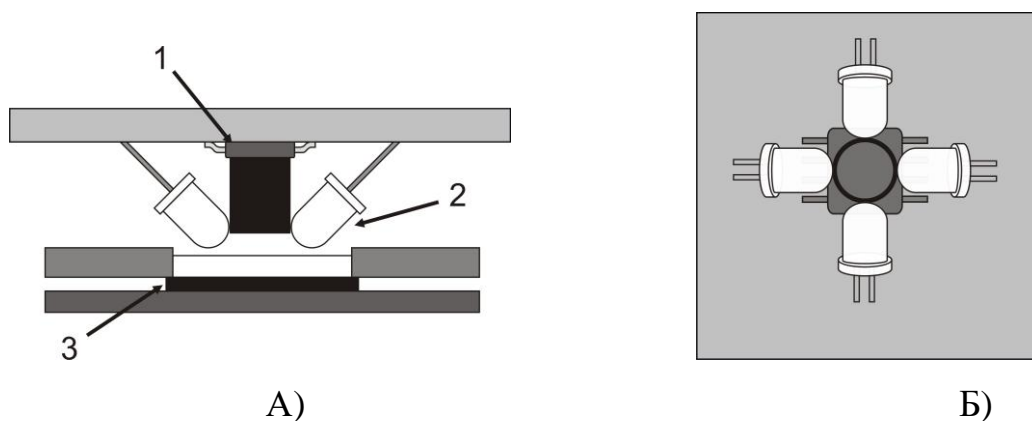


Рисунок 5.2 – Схема розміщення сенсора кольору та світлодіодів освітлення в колориметрі «С 1001»: 1 - сенсор кольору, 2 – світлодіод, 3 – зразок. А) вид збоку, Б) вид з низу (зі сторони зразка).



Рисунок 5.2 – Зовнішній вигляд колориметра «С 1001» (з права) з кольоровими зразками (з ліва).

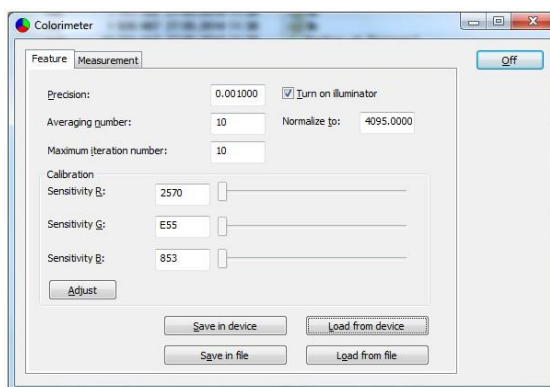


Рисунок 5.3 – Зовнішній вигляд інтерфейсного вікна «Features» колориметра «С 1001» з параметрами режиму роботи.

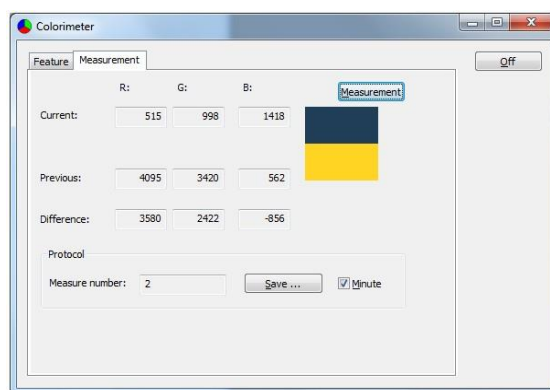


Рисунок 5.4 – Зовнішній вигляд інтерфейсного вікна «Measurements» колориметра «С 1001» з результатами виміру зразка.

Основні характеристики розробленого колориметра «С 1001» наведено в табл. 5.1

Таблиця 5.1 – Основні характеристики колориметра «С 1001»

Параметр	Значення
Спектральний діапазон:	400...720 нм
Роздільна здатність:	12 біт × × 3 кольора
Площа поверхні, що аналізується:	Ø 5мм,
Інтерфейс:	НІD*, USB 2.0
Живлення:	не більш 1 Вт
Вага:	76 г

* Немає необхідності в установці драйверів.

Дослідження відтворюваності вимірювань колориметра проводили для різних аналітичних систем. Під час тестування використовувався пористий пінополіуретан (ПУ), індикаторний папір та силікагель. Були обрані тестові реакції з різними кольорами (табл. 5.2). [260, 261] Досліджено залежності точності вимірювання від сорбентного матеріалу та від сорбатних кольорів.

Спектри дифузного відбиття сорбатів містили довжини хвиль охоплювали майже весь видимий діапазоні. Тіоціанатний комплекс іона Co^{2+} , адсорбований на пінополіуритані, має максимум поглинання на 622 нм. Імобілізований комплекс іонів Cu^{2+} з формазаном характеризується максимумом поглинання на 558 нм. Нейтральний червоний, що адсорбований на силікагелі, має максимум поглинання на 540 нм.

Таблиця 5.2 – Результати кольориметричних досліджень

Аналіт	Реагент	Індикатора система	Сорбент	Діапазон концентрації, моль /л	Час, хв	Зміна кольору сорбенту
Co^{2+}	SCN^-	KSCN, 1,0 моль/л NaF, 0,01 моль/л H_2SO_4 , pH 2	ПУ	$(0,5-40) \cdot 10^{-6}$	30	білий – синій
«Нейтральний червоний»	–	HCl, pH 3	Сілікагель	$(0,1-1) \cdot 10^{-5}$	120	білий – малиновий
Cu^{2+}	Формазан	папір-Cu-тест, HCl, pH 3	Індикаторна бумага	$(0,8-12) \cdot 10^{-3}$	15	жовтий – фіолетовий

Після реакції з різними концентраціями аналіту кольорові тест досліджувалися за допомогою колориметра «С 1001» (рис. 5.2). Для кожної системи був обраний канал з максимальним відгуком (рис. 5.5). Комплекси $\text{Co}(\text{II})$ та $\text{Cu}(\text{II})$ та малахітового зеленого мають основні зміни в червоному каналі, комплекси $\text{Fe}(\text{III})$ та індикатор «Нейтральний червоний» мають найбільші зміни в зеленому каналі (табл. 5.3).

Таблиця 5.3 – Параметри калібрувальної кривої

Тест система	Кольоровий канал	Концентрація реагенту, моль/л	Параметри лінії апроксимації, $y_0+a \cdot e^{-x/t}$			Коефіцієнт кореляції, R^2
			y_0	a	T	
Co^{2+} -SCN-ПУ	червоний	$(0.5-15) \cdot 10^{-6}$	277.8	1119	32.71	0.989
Нейтральний червоний-сілікагель	зелений	$(1-20) \cdot 10^{-5}$	156.7	659.2	61.69	0.996
Си-папір	червоний	$(0.5-24) \cdot 10^{-3}$	142.7	85.09	2.796	0.957

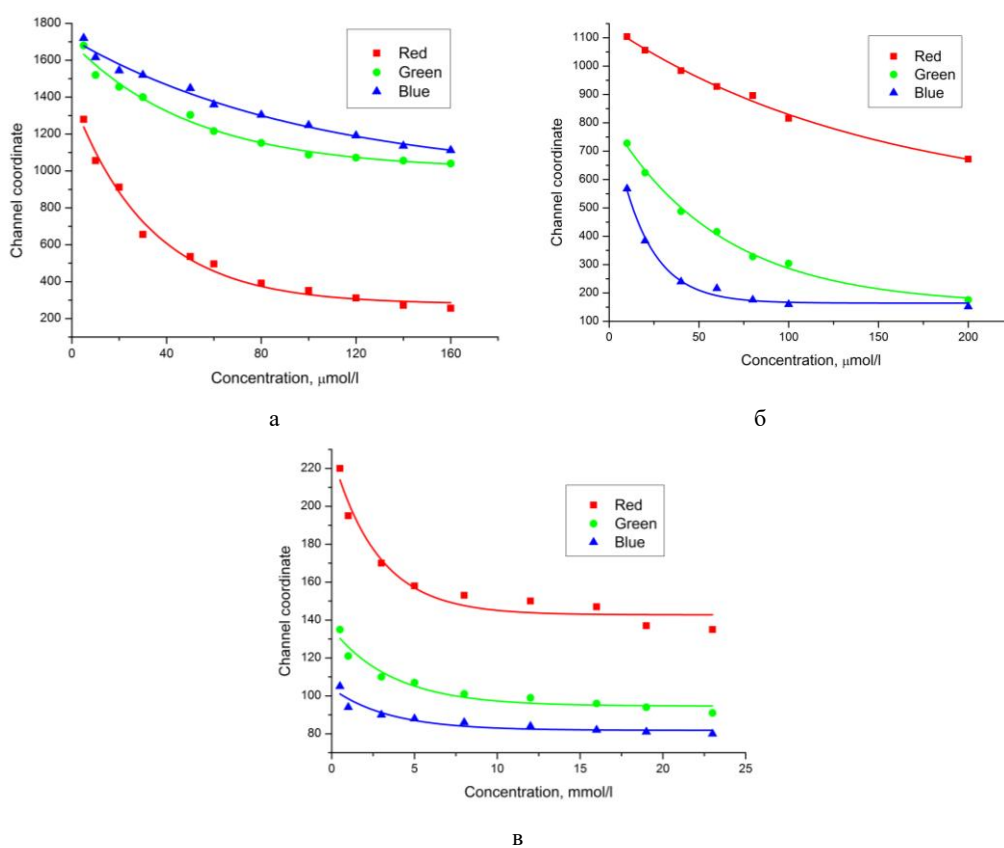


Рисунок 5.5 – R-, G-, B-компоненти кольору для діапазону 4095 (12 біт) для: а – комплекс тіоціанату Co^{2+} іону адсорбованого на ПУ; б – індикатор червоний красний на сілікагелі; в – комплекс Cu^{2+} іонів з формазаном на папері

За результатами досліджень проведено оцінку відтворюваності то точності вимірювань для різноманітних сорбентів індикаторів, що зведено в табл. 5.4.

Таблиця 5.4 – Відтворюваність результатів вимірювання R-, G-, B-кольорових компонентів для різних сорбентів

Сорбент	Відтворюваність, sr% (n=5)	Точність, sr% (n=9)
ПУ	0,10–0,6	0,1–0,7
Папір	0,08–0,3	0,1–0,3
Сілікагель	0,06–0,4	0,1–0,4

З аналізу результатів можна зробити висновок, що максимальна точність обмежується відтворюваністю аналітичної реакції, що є меншею ніж точність виміру кольорових координат, яка реалізована в колориметрі. Оскільки вимір кольорових координат здійснюється з граничною точністю в 1 біт, тобто $1/4095=0,025\%$, для сенсора кольору S9067 Hamamatsu. Розбіжність у значеннях відтворюваності вимірів залежить від діапазону зміни кольору певних тест систем. Папір та селікагель проявили себе більш якісними сорбентами, значення точності ПУ сорбента наближені до них.

Таким чином можна зробити висновок, щодо вірності обраних технічних рішень для реалізації колориметра та його спроможності у роботі з різноманітними кольоровими зразками.

Колориметр може використовуватися як універсальний інструмент для визначення кольору твердих не люмінескуючих об'єктів.

насамперед, його можливість використовувати в наступних областях:

- хімічний аналіз (експрес-аналіз на основі індикаторних тест-систем у вигляді порошків або закріплених на папері, поліуретані та інш.);
- аналіз і моніторинг екологічної обстановки;
- польові дослідження;
- сільське господарство (аналіз стану продуктів, спілості плодів)
- харчова промисловість (контроль виробничих процесів, якості сировини);
- аналіз медикаментів;
- аналіз питної води.

Використання сучасної елементної бази у сукупності з концепціями

максимальної мініатюризації та функціоналізації дозволяє реалізувати мініатюрний колориметр, зручний у підключенні до комп'ютеру (в том числі вірогідність підключення до мобільних платформ), що робить його незамінним у дослідницькій роботі та практичних застосунках, де точність визначення кольору є фактором ефективності використання пристрою. Глибина роздільної здатності колориметра дозволяє приладу розрізняти більш 68 млрд. кольорів. Це робить прилад універсальним вимірювальним засобом для більшості кольорометричних досліджень.

5.2 Комплекс для ЕХЛ досліджень «ЕЛАН-3D».

Для проведення електрохімічних та електрохемілюмінесцентних досліджень в Лабораторії аналітичної опохемотроніки кафедри Біомедичної інженерії Харківського національного університету радіоелектроніки проведено розробку програмно-апаратного комплексу ЕЛАН-3d, структурна схема якого наведена на рис. 5.6. До апаратного забезпечення комплексу входять три основних модуля: модуль керування електрохімічними та оптичними вимірюваннями, персональний комп'ютер та плата вводу-виводу інформації Advantech PCI-1711.

Керування комплексу ЕЛАН-3d (рис. 5.7) здійснюється за допомогою персонального комп'ютера з відповідним програмним забезпеченням та розміщеної на PCI шині плати вводу-виводу інформації PCI-1711 серії PC-LabCard фірми Advantech Co., Ltd [262]. Такі плати збору даних широко використовуються для автоматизації промислового та лабораторного обладнання, вводу та виводу цифрової та аналогової інформації, управління різноманітними процесами та пристроями. За допомогою інтерфейсного кабелю плату поєднано з модулем керування.

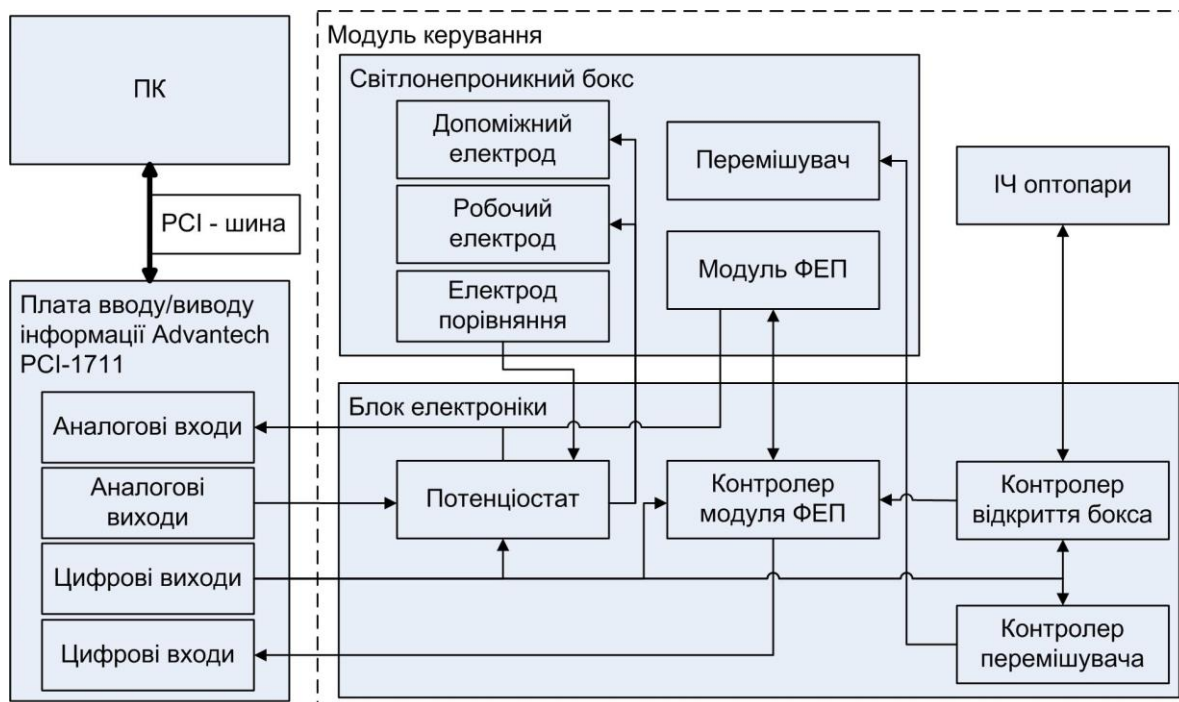
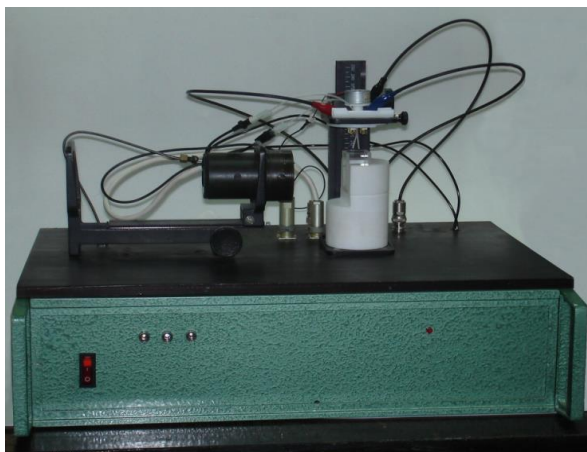


Рисунок 5.6 – Структурна схема ЕХЛ-аналізатору ЕЛАН-3D



Риснок 5.7 – Зовнішній вигляд ЕХЛ-аналізатору ЕЛАН-3D

Структурна організація комплексу зумовлена необхідністю забезпечення наступних функцій, необхідних для проведення ЕХ та ЕХЛ досліджень: потенціостатування трьохелектродної ячейки, одночасний вимір емісії фотонів та струму, що протікає через робочий електрод, з їх прив'язкою до сигналу збудження (потенціал робочого електроду відносно потенціалу розчину). Реєстрація оптичного сигналу в системі здійснюється за допомогою модуля фотоелектронного помножувача (ФЕП) фірми Hamamatsu H5784-20

(робочий діапазон довжин хвиль 300 - 920 нм) [263]. Особливостями останнього є висока чутливість, мініатюрність, низька споживча потужність, наявність вбудованих джерела високовольтного живлення та перетворювача фотострум-напруга, легкість інсталяції та керування. Зважаючи на високу вартість та чутливість до інтенсивного зовнішнього опромінення модуля ФЕП в комплексі ЕЛАН-3d передбачено функції захисту помножувача від нештатного режиму експлуатації при знятій кришці світлонепроникного боксу. Це реалізовано за допомогою схеми контролю положення кришки боксу на базі оптичних датчиків, яка відключає модуль ФЕП у разі відкриття боксу. Окрім цього, модуль ФЕП обладнано захисним пелюстковим затвором, що дозволяє закривати фотокатод помножувача для захисту від можливої деструктивної дії зовнішнього світла, коли фотоприймач не експлуатується. Це також дозволяє проводити контроль темного струму ФЕП без необхідності вилучення зразка зі світлонепроникного боксу, що є важливою функцією контролю характеристик роботи модуля ФЕП.

До основних технічних характеристик комплексу слід віднести можливість роботи з трьохелектродною ЕХ- або ЕХЛ-ячейкою, здійснювати поляризацію допоміжного електроду в діапазоні ± 10 В струмом до 10 мА, при цьому забезпечується дискретизація зміни потенціалу в 1 мВ. Використання чутливих операційних підсилювачів з МОН-транзисторами на вході забезпечує вимірювання аналітичного струмового сигналу, що проходить через ячейку, від 1 пА. Це дозволяє здійснювати високоточне потенціостатування ячейки, що є важливим у дотриманні відповідності аналітичної техніки до обраних ЕХ- та ЕХЛ-методик. Використання модуля ФЕП з струмовою схемою реєстрації оптичного сигналу з інтегрованим пікоамперним операційним підсилювачем для перетворення фотострум-напруга та наявність схеми керування вбудованим джерелом високовольтного живлення дозволяє проводити дослідження оптичного сигналу з динамічним діапазоном до 7 порядків величини (70 дБ), при цьому максимальна чутливість фотокатоду сягає значення 78 мА/Вт при 680 нм.

Завдяки цьому мається можливість досліджувати широкий спектр аналітичних реакцій, що супроводжуються як високим, так і слабким рівнем випромінювання оптичного аналітичного сигналу.

Важливою особливістю комплексу є наявність світлозахисного боксу, де розміщується кварцова ячейка у спеціальній системі кріплення, роз'єми для підключення електродів ячейки, модуль ФЕП на рухомій підставці, система газогонів для підведення захисної аргонної атмосфери до ячейки. Система кріплення електродів виконана у вигляді ексцентричних зажимів для швидкого встановлення електродів різної товщини та конфігурації. Необхідність в цьому зумовлена потребою у дослідженнях різних електродів, що мають плоску конструкцію, яка найбільш зручна при побудові тонкошарових сенсорів.

5.3 Апарат «Spark» для інтеграції ФЕП до сенсорних систем

Розроблений пристрій містить наступні основні блоки: перетворювач струму в напругу, фільтр низьких частот Баттерворта 2-го порядку, джерело високої напруги, два мікроконтролери, передня панель управління і задня панель із роз'ємами, блок живлення. Взаємодія агрегатів показано на блок-схемі апарату «Spark» (рис. 5.8). Всі елементи розміщуються в маленькому металевому корпусі. Також можливо незалежне використання розробленого приладу як джерела високої напруги або трансімпедансного підсилювача з вихідним фільтром низьких частот.

Структура апарату наведена на рис. 5.9. Робота апарату контролюється двома включеними мікроконтролерами. Через необхідність великої кількості вхідних / вихідних портів для керування кнопками, індикаторами та блоками в схемі були використані два однакові недорогі мікроконтролери ATmega16 (Atmel-Microchip Co.).



Рисунок 5.8 – Зовнішній вигляд приладу «Spark» (зліва – фронтальна панель, справа – задня панель)

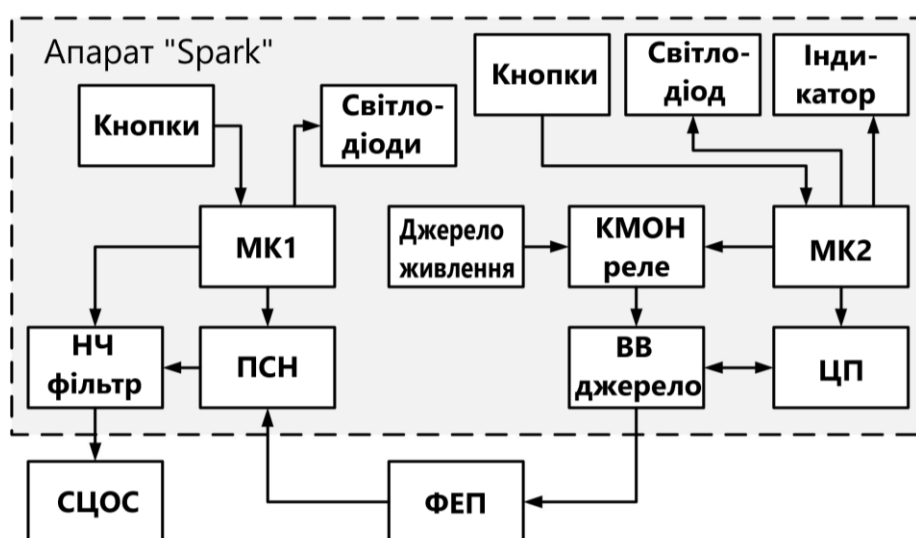


Рисунок 5.9 – Структурна схема пристрою «Spark»

Мікроконтролер МК 1 відповідає за зчитування стану кнопок, індикацію режиму роботи світлодіодами. Супроводжуючи ці функції, він перемикає контури зворотного зв'язку у фільтрі та перетворювач струму в напругу для встановлення робочих параметрів.

Мікроконтролер МК 2 керує джерелом високої напруги відповідно до налаштувань, отриманих за допомогою прикріплених кнопок управління. Стан роботи джерела високої напруги відображається на 7-сегментному індикаторі та світлодіоді.

В приладі реалізовано послідовне вмикання живлення, по-перше, контуру керування на основі цифрового потенціометра, а потім

високовольтного блоку живлення за допомогою КМОН реле, що запобігає неконтрольованій появі високої напруги на виході приладу. Тож ФЕП буде гарантовано вимкнено під час увімкнення “Spark”.

Чутливість ФЕП, що працює в струмовому режимі, контролюється двома факторами. Перший – зворотним зв’язком перетворювача струм-напруга, що перетворює вихідний сигнал ФЕП, а другий - величина високої напруги живлення ФЕП.

Розроблений пристрій має діапазон варіації коефіцієнта перетворення в чотири декади, що розширює динамічний робочий діапазон. Перетворювач струм-напруга базується на операційній схемі інвертуючого підсилювача з резистором у контурі негативного зворотного зв’язку (рис. 5.10). Перетворення відбувається за рівнянням:

$$U_{CVC} = -\frac{I_{PMT}}{R_{feedback}} \quad (1)$$

де U_{CVC} - вихідна напруга перетворювача, I_{PMT} - фотострум, що виробляє ФЕП, $R_{feedback}$ - значення резистора в колі негативного зворотного зв’язку. Оскільки ФЕП працює з негативною полярністю, початковий негативний фотострум створює позитивну напругу після перетворення відповідно до рівняння 1. Сигнал після перетворювача струм-напруга надходить до фільтру низьких частот.

Базою перетворювача є операційний підсилювач JFET AD8610 (Analog Device Co.), U1, що характеризується точністю, дуже низьким рівнем шуму, низьким вхідний струмом, широкою смугою робочих частот. Резистори зворотного зв’язку, R1 ... R4, перемикаються герконовими реле, S1 ... S4, щоб мінімізувати втрату слабкого струмового сигналу. Для мінімізації деградації герконових реле, запобігання збудження підсилювача при перемиканні зворотного зв’язку, в схемі передбачено специфічний технічний прийом. Ланцюг з двома реле з’єднано паралельно колу зворотного зв’язку, кожний з них містить герконове реле та резистор зворотного зв’язку. У новому колі

одне реле є герконовим, S5, інше - оптичним КМОН-реле, S6. Кожен з них свої переваги. Реле CMOS нечутливе до кількості та умов на момент перемикання. Коли герконове реле відкрите, воно характеризується дуже хорошою ізоляцією. Важливою задачею є запобігти витoku сигналу з колу зворотного зв'язку.

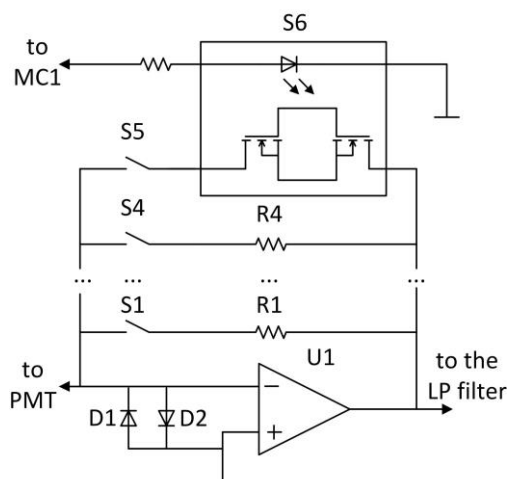


Рисунок 5.10 – Програмований перетворювач струму в напругу.

Принцип роботи додаткового кола зворотного зв'язку є наступний.

На першому кроці, підключається герконове реле в додатковому контурі, потім підключається КМОН-реле. Новий шлях є кращим для сигналу, ніж підключений контур зворотного зв'язку з великим спротивом, що обумовлений резистором. Отже, струм в основному протікає через нове коло, і підсилювач в цей момент деактивується.

На другому кроці новий резистор зворотного зв'язку обирається, підключенням відповідного герконового реле. А попередній резистор деактивується, розмиканням його герконового реле.

Останній крок, після повторного підключення зворотного зв'язку, КМОН реле спочатку розмикається, а потім герконове реле відкривається в додатковому колі. Струм не протікає через герконове реле при його вимиканні, оскільки додаткове коло було попередньо розірвано за допомогою КМОН реле.

Процедура зміни резистора зворотного зв'язку закінчена.

Складна процедура переключення резистора зворотного зв'язку компенсується автоматикою управління мікроконтролером. Перевагою більш складної схеми полягає в тому, що будь-яке герконове реле ніколи не перемикається в навантаженому стані, отже зменшена їх деградація.

Два альтернативно спрямованих діода, що паралельно з'єднані, використовуються для захисту входу операційного підсилювача з високим імпедансом у колі негативному зворотному зв'язку. Цей ланцюг запобігає підвищенню сигналу вище рівня падіння напруги на розімкнутому р-п-переході незалежно від напрямку струму. Оскільки операційна схема підтримує однаковий потенціал на обох входах, інвертуючий вхід буде притягнуто до рівня неінвертуючого входу, який заземлений в схемі перетворювача струм-напруга. Таким чином, вхідний струмовий сигнал не може збільшитися до небезпечного рівня завдяки цьому ланцюгу, що забезпечує надійне рішення захисту [264].

Іншим способом контролю чутливості фотодетектора на основі ФЕП є величина напруги, що використовується для живлення ФЕП. Останній має нелінійну залежність чутливості від прикладеної високої напруги, проте підтримує можливість ФЕП працювати з різною інтенсивністю світла, як слабкою, так і яскравою.

В апараті використовується програмоване високовольтне джерело напруги DW-N152-10k (TianJin Dongwen High Voltage Power Co., Ltd., Китай). Керування ним було реалізовано за допомогою цифрового потенціометра AD5231BRUZ10 (Analog Device, Inc.) та двома твердотільними реле KAQY212 (Cosmo Electronics Corp.). Оптореле підключають джерело ± 15 В до джерела високої напруги, це забезпечує певну послідовність для його ввімкнення. Опорна напруга, що виробляється джерелом високої напруги, має 10-бітну точність, з відмінною відтворюваністю. Ця характеристика цифрового управління важлива для відновлення режиму роботи ФЕП в аналітичних дослідженнях. Активація джерела високої напруги можливе лише

тільки після того як оператор натискає кнопку управління та МК2 спочатку зафіксує значення потенціометра, а потім ввімкне джерело живлення блока високовольтного живлення. Неконтрольоване живлення в такому випадку виключається, щоб важливо для запобігання пошкодження ФЕП. Окрім цього, МК2 використовує вбудований монітор напруги та сторожовий таймер для контролю коректності роботи МК та пристрою загалом.

Окрім керування чутливістю ФЕП, в приладі вирішується задача цілісності сигналу, для адекватної інтеграції сенсора у вимірну систему. Основним завданням для забезпечення цілісності сигналу є блокування високочастотних компонентів вхідного сигналу. Високочастотні зміни сигналу можуть бути багаторазово відтворені в оцифрованому спектрі з частотою збору даних, що відоме як ефект віддзеркалення. У розробленому апараті фільтр згладжування є активним фільтром низьких частот.

Цілісність сигналу в розробленому апараті, що поєднує ФЕП і зовнішній пристрій збору даних, забезпечується фільтром низьких частот Баттерворта 2-го порядку (рис. 5.11). Фільтр Баттерворта обрано, оскільки його реакція є найбільш рівномірною в смузі пропускання [265]. Для реалізації фільтра Баттерворта 2-го порядку достатньо одного операційного підсилювача, для чого обрано високошвидкісний підсилювача JFET AD825, U2, в запропонованому апараті.

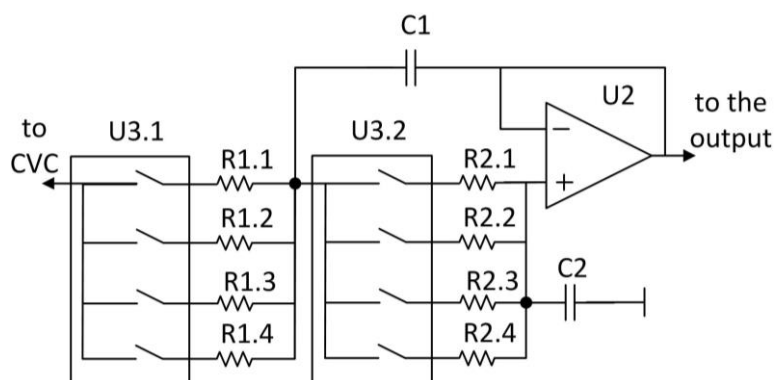


Рисунок 5.11 – Програмований фільтр низьких частот на основі топології Салена-Кея

Топологію Салена-Кея обрано, оскільки вона проста і нечутлива до компонентів. Недоліком є низька добротність, так для одиничного коефіцієнта посилення та забезпечення рівномірності відгуку визначають повільне затухання відгуку цього фільтра в смузі частот.

Максимально плоска частотна характеристика смуги пропускання фільтра Баттерворта другого порядку спостерігається, коли Q дорівнює $1/\sqrt{2}$. Це може бути досягнуто шляхом вибору наступних значень компонентів $C1 = 2 C2 = 1$ мкФ і $R1.x = R2.x = 750$ Ом, $1,5$ кОм, $7,5$ кОм і 15 кОм, що дає 300 , 150 , 30 або 15 Гц частоти зрізу відповідно. Варіація зворотного зв'язку здійснюється подвійним 4-канальним аналоговим мультиплексором ADG 1409 (Analog Device, Inc.), U3, він має максимальний опір каналу лише 5 Ом.

Вихідний струм 50 мА підсилювача задовольняє потребі навантаження наступного каскаду, тому вихідний сигнал безпосередньо надходить на вихідний роз'єм до входу системи збору даних.

Вибір режиму роботи може бути зроблений відповідно до наступного підходу. Максимальне придушення має бути в смузі блокування [266]:

$$A_{\min} = 20 \lg(\sqrt{1,5} \times 2^B), \quad (2)$$

де: A_{\min} - придушення сигналу, дБ, B - роздільна здатність АЦП, біти. Оскільки блокуючий фільтр - це Баттерворт другого порядку, його амплітудно-частотна характеристика:

$$H(f) = \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{f}{f_c}\right)^4\right)^{\frac{1}{2}}} \quad (3)$$

де: f_c – частота, Гц, дБ, f_c - частота відсічення фільтра, Гц.

Комбінація рівнянь (2) та (3) дає рівняння для мінімальної частоти дискретизації f_s для системи придбання:

$$f_s = f_c \sqrt[4]{1,5 \times 2^{2B} - 1}. \quad (4)$$

Наприклад, якщо частота дискретизації потенціостату становить 10 квиборок/с з роздільною здатністю АЦП 14 біт в додатковому каналі, частоту відсікання фільтра рекомендується вибрати менше ніж:

$$f_c = \frac{f_s}{\sqrt[4]{1.5 \times 2^{2B} - 1}} = \frac{10 \times 10^3}{\sqrt[4]{1.5 \times 2^{2 \times 14} - 1}} = 70,59 \text{ Hz} \quad (5).$$

В розробленому апараті робота фільтра з частотою відсічення 15 і 30 Гц відповідає цьому критерію.

Функціональність апарату.

Всі кнопки розташовані на передній панелі. Їх функції наступні.

Перемикач «живлення» вмикає/вимикає пристрій. Світіння кнопки вказує на роботу пристрою. Управління перетворювачем струм-напряга знаходиться в лівій частині передньої панелі.

Кнопки «Чутливість» контролюють коефіцієнт перетворення для сигналу відповідно 100, 10, 1, 0,1 мкА/В.

Кнопки «Відповідь» керують константою інтеграції для перетворювача струм-напряга за допомогою набору відповідних конденсаторів в контурі зворотного зв'язку, він може становити 0,01, 0,1, 1 або 10 нФ. Паралельна комбінація резистора з конденсатором у контурі негативного зворотного зв'язку операційного підсилювача організовує активний фільтр низьких частот (або інтегратор) з частотою зрізу $1/(2\pi RC)$, де R і C - відповідні значення елементів у зворотному зв'язку .

Кнопки "Фільтр" задають частоти відсікання вихідного фільтра низьких частот до 300, 150, 30 або 15 Гц. Відповідне значення фіксується відповідно до характеристик підключеного пристрою для збору даних. Рекомендації щодо обраного значення обговорювались вище.

Управління джерелом високої напруги знаходиться в правій частині передньої панелі. Індикація налаштувань відображається безпосередньо на світлодіодному дисплеї. Для зміни налаштування високої напруги

використовуються червоні та зелені кнопки прямокутники. Обидві кнопки неактивні, коли ввімкнено високу напругу. Для зміни значення джерело високої напруги слід вимкнути за допомогою кнопки “HV on/off”. Світіння цієї кнопки вказує на високу напругу на виході. Коли високу напругу ввімкнено, її значення зберігається в пам’яті EEPROM пристрою. При наступному увімкненні пристрій встановлює це налаштування, але стан джерела високої напруги за замовчуванням є «вимкнено».

Всі роз’єми знаходяться на задній панелі. Тут є один роз’єм SHV для виходу високої напруги і два роз’єми BNC для вхідного сигналу від PMT та вихідного сигналу до потенціостата або інших пристроїв збору сигналу. Крім того, розетка для підключення лінії живлення 220В та запобіжник розміщені на задній панелі. Передбачене заземлення пристрою для придушення шумів та електробезпеки.

Реалізована у розробленому пристрої обробка сигналу відповідна до цілі забезпечення цілісності сигналу у вимірному тракті. Простота та оперативність управління полегшує використання. Адаптивність та зміна параметрів роботи робить можливим його інтеграцію з багатьма електрохімічними аналізаторами. Так його використання для аналізу сигналу ЕХЛ сенсора наведено в роботі [12] на прикладі інтеграції у вимірну систему електрохімічного аналізатора СНІ 800С від СН Instrument та ФЕП CR-105 від Hamamatsu Photonics.

5.4 Швидкісний лічильник імпульсів «Pulsar»

На ринку доступні лічильники фотонів, наприклад, лічильник фотонів SR400 фірми Stanford Research Systems та C8855-01 - це лічильник з інтерфейсом USB від Hamamatsu photonics, Inc. Обидва ці пристрої мають переваги та недоліки. SR400 підтримує синтез аналогового сигналу та роботу з кількома вимірювальними каналами для конкретних режимів роботи, коли в тандемі використовується декілька ФЕП. C8855-01 підтримує USB-інтерфейс

та живлення модуля ФЕП. Метою роботи є створення апарату з набором характеристик, необхідних для вимірювання ЕХЛ. Так реалізована підтримка подвійного інтерфейсу з аналоговим та цифровим виходом, точна робота без втрати імпульсу або мертвого часу. Використання сучасного мікроконтролера ARM ефективно вирішує завдання підрахунку фотонів в компактних розмірах. Функціональність апарату, що обговорена нижче, добре адаптована для інтеграції до систем для проведення ЕХЛ вимірювань.

Опис конструкції

Апарат «Pulsar» (рис. 5.12) призначено для керування роботою ФЕП в режимі лічби імпульсів для реєстрації надслабкого випромінення. Цей пристрій повністю сумісний з ФЕП модулями Hamamatsu Photonics, а також іншими датчиками різних виробників з імпульсним виходом.

Для побудови апарату обрано високоінтегрований мікроконтролер ARM 7 STM32F407. Цей контролер характеризується високою продуктивністю, завдяки конвертеру зчитування команд з флеш-пам'яті, що дозволяє працювати МК без затримок до частоти в 168 МГц.



Рисунок 5.12 – Зовнішній вигляд «Pulsar».

Адаптивний прискорювач пам'яті в режимі реального часу реалізує зчитування інструкцій у кеші черги попередньої вибірки, що збільшує швидкість виконання програми з флеш-пам'яті. Це мінімізує затримку виконання команд з флеш-пам'яті та забезпечує продуктивність МК.

Наявність високошвидкісного лічильника, контролера DMA, модулів USB та ЦАП забезпечує високу придатність до створення пристрою з мінімумом зовнішніх електронних компонентів.

Основною функцією пристрою є збір імпульсного сигналу. Він підраховує кожен імпульс з мінімальною тривалістю 6 нс. Це означає, що апарат накопичує кількість імпульсів за встановлений час, який називається періодом затвора. Дані про підрахунок трансформуються в адекватну форму. У запропонованому апараті реалізовано дві можливості. Результат підрахунку передається як цифровий потік даних, і, синхронно, генерується аналоговий сигнал, що виробляється прямим цифровим синтезом (ПЦС).

Для реалізації запропонованої функціональності задіяні наступні внутрішні блоки мікроконтролерів, які показані на блок-схемі (рис. 5.13). Відмінною рисою таймерів ARM є робота в якості лічильника з каналом захоплення зовнішнього сигналу. Таймер TIM1 використовувався для захоплення імпульсного сигналу, порт таймера був налаштований як вхідний, а резистор термінатора 50 Ом був доданий на сигнальну лінію від модуля ФЕП. Таймер TIM1 керується системною тактовою частотою 168 МГц, що дозволяє підтримувати збір сигналу до 84 МГц, що відповідає тривалості імпульсу 6 нс з паузою 6 нс. Цього достатньо для роботи з більшістю модулів ФЕП.

Для мінімізації коливання періодів часу, контролер DMA управляє потоком даних в реалізованому апараті. Таймер TIM6 синхронізує період для зчитування даних з таймера TIM1. Контролер DMA виконує передачу даних з регістра таймера TIM1 в буфер SRAM (оперативної пам'яті). Після передачі даних контролер DMA активує переривання для виклику функції обробки даних. Кілька шин в системі та запит DMA високого пріоритету запобігають затримці часу на передачу даних. Основний час роботи зменшується завдяки DMA операціям, що виділяє більше вільного процесорного часу для обробки даних. У функції обробника переривання передачі даних DMA програма включає елемент керування переповненням лічильника. Після зчитування таймера TIM1 передача даних ділиться на два потоки. Один - це потік даних

підрахунку, переданий як цифрова інформація на ПК, інший - перетворення даних в аналоговий сигнал. Амплітуда напруги аналогового сигналу є пропорційною миттєвій швидкості потоку фотонів.

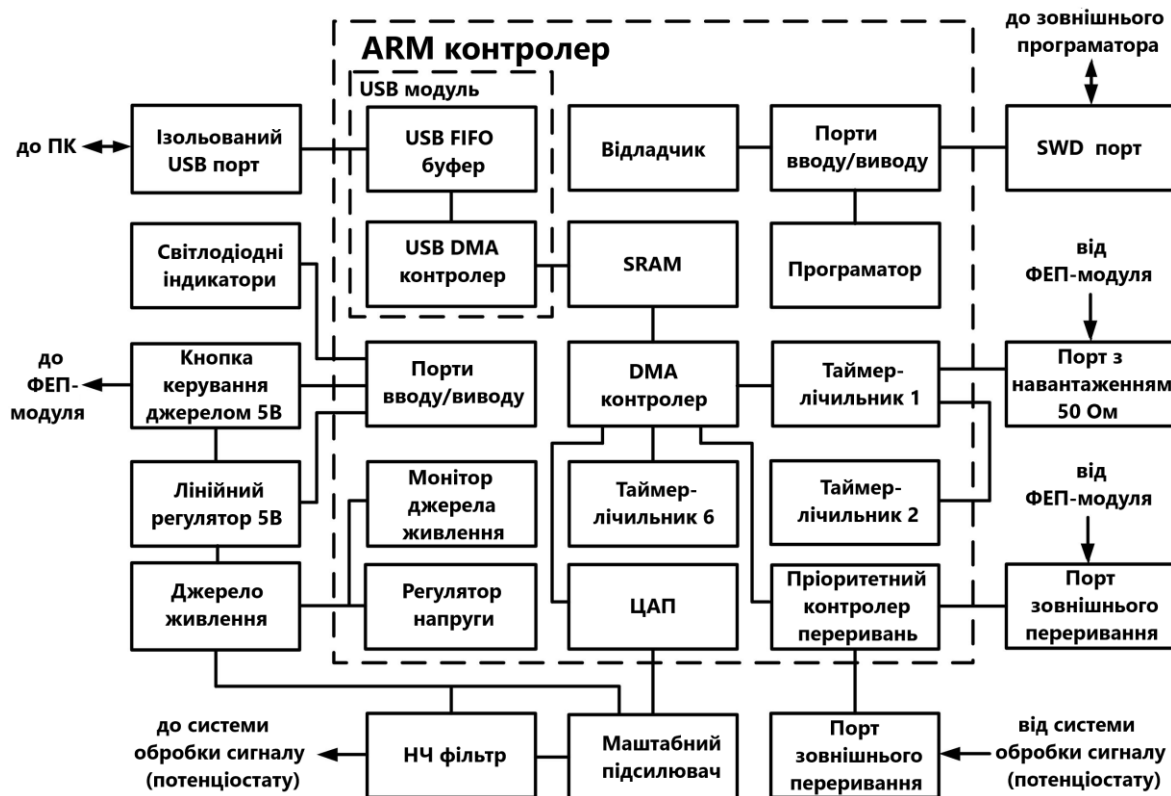


Рисунок 5.13 – Структурна схема приладу «Pulsar»

TIM 1 - це 16-розрядний таймер з флагом переповнення. Останній використовується для аналізу даних, які зчитуються з лічильника TIM1 без зупинки таймера. Якщо виявлено переповнення, це означає необхідність перерахунку даних, що зчитані з буфера TIM1.

Передача цифрових даних на ПК здійснюється через USB з подвійною буферизацією. Завершення DMA передачі між регістром таймера TIM1 та SRAM активує переривання, його функція-обробник передає дані таймера з SRAM до буфера FIFO, розміщеного в SRAM. Цей буфер FIFO можна контролювати програмно. Вбудований USB-модуль у вибраному МК має власний контролер DMA та 1,25 кбайт буфера FIFO для передачі даних, тому

дані накопичуються в SRAM і передаються в буфер USB-модуля. Транзакції даних на USB контролюються головним ПК, який вивільняє буфер USB. Програмне забезпечення заповнює лише програмний буфер FIFO. Транзакція даних між модулем USB та SRAM контролюється контролером USB DMA.

Перетворення даних в аналоговий сигнал включає його попередню обробку. Кожен етап обробки даних є необов'язковим і залежить від набору параметрів експерименту. На початку, відповідно до потреб, використовується корекція лінійності сенсорної лічильної характеристики. Це актуально для інтенсивних потоків фотонів, коли один імпульс може задовольнити реєстраційні пари фотонів з великою ймовірністю. Це явище є загальним і коригується відповідно до можливостей підрахунку електроніки ФЕП та параметрів вихідного імпульсу ФЕП модуля.

Наступним кроком є цифрова фільтрація. У реалізованому фільтрі низьких частот аналоговий сигнал узгоджується із системою збору, підключеною до «Pulsar». Наприклад, для цього використовується додатковий канал для збору даних у потенціостаті, пристрою для електрохімічних вимірювань. Після цифрового фільтра дані для ЦПС потрапляють до вбудованого ЦАП. Він має лише 12-бітну роздільну здатність, але правильний вибіру коефіцієнта перетворення дозволяє ефективного використовувати можливості ЦАП. Частота дискретизації аналогового сигналу становить 10 кГц, для максимальної швидкості підрахунку 84 МГц становить 8400 відліків за певний період, а АЦП може запропонувати роздільну здатність 4096 рівнів. Відповідно, оскільки інтенсивний сигнал трапляється не часто, тому перетворення сигналу можливе без втрати.

Робота ЦАП не так сильно синхронізується, як період считування даних, оскільки ЦПС є функцією обробки даних. Частота дискретизації сигналу ЦПС становить 10 кГц, а коливання часу при виклику цієї функції незначне. Можливостей вбудованого ЦАП обраного МК достатньо для забезпечення відповідної точності ЦПС в розробленому апараті.

Вихід ЦАП буферизується операційним підсилювачем, який масштабує сигнал до динамічного діапазону 10 В, таким чином, роздільна здатність сигналу підключеної системи збору даних використовується повністю.

Апарат має вихідний апаратний фільтр для придушення ефекту дискретизації на виході. Вихідний фільтр низьких частот виключає ефект частоти вибірки даних до ЦАП із фіксованою швидкістю передачі даних у 10 кГц. Оскільки частота дискретизації для ЦПС є постійною, то вихідний фільтр оптимізований для роботи з частотою відсічення 1 кГц. Фільтр Баттерворта шостого порядку має придушення в -120 дБ на частоті 10 кГц. Цього достатньо для багатьох вимірювань синтезованого сигналу, навіть системами з 16-бітною роздільною здатністю. Характеристика передачі змінного струму вихідного фільтра (рис. 5.14) виміряна за допомогою генератора довільної форми DG3121A фірми Rigol, Co. та цифрового осцилографа Rigol DS1204B.

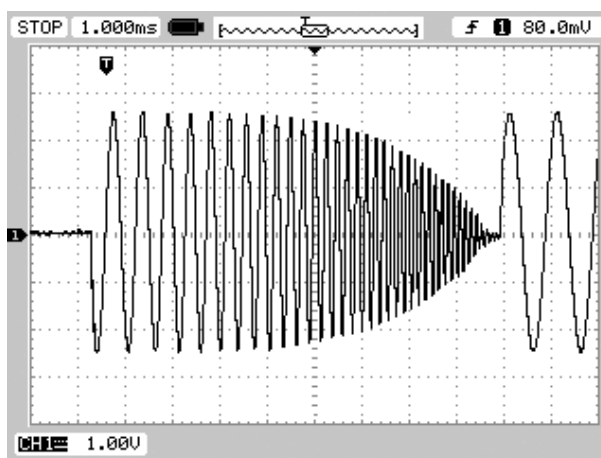


Рисунок 5.14 – Осцилограма з фільтра НЧ апарату “Пульсар”, як відгук на вхідний синусоїдальний сигнал із розгорткою частоти від 1 до 10 кГц (експоненціальний характер розгортки частоти).

Потенціостати мають різні технічні характеристики, такі як смуга пропускання, частота дискретизації та наявність вхідного фільтра згладжування. Це вимагає від вихідного сигналу ЦАП погодження з параметрами системи збору. Цілісність сигналу в системі забезпечується узгодженням між спектром сигналу та можливостями передачі

вимірювального каналу. Високочастотні компоненти слід придушити. Це завдання вирішується низькочастотними фільтрами згладжування. У «Pulsar» фільтрування здійснюється у двох місцях. Апаратний фільтр оптимізований до смуги пропускання 1 кГц, додаткове обмеження в спектрі сигналу забезпечує програмний фільтр. Програмний фільтр пристосований до системи збору даних і може змінювати глибину фільтрації до 4000 вибірок, що становить до 0,4 с.

Лічба імпульсів вільна від втрати імпульсу або "мертвого" часу за рахунок неперервної роботи таймера TIM1, технології подвійної буферизації, прямого доступу до пам'яті, використання векторизованого багаторівневого контролера переривань. Процес підрахунку, проведений за допомогою точного апаратного контролю періоду опитувань таймера, дозволяє проводити точні вимірювання.

Електромагнітні перешкоди є великою проблемою при чутливих електричних вимірах. Щоб уникнути проникнення шуму до вимірювальної системи, «Pulsar» та ПК взаємодіють через ізольований інтерфейс USB. Інтегральна інтерфейсна мікросхема ADuM4160 забезпечує високу електромагнітну ізоляцію підключеного обладнання.

Реалізація протоколу віртуального COM-порту (VCP) спрощує інтеграцію пристрою до вимірювальних систем. Отже, програмне забезпечення потенціостата може контролювати роботу «Pulsar» через VCP, наприклад, програмне забезпечення Nova для управління потенціостатами Autolab фірми Metrohm. Параметри роботи «Pulsar» та відображення результатів вимірювань задаються в програмному забезпеченні управління потенціостатом, що усуває потреби в додатковому програмному забезпеченні.

Лічильник «Pulsar» повністю сумісний з USB 2.0 і підключається в режимі «Повношвидкісний» (Full Speed) через електрично ізольований інтерфейс до ПК. Наявність гальванічної розв'язки між лічильником та комп'ютером може покращити електромагнітну сумісність інтегрованого

обладнання, захищаючи від електромагнітних перешкод на головному комп'ютері.

«Pulsar» підтримує опції програмних та апаратних тригерів. Програмне управління активує збір даних за допомогою команди через USB. Інша можливість - апаратний тригер. Зовнішній сигнал використовується як тригерний сигнал для активації лічильника, який залишається в стані очікування після встановлення параметра. Функція обробника цього сигналу переривання має пригнічену операцію ініціалізації стека, тому затримка активації надзвичайно мала. Період 6 тактів - це максимальна часова затримка для переривання процесу в ARM та 3 команди активації переривання (3 такти) на початку функції обробника переривань, тобто затримка складає 53,6 нс. Початкове відключення будь-яких переривань гарантує синхронізацію активації двох таймерів у наступних двох послідовних командах. Після запуску таймерів мікроконтролер поновлює обробку переривань.

```
__disable_irq();
TIM1->CR1 |= TIM_CR1_CEN;
TIM6->CR1 |= TIM_CR1_CEN;
__enable_irq();
```

Крім того, в «Pulsar» реалізована функція самоперевірки. Таймер TIM2 налаштовується на створення послідовності імпульсів з певною швидкістю. Конфігурація таймера TIM1 дозволяє змінювати джерело сигналу захоплення з одного виводу на інший, який підключений до вихідного сигналу з таймера TIM2. Ефективність підрахунку перевіряється шляхом задоволення кількості підрахованих імпульсів таймером TIM1 до кількості сформованих імпульсів TIM2. Обидва таймери залежать від системного тактового сигналу, тому для перевірки продуктивності краще використовувати зовнішній генератор імпульсів, як, наприклад, генератор довільної форми DG3121A фірми Rigol, Co. Останній був використаний для вивчення продуктивності розробленого пристрою для підрахунку імпульсів, а також для перевірки функції генерації аналогового сигналу. Залучення точного вольтметра Rigol DM 3068,

цифрового осцилографа Rigol DS1204B та вимірювання в реальній аналітичній системі забезпечили тестування статичних параметрів, а також динамічних характеристик розробленого апарату. Було доведено відсутність втрати імпульсу при різних частотах імпульсів, включаючи змінні частоти, а форма аналогового сигналу відбиває кількість імпульсів у кожному періоді опитування.

Додатковою особливістю апарату «Pulsar» є подача живлення для підключеного модуля ФЕП. Наприклад, модулі Н-7828, Н-10682 фірми Hamamatsu мають напругу живлення 5 В. Джерело живлення базується на лінійному регуляторі. Для управління джерелом живлення 5В для ФЕП в апараті є кнопка живлення із вбудованим світлодіодним індикатором. Він забезпечує ручний контроль живлення ФЕП. Живлення активується лише разом із програмною командою, оскільки кнопка послідовно підключається до джерела напруги, керованого МК.

Апарат має 4 світлодіоди, що вказують на його стан. Ініціалізація контролера закінчується світінням помаранчевого світлодіоду «On». Підключення до USB позначається блимаючим синім світлодіодом «USB». Червоний світлодіод «Source» вказує на отримання команди на ввімкнення живлення ФЕП, а команда на вимкнення ФЕП – вимкнення червоного світлодіода «Source». Зелений світлодіодний індикатор «Run» починає світитися після отримання повного набору параметрів для пристрою, а його швидке блимання активується разом із збором даних. Після вимірювання, що завершується командою «Stop» індикатор «Run» вимикається.

Деякі модулі ФЕП можуть генерувати сигнал перенавантаження на додатковій сигнальній лінії. Це відбувається при занадто інтенсивному освітленні ФЕП, коли технічні можливості режиму підрахунку для певного ФЕП зникають. Моніторинг сигналу перекриття запобігає помилкам зчитування даних в апараті. Встановлення цього сигналу визначається портом зовнішнього переривання і змушує пристрій передавати інформацію про стан перекриття в потоці даних.

При розробці швидкісного USB лічильника «Pulsar» були враховані наступні чинники.

Для струмової системи реєстрації сигналу ФЕП первинним каскадом є перетворювач струм-напруга (ПСН), оскільки вихідним сигналом ФЕП є фотострум. Оскільки швидкодія схеми ПСН зворотно-пропорційна до його підсилення, для забезпечення високої швидкодії та забезпечення роботи з малими світловими потоками використовується лічильна схема, відмінністю якої є формування електронних імпульсів у кількості еквівалентній до числа зареєстрованих фотонів. Тому для використання ФЕП у широкому діапазоні з можливістю реєстрації швидкоплинних процесів потрібно залучення швидкодіючих підсилювачів та лічильників. На сьогодні модулі ФЕП, що виробляються одним з лідером у цій галузі HAMAMATSU PHOTONICS, характеризуються тривалістю імпульсів у 10...20 пс, що відповідно потребує роботи лічильника зі швидкодією 100...50 МГц. Даний комплекс повністю сумісний з їх продукцією, а також іншими датчиками (сенсорами), вихідним сигналом яких є імпульси. Можливість реєстрації світлових потоків в широкому динамічному діапазоні з високою роздільною здатністю дозволяє реалізувати безпрецедентну точність у дослідженнях світлових потоків.

Використання в конструкції мікроконтролерів архітектури ARM 7 і швидкісних лічильників забезпечує високі технічні показники обладнання, наявність гнучкого інтерфейсу для інтеграції з іншим обладнанням, як в аналоговому, так і цифровому режимі з'єднання. Подвійна буферизація з багаторівневою системою переривань усуває ситуації втрати імпульсів або наявності «мертвого часу» у вимірах. Лічильник "Pulsar" повністю сумісний з USB 2.0 і підключається в режимі «Full-Speed» через гальванічно ізольований інтерфейс до ПК. Наявність гальванічної розв'язки між лічильником і ПК дозволяє підвищити електромагнітну сумісність інтегровального обладнання, в першу чергу, реалізуючи захист від електромагнітних перешкод з боку контролюючого комп'ютера. Лічильник "Pulsar" використовує технологію «гарячого» підключення з самонастроювання драйверів в операційній системі.

Це робить легким у використанні даного комплексу в мобільних системах, коли розгортання вимірювальної установки вимагає підключення декількох детекторів. Реалізація множинного інтерфейсу на шині USB дає можливість створення мережі вимірювальних пристроїв, так званої розподіленої вимірювальної системи. Управління комплексом можливо як через спеціалізоване ПО, так і команди ASCII формату, що передаються через віртуальний послідовний порт (наприклад, програмами за типом Nureg Terminal). Це забезпечує програмну сумісність і можливість інтеграції комплексу в спеціалізовані програмні середовища з підтримкою послідовних комунікаційних портів.

Особливостями комплексу є:

- Часова роздільна здатність сигналу: для цифрового інтерфейсного виходу – 10 мкс; для аналогового інтерфейсного виходу – 100 мкс. Це є істотним для швидкісної реєстрації слабких світлових потоків хемілюмінесценції, електрохемілюмінесценції, біологічної спонтанної люмінесценції тканин й інше.

- Швидке підключення до ПК. Можливість миттєво почати вимірювання, як тільки буде підключений «Pulsar» до ПК, з попередньо встановленим програмним забезпеченням.

- Можлива робота в різних режимах і методах реєстрації, «Pulsar» є гнучким інструментом, контрольованим через віртуальний COM порт, реалізований на шині USB.

- Інтеграція з різноманітним програмним забезпеченням.

- Гальванічно ізольований USB інтерфейс дозволяє забезпечити високу електромагнітну захищеність обладнання.

- Прецизійні дослідження з відсутністю втрати імпульсів або «мертвим» часом у вимірах, завдяки технологіям подвійної буферизації, прямого доступу до пам'яті, векторизованому багаторівневому контролеру переривань та апаратному контролю часу вимірювань.

- Забезпечення підключення інформаційного інтерфейсу датчиків і живлення його безпосередньо від лічильника «Pulsar»

Основні технічні характеристики швидкісного лічильника імпульсів «Pulsar» наведено в табл. 5.5.

Для побудова експериментальної лабораторної установки для проведення ЕХЛ досліджень в режимі швидкісної поляризації електродів було використано даний лічильник для інтеграції модуля ФЕП до вимірної системи, структуру якої обговорено в п.5.5. Результати дослідження за допомогою цього обладнання наведені в п.6.2.

При розробці швидкісного лічильника було використано сучасні підходи, що базуються на принципах підвищення інтеграції, мініатюризації, енергоефективності та швидкодії, що забезпечуватиме роботу в режимі реального часу. Високо інтегрований МП ARM ST32F407VGT6Z є поєднання високопродуктивного ядра, модулю операції з плаваючою точкою, розвинутої периферії, включаючи продуктивні ЦАП, що переводить цій МП до класу «системи-на-чипі», що адаптована для цифрової обробки сигналів. Таким чином, більшість елементів розробленого швидкісного лічильника, є вбудованими елементами (модулями) мікропроцесору (МП), зовнішніми елементами залишилась тільки частина компонентів для забезпечення живлення та активного фільтру 6-го порядку Баттерворту для вихідного аналогового сигналу. Особливістю реалізації USB інтерфейсу у даному приладі стала його повна гальванічна ізоляція завдяки використанню інтегральної мікросхеми ADuM4160 від Analog Device, що дозволило підвищити електромагнітну сумісність при інтеграції його до вимірювального комплексу для електрохімічних досліджень, як наприклад, PGSTAT128N, який поєднано з керуючим комп'ютером за тією же технологією.

Таблиця 5.5 – Технічні характеристики швидкісного лічильника імпульсів «Pulsar»

Параметр	Значення
Вхід	
Кількість вхідних сигналів	1 канал
Рівень логічного сигналу	КМОП позитивна логіка (високий рівень >2В);
Тривалість імпульсу сигналу	5 нс та більш
Вхідний імпеданс	50 Ом
Лічильник	
Метод лічби	безперервний
Максимальна частота слідування імпульсів	100 МГц
Максимальна ємність лічильника	2 ³²
Вибірка даних лічильника	
Сигнал вибірки	Внутрішній
Період вибірки від 10 мкс до 5с з шагом в 10 мкс	
Тригер	
Метод запуску	програмний або зовнішній апаратний
Сигнал зовнішнього тригера	позитивний ТТЛ
ID пристрою	до 255 пристроїв на шині USB
Вихідний аналоговий сигнал	
Діапазон напруги	від 0 до 10 В
Дискретність ЦАП	12 біт
Полоса пропускання аналогового фільтра	10 кГц
Можливість цифрової фільтрації:	с смугою пропускання від 0,25 Гц та більш
Загальні	
Габарити (В × Г × Ш)	75 × 185 × 175 мм
Маса	1,2 кг
Умови роботи	от -15 до 45 °С/ вологість не більш 80%
Умови зберігання	от -25 до 75 °С/ вологість не більш 90%
Відповідність	IEC61236 - 1 Group 1 Class B
Живлення	220 В ± 20 %, 50 Гц

5.5 Експериментальне обладнання для дослідження методами надшвидкої вольтамперометрії та ЕХЛ

Для дослідження можливостей використання мікро- та наноелектродів в методі електрогенерованої хемілюмінесценції зі швидкісною розгорткою потенціалу електрода в роботі проведена розробка експериментальної установки, структурна схема якої наведено на рис. 5.15. Його основу складає модуль надшвидкого потенціостату, що живиться від лабораторного джерела живлення RIGOL. А також модуль реєстрації оптичного випромінювання, що необхідне для реалізації методу електрогенерованої хемілюмінесценції, а саме РМТ Hamamatsu H-10682. Оскільки проведення електрохімічних та електрохемілюмінецентних досліджень передбачається в режимі надшвидкої розгортки потенціалу до складу лабораторної установки було введено контрольно-вимірне обладнання для реєстрації швидких електричних сигналів та генерації сигналу збудження електрохімічної ячейки.

Оскільки комерційне обладнання для електрохімічних досліджень не реалізує можливість роботи в швидкісних режимах. Для генерації імпульсів збудження та реєстрації відгуку системи використано генератор сигналів довільної форми, що працює за принципом прямого цифрового синтезу Rigol DG3121A, спільно з 4-х каналним цифровим осцилографом Rigol DS1204B. Їх полоси частотного пропускання дозволяють реалізувати експеримент з наносекундною роздільною здатністю.

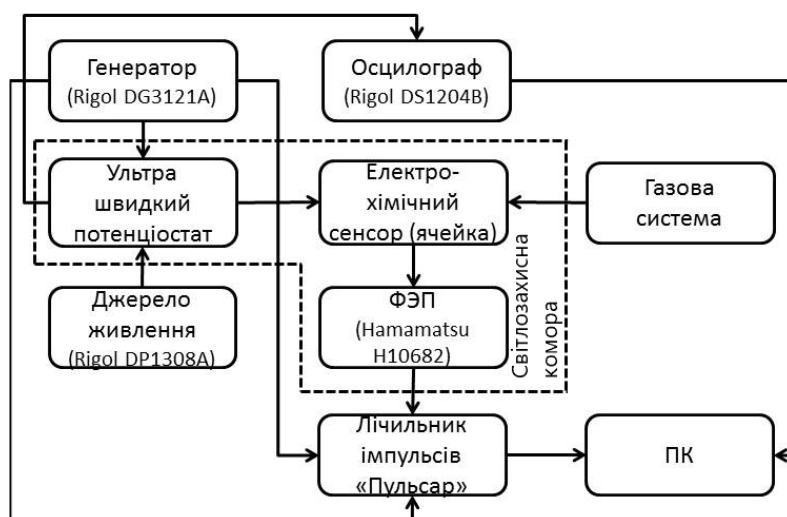


Рисунок 5.15 – Структурна схема драйвера електрохімічного сенсора

Інтерфейсом до електрохімічного сенсора (ячейки) виступає розроблений авторами швидкісний потенціостат, що підтримує високі швидкості наростання сигналів, роботу в високочастотній області. При цьому він володіє достатньою чутливістю і межею реєстрації електричних сигналів для роботи з електрохімічними ячейками з мікроелектродами. Таким чином реалізується вимірний канал в розробленій аналітичній системі. У поєднанні з електрохімічним обладнанням в склад вимірної системи включено обладнання для реєстрації окремих фотонів H-10682 Hamamatsu Photonics K.K. [267], а також обладнання (лічильник імпульсів «Pulsar») розробки авторів для синхронізації електрохімічних та оптичних вимірювальних приладів в одній аналітичній системі.

У дослідженнях використовувався розроблений авторами надшвидкий потенціостат в сукупності з контрольно-вимірювальною апаратурою фірми RIGOL: генератором сигналів DG3121A, осцилографом DS1204B та джерелом живлення DP1308A. Їх використання обумовлене потребою одержання необхідної швидкодії збору інформації – 10^9 вибірок/с для наносекундної роздільної здатності вивчення електрохімічних та електрохемілюмінесцентних процесів на електродах, що модифіковано вуглецевими нанотрубками.

Програмно-апаратний комплекс реєстрації фотонів на базі цифрового USB лічильника «Pulsar» є основою для інтеграції фотометричного та електрохімічного обладнання для забезпечення методу електрогенерованої хемілюмінесценції.

Зовнішній вигляд експериментальної установки наведено на рис. 5.16. Розроблена конструкція може знайти застосування в вирішенні прикладних задач, як наприклад аналіз швидких процесів в електрохімії, дослідження наноструктур.

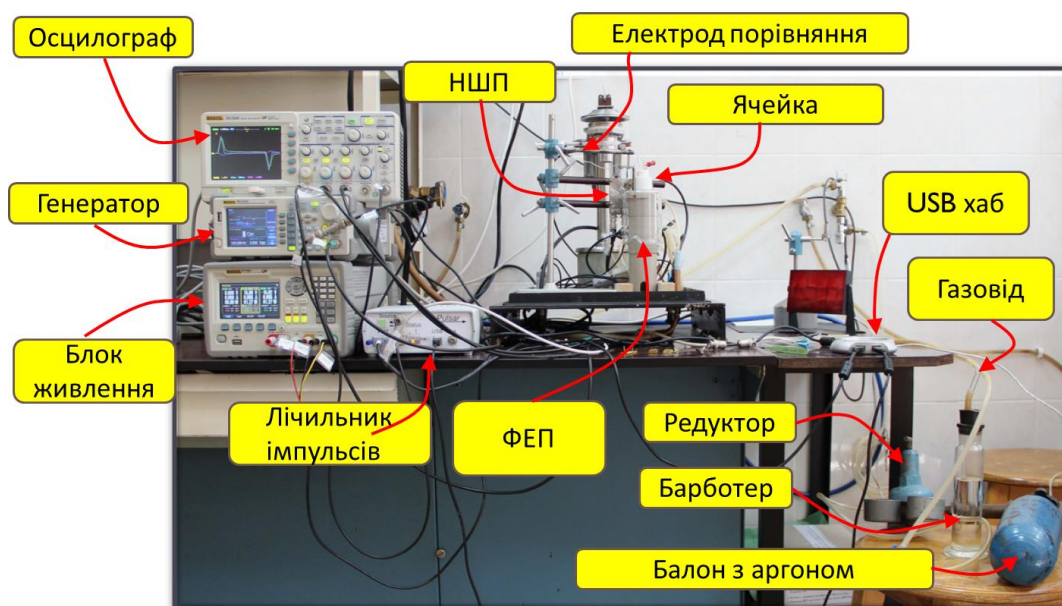


Рисунок 5.16 – Зовнішній вигляд експериментальної установки (ФЕП – фотоелектронний помножувач, НШП – надшвидкий потенціостат)

5.6 Висновки за розділом

Узагальнюючи результати щодо розробки обладнання для проведення аналітичних досліджень за допомогою сенсорів, що отримані в цьому розділі можна зробити наступні висновки.

При розробці колориметра на базі датчика кольору S9037 від Hamamatsu Photonics, визначено перспективність використання його в кольориметричному аналізі, його використання дозволяє отримати більш високі значення межі визначення у порівнянні з візуальними методами. Точність виміру кольорових координат становить 0,024%, що значно менше варіативності відгуку аналітичних систем, що пов'язано з не інструментальними факторами. Отже збільшення відтворюваності потребує покращення технології та процедури проведення хімічного аналізу з використанням індикаторних систем, а розроблене інструментальне забезпечення перекидає потреби у точності проведення вимірів.

Використання ФЕП у різноманітних методах аналізу таких як ХЛ та ЕХЛ потребує відповідної інтеграції цих оптичних детекторів до вимірної системи.

Для чого розроблено прилад «Spark» та «Pulsar» відповідно, що підтримують роботу ФЕП в струмовому режимі та лічильному режимі відповідно. Для забезпечення цілісності сигналу прилад «Spark» обладнано перетворювачем струм напруга з програмованим коефіцієнтом та НЧ фільтром зі змінною полозою пропускання. Так в залежності від аналітичної реакції коефіцієнт перетворення може змінюватися в діапазоні від до . Для підключення систем збору даних з різною продуктивністю передбачено переключення частоти зрізу фільтра НЧ в діапазоні від 15 до 300 Гц, що задовільняє вимогам підключення до більшості наявних на ринку потенціостатів.

Для отримання максимальної чутливості від оптичної сенсорної системи рекомендується використовувати ФЕП в режимі лічби. Для підтримки цього режиму розроблено прилад «Pulsar» що підтримує лічбу імпульсів з тривалістю від 6 нс. Це перекриває більшість потреб для реалізації методів ХЛ та ЕХЛ аналізу. Висока роздільна здатність до 10 мкс дозволяє досліджувати відгук оптичного сенсора з високою часовою точністю, що є принциповим для реакцій з імпульсним збудженням та реакцій з швидким перебігом, що мають каталітичний характер. Наявний канал аналогового вихідного сигналу дозволяє працювати з сигналом від 0 до 10 В в діапазоні 10 кГц. Цей діапазон може бути додатково обмежено цифровою фільтрацією, що може бути активована як опція в розробленому приладі. Наявність двох інтерфейсів передачі даних, а саме цифрового через USB підключення, та аналогове дозволяє гнучко обирати метод інтеграції ФЕП до аналітичної системи.

Використання високо інтегрованої елементної бази дозволяє значно спростити конструкцію вимірної системи, отримати високі функціональні можливості.

Результати дослідження цього розділу викладено автором в наступних публікаціях [6, 8, 12, 14, 15, 17-19, 21, 23] та апробовано на міжнародних конференціях [24, 28, 29, 32, 36, 37, 41, 43].

6. ЗАСТОСУНКИ РОЗРОБЛЕНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

6.1 Дослідження властивостей мікроелектродів в режимі високошвидкісної лінійної розгортки потенціалу поляризації електрода

Для тестування можливостей потенціостата та мікроелектродів в режимі високошвидкісної лінійної розгортки потенціалу використовувався розчин з одно електронною парою іонів $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$. Перетворення іонів $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-4}$ та $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}$ відбувається достатньо швидко та зворотно. Для тестування використовувався розчин з 1 мМ $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ та 1 мМ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ з фоновим електролітом 0,1 М NaClO_4 . Бідистильована вода та хімічні реактиви ACS градації від SigmaAldrich було використано при виготовленні розчину. Електрохімічна комірка складалася з циліндричного стакану 10 мл загального обсягу, що заповнювався 5 мл розчину. Електродна система ячейки встановлювалася через отвори пробки з тетрафторетилену. Протиелектродом була циліндрична Pt фольга площею 400 мм², електрод порівняння насичений Ag/AgCl підключався до ячейки через поліетиленовий капіляр. Робочий електрод був золотий мікроелектрод з радіусом 21 мкм.

Сигнал збудження формувався за допомогою генератора довільної форми DG3121A від Rigol, Co., підключеного до НШП. Реєстрація даних (прикладений потенціал для потенціостата, струмовий сигнал відповіді від потенціостата) реєструвався за допомогою цифрового осцилографа DS1204B від Rigol, Co. Живлення НШП здійснювалося від програмованого джерела живлення DP1308A від Rigol, Co. Ячейка та електродна система були однаковими в усіх експериментах.

На рис. 6.1 показано електрохімічний відгук для тестового розчину. Зі збільшенням швидкості розгортки поляризації спостерігається підвищення амплітуди відгуку, як для токових піків, так й для ємнісного струму. Зсув піків для процесів окислення та відновлення пов'язано зі зміною швидкості розгортки. При більш високій швидкості розгортки ємнісний струм домінує

над фарадеєвським, так здійснити визначення піку достатньо важко у водному розчині для обраної електрохімічної композиції.

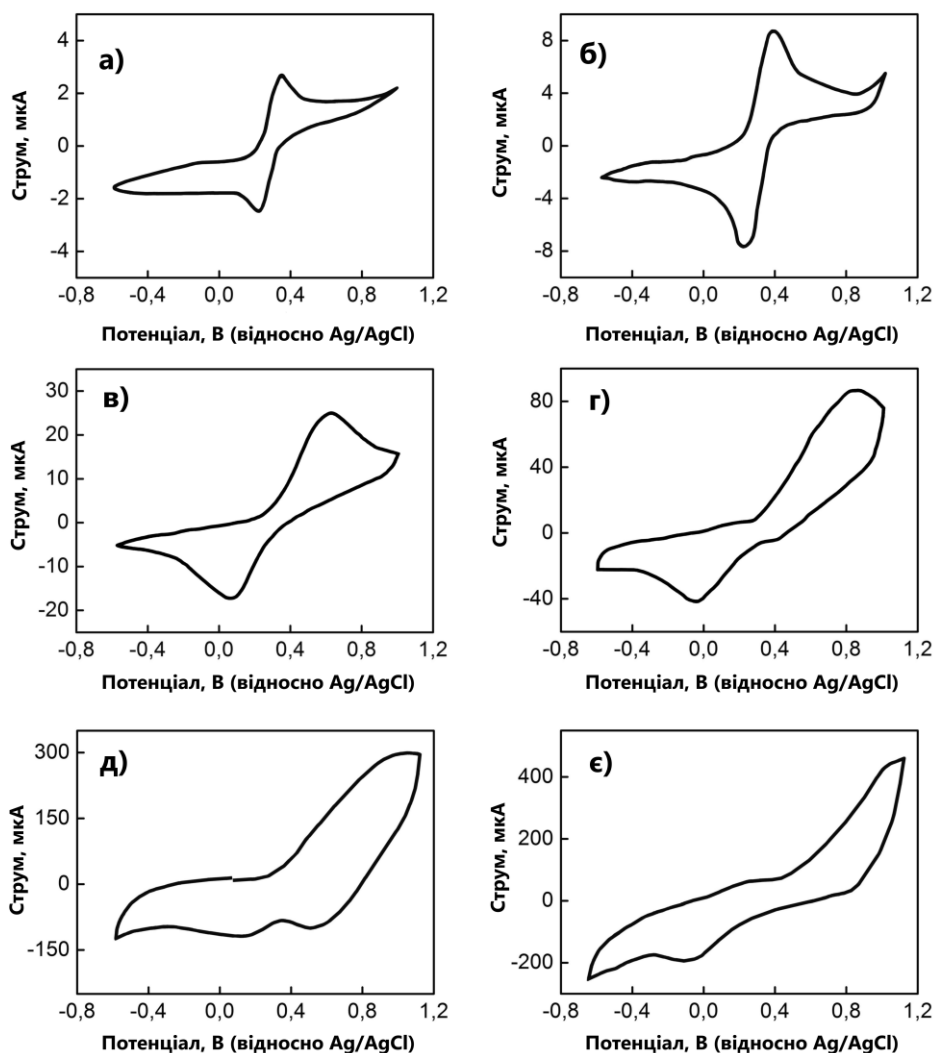


Рисунок 6.1 – Вольтамперні залежності для: 0,1 М $K_3[Fe(CN)_6]$ + 0,1 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ + 1 М КСl у воді, швидкість розгортки потенціалу: 3,2; 32; 320; 3200; 320 000 В/с (на рисунках від а) до є) відповідно).

Для оцінки ефекту впливу омичних втрат на результати ЕХ досліджень було проведено серію вимірювань. Відповідні вольтамепограми отримували при доданій омичній компенсації та за її відсутності.

На рис. 6.2 наведено вплив компенсації омичних втрат, що відбивається на графіку зсувом піків ближче до рівноважного потенціалу ячейки, та загальним збільшенням амплітуди сигналу. Таким чином

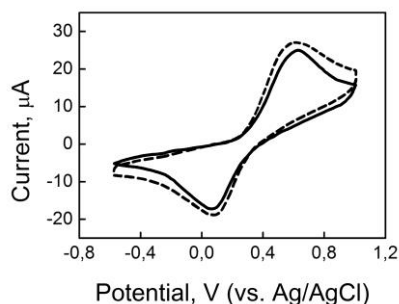


Рисунок 6.2 – Ефект компенсації омичних втрат в ЕХ ячейці. Швидкість розгортки потенціалу 320 В/с.

Компенсація збільшує ємнісний струм, що спостерігається в точках реверсу потенціалу поляризації. В цей момент відбувається суттєва зміна струму через те, що потенціостат практично навантажено на конденсатор, яким виступає ємність подвійного електричного шару на робочому електроді. При високій швидкості розгортки повна омична компенсація приносить нестабільність потенціостату, що відбивається появою коливань у сигналі відгуку. Оскільки ємнісний струм пропорційний швидкості розгортки потенціалу, а стабільність підсилювача залежать від близькості частоти сигналу до частотної межі його одиничного підсилення, то ймовірність появи коливань та їх величина зростають зі швидкістю розгортки потенціалу, що також зазначається в роботах [77, 78].

6.2 Дослідження властивостей мікроелектродів методом електрогенерованої хемілюмінесценції

Для дослідження мікроелектродів методом електрогенерованої хемілюмінесценції використовувалася експериментальна установка, що описано раніш, та наведено її структурну схему (рис. 5.15) та зовнішній вигляд (рис. 5.16) відповідно (див. п.5.5).

Тестовий розчин складався з 0,1 мМ 9,10-діфенілантрацену в суміші розчинників ацетонітрилу та бензолу у об'ємному співвідношенні 4:1. До розчину було додано фоновий електроліт 0,5 М тетрабутіламонію перхлорат.

Метод збудження електрогенерованої хемілюмінесценції: біполярна імпульсна вольтамперометрія. З потенціалами імпульсів відповідно -1,5 В та 1,5 В відносно хлор-срібного електрода порівняння. Електрод порівняння підключався до ячейки через капіляр, що було заповнено гелем. Результати дослідження у вигляді відповідних часових залежностей інтенсивностей випромінювання композиції, що досліджувалася наведені на рис. 6.4, 6.5.

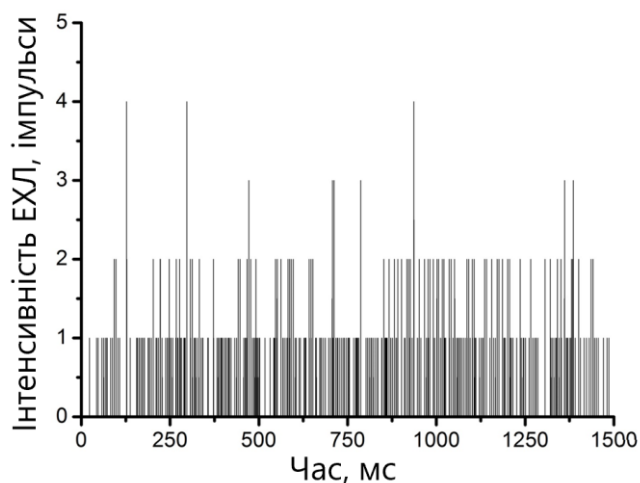


Рисунок 6.4 – Часова залежність інтенсивності ЕХЛ для тестової композиції.

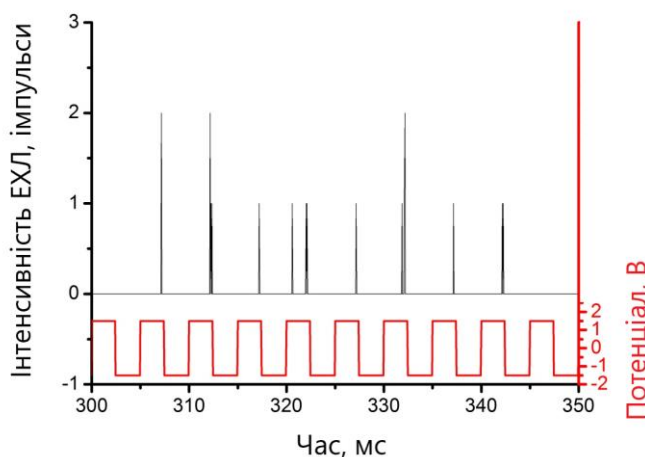


Рисунок 6.5 – Часова залежність інтенсивності ЕХЛ для тестової композиції у проміжку часу 300 – 350 мс, та сигнал збудження.

На рис. 6.5 додатково надано інформацію щодо сигналу збудження. Результати дослідження ЕХЛ відбивають можливість проведення реєстрації в режимі швидкісного збудження на мікроелектродах. Привалювання появи

сигналу на реверсі потенціалу до анодного процесу, свідчить про більшу стабільність катіонів діфенілантрацену. Тому при синтезі аніонів в анодному циклі відбувається радикал рекомбінація з наступною стадією випромінювання світла.

Розроблена контрольно-вимірювальна апаратура придатна для реалізації нових аналітичних методів у сенсорних системах, що продемонстровано на прикладі ЕХЛ вимірювань на ультрамікроелектродах. Можливість представити емісію фотонів у двох формах сприяє легкій інтеграції ФЕП до сенсорних систем. Вихід аналогового сигналу корисний як традиційний спосіб інтеграції фотодетектора з потенціостатом. З іншого боку, паралельний збір даних у цифровій формі є способом більш точного аналізу ЕХЛ. Більш висока часова роздільна здатність та безпрецедентна чутливість допомагають досягти можливостей виявлення окремих часток та окремих молекул. [268-275]

6.3 Застосування нанотехнологічного перетворювача для активації ХЛ реакції

Далі показано використання компактного, дешевого та малопотужного п'єзоелектричного ультразвукового перетворювач у якості генератора сонохемілюмінесценції. Доведено, що ультразвук, що продукується перетворювачем, сприяє утворенню активних форм кисню для запуску хемілюмінесцентної реакції. Самовипромінювання світла люмінолу в наслідок окислення його киснем повітря вкрай слабоінтенсивне. Однак емісія суттєво збільшується завдяки ультразвуковій обробці, та, навіть, може легко спостерігатися за допомогою смарт-телефону, що дозволяє візуально виявляти реакцію люмінолу без додавання співреагентів.

Завдяки своїм перевагам за низькою вартістю, невеликими розмірами та низьким енергоспоживанням, розроблений активатор має великий потенціал для інтеграції його в сенсорні системи ХЛ аналізу для розробки портативних та одноразових аналітичних пристроїв, що підтримують принцип «тесту на

місці».

6.3.1 Опис пристрою

Сітчастий п'єзоелектричний ультразвуковий перетворювач (УЗП) вперше пропонується використовувати для активації сонхемілюмінесценції. Він розроблений на основі мікроелектромеханічної системи (MEMS) за допомогою високочастотної технології збудження та зворотного п'єзоелектричного ефекту приводиться в дію. Мале енергоспоживання, висока ефективність та низька вартість сітчастого УЗП обумовило його широке застосування в невеликих та мініатюрних пристроях, таких як побутові зволожувачі повітря, що живляться від USB, та пристрої для інгаляційної терапії. [276, 277]

У цьому дослідженні невеликий (кілька сантиметрів), дешевий (близько 90 грн) та малопотужний (менше 2 Вт) USB УЗП був вперше досліджений як генератор сонохемілюмінесценції. Коли відповідну кількість розчину люмінолу додавали на підкладку з нержавіючої сталі в центральній ділянці УЗП, розчин люмінолу оброблявся ультразвуком. Протягом короткого часу розпилення люмінолу не відбувається. Показано, що ультразвукове випромінення узп може генерувати АФК для запуску СХЛ люмінолу. За допомогою смарт-телефону, як детектора люмінесценції, вивчали поведінку СХЛ люмінолу. Аскорбінова кислота (АК) є відомим антиоксидантом, що ефективно поглинає радикали, яка відіграє важливу роль у багатьох метаболічних шляхах. Порушення її метаболізму пов'язано з багатьма захворюваннями, такими як цинга, рак та серцево-судинні захворювання. [278, 279] Цікаво, що АК може підвищувати СХЛ люмінолу. Супероксиддисмутаза (СОД) широко поширена в живих організмах. Вона може поглинати $O_2^{\cdot -}$ *in situ* та захищати клітини від його потенційної цитотоксичності. Ми виявили, що СОД може гасити люмінол залежну СХЛ. На основі цих явищ були досягнуті прості та чутливі методи візуального виявлення АК та СОД.

6.3.2 Матеріали та реактиви

В дослідженнях цього пункту використовувалися наступні *хімічні речовини*: глюкоза, люмінол, та АК були отримані від Beijing Chemical Reagent Company (Пекін, Китай). L-цистеїн (Cys), L-фенілаланін (Phen), L-гістидин (His), L- тартарова кислота (ТК), вітамін В2 (VB2), тіомочевина, NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃, та K₂O₈ були куплені у Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd. (Шанхай, Китай). Пепсін та бичачий сироватковий альбумін (БСА) були отримані від Beijing Dingguo Changsheng Biotechnology Co. Ltd. (Пекін, Китай). Лимонна кислота (ЛК), оксалат натрію (Na₂C₂O₄), СОД, та азид натрію (NaN₃) були куплені у Shanghai Sangon Biotech Co. Ltd. (Шанхай, Китай), Xiqiao Chemical Co. Ltd. (Шантоу, Китай), Aladdin (Шанхай, Китай), and Tianjin Fuchen Chemical Reagents Factory (Тіанджин, Китай), відповідно. Стоковий розчин люмінолу (10 mM) був преготовлений шляхом розчинення певної кількості люмінолу в 0.1 М NaOH розчині. Розчин карбонатного буфера (0.1 М) з різними значеннями рН були отримані шляхом додавання Na₂CO₃, NaHCO₃, та NaOH. Вода подвійної дистиляції використовувалася в усіх експериментах.

6.3.3 Інструментарій

Реєстрацію зображень СХЛ проводили в світлозахисній камері за допомогою смартфона Huawei P20. USB УЗП був придбаний у Shenzhen Jingdongshun Electronics Co. Ltd. Основні компоненти УЗП є наступні: розпилювальний диск та схема керування. Номінальна напруга та потужність пристрою становлять відповідно 5 В та 2 Вт. Важливим застереженням є те, що час роботи УЗП не повинен бути занадто довгим; інакше це спричинить повне розпилення розчину. Динаміку зміни потенціалу накладеного до УЗП вимірювали за допомогою цифрового осцилографа ADS1112CAL, придбаного у Nanjing Glarun-Atten Technology Co.

6.3.4 Процедура візуального виявлення АК.

200 мкл люмінолу (250 мкМ) та 200 мкл різних концентрацій АК змішували з 600 мкл карбонатного буфера (0,1 М, рН 12,5). Потім 100 мкл змішаного розчину додавали до центру підкладки з нержавіючої сталі розпилювального диска. Для зйомки зображень СХЛ використовувався смартфон Huawei р20 в професійному режимі фотофіксації з експозицією 5 с. Попередня затримка 5 с використовувалася, щоби дати час для включення схеми керування УЗП. Світло плями аналізували за допомогою програмного забезпечення ImageJ2x.

6.3.5 Процедура візуального виявлення СОД.

200 мкл люмінолу (250 мкМ) і 200 мкл різних концентрацій СОД змішували з 600 мкл карбонатного буфера (0,1 М, рН 12,5). Потім 100 мкл змішаного розчину додавали до центру підкладки з нержавіючої сталі розпилювального диска. Зйомка та аналіз СХЛ виконувався як і в процедурі візуального виявлення АК (див. вище).

СХЛ на основі УЗП. USB УЗП (рис. 6.6 А) складається з розпилювального диска та схеми керування. Розпилювальний диск включає п'єзоелектричне керамічне кільце (внутрішній діаметр 8 мм, а зовнішній діаметр 16 мм) і концентрично поєднану підкладку з нержавіючої сталі. Підкладка з нержавіючої сталі має конічні мікроотвори в центрі. Діаметри конічних мікроотворів на лицьовій та задній стороні підкладки з нержавіючої сталі складають приблизно 5 мкм (рис. 6.6 D) та 10 мкм (рис. 6.6 E), відповідно.

Схема керування є резонансній LC-контур, що вібрує під впливом змінного електричного поля високої частоти, що підключена до розпилювального диска мідними дротами. Саморобний пластиковий тримач був використаний для фіксації розпилювального диска. Схема драйвера генерує змінне електричне поле частотою 117 кГц (рис. 6.7). П'єзоелектрична кераміка вібрує в наслідок зворотнього п'єзоефекту.

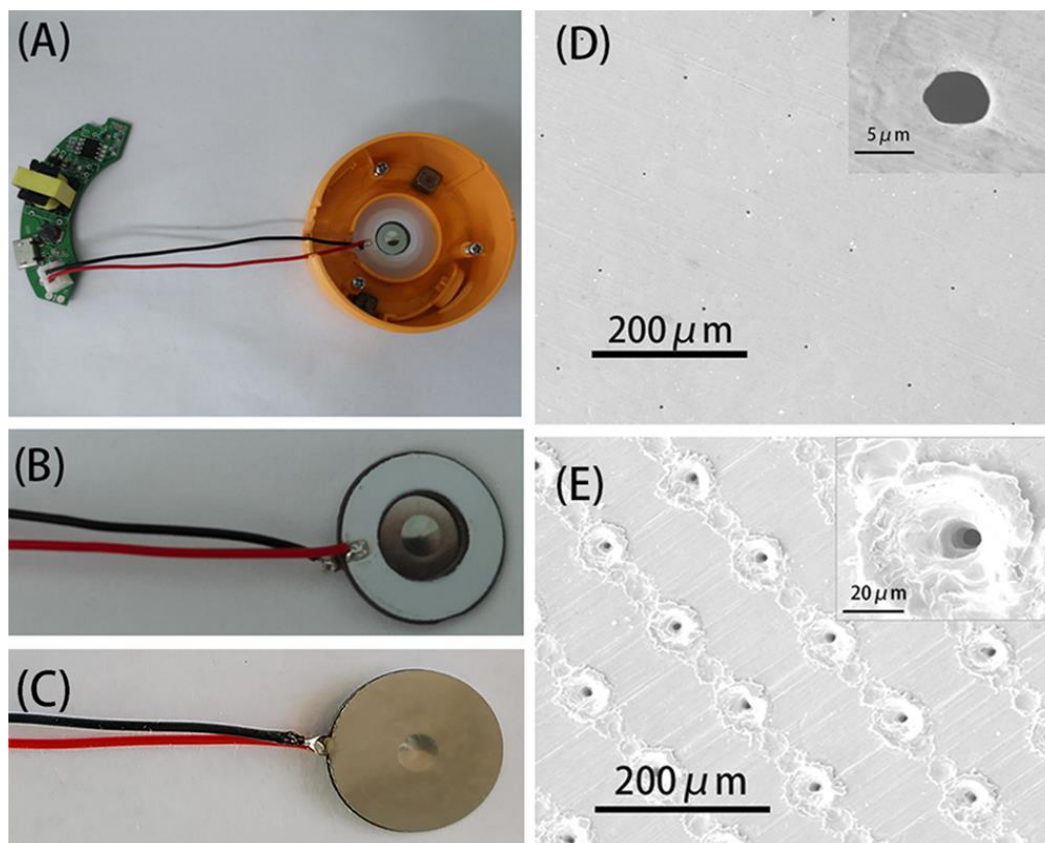


Рисунок 6.6 – Нанотехнологічний п'єзокерамічний перетворювач. (А) фотографія модуля керуючої електроніки та нанотехнологічного перетворювача в сенсорній ячейці. (В) передня сторона перетворювача (С) задня сторона перетворювача, (D) СЕМ зображення передня сторони диску атомізатора (E) СЕМ зображення задньої сторони диску атомізатора.

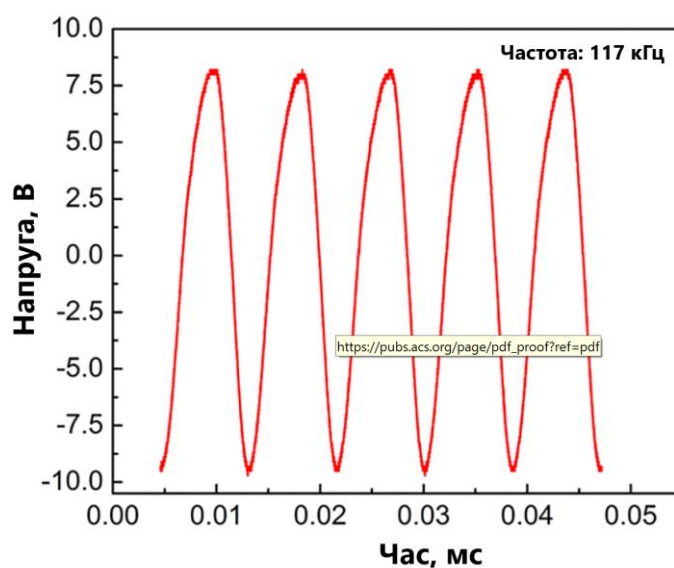
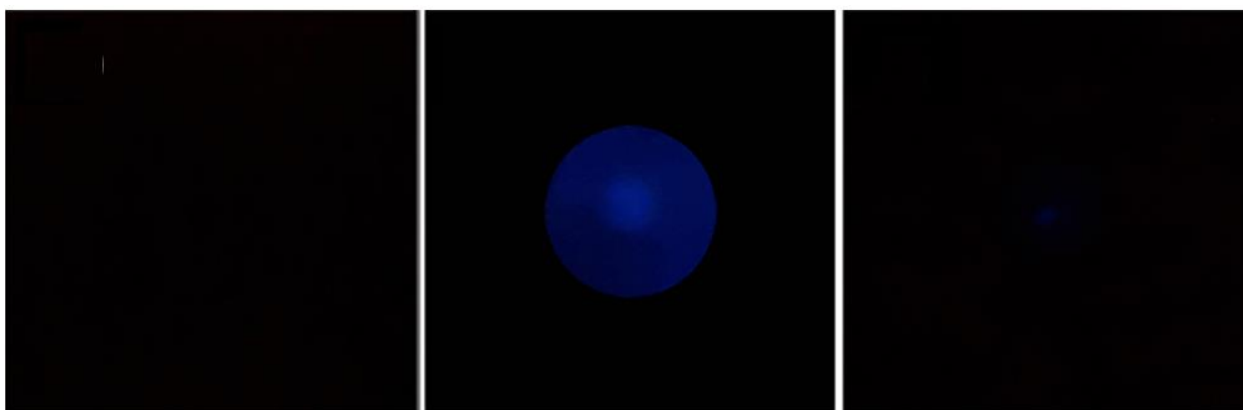


Рисунок 6.7 – Осцилограма напруги на УЗП

Коли розчин люмінолу потрапляє на підкладку з нержавіючої сталі в центральній зоні, він потрапляє під дію ультразвуку, протягом короткого часу розпилення розчину не суттєве. Високочастотна ультразвукова технологія призводить до генерації АФК. Генеровані АФК реагують з люмінолом, активуючи СХЛ. Як показано на рис. 6.8 А, випромінювання світла люмінолу не відбувається без ультразвукової обробки. Однак, люмінесценція стає дуже інтенсивною, і її легко реєструвати камерою смарт-телефона, коли до розчину застосовується ультразвук (рис. 6.8 В). Центральна область з конічними мікроотворами на діафрагмі демонструє сильнішу СХЛ, ніж інша область діафрагми без мікроотворів. Для подальшого розуміння ролі конічних мікроотворів ми заклеїли конічні мікроотвори на тильній стороні плівкою з поліетилентерефталату (ПЕТ) для контрольного експерименту. На рис. 6.8 С видно, що СХЛ дуже слабка, на зображенні спостерігається лише одна розмита світла пляма, після того, як конічні мікроотвори були заклеєні плівкою ПЕТ на тильній стороні.



А)

Б)

В)

Рисунок 6.8 – Зображення розчину люмінолу без ультразвуку (А) та під ультразвуком (Б). Зображення розчину люмінолу з заклеєними мікроотворами УЗП під час дії ультразвуку (С). Розчин: 50 мкМ люмінол; 0,1 М карбонатний буфер, рН 12,5; експозиція фото 5 с.

Згідно з літературою, мікроямки на підкладці можуть слугувати центрами

зародження та стабілізації мікробульбашок у рідині, що зазнає впливу ультразвукового поля. [280] Крім того, конічні мікроотвори посилюють вплив вібрації через різницю тисків, що спричинена високочастотною вібрацією. Таким чином, сильніша СХЛ спостерігається в центральній області з конічними мікроотворами. Сигнал СХЛ з центральної області аналізувався в наступних експериментах.

6.3.6 Механізм СХЛ

Згідно з попередніми дослідженнями, ХЛ люмінолу відбувається в результаті окислення люмінолу. Оскільки в цій системі СХЛ не було додано жодного співреагента, припустимо вплив кисню на СХЛ люмінолу. Для дослідження цього фактора розчин люмінолу продували газом азоту протягом 30 хв, а потім вимірювалася СХЛ. Її інтенсивність різко зменшується після видалення розчиненого кисню азотом.

Ці результати вказують на те, що розчинений кисень відіграє важливу роль у окисненні люмінолу та активації СХЛ. Для подальшого розуміння механізму СХЛ досліджено вплив СОД, NaN_3 та тіосечовини на інтенсивність СХЛ. СОД, NaN_3 та тіосечовина є ефективними поглиначами радикалів: аніона радикалу супероксиду ($\text{O}_2^{\bullet-}$), синглетного кисню ($^1\text{O}_2$) та гідроксильного радикала (HO^\bullet) відповідно. Як показано на рис. 6.9, NaN_3 має незначний вплив на інтенсивність СХЛ, тоді як тіосечовина та СОД інгібують інтенсивність СХЛ на 25,8% та 45,9%, відповідно. Ці результати показали, що HO^\bullet та $\text{O}_2^{\bullet-}$ є критичними для СХЛ цієї системи.

6.3.7 Оптимізація рН

Вплив рН на СХЛ було оптимізовано для отримання найкращої чутливості. Як показано на рис. 6.10, інтенсивність СХЛ зростає із збільшенням рН з 9,3 до 12,5, а потім різко знижується, коли рН досягає 13,0. Збільшення інтенсивності СХЛ пояснюється легшою депротонацією люмінолу та

утворенням АФК при більш високому значенні рН. Коли рН вище 12,5, ультразвукова вібрація розчину може призвести до зменшення АФК і, зрештою, спостерігається зменшення емісії СХЛ. Таким чином, карбонатний буфер з рН 12,5 використовували в наступних експериментах.

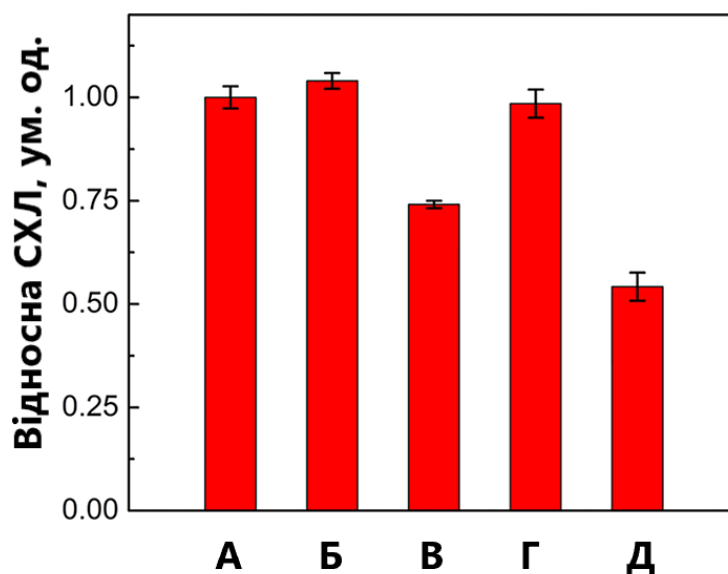


Рисунок 6.9 – Вплив перехоплювачів радикалів на СХЛ люмінолу. Інтенсивність СХЛ люмінолу: А) за відсутності, та Б) наявності 1,0 мМ NaN_3 , В) 1,0 мМ тіосечовини, Г) 0,1 мкг/мл СОД та Д) 1,0 мкг/мл СОД. Розчин: 50 мкМ люмінолу; 0,1 М карбонатний буфер, рН 12,5; експозиція на смартфоні 5 с.

6.3.8 Оптимізація концентрації люмінолу

На рис. 6.11 А наведено зображення СХЛ для розчинів з різною концентрацією люмінолу. Яскравість помітно зростає із збільшенням концентрації люмінолу. Зображення аналізували для кількісної оцінки сигналу СХЛ за допомогою програмного забезпечення ImageJ2x. [281] Як показано на рис. 6.11 В, із збільшенням концентрації люмінолу інтенсивність СХЛ спочатку швидко збільшується, а потім більш повільно, поки концентрація не досягає 50 мкМ. Тому 50 мкМ було обрано як оптимальну концентрацію в наступних експериментах.

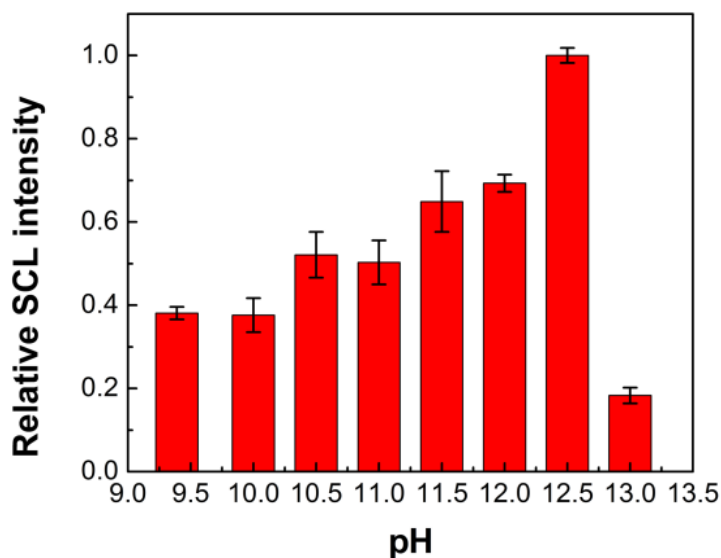


Рисунок 6.10 – Вплив рН на СХЛ люмінолу. Розчин: 50 мкМ люмінола; 0,1 М карбонатний буфер; експозиція фотозйомки на смартфон 5 с.

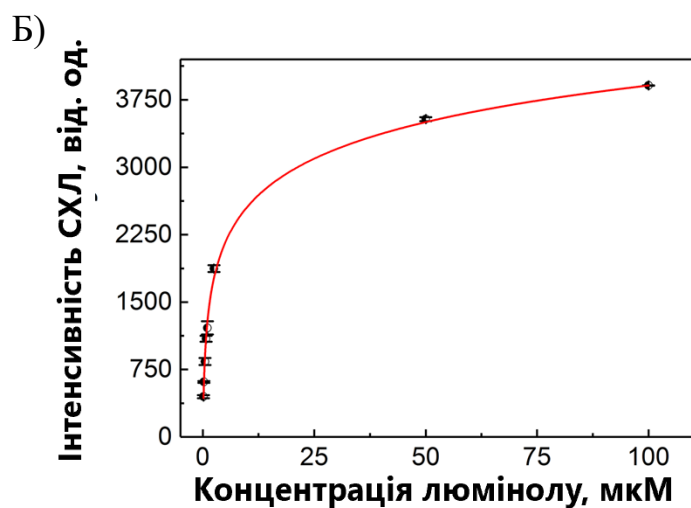
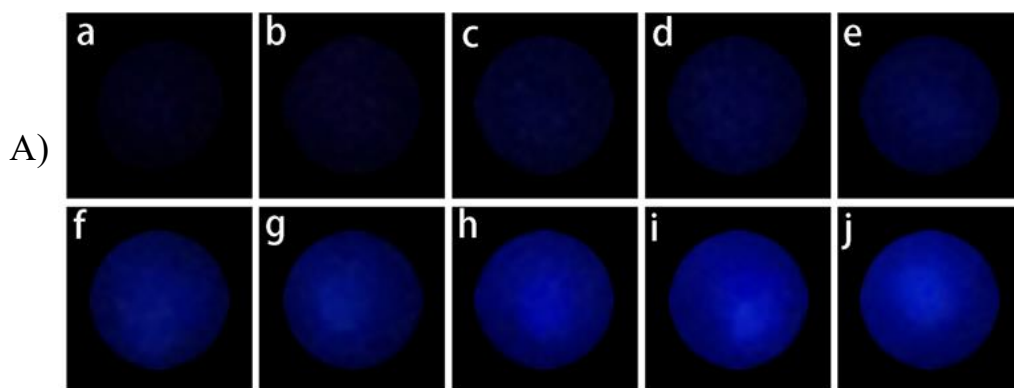


Рисунок 6.11 – (А) Зображення СХЛ для різних концентрацій люмінолу: (a) 0,15, (b) 0,25, (c) 0,5, (d) 0,75, (e) 1,0, (f) 2,5, (g) 5,0, (h) 25, (i) 50 та (j) 100 мкМ. (Б) Залежність інтенсивності СХЛ від концентрації люмінолу. Розчин 0,1 М карбонатний буфер з рН 12,5; експозиція фотозйомки на смартфон 5 с.

6.3.9 Виявлення АК

Було визначено, що АК може підвищити інтенсивність СХЛ люмінолу. На основі цього явища досліджувалася ефективність УЗП для виявлення АК. На рис. 6.12 показано, що інтенсивність СХЛ зростає зі збільшенням концентрації АК від 1 до 100 мкМ, досягає плато в діапазоні від 100 до 600 мкМ і зменшується при більш високих концентраціях.

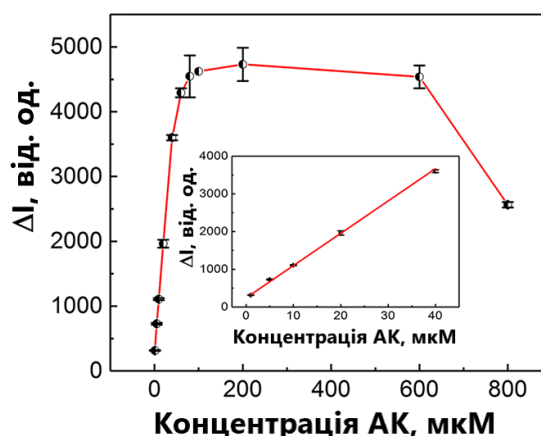


Рисунок 6.12 – Калібрувальна крива СХЛ визначення АК. Вставка – калібрувальна крива для низьких концентрацій. Розчин: 50 мкМ люмінола; 0,1 М карбонатний буфер з рН 12,5; експозиція фотозйомки на смартфон 5 с.

Ця поведінка відмінна від інших досліджень, де АК зазвичай знижує інтенсивність ХЛ. [282, 283] АК є відновником і може окислюватися розчиненим киснем. Отже, він може реагувати з розчиненим киснем в наслідку дії ультразвуку з утворенням АФК, а, потім, генеровані АФК реагують з люмінолом посилюючи його СХЛ. [284, 285] Однак надлишок АА можуть перехоплювати сгенеровані АФК, що призводить до зменшення інтенсивності СХЛ при концентраціях АК вище 600 мкМ. [286, 287] Хороша лінійність калібрувальної кривої отримано для діапазону від 1 до 40 мкМ з лінійним рівнянням $\Delta I = 85,66c \text{ (мкМ)} + 242,15$ ($R^2 = 0,996$) де $\Delta I = I - I_0$. (I та I_0 - інтенсивність СХЛ з додаванням АК і без нього, відповідно.) Межа виявлення (LOD) розраховується як 0,35 мкМ із співвідношенням сигнал/шум

(С/Ш) 3. У порівнянні з іншими методами для визначення АК (табл. 6.1), цей метод простий, чутливий та зручний, не потребує додаткового співреагента. Також проведена оцінка селективності методу. Як показано на рис.6.13, $K_2S_2O_8$, $Na_2C_2O_4$, амінокислоти, глюкоза, лимонна кислота, винна кислота та вітамін В2 мало впливають на інтенсивність СХЛ, демонструючи, що цей метод має добру селективність і забезпечує зручний спосіб виявлення АК.

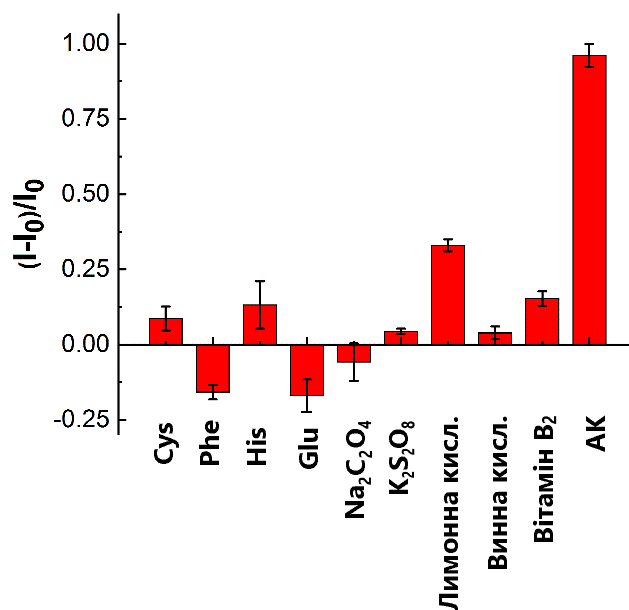


Рисунок 6.13 – Селективність виявлення АК. Концентрації речовин: цистеїна (Cys), фенілаланіна (Phe), гістидина (His), глюкози (Glu), лимонної кислоти, винної кислоти, вітаміна В₂ та аскорбінової кислоти (АК) становила 100 мкМ, $K_2S_2O_8$, $Na_2C_2O_4$, та іони металів – 1,0 мМ. Розчин: 50 мкМ люмінола, 0,1 М карбонатний буфер рН 12,5, експозиція фотозйомки на смартфон 5 с.

6.3.10 Виявлення СОД.

На рис. 6.14 показано, що інтенсивність СХЛ згасає тим більш, чим більша концентрація СОД. Лінійна залежність між зменшенням інтенсивності СХЛ та концентрацією СОД відпоідає типовому рівнянню Штерна-Вольмера:

$$I_{0s} / I_s = 1 + K_{SV} [COД],$$

де I_{0s} та I_s – інтенсивність СХЛ за відсутності та присутності СОД відповідно,

K_{SV} – константа гасіння Штерна-Вольмера, [СОД] – концентрація СОД. Рівняння лінійної апроксимації $I_0/I_s = 0,98 + 1,19 [\text{СОД}]$ ($R^2 = 0,994$) для діапазону від 0,05 до 2,0 мкг / мл. Межа визначення ($C/Ш = 3$) була розрахована на 0,018 мкг/мл.

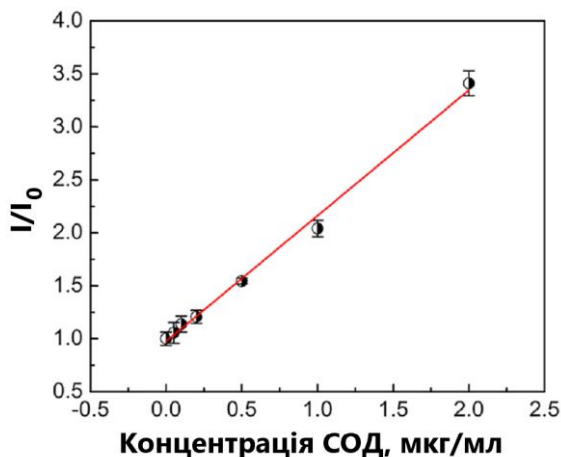


Рисунок 6.14 – Каліювальна характеристика визначення СОД в ХЛ реакції з люмінолом: 50 мкМ, 0,1 М карбонатний буфер з рН 12,5, 5с експозиція при фотозйомці на смартфон Huawei P20.

Порівняно з іншими роботами щодо виявлення СОД, запропонований метод простий і чутливий, без необхідності виготовлення модифікованого електрода або використання приладу для нагнітання потоку (табл. 6.2). Крім того, цей метод демонструє хорошу селективність щодо інших білків, таких як пепсин та БСА (рис. 6.15).

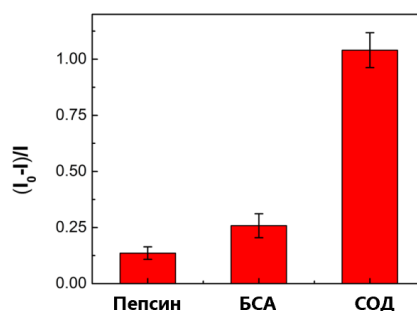


Рисунок 6.15 – Селективність виявлення СОД. Концентрація СОД становить 1 мкг/мл. Концентрація пепсину та БСА становить 10 мкг/мл. Розчин: 50 мкМ люмінола, 0,1 М карбонатний буфер з рН 12,5, експозиція фотозйомки на смартфон 5 с.

Таблиця 6.1 – Порівняння різних методів виявлення АК.

Матеріал	Метод	Лінійні діапазони (мкМ)	Межа визначення (мкМ)	Посилання
Квантові точки нітриду бору/полі(люмінол) наноккомпозит, модифікований СВ електрод	Електрохімія	10-100	1.107	1
Реакція в ячейці, що базується на відновленні Fe (III)	Колориметрія	3.3-30	0,85	2
Квантові точки графена, що леговані азотом	Зображення ХЛ	1-100	0,5	3
Квантові точки нітриду вуглецю	Флуоресценція	0,5-200	0,13	4
Візуалізоване виявлення за допомогою УЗП та смартфона	Сонохемилюмінесценція	1-40	0,35	Ця робота

Таблиця 6.2. Порівняння різних методів виявлення СОД.

Матеріал	Метод	Лінійний діапазон (мкг/мл)	Межа визначення (мкг/мл)	Посилання
РАAD / TiNT функціоналізували GCE, люмінол	ЕХЛ	1,6-160	0,8	5
Люцигенін-трис (2-карбоксietил) фосфін	ХЛ	0,005-0,5	0,0008	6
Європій-тетрациклін овий зонд	Спектрофлуориметрія	0,0553-38,71	0,005	7
NanoAu-Cyt c кон'югати модифікований електрод, ксантинооксидаза / ксантин	ЕХ	0,05-1,0	0,05	8
Візуалізоване виявлення за допомогою PCUT за допомогою смарт-телефону	СХЛ	0,05-2,0	0,018	Ця робота

6.4 Застосування електродів, що модифіковано алмазоподібними плівками

В цьому розділі показана можливість використання електродів, модифікованих АПП, в аналітичних застосунках на основі явища ЕХЛ. Отримані результати доводять переваги використання цієї технології для

створення ЕХЛ сенсорів.

6.4.1 Матеріали та методи

Модифікація електродів АПП, що леговані азотом проводили за допомогою методу хімічного осадження [16,20], ця технологія описана в п.3.1.

Для ЕХЛ досліджень зразки АПП наносили на підкладки зі скловуглеця (СВ). Розміри пластин СВ становили $20 \times 15 \times 3$ мм, перед осадженням їх шліфували до дзеркальної якості за допомогою алмазної пасти. Покриття наносили з використанням умов, що забезпечують найменший питомий опір $(0,5 \div 2) \times 10^4$ Ом·см.

Електрохімічні та ECL властивості модифікованих АПП електродів, а також можливість їх використання для аналізу вивчались методом циклічної вольтамперометрії на програмно-апаратному комплексі «ELAN-3d» [18] (див. п.5.2). Експерименти проводились у триелектродній прямокутній спектроскопічній кварцовій комірці об'ємом 10 мл із використанням плоских робочих електродів (не модифіковані СВ та СВ з АПП) та робочі електрод з Pt фольги площею 50 мм^2 , протиелектрод з Pt фольги площею 500 мм^2 та електрод порівняння Ag/AgCl. Модуль PMT Hamamatsu H5784-20 розміщувався перед ячейкою всередині світлозахищеного відділення комплексу «ELAN-3d».

Для досліджень використовувалася бідистильована вода з провідністю не більш $1,6 \text{ } \square \text{ См/см}$. ЕХ експерименти проводилися в водному розчині з фоновим електролітом $0,1 \text{ М LiClO}_4$ (Aldrich, ACS Reagents). Досліджувані електроди маскували за допомогою високочистого парафіну для того, щоб отримати прямокутну площу розміром (50 мм^2).

Також використовувалися в ЕХ дослідженнях феріціанід калію $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (Aldrich, реагенти ACS) та тригідрат ферроціаніду калію $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich, ACS Reagents), гексагідрат трис(2,2'-біпіридил) дихлоррутенію (III) ($\{\text{Ru}(\text{bpy})_3\} \text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) та трипропіламін (ТПА), обидва від Aldrich, що були використані в ЕХЛ експериментах.

Відтворюваність властивостей електродів досліджували для п'яти зразків електродів з АПП покриттям, які виготовлені за однакових умов.

6.4.2 Електрохімілюмінесцентні властивості ДЛФ-електродів

Найважливішою відмінністю електродів, що модифіковані АПП, від традиційних металевих або напівпровідникових є можливість отримання ЕХЛ у водних розчинах істотно більш широкого переліку водорозчинних люмінесцентних речовин без використання додаткових сполук - співреагентів.

Завдяки розробленим АПП стало можливим спостереження класичної рекомбінаційної ЕХЛ у воді між $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+1}$ та $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+3}$. Хвиля окислення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$ спостерігається при +1,1 В та його відновлення при -1,45 В добре видно на тлі струму розкладання води при ЦВАМ дослідженнях (рис. 6.16). Наявність відповідних обох піків струму окислення та відновлення в анодній області вказує на оборотність процесу окислення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$.

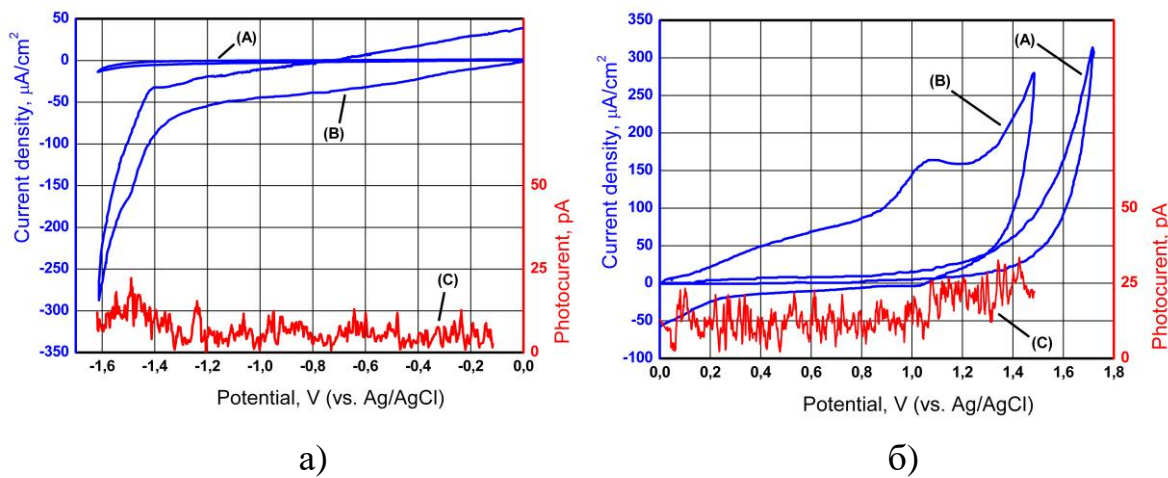


Рисунок 6.16 – Вольтамперна характеристика (криві А та В) та відповідна ЕХЛ емісія (крива С) для модельної системи: крива А – $\text{H}_2\text{O} + 0.1\text{M LiClO}_4$, крива В, С – теж саме як А з $0.04\text{ mM Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ на АПП модифікованому електроді: а) катодний діапазон, б) анодний діапазон. Potential sweep rate is 100mV/s .

Циклічні вольтамперограми водного розчину $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$ з потенціалами зворотної розгортки, що дозволяють протікати процесам окислення та

відновленню на АПП, показані на рис. 6.17, де спостерігається ЕХЛ емісія під час послідовності циклів окислення та відновлення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$. Можливість генерації достатньої кількості іонів +1 та +3 комплексу рутенію у водному розчині на АПП дозволяє спостерігати емісію класичної рекомбінаційної ЕХЛ.

Порівняння електрохімічних та ЕХЛ властивостей обраної модельної системи без реагенту показано на рис. 6.18. ЕХЛ комплексу біпіридину рутенію виникає за однакових потенціалів як на СВ (крива С, рис. 6.18 а), так і АПП (крива D, рис. 6.18 а) електродах, що вказує на ідентичність фарадеєвських процесів електроокислення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{+2}$ на обох електродних матеріалах.

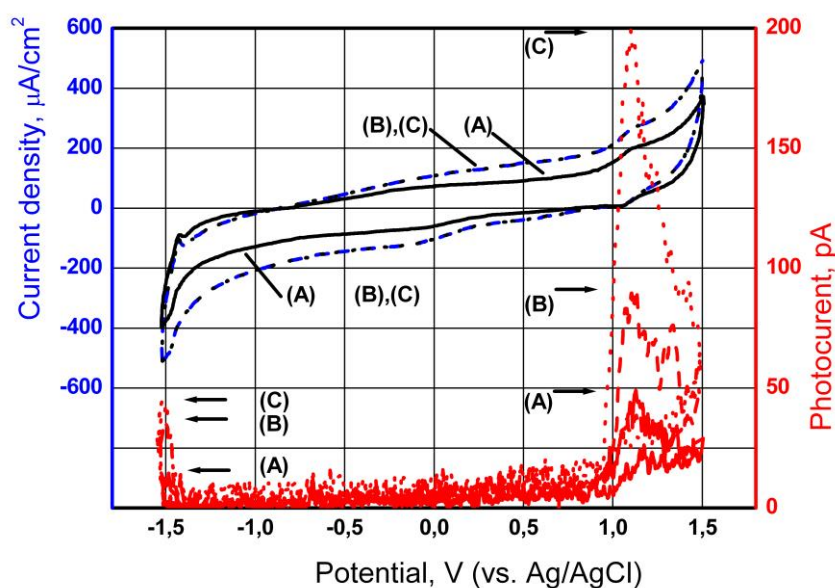


Рисунок 6.17 – Циклічна вольтамперограма та відповідна ЕХЛ емісія модельної композиції ($\text{H}_2\text{O} + 0.1\text{M LiClO}_4 + 0.04\text{ mM Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$) на АПП модифікованому електроді: реверс потенціалу сканування $-1,52\text{V}$ та $+1,5\text{V}$. Швидкість розгортки потенціалу: А (сплошна лінія) – 100mV/s ; В (штрихована лінія) – 200mV/s ; С (пунктирна лінія) – 200mV/s після 30s паузи на потенціалі -1.5V . Стрілки вказують амплітуди катодної та анодної ЕХЛ.

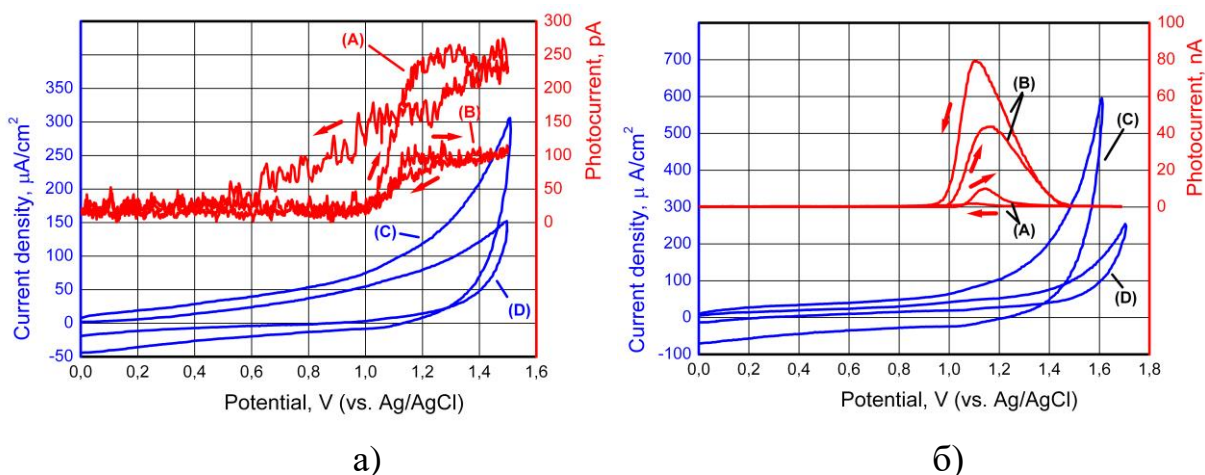


Рисунок 6.18 – Порівняння ЕХЛ та ЕХ характеристик композиції $\text{H}_2\text{O} + 0,1 \text{ M LiClO}_4 + 0,1 \text{ mM Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$, а) без додавання ТПА, б) у присутності 1 mM ТПА: (А) ЕХЛ відгук на СВ, (В) ЕХЛ відгук на АПП, (С) ЕХ відгук на СВ, (D) електрохімічна реакція на електродах з покриттям АПП. Потенційна швидкість розгортки становить 100 мВ/с.

Принципово різна поведінка спостерігається на електродах з АПП та не модифікованому СВ щодо емісії ЕХЛ. Емісія ЕХЛ у присутності співреагенту ТПА набагато вища для обох електродних матеріалів, але має істотно різну поведінку. Інтенсивність ЕХЛ на АПП модифікованому електроді більша, ніж на СВ. В обох випадках реакція ЕХЛ при високих потенціалах зменшується до нуля і знову підвищується при зворотному скануванні. На скловуглецевому електроді інтенсивність ЕХЛ при зворотному скануванні істотно нижча, ніж при прямому, але для АПП електрода ЕХЛ реакція набагато вища при зворотному скануванні, ніж при прямому.

Таку поведінку ЕСЛ можна пояснити, якщо буде передбачено наступний механізм процесів ЕХЛ. Важливим етапом реакції ЕХЛ з реагентом ТПА є його депротонування після окислення на електроді (ТПАН^+) [288]. Збільшення електродного потенціалу вище деякого значення може призвести до гетерогенного окислення OH^- , місцевого зсуву значення рН до кислотного діапазону та зменшення швидкості депротонування окисленого ТПА. Це призводить до зменшення інтенсивності ЕХЛ, та при певному потенціалі

процес ЕХЛ повністю зупиняється без реагенту. Але продукування ТПАН⁺ на електроді продовжується при таких високих потенціалах, цій продукт накопичується біля електрода. Отже, коли електродний потенціал зменшується і місцева концентрація іонів ОН⁻ відновлюється, умови стають сприятливими для депротонування всього накопиченого ТПАН⁺, який бере участь у реакції ЕХЛ. Це призводить до значного збільшення ЕХЛ реакції, що підкреслює ефект АПП електрода, де потенціал окислення ОН досить високий. Можливо, для СВ електрода умови відновлення окисленого депротонування ТПАН⁺ відбуваються при потенціалі, який є досить низьким для відновлення Ru(bpy)₃⁺³ до Ru(bpy)₃⁺² при зворотному скануванні. Тож у той момент, коли депротонування співреагенту стає можливим на СВ-електроді, окислений люмінофор Ru(bpy)₃⁺³ електрохімічно відновлюється до стану Ru(bpy)₃⁺², а ЕХЛ емісія дуже низька.

Оскільки депротонування поблизу поверхні електрода пов'язане з місцевою зміною рН внаслідок розкладання води під час електролізу, тому повинна існувати кореляція між швидкістю депротонування та матеріалом електрода. Розпад води ускладнюється на АПП електроді порівняно з СВ [289-291], тому зміна депротонування ТПАН⁺ перешкоджає підвищенню електродного потенціалу.

Також АПП електродихарактеризуються меншою адсорбцією продукту реакції [292].

Таким чином, інтенсивність ЕХЛ вища у АПП модифікованого електрода, ніж у СВ електрода в реакції з ТПА співреагентом.

6.5 Принцип «тест на місці» на прикладі визначення геміну.

Виготовлення простих, точних та зручних діагностичних приладів за принципом „тест на місці” (ТНМ) є однією з найскладніших цілей в аналітичній галузі. Виявлення геміну є важливим для моніторингу наркотиків, діагностики та криміналістиці для визначення прихованих плямами крові.

Розроблений біосенсор на основі явища хемілюмінесценції використовує реакцію люмінолу для виявлення геміну з використанням в якості співреагенту артесунат. Досліджено можливі механізми аналітичної реакції. Гемін виявлявся як за допомогою реєстратора з фотоелектронним помножувачем, так і КМОН камерою смартфоном як детектора.

Артесунат та його похідні - це сесквітерпенові лактони з 1,2,4-триоксановим ядром, що включає ендопероксидний зв'язок, що визначає його дію [293]. Ендопероксидний зв'язок є тригером, що активується відновленням завдяки залізу всередині малярійного паразиту, який вивільняє каскад реактивних проміжних продуктів - цитотоксичних вільних радикалів, однієї або декількох високовалентних проміжних сполук заліза та електрофільних алкілюючих речовин, які наприкінці і завдають смертельних ушкоджень паразитам [294–297].

Гемін складається з іону заліза (III), що утримується в гетероциклічному кільці, відомому як порфірин. Порфіринове кільце містить чотири молекули піролу, які циклічно пов'язані разом з іоном заліза (III) у центрі, утворюючи комплекс. Гемін як посередник переносу електронів базується на зворотній окисно-відновлювальній реакції Fe(III)/Fe(II) [298–300]. Він може служити внутрішньоклітинним вісником, що моделює експресію генів, відкриття іонних каналів, обробку мікро-РНК та інші фізіологічні процеси [299]. Крім того, він також відіграє важливу роль у регуляції синтезу гемоглобіну, запобігає серцевій та діафрагмовій мітохондріальній дисфункції при сепсисі [301], регулює активність цитоплазматичної ДНК-полімерази з еритроїдних гіперпластичних клітин кісткового мозку та ретикулоцитів [302], пригнічує зараження вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ)-1 моноцитів шляхом індукції гемоксигенази [203–306]. Більше того, у галузі фармації гемін використовується в натуральних добавках заліза для лікування залізодефіцитної анемії, як сировина для приготування протипухлинних та напівсинтетичних білірубінових ліків. Гемін може реагувати з артесунатом у розчині, утворюючи вільні реактивні форми кисню (АФК). У плазмодіях ці

реактивні речовини, як вважають, пошкоджують бактеріальну ДНК, що є основною причиною його бактеріостатичного ефекту [301, 305, 307-310].

Хоча гемін є важливим, вільний надлишок геміну може спричинити токсичний ефект, що проявляється у зміні проникнення клітинних мембран та окислення білків, ліпідів та нуклеїнових кислот [299]. Також повідомляється, що гемін окислює ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), які посилюють ризик атеросклерозу та надзвичайно цитотоксичні для культивованих ендотеліальних клітин аорти [304, 311]. Для виявлення геміну розроблено декілька методів, включаючи хемілюмінесцентний аптасенсор на основі аптамера на гемін, що модифіковано магнітними полімером оксиду графену [300], флуоресцентної сенсора на основі вуглецевих наночасток [312] та спектрофотометричний аналіз [265]. Однак усі ці методи вимагають складних приладів, модифікації датчиків для підвищення чутливості та кваліфікованих операторів. Також повідомлялося про хемілюмінесцентний метод на основі реакції артемізинін/люмінол для виявлення геміну [313]. Але деякі обмеження пов'язані з цією композицією, такі як нерозчинність артемізиніну у воді, дуже високий рН та вузький лінійний діапазон ускладнюють використання цього методу. Всі ці обмеження спонукають дослідників шукати нові методи та технології аналізу, які можуть бути сумісними з біологічною системою, забезпечувати більш високу чутливість та вибірковість.

У сфері охорони здоров'я поширене використання смартфонів як детекторів забезпечує революційну можливість безпосереднього зчитування оптичних сигналів [314]. Ще однією важливою перевагою є те, що смартфони можуть проводити тести поза клінічними лабораторіями, особливо в умовах обмежених ресурсів, що важливе для скорої та невідкладної медицини [315]. Нещодавно було повідомлено про кілька прикладів, які показують фактичну доцільність використання платформ на основі смартфонів для виявлення біомаркерів та аналітів, що мають клінічний інтерес, в рідинах організму, включаючи піт, кров та слину [316].

Виходячи з вищезазначених фактів, запропоновано використання

артесунату як альтернативного співреагента, оскільки артесунат має сприятливу розчинність у воді, а його активність принаймні в п'ять разів перевищує активність артемізиніну [294, 317, 318]. Він також має антибактеріальні [319], антиангіотензинові [320] та протиракові [321] властивості. У порівнянні з ХЛ композицією артемізинін/люмінол, ХЛ композиція артесунат/люмінол усуває потребу у використанні органічного розчинника. Нова композиція вимагає набагато нижчого рН та має ширший діапазон лінійності для виявлення геміну. Це дозволяє чутливо виявляти артесунат з межею виявлення 0,09 нМ.

6.5.1. Хімічні речовини та реактиви

Артесунат та люмінол (> 98,0%) були придбані у TCI (Шанхай, Китай). гемін (99,9%) та тіомочевина (99,0%) поставила компанія Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd. (Шанхай, Китай). Супероксиддисмутаза (SOD) була придбана у Beijing HWRK Chem. Co. Ltd. (Пекін, Китай) та азиду натрію (NaN_3) у Tianjin Fuchen Chemical Reagents Factory (Китай). CaCl_2 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, FeSO_4 , CoCl_2 , MgSO_4 , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, CuSO_4 та ZnCl_2 постачалися компанією Beijing Chemical Reagent Company (Пекін, Китай). L-пролін (Pro), L-аргінін (Arg) та D-фенілаланін (Phen) були придбані у Shanghai Yuanju Biotechnology Co. Ltd. (Шанхай, Китай). Креатинін, цистеїн, глутатіон, сечова кислота, глюкоза, фруктоза та сахароза були придбані у компанії Sinopharm Chemical Reagent Co. Ltd. (Пекін, Китай). Динатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА) була придбана у Shanghai Sangon Company (Шанхай, Китай). Зразки цільної крові людини отримували у здорових добровольців із лікарні. Вихідні розчини геміну та люмінолу готували шляхом розчинення певної кількості люмінолу або геміну в 0,1М розчині NaOH. Артесунат розчиняли в 0,01М NaCO_3 . Інтенсивності хемілюмінесценції реєстрували за допомогою аналізатора ультра слабкої люмінесценції VPCL, що постачається Інститутом біофізики Китайської академії наук. Напряга фотоелектронного помножувача (ФЕП)

підтримувалась на рівні 600 В. Саморобна ХЛ ячейка була сконструйована шляхом вирізання однієї свердловини зі стандартної 24-лункової полістирольної планшети. Ячейка має внутрішній діаметр 1,6 см. Він використовувався для змішування речовин в експерименті з подальшою реєстрацією ХЛ за допомогою смартфона.

6.5.2. Хемілюмінесцентне виявлення геміну

Процедуру виявлення геміну проводили шляхом змішування 100,0 мкМ люмінолу з 1,0 мкМ артесуната в саморобній ХЛ ячейці, розчин розбавляли до 400,0 мкл 5,0 мМ NaOH. Потім до розчину швидко додавали 5,0 мкл розчину різної концентрації геміну. Після змішування, проводилась реєстрація ХЛ. Для вимірювання спектру ХЛ випромінювання цієї композиції використовували скляні фільтри з різними смугами пропускання на довжинах хвиль 400 нм, 425 нм, 440 нм, 460 нм, 490 нм, 535 нм, 555 нм, 575 нм та 620 нм.

6.5.3. Підготовка зразків крові

Зразок крові готували за наступною процедурою [313] з невеликими змінами. А саме, 0,1 мл крові, отриманої в лікарні, та 5 мл 0,1 М ФБР (рН = 7,4) змішували з 1,0 мл 0,1 М EDTA і центрифугували при 1500 об./хв. протягом 30 хвилин. Супернатанти збирали і розбавляли 20 000 разів розчином ФБР перед проведенням виявлення. 10,0 мкл, 20,0 мкл і 50,0 мкл з розведеного розчину наливали в саморобну ХЛ ячейку, а потім до зразка крові додавали 4,0 мкл ... 100,0 мкМ розчинів артесуната та 80,0 мкл 0,5 мМ розчину люмінолу. Розчин суміші розбавляли до 400,0 мкл 5,0 мМ NaOH.

6.5.4. Процедура фотореєстрації ХЛ

Виявлення геміна за допомогою смартфона проводили шляхом змішування різної концентрації геміну 20,0 мкл з 10,0 мкл 100,0 мкМ артесунату та 80,0 мкл 500,0 мкМ люмінолу в 400,0 мкл 5 мМ розчині NaOH. Через 4 хв, коли спостерігається максимальна емісія ХЛ, розчин поміщають у

світлозахисну камеру. Для зйомки зображень ХЛ був використаний смартфон Nubia Z17 min в автоматичному режимі, з величиною експозиції 60 с. Програмне забезпечення ImageJ 1.46 r (<http://imagej.nih.gov/ij/docs/guide>) було використано для аналізу зображень, проведена оцінка інтенсивності випромінення з площини зразка, що виражалось у відносних одиницях (RLU).

6.5.5. ХЛ характеристики реакційної системи

Рис. 6.19 А показує кінетику ХЛ композицій люмінол/гемін, люмінол/артесунат, артесунат/гемін та система люмінол/гемін/артесунат. ХЛ інтенсивності систем люмінол/гемін, люмінол/артесунат та артесунат/гемін є слабкими. ХЛ інтенсивності системи люмінол/гемін/артесунат набагато сильніша, ніж інтенсивність систем люмінол/гемін, люмінол/артесунат та системи артесунат/гемін, що свідчить про те, що гемін проявляє високу каталітичну активність щодо системи люмінол/артесунат. Інтенсивність ХЛ системи люмінол/гемін/артесунат досягала максимального значення через 250 с, що свідчило про повільний характер ХЛ реакції, що дозволяє спостерігати емісію зі зразка протягом декількох хвилин.

На рис. 6.19 В показані кінетику ХЛ композиції гемін/люмінол/ H_2O_2 (вставка) та композиція люмінол/гемін/артесунат. Для порівняння, пікова інтенсивність ХЛ в системі люмінол/гемін/артесунат в 16 разів перевищує інтенсивність системи гемін/люмінол/ H_2O_2 . Це вказує на те, що артесунат є ефективним співреагентом ХЛ реакції геміну з люмінолом.

Іони заліза геміну зумовлюють утворення активних форм кисню (АФК) з артесуната [294, 296, 309, 310, 312]. Механізм реакції розщеплення ендопероксидного зв'язку артесуната для утворення ефективних реакційноздатних радикалів показано на схемі 1. Розщеплення киснево-кисневого зв'язку при розкладанні перекису водню каталізується геміном [317]. Виходячи з кінетики ХЛ композиції, що спостерігається, можна зробити висновок, що каталітичне відновлення артесуната є подібним до відновлення перекису водню. [322] Вплив на інтенсивність ХЛ додавання

різних концентрацій азиду натрію, як перехоплювача синглетного кисню ($^1\text{O}_2$) [323], супероксиддисмутази, як перехоплювача супероксидного радикального аніона ($\text{O}_2^{\cdot-}$), [324] манітолу, як перехоплювача АФК, [309, 325, 326] та тіосечовини, як перехоплювача гідроксильного радикала (HO^{\cdot}), [327] вивчалися для виявлення механізму ХЛ. Як визначено у дослідженні, азид натрію, так і тіосечовина мають незначний ефект, тоді як супероксиддисмутаза та маніт суттєво знижують інтенсивність ХЛ, виявляючи те, що утворений радикал не є ні синглетним киснем ($^1\text{O}_2$), ні гідроксильним радикалом (HO^{\cdot}). Ефект зниження ХЛ під впливом манітолу підтверджує, що існує генерація АФК.

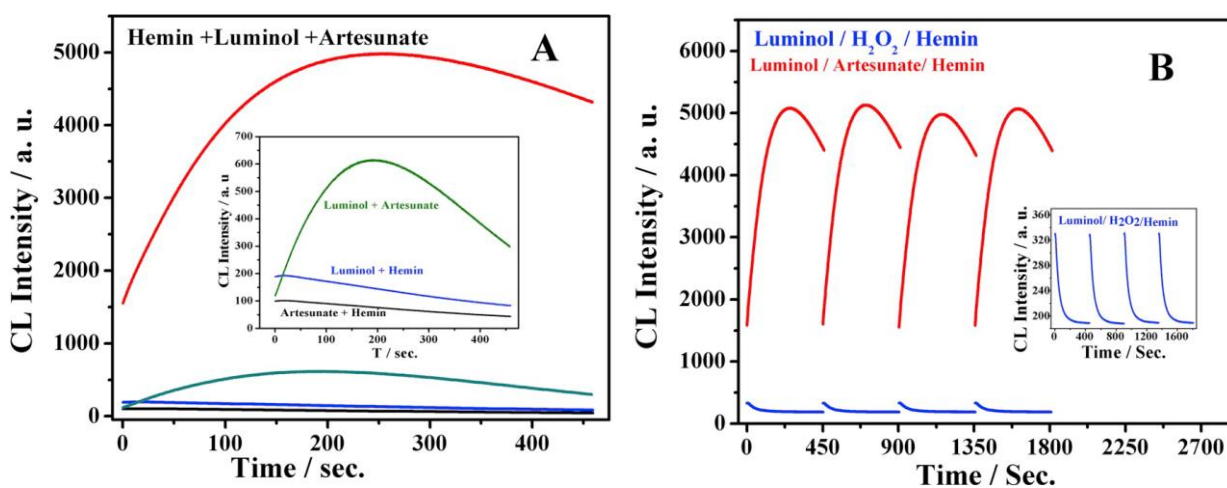


Рисунок 6.19 – (А) Кінетика ХЛ для реакції системи артесунат/гемін, люмінол/гемін, люмінол/артесунат та система гемін/люмінол/артесунат (червоний). На вставці показано масштабовану калібрувальну криву інтенсивності ХЛ для артесунату/геміну (чорний), люмінолу/геміну (синій) та люмінолу/артесунату (зелений). (В) Кінетика ХЛ реакції композиції гемін/люмінол/артесунат (перші чотири лінії червоного кольору) та композиції люмінол/Н₂О₂/гемін (вставка; чотири сині кольорові лінії). Кінцеві концентрації: 100,0 мкМ люмінолу, 1,0 мкМ артесунату, 0,4 мкМ геміну, 1,0 мкМ Н₂О₂, в 400,0 мкл 5,0 мМ NaOH. Напруга фотоелектронного помножувача: 600 В.

Ці результати показали, що $O_2^{\bullet-}$ відіграє суттєву роль в ХЛ реакції люмінол/артесунат/гемін. Максимальна довжина хвилі випромінювання ХЛ для суміші люмінол/гемін/артесунат становить близько 450 нм, що відповідає типовому спектру люмінолу [313, 328]. Тому пропонується можливий механізм ХЛ, відповідно до схеми на рис. 6.20.

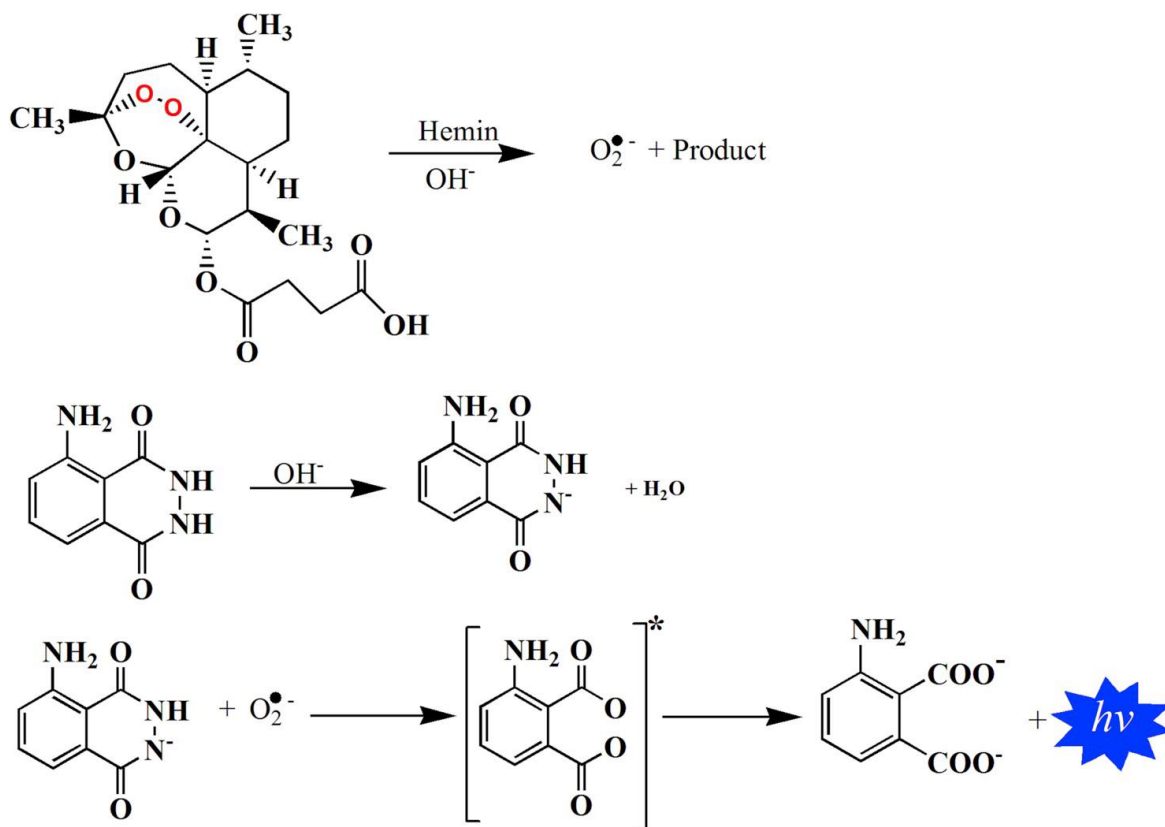


Рисунок 6.20 – Запропоновані механізми ХЛ реакції для системи артезунат / гемін / люмінол.

6.5.6. Оптимізація умов ХЛ реакції

Вплив NaOH.

Загальновідомо, що ХЛ реакція люмінолу спостерігається в основних середовищах, таким чином є цікавим вплив концентрації NaOH на ХЛ реакцію. Досліджували різні розчини, що містили 1,0 мМ, 2,0 мМ, 5,0 мМ, 10,0 мМ, 20,0 мМ, 50,0 мМ та 100,0 мМ NaOH. Величина піку інтенсивності ХЛ різко збільшувалася із збільшенням концентрації NaOH. Найбільше відношення сигнал/шум отримано в розчині 5,0 мМ NaOH, більше цієї концентрації

фоновий (шумовий) сигнал системи став вище. Тому для подальших експериментів було обрано 5,0 мМ розчину NaOH.

Вплив концентрації люмінолу.

Люмінол є ХЛ реагентом в композиції. Отже, його концентрація повинна бути ретельно оптимізована для забезпечення максимальної ефективності реакції, її чутливості та відтворюваності. Вплив концентрації люмінолу на ХЛ реакцію досліджували в діапазоні 0,1 мкМ – 100,0 мкМ. Було встановлено, що інтенсивність ХЛ значно збільшується із збільшенням концентрації люмінолу до 100,0 мкМ, вище чого фоновий сигнал також посилюється, що призводить до зменшення відношення сигнал/шум. Причиною є те, що кількість радикалів люмінолу збільшується із збільшенням його концентрації, що вигідно для збільшення інтенсивності ХЛ в розчині. Таким чином, для подальших робіт було обрано концентрацію люмінолу в 100,0 мкМ.

Вплив концентрації артесунату та виявлення артесунату.

Вплив концентрації артесуната досліджено в діапазоні 0,1 нМ – 2,0 мкМ. Як показано на рис. 6.21 А, інтенсивності ХЛ зростає зі збільшенням концентрацій артесунату в діапазоні 0,1 нМ – 2,0 мкМ, а коли концентрація артесуната становить 1,0 мкМ, інтенсивність ХЛ досягає свого максимального значення. Для отримання більш високої чутливості та відтворюваності для подальшого експерименту було обрано концентрацію 1,0 мкМ. Крива інтенсивності ХЛ має хороший лінійний зв'язок з логарифмом концентрації артесунату від 0,1 нМ до 1,0 мкМ (рис. 6.21 В). Рівняння лінійної апроксимації калібрувальної характеристики ХЛ = $1469 + 947 \log(\text{концентрація артесунату})$ з коефіцієнтом кореляції 0,993. Встановлено, що межа виявлення, що розрахована згідно з USP 41 [329], становить 0,078 нМ для артесуната (де $n = 9$, 95% рівня достовірності, стандартна похибка лінії регресії та нахил отримані з рівняння регресії).

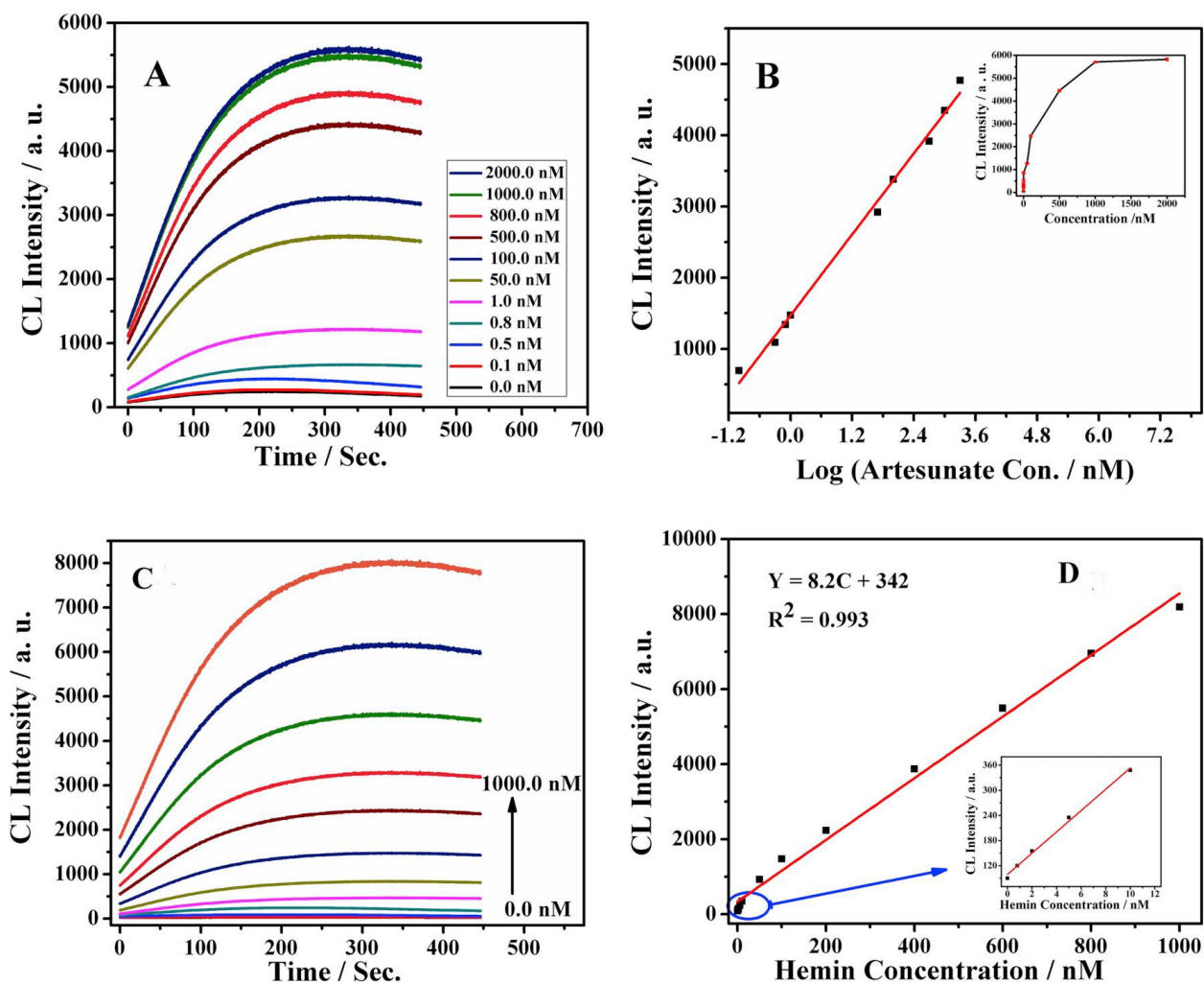


Рисунок 6.21 – (А) Крива часу хемілюмінесценції для системи гемін / люмінол у залежності від різної концентрації артезуната (В) лінійний графік журналу віршових піків інтенсивності ХЛ (артезунат концентрації). Врізка; Пікові криві інтенсивності ХЛ для різної концентрації артезуната від 0,0 нМ до 2,0 мкМ. (С) Часові криві спектрів випромінювання хемілюмінесценції системи артезунат / люмінол у присутності різної концентрації геміну. (D) Пікова інтенсивність ХЛ, побудована як функція концентрації геміну. Вставка: показує збільшені криві між концентрацією геміну 0,8 - 20,0 нМ та піковою інтенсивністю ХЛ. Концентрація геміну становить 0,0, 0,8, 1,0, 5,0, 10,0, 20,0, 50,0, 100,0, 200,0, 400,0, 600,0, 800,0, 1000,0 нМ; з 1,0 мкМ артезунату, 100,0 мкМ люмінолу.

Лінійність методу також перевіряли за допомогою F-критерію та/або перетин осі у. Згідно з настановами та статтями з валідації аналітичних

методів [330–332], важливим є оцінка лінійності калібрувальної функції, для чого готують мінімум п'ять рівнів концентрації у трьох примірниках. Якщо експериментальний набір даних описує лінійна калібрувальна крива, $Y = \alpha X + \beta$, тоді табличне значення F ($F_{\text{tabulated}}$) повинно бути більшим, ніж розраховане F -значення ($F_{(I-2)/(I-1)}$). Результати калібрування нашого методу показали, що $F_{\text{calculated}}$ менше $F_{\text{tabulated}}$ з перетином у 1469, коли $947 \log(\text{концентрація артезуната})$ дорівнює нулю та $R^2 = 0,993$. Відповідно, доведена лінійність калібрувальної характеристики для визначення артезунату за допомогою запропонованого метода.

Огляд літератури показує, що це значення межі визначення артезуната є кращою, ніж ті, що повідомлялися раніше. Порівнюючи відомі методи з розробленим, можна зробити висновки, що він простий, швидкий та чутливий і більш дешевий за раніше повідомлені методи виявлення артезунату [333-336].

6.5.7 Виявлення геміну

Досліджено лінійність та межу визначення геміну на основі цієї нової ХЛ композиції. Як показано на рис. 6.21С і D. Було визначена лінійна залежність між інтенсивністю ХЛ та концентрацією геміну в діапазоні від 0,8 нМ до 1000,0 нМ, з $n = 12$, та 95% довірчою вірогідністю, стандартна похибка лінії регресії та нахилу були отримані з рівняння регресії. Рівняння регресії становило $I_{\text{ХЛ}} = 342 + 8,2c$, де $I_{\text{ХЛ}}$ - інтенсивність хемілюмінесценції, а c - концентрація геміну в нМ. Лінійність також була підтверджена. Оскільки $F_{\text{calculated}}$ менше, ніж $F_{\text{tabulated}}$, з перетином у, коли концентрація геміну не виявляється 324, $R^2 = 0,993$. Продемонстрована лінійність отриманих даних для визначення геміну за допомогою F-тесту. Відносне стандартне відхилення (кількість зразків $n = 9$) для концентрацій геміну 100,0 нМ, 400,0 нМ та 600,0 нМ становило 1,8%, 2,6% та 1,95% відповідно, що вказує на прийнятну відтворюваність виявлення геміну. Межа визначення для цього методу краща

ніж для повідомлених раніше методів визначення геміну [298, 333], що узагальнено у табл. 6.3. Метод є достатньо простим, дешевим, швидким, чутливим і має широкий лінійний діапазон. За сукупністю наведених переваг запропонований метод може стати потенційною платформою для виявлення гемінів.

6.5.8 Виявлення геміну за допомогою камери смартфона

Оскільки детектори ПМТ та ПЗЗ є крихкими та дорогими, смарт-телефонні пристрої можуть запропонувати адекватні та альтернативні аналітичні характеристики для виявлення дуже слабких світлових сигналів, таких як ті, що виробляються в результаті реакцій біоломінесценції, з розумним часом експозиції (наприклад, кілька секунд, хвилин). Рис. 6.22 I показує зображення, зібрані камерою смартфона після змішування різної концентрації геміну з 50,0 мкМ артесуната та 300,0 мкМ люмінолу. Камера змогла зобразити 0,02 мкМ геміну. Результати, виражені як відносні одиниці світла (RLU) [311, 315], використовувались для опису взаємозв'язку з концентрацією геміну. Лінійна калібрувальна крива на рис.6.22 II отримується від 0,02 до 50,0 мкМ з лінійним рівнянням ХЛ (RLU) = 40,4 log(гемін конц./МкМ) + 66,4 ($R^2 = 0,991$). Лінійність також була підтверджена, оскільки $F_{\text{calculated}}$ менше, ніж $F_{\text{tabulated}}$, $R^2 = 0,991$ і у-перехват виявляється рівним 66,4, існує значна лінійність даних, про які повідомляється, для визначення геміна за допомогою запропонованого методу за допомогою камери смартфона. Межа виявлення становить 0,02 мкМ.

6.5.9 Селективність методу ХЛ для виявлення геміну

Для нового аналітичного методу, особливо з потенційним застосуванням у біомедичних зразках, важливим є дослідження селективності. Оцінено вплив деяких іонів металів та біомолекул на інтенсивність ХЛ системи. Результати досліджень показують, що біомолекули – амінокислот, цукрів та сечовини, мало впливають на інтенсивність ХЛ.

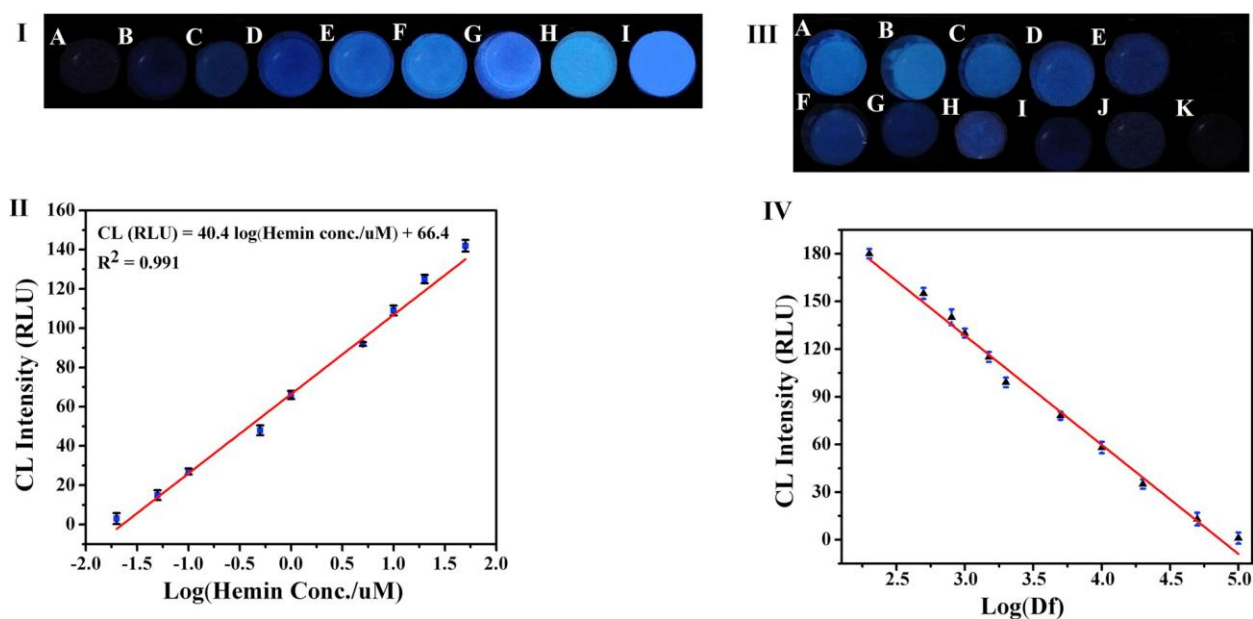


Рисунок 6.22 – (I) Люмінесцентні зображення тестових зразків при додаванні різної концентрації геміну, що отримані за допомогою смартфона. Концентрації геміну від А до І складає 0,02, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 5,0, 10,0, 20,0 та 50,0 мкМ відповідно. (II) Калібрувальна крива інтенсивності ХЛ (від. од.) кольорових зображень для логарифму концентрації геміну. (III) ХЛ зображення, отримані за допомогою смартфона для коефіцієнтів розбавлення (від А до К, розведення в 400 разів, 800, 1000, 1500, 2000, 5000, 10 000, 20 000, 50 000, 100 000 та 120 000 разів відповідно) для зразка крові людини. (IV) Калібрувальні криві для інтенсивності ХЛ кольорових зображень від логарифму коефіцієнта розведення.

Таблиця 6.3 - Порівняння різних аналітичних методів виявлення гемінів.

Аналітичний метод	Аналітична композиція	Лінійний діапазон	Межа визначення	Посилання
Флуоресцентний	PPIX-G-quadruplexes ^a	50-2250 нМ	36 нМ	[333]
ХЛ	MGO@H-Atp@Co-PP ^b	800nM-480 μM	3.9 fM	[300]
Прямоугольноімпульсна вольтамперометрія	COO-GR/HBA nano composite ^c	1-150 nM	0.64 nM	[337]
Флуоресцентний	CDs/ -cd, CDs/LMH, CDs/Suc ^d	1 μM–23 μM	1 μM	[312]
Флуоресцентний	AO–PS2.M/rGO ^e	2.81-4.37 μM	50 nM	[334]
Флуоресцентний	Hep-MPA-CdSQDs ^f	0.167-42.45 μM	48.6 nM	[335]
Спектроскопічний	Acidified chloroform extraction	1.15–9.2 μM	72 nM	[298]
ХЛ	Artemisinin/luminol ХЛ	1.0 - 100.0 nM	0.37 nM	[313]
ХЛ	Artesunate/luminol	0.8 – 1000.0 nM	0.22 nM	This work

^a PPIX-protoporphyrin IX.

^b Magnetic graphene oxide (MGO)-heminaptamer (H-Atp)-cobalt porphyrin (Co-PP).

^c Hemin– binding – aptamer(HBA)–carboxylatedgraphene(COO-GR).

^d Carbon dots (CDs)/ -Cyclodextrin (-cd)- Lactose Monohydrate (LMH) – Sucrose (Suc).

^e G-quadruplex structure aptamer (PS2. M) –acridineorange (AO) - reduced graphene oxide (rGO).

^f Mercaptopropionic acid (MPA) and heparin (Hep) dual modified CdS quantum dots (Hep-MPA-CdS QDs).

Вплив іонів Mg²⁺, Pb²⁺, Ca²⁺, Co²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Fe²⁺, Zn²⁺ на ХЛ також досліджувався. Так, збільшення ХЛ інтенсивності незначне при додаванні іонів металів до достатньо високих концентраціях (20,0 мкМ). Вищезазначені результати свідчать про те, що цей метод має чудову селективність.

6.5.10 Визначення геміну у сироватці крові людини

Було проведено аналіз геміну в сироватці людини для демонстрації можливого застосування композиції люмінол/артесунат для визначення геміну в біологічних пробах. Зокрема, різну концентрацію геміну змішували зі зразками крові, результати, що отримані стандартним методом додавання, наведені в таблиці 6.4. Відтворюваність виявлення доданого геміну в зразках крові становило від 99,8% до 101,3% , а відносні стандартні відхилення становили не більше 1,8%. Наведені вище результати свідчать про те, що запропонований підхід є простим, чутливим, швидким та має перспективу у біомедичному застосуванні.

Для того, щоб вивчити межу виявлення методу, який базується на реєстрації ХЛ за допомогою смартфона, зразки крові людини розбавляли 0,1 М фосфатним буфером (рН = 7,4). Коефіцієнт розбавлення (D_f) використовували як параметр для відображення результатів випробувань [313, 336]. Зображення ХЛ з різним розбавленням зразка крові та відповідною калібрувальною кривою наведені на рис.6.22 III. Результат свідчать, що інтенсивність ХЛ має хороший лінійний зв'язок з логарифмом коефіцієнта розведення крові (рис. 6.22 IV). Лінійне рівняння лінії апроксимації ХЛ (від.од.) = $334,75 - 68,7 \log(D_f)$, ($R^2 = 0,991$). Максимальний коефіцієнт розбавлення крові, який може бути виявлено за допомогою смартфона, становить 120 000:1. Дослідження відтворюваності також проводили за допомогою камери смартфона, використовуючи ту ж процедуру, що вище наведена. А саме, три різні концентрації геміну (0,5 мкМ, 5 мкМ та 10 мкМ) змішували з розведеним зразком крові, результати, що отримані стандартним методом додавання, показані в табл. 6.5. Відтворення становить від 97,8% до 101,3%, а відносне стандартне відхилення становили не більше 1,9%. В табл. 6.6 наведено підсумок результатів виявлення геміну за допомогою приладу BPCL з ФЕП як детектора, так і камери смартфона.

У діагностичних медичних лабораторіях та судово-медичній галузі,

вчених-криміналістів та діагностиків часто просять визначити, чи є певна пляма кров'ю під час тестування на місці. Щоб довести, що цей метод може використовуватися для диференціювання плям крові від найбільш поширених схожих плям, на різні шматочки фільтрувального паперу капали розведену в 2000 разів кров людини, воду, каву, сечу, ранкову слину та червоний чай (Рис. 6.23 I). ХЛ реанти додавали до висушеного фільтрувального паперу і використовували для ХЛ візуалізації в світлозахисній камері. Результати свідчать про те, що цей метод дозволяє успішно відрізнити плями крові від інших плям. У реальній життєвій ситуації загальноприйнято, що плями крові забруднені іншими домішками, такими як слина, кава, сеча тощо. Рис. 6.23 II показує, що ця система також здатна диференціювати пляму крові, забруднену сечею та слиною (рис. 6.23 II, а та a1), кавою та червоним чаєм (рис. 6.23 II, 4b та b1), кавою та сечею (рис. 6.23 II, с та c1) сечею та червоним чаєм (рис. 6.23 II, d та d1).

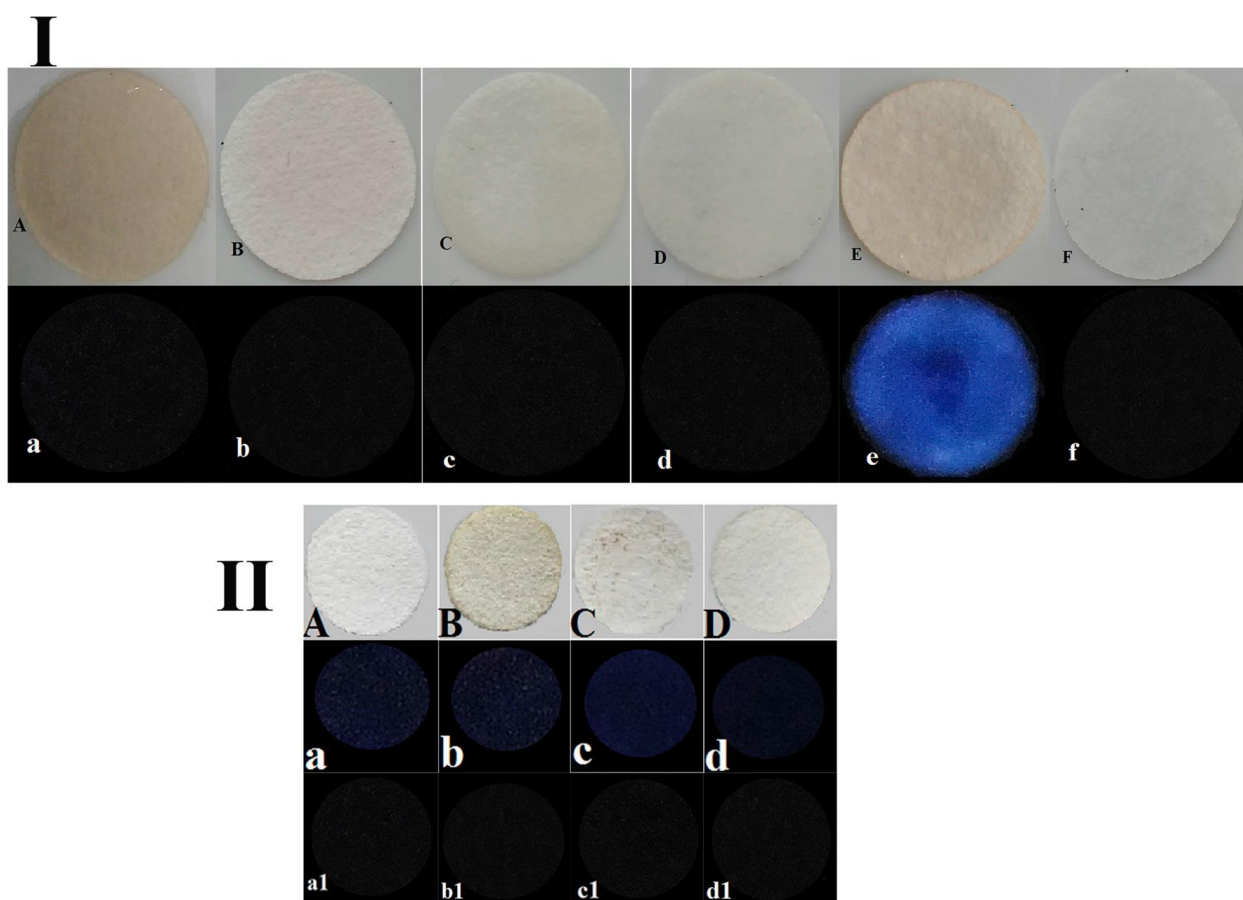


Рисунок 6.23 – (I) Зображення фільтрувального паперу після занурення в

плями кави (A), червоного чаю (B), сечі (C), ранкової слини (D), крові (E) та води (F), що отримані за нормальних умов освітлення. ХЛ зображення, що зроблені в світлозахисній камері після додавання реагентів для зразків від А до F. (II) Зображення фільтрувального паперу після занурення до сечі та слини (A) кави та червоного чаю (B), кави та сечі (C), сечі та червоного чаю (D); a - d - відповідні зображення, зроблені в темній коробці після додавання плями крові та реагентів для ХЛ; a1 –d1 - це також відповідні зображення, зроблені в світлозахисній камері після додавання ХЛ реагентів без плям крові.

6.6 Визначення тирозинази ХЛ методом

Тирозиназа має першорядне значення в синтезі меланіну та процесі підрум'янення їжі. Як типова мідьвмісна оксидаза, вона може каталізувати окиснення монофенолу до похідних катехолу та окиснення похідних катехолу до сполук о-хінону в присутності кисню [338–340]. Було встановлено, що аномальна експресія тирозинази може спричинити вітіліго та хворобу Паркінсона [341]. У клінічному діагнозі тирозиназа слугує біомаркером раку меланоми та вітіліго [342]. Беручи до уваги важливість тирозинази у клінічній фармакології, ефективне визначення її активності є необхідним. На сьогодні активність тирозиназу досліджується за допомогою різних методів аналізу, таких як електрохімія [343–345], високоефективна рідинна хроматографія [346, 347], колориметрія [348, 349] та флуориметрія [350–352]. Серед них широко досліджені є спектроскопічні методи [353–357]. Зокрема, флуоресцентні проби з різними люмінофорами широко використовувались, оскільки цьому методу притаманні висока чутливість та простота реалізації [358–360]. Тим не менше, розвитку цих методів часто заважає складна процедура синтезу реагенту-люмінофора, що використовується у аналізі, та комплексна модифікація флуоресцентного зонда [361].

У порівнянні з вищезазначеними методами, хемілюмінесценція (ХЛ) має великі переваги завдяки своїй чудовій чутливості, швидкій реакції, простоті,

низькому фону та низькій вартості інструментарію [362–364]. Люмінол/ H_2O_2 , як типова ХЛ композиція, інтенсивно застосовується для визначення різних аналітів. Аналітична реакція може каталізуватися різними речовинами для отримання яркого випромінення ХЛ, такими як іони металів, наноматеріали, пероксидази, тощо [365–367]. Однак H_2O_2 може реагувати з багатьма речовинами, що призводить до поганої селективності аналізу [368]. Тому надзвичайно важливо дослідити нову ХЛ композицію люмінолу з чудовою селективністю та стабільністю.

Флуорескамін - комерційний флуоресцентний зонд. Він може швидко реагує з первинними аміносполуками, утворюючи високофлуоресцентні продукти [370–373]. Таким чином, він широко використовується для виявлення сполук, що містять аміногрупи, таких як білки, пептиди та амінокислоти [374–376].

Досліджено [1] що флуорескамін може реагувати з люмінолом у присутності піролідинопентіофенона (ППФ), що супроводжується інтенсивною ХЛ. Тирозиназа може каталізувати окислення фенолу до *o*-хінону, а *o*-хінон може ефективно гасити ХЛ композиції люмінол-флуорескамін-ППФ. На основі цього ефекту гасіння було розроблено простий і чутливий ХЛ біосенсор для виявлення активності тирозинази. Розроблений біосенсор застосовано для аналізу реальних зразків, де він демонструє задовільні показники.

6.6.1 Реактиви та матеріали

Люмінол отримано від TCI (Шанхай, Китай). Флуорескамін був придбаний у компанії Alfa Aesar Chemical Reagent Co., Ltd. (Китай). Тирозиназа, уриназа, папаїн та пепсин постачала компанія Sigma-Aldrich. ППФ, катехол, фенол та альбумін з бичої сироватки (БСА) були придбані у Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd. (Пекін, Китай). Супероксиддисмутаза (СОД) була придбана у Beijing HWRK Chem. Co. Ltd (Пекін, Китай). Тіосечовина та азид натрію (NaN_3) були отримані від Sinopharm Chemical

Reagent Co., Ltd. (Шанхай, Китай). DL-аланін (Ala), L-глутамінова (Glu), L-аспарагінова (Asp) кислоти, L-пролін (Pro) та дигідрохлорид гістидину (His) були отримані від Shanghai Yuanju Biotechnology Co., Ltd. (Шанхай, Китай). Вихідний розчин люмінолу (1 мМ) готували в 0,10 М NaOH. Вихідний розчин флюорескаміну (1 мМ) готували в ацетонітрилі. Всі хімічні речовини в цій роботі були аналітичного класу. В усіх експериментах використовували бідистильовану воду.

6.6.2. Обладнання

Для вимірювання ХЛ використовували люмінесцентний аналізатор BPCL (Інституту біофізики Китайської академічної науки) та саморобну ХЛ ячейку. Напруга живлення фотоелектронного помножувача була -800 В під час експериментів з дослідження інтенсивності ХЛ. Спектр випромінювання ХЛ вимірювали за допомогою камери на базі приладу з зарядовим зв'язком з електронним помноженням заряду (EMCCD: ProEM-HS: 512B) та спектрометра (IsoPlane 160, Princeton Instrument). Фотофіксація ХЛ проводилася за допомогою смартфона Huawei P20 (фокусна відстань 27 мм, чутливість ISO 1600).

6.6.3 ХЛ дослідження композиції люмінол-флуорескамін-ППФ

У загальному випадку 100 мкл 0,3 мг мл⁻¹ ППФ та 100 мкл 0,1 мМ флуорескаміну додавали в 700 мкл 0,1 М фосфатного буфера з рН 9,0, а потім 100 мкл 0,1 мМ люмінолу швидко вводили у вищевказаний розчин. Потім, інтенсивність ХЛ композиції люмінол-флуорескаміну-ППФ негайно вимірювалася.

6.6.4 Процедура оцінки активності тирозинази

На першій стадії, об'єм 100 мкл 0,1 М рН 7,4 PBS, 100 мкл 1 мМ фенолу та 100 мкл розчину тирозинази з різними концентраціями в діапазоні від 0 до 100 мкг мл⁻¹ змішували у 2,0 мл мікроцентрифужній пробірці. Суміш інкубували

при 37 ° С протягом 40 хв. На другій стадії, інкубовані розчини піпеткою додавали в суміш 100 мкл 0,3 мг мл⁻¹ ППФ, 100 мкл 0,1 мМ флуорескаміну та 400 мкл 0,1 М фосфатного буфера з рН 9,0. Наприкінці, об'єм 100 мкл 0,1 мМ люмінолу швидко вводили у вищезгадану суміш розчин, а потім реєстрували ХЛ сигнали. Для оцінки селективності розробленої сенсорної системи тирозиназу замінювали іншими біомолекулами, такими як уриназа, папаїн, пепсин, БСА та деякі амінокислоти.

6.6.5 Аналіз тирозинази в зразках сироватки людини.

Для дослідження реальних зразків крові людини, їх відбирали за допомогою венепункції, застосовували ряд очисних процедур для видалення домішок. Отримані супернатанти зразків сироватки крові людини розбавляли 0,1 М фосфатним буфером з рН 7,4. Потім у заданій кількості тирозиназу додавали до вищезазначених розчинів для отримання тестових зразків. Результати дослідження методом ХЛ активності тирозинази в зразках сироватки людини наведено нижче.

ХЛ композиції люмінол-флуорескамін-ППФ

Профілі ХЛ різних систем показані на рис. 6.24.

Порівняння рис. 6.24 А та В вказує на те, що флуоресамін може різко підвищити інтенсивність ХЛ-вмісту люмінолу. З рис. 6.24 С видно, що інтенсивність ХЛ флуоресамін-люмінолу може бути додатково збільшена за допомогою ППФ. Система флуорескамін-люмінол-ППФ демонструє приблизно в 26 разів сильнішу ХЛ, ніж система люмінолу (рис. 6.24 А). Додавання ППФ до люмінолу мало впливає на люмінол ХЛ (рис. 6.24 D), а інтенсивність ХЛ флуоресамін-ППФ дуже слабка (рис. 6.24 E). Ці результати вказують на те, що інтенсивна ХЛ флуоресамін-люмінол-ППФ в основному зумовлена реакцією, що включає як флуоресамін, так і люмінол. Для перевірки принципу цієї нової системи ХЛ досліджували спектр ХЛ, а також вплив поглиначів кисню та радикалів на ХЛ люмінол-флуорескаміну-ППФ.

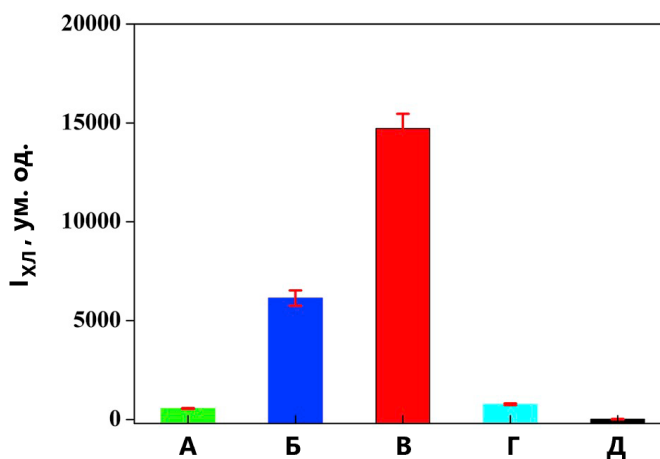


Рисунок 6.24 – Порівняльна схема різних ХЛ систем. ХЛ інтенсивність люмінолу (А); люмінол + флуорескамін (Б); люмінол + флуорескамін + ППФ (В); люмінол + ППФ (Г); флуоресамін + ППФ (Д) відповідно. 0,1 М ФБР з рН=9,0; концентрація люмінолу 0,1 мМ; концентрація флуоресаміну 0,1 мМ; концентрація ППФ 0,3 мг мл⁻¹.

Пік спектру ХЛ становить близько 440 нм, демонструючи, що 3-амінофталат є випромінювачем системи люмінол-флуорескін-ППФ [1, 377]. Після видалення розчиненого кисню продуванням азоту протягом 20 хв інтенсивність ХЛ помітно зменшується (рис. 6.25), демонструючи, що кисень необхідний для ХЛ системи люмінол-флуорескін-ППФ. Крім того, досліджується вплив СОД, азиду натрію та тіосечовини на інтенсивність ХЛ [378, 379]. СОД, азид натрію та тіосечовина є ефективними поглиначами радикалів супероксид-радикального аніона ($O_2^{\cdot-}$), синглетного кисню (1O_2) та гідроксильного радикала (HO^{\cdot}) відповідно. Тіосечовина та NaN_3 мають незначний вплив на інтенсивність ХЛ. На відміну від цього, SOD майже повністю гасить ХЛ. Вищезазначені результати вказують на те, що $O_2^{\cdot-}$ має найвище значення для люмінол-флуорескаміну-ППФ ХЛ. Тому ми пропонуємо механізм ХЛ на рис. 6.26. Флуоресамін гідролізується в лужному розчині. Продукти гідролізу можуть реагувати з розчиненим киснем, утворюючи $O_2^{\cdot-}$, а ППФ може стабілізувати вільні радикали в розчині [380, 381]. Потім генерований $O_2^{\cdot-}$ реагує з аніоном люмінолу, утворюючи

збуджений стан 3-амінофталату. Нарешті, сильне викид ХЛ відбувається при розпаді збудженого 3-амінофталату до основного стану [382, 383].

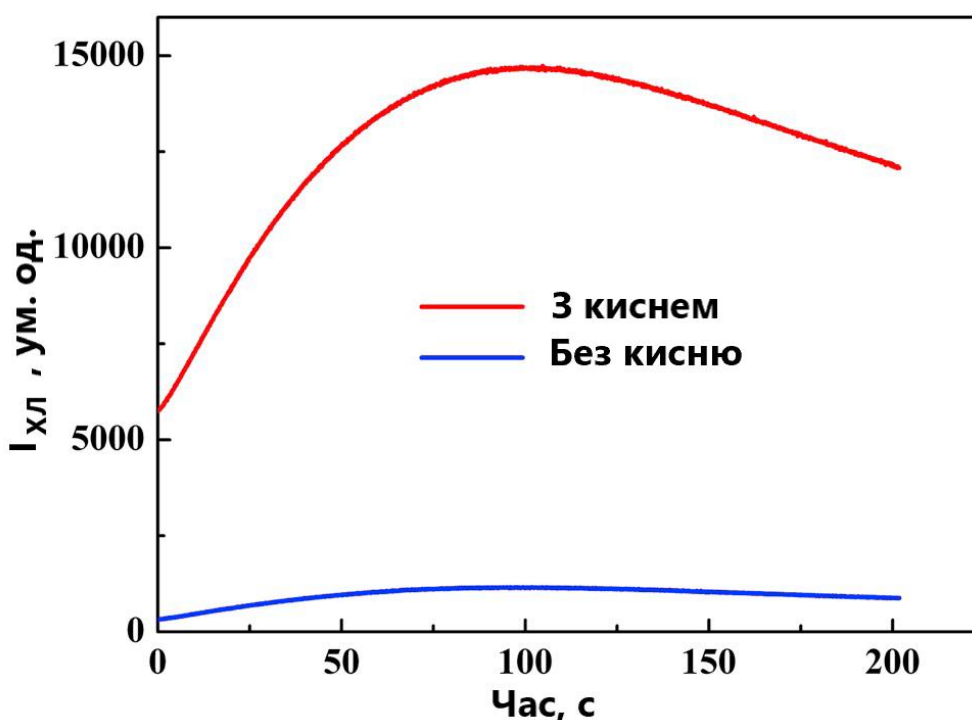


Рисунок 6.25 – Кінетичні профілі ХЛ системи люмінол-флуорескамін-ППФ у присутності (червона лінія) та відсутності (синя лінія) кисню. PBS, 0,1 М, рН 9,0; с (люмінол), 0,1 мМ; с (флуоресамін), 0,1 мМ; с (ППФ), 0,3 мг мл⁻¹. (Для тлумачення посилань на колір у цій легенді малюнка читач посилається на веб-версію цієї статті.)

Оптимізація експериментальних умов.

Для отримання найкращої умови аналізу були проведені оптимізаційні дослідження для вивчення впливу експериментальних параметрів на інтенсивність ХЛ люмінол-флуорескаміну-ППФ, таких як рН та інкубація. Максимальна емісія ХЛ отримана при рН 9,0. Ймовірно, продукти гідролізу флуорескаміну можуть легше реагувати з розчиненим киснем при такому рН. Отже, рН 9,0 використовується для наступного експерименту.

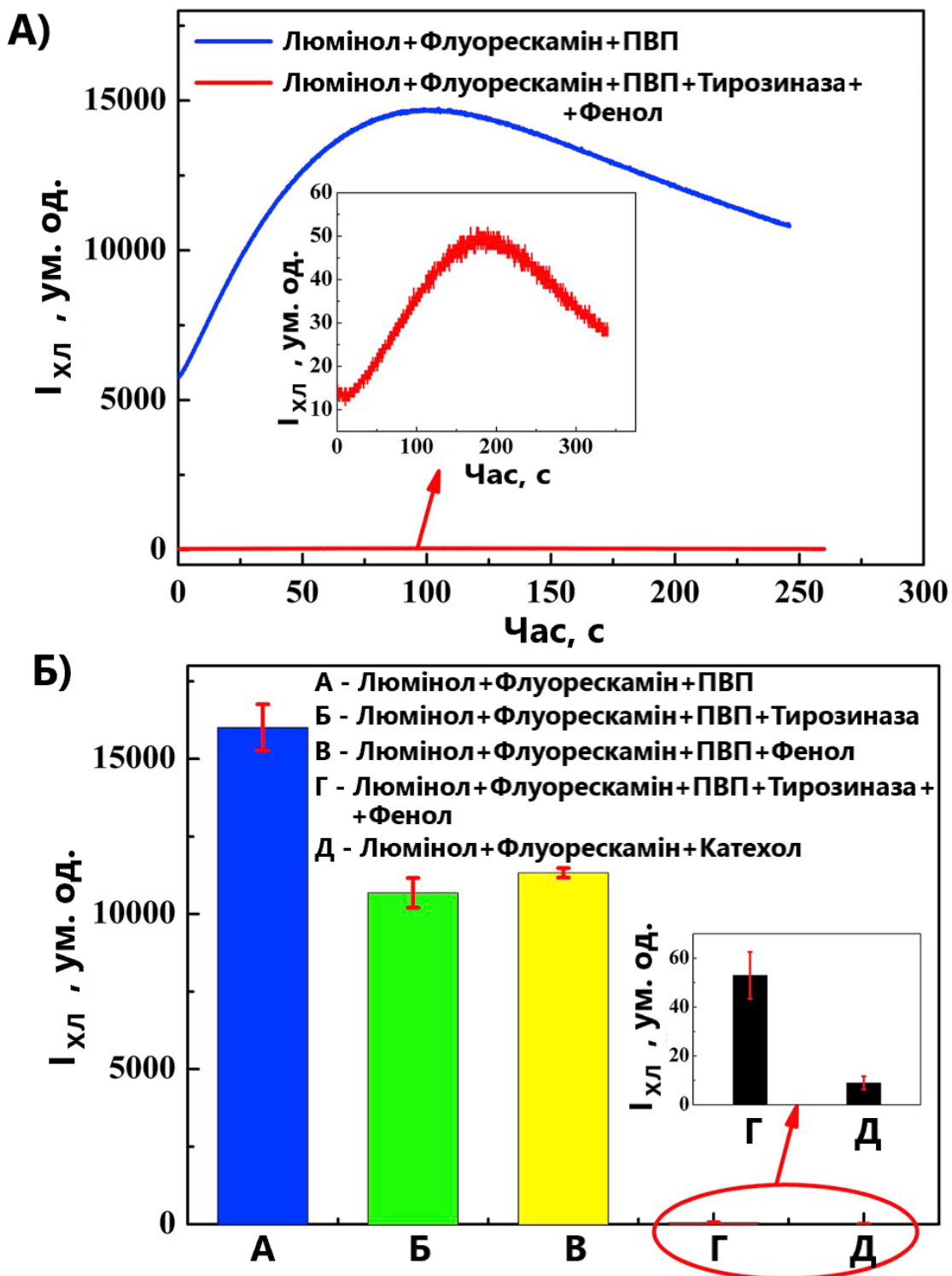


Рисунок 6.27 – (I) Вплив суміші тирозинази та фенолу на інтенсивність ХЛ люмінол-флуорескамін-ППФ. (II) інтенсивності інтенсивності ХЛ люмінол-флуорескін-ППФ при різних умовах. ФБР, 0,1 М, рН 9,0; с (люмінол), 0,1 мМ; с (флуоресамін), 0,1 мМ; с (ППФ), 0,3 мг мл⁻¹; с (тирозинази), 5 мкг мл⁻¹.

3.3. Виявлення активності тирозинази

Рис. 6.27 I показує, що система люмінол-флуорескамін-ППФ демонструє сильний викид ХЛ. Однак сигнал ХЛ цієї системи значно зменшився при додаванні інкубованого продукту фенолу та тирозинази. Крім того, був також проведений контрольний експеримент, щоб довести можливість використання системи ХЛ для визначення активності тирозинази. Як показано на рис. 6.27 II, тирозиназа і фенол, а також катехол були введені піпеткою в цю систему ХЛ для вивчення їх впливу на інтенсивність ХЛ відповідно. Тирозиназа і фенол мають незначний вплив на інтенсивність ХЛ люмінол-флуорескаміну-ППФ. Тим не менше, інтенсивність ХЛ майже повністю згасала, коли вводили катехол. На підставі вищезазначених результатів досліджень ми припустили, що фенол каталізується тирозиназою з утворенням катехолу, а потім о-хінону, спричиняючи споживання $O_2^{\cdot-}$ [384–388]. Отже, ми підтвердили, що запропонована система ХЛ є перспективною для виявлення активності тирозинази. За оптимальних умов різні концентрації тирозинази змішували із заданою кількістю фенолу та інкубували протягом 40 хв при $37^\circ C$. Потім суміш піпетували в систему люмінол-флуорескамін-ППФ для вимірювання інтенсивності ХЛ. Як показано на рис. 6.28, лінійна залежність між інтенсивністю ХЛ та концентраціями тирозинази була отримана в діапазоні $0,07\text{--}1,5 \text{ мкг мл}^{-1}$ ($0,19\text{--}4,02 \text{ Од. мл}^{-1}$), а рівняння регресії становить $I_{ХЛ} = 8838,40\text{--}5217,46 C(\text{тирозинази})$. Коефіцієнт кореляції (r^2) становив 0,998. Межа виявлення (LOD) становить $0,035 \text{ мкг мл}^{-1}$ ($0,094 \text{ Од. мл}^{-1}$) на основі рівняння $LOD = 3\sigma/s$, де σ - стандартне відхилення порожніх сигналів, s - нахил. У порівнянні з іншими методами зондування тирозинази, що пропонуються, запропонований нами спосіб є вигідним у LOD та лінійному діапазоні.

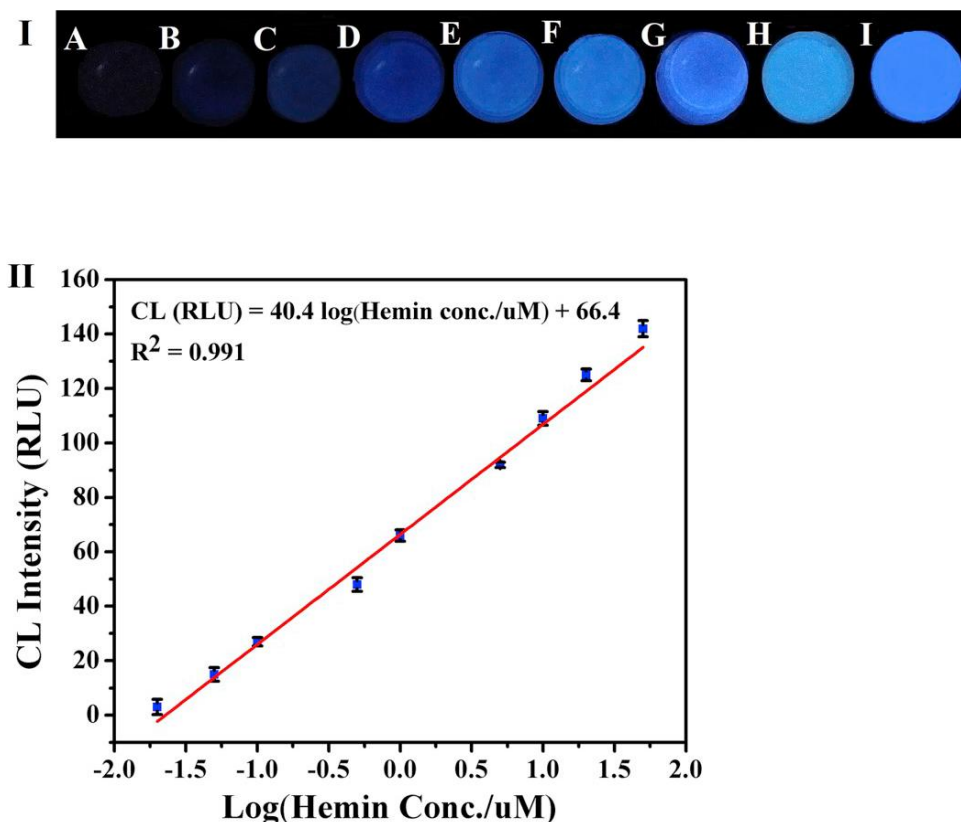


Рисунок 6.27 – (I) Люмінесцентні зображення тестових зразків різної концентрації геміну, які були зроблені за допомогою смартфона. (концентрації геміну від А до І становить 0,02, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 5,0, 10,0, 20,0 та 50,0 мкМ відповідно). (II) Калібрувальна крива хемілюмінесцентного відгуку з кольорових зображень відносно логарифму концентрації геміну.

Селективність виявлення тирозинази

Для дослідження селективності розробленої сенсорної системи на цю сенсорну платформу ХЛ були введені деякі загальні інтерферуючі біологічні сполуки, включаючи уриказу, папаїн, пепсин, бичачий сироватковий альбумін (BSA) та амінокислоти. Інтенсивність ХЛ різко зменшилася при додаванні тирозинази. Однак уриказа, папаїн, пепсин, BSA та амінокислоти мало впливають на інтенсивність ХЛ. Результати вказують на те, що сенсорна платформа для тирозинази має сприятливу вибірковість.

3.5. Визначення тирозинази у реальних зразках

Для вивчення застосовності розробленої сенсорної системи ми виміряли тирозиназу у зразках сироватки людини. Як правило, вимірювали концентрації загальної тирозинази у розведених зразках сироватки, а потім вводили кількість тирозинази у розведені зразки сироватки людини. Відповідні вилучення становлять від 90 до 120%, що вказує на те, що запропонований підхід застосовується для тестування тирозинази у реальних зразках.

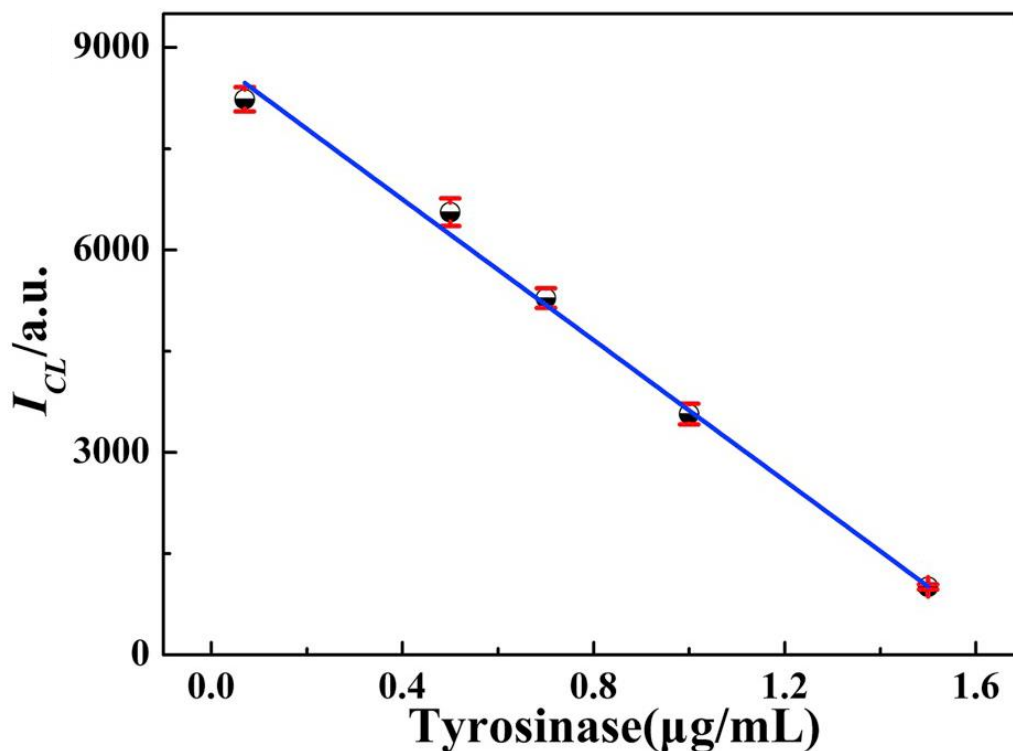


Рисунок 6.28. Калібрувальна крива залежності між інтенсивністю ХЛ та концентрацією тирозинази. Фосфатний буфер, 0.1 М, рН 9.0; 0.1 мМ люмінолу; 0.1 мМ флуорескаміну; 0.3 мг/мл ППФ.

6.7 Застосування ЕХЛ методу для визначення триптофану

Визначення амінокислот є актуальною задачею в багатьох областях, особливо біології та медицині. Ця амінокислота є однією з групи незамінних, що відіграє важливу роль у організмі людини та тварин, є важливою складовою обміну речовин, та є необхідним компонентом для біосинтезу білків. З хімічної точки зору, триптофан – це неполярна ароматична

амінокислота, що містить індольний бічний ланцюг, який надає молекулі флуоресцентні властивості. Для людини ця маінокислота особливо важлива, оскільки є вихідною речовиною у біосинтезі серотоніну, що є ключовим нейромедіатор, та мелатоніну, який є важливим гормоном. [389-393]

Його дефіцит в продуктах або порушення його метаболізму в організмі людини пов'язане з певними захворюваннями. Хоча визначення триптофану можливе електрохімічними, флуоресцентними, хроматографічними, колориметричними методами. Але ефективний та недорогий метод його визначення є важливою задачею, пошуки рішення якої продовжуються. Це пов'язано з тим, що переважна більшість методик працездатні або потребують складного обладнання.

6.7.1 Матеріали та обладнання

ЕХ та ЕХЛ вимірювання проводили в 3-електродній електрохімічній комірі, що містить робочий електрод зі СВ ($\varnothing 3$ мм), протиелектрод з Pt фольги (площею 375 мм^2) та електрод порівняння Ag/AgCl.

Для керування ЕХ експериментом застосовувався потенціостат Autolab PGSTAT 128N. Вимірювання ЕХЛ здійснювалося за допомогою ФЕП «ФЕУ-136» (SbNaKCs фотокатод, з напругою живлення 1400 В) в світлопроникній камері. ЕХ ячейка виготовлена з прозорого скла пірексу в діапазоні 300-900 нм.

ЕХЛ дослідження проводилися в небуферному розчині, оскільки за присутності 1-2 мМ ТФБН (тетрафенілборату натрія) має $\text{pH} \approx 6,8$, та проявляє певну буферну ємність. У дослідженнях впливу pH на електрохімічну поведінку та поведінку ЕХЛ pH регулювали додаванням NaOH або HClO_4 . При дослідженні залежності ЕХЛ від pH розчин поділявся на дві частини. Одна частина використовувалася для контролю pH за допомогою pH -метра, а інша для ЕХЛ вимірювань.

Всі розчини деоксигенувалися шляхом барботування азотом не менш 10 хвилин безпосередньо перед ЕХ та ЕХЛ дослідженнями. Перед кожним

експериментом електроди очищали шляхом поліруванням суспензією Al_2O_3 (0,05 мкм), а потім промиванням дистильованою водою для видалення залишків. У всіх експериментах для приготування розчинів використовували подвійно дистильовану воду. Як фоновий електроліт використовувався 0,1М $NaClO_4$ (чистота > 98,0%, Sinopharm Chemical Reagent Co.).

Розчини L-триптофану (Trp) (чистота > 99%, Beijing Dingguo Biotechnology Co.) та тетрафенілборату натрію (чистота 99,0%, Shanghai Zhanyun Chemical Co.) готували наступним чином: Trp або ТФБН розчиняли в 0,1 М водному розчині $NaClO_4$ для отримання первинного розчину, що містить 30 мМ відповідної речовини. Аліквоти вихідних розчинів додавали до 0,1 М водного розчину $NaClO_4$ для отримання необхідної концентрації речовини у робочому розчині.

6.7.2 Результати досліджень та обговорення

Встановлено, що емісія ЕХЛ спостерігається при електрохімічному окисленні триптофану у водних розчинах в присутності сореагенту тетрафенілборату натрію. Сигнал від сенсора особливо сильний за умови імпульсної поляризації електродів сенсора. Інтенсивність ЕХЛ (рис. 6.29) пропорційно відбиває концентрацію амінокислоти і дозволяє визначити її в діапазоні 0,3 мкМ - 0,3мМ. Ця емісія спостерігається в широкому діапазон значень рН розчину (рис.6.30). Визначення цієї амінокислоти характеризується високою селективністю, що дозволяє проводити аналіз у присутності інших амінокислот. Результати досліджень свідчать про вирішальну роль індольного кільця триптофану, що вірогідніше за все відповідає за емісію ЕХЛ, яка спостерігається під час аналізу.

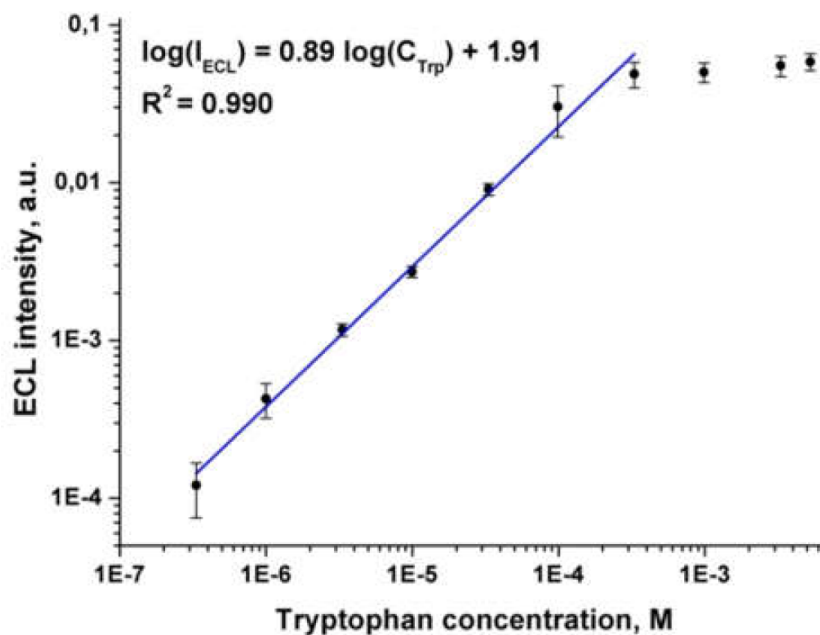


Рисунок 6.29 – Градувальна характеристика ЕХЛ визначення триптофану в умовах: 2мМ сореагенту, фоновий електроліт 0,1 М NaClO₄, амплітуда імпульсу поляризації 1,3 В, тривалість імпульсу 0,1 с, інтервал між імпульсами 10 с.

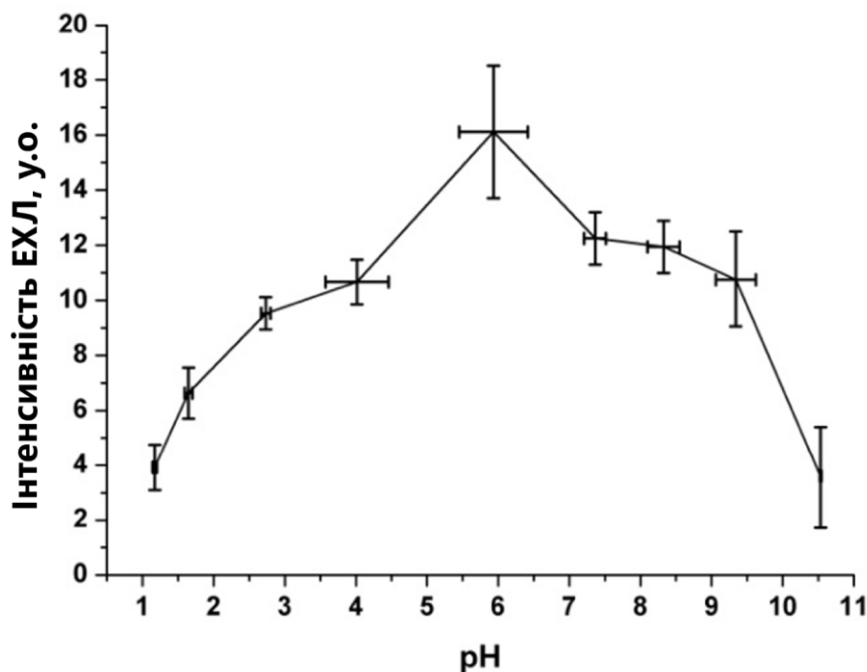


Рисунок 6.30 – Залежність інтенсивності ЕХЛ від рН розчину: 0,3 мМ триптофану в 2 мМ фосфатному буфері, амплітуда поляризації електрода 1,3 В, тривалість імпульсу 0,25 с.

6.8 Застосування ЕХЛ методу для визначення етилформату

Люмінофор трис(2,2'-біпіридил) рутеній (II) є ЕХЛ реактивом, що найбільш широко використовується, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, завдяки притаманним йому властивостям, такими як відмінна хімічна стабільність, сприятливі електрохімічні властивості, високий квантовий вихід, і відносно тривалий час життя його збудженого стану [394–397]. Основними механізмами ЕХЛ реакції $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ є: анігіляція $\text{Ru}(\text{bpy})_3^+$ та $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$, що утворюється завдяки накладенню відповідного потенціалу; відновне окислення (наприклад, композиція $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) та окисно-відновний тип (наприклад, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /оксалатна система), в якій ЕХЛ генерується одночасним електрохімічним окисленням $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ та співреагента [398, 399]. Як відновлювально-окислювальний, так і окисно-відновний типи включають використання співреагенту. За допомогою співреагенту ЕХЛ може генеруватися, застосовуючи або окислювальний ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$, або аміни), або відновний ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) напрямок, залежно від шляху реакції, щоб утворити емітер ЕХЛ у збудженому стані [400–403]. Речовини, що мають амінову групу, такі як три-н-пропіламін, амінокислоти, NADH та N- (3-амінопропіл)діетаноламін, є добре відомими співреагентами ЕХЛ для $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ [404–409]. Однак інші речовини рідко вивчаються як ЕХЛ співреагенти для $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, а їх ЕХЛ властивості непередбачувані.

Етилформат міститься в каві, фруктах, коньяку, ромі, меді та хмарах пилу в міжзоряному просторі галактики Чумацький Шлях. Він є добавкою до мила, миючих засобів, крему, лосьйону та парфумерії завдяки своїм ароматичним властивостям і використовується як фунгіцид та інсектицид [410–412]. Слід зауважити, що вплив концентрованого етилформату вище 330 ppm (1000 мг/м³) трохи дратує очі, ніс та легені. У дослідженнях інгаляції етилат викликав летальність у п'яти з шести щурів при концентрації 8000 ppm (24000 мг/м³). В роботах [413–415] виявлено ознаки токсичності такі як, депресія центральної нервової системи (ЦНС) та проблеми дихання та кровообігу. Відповідно до

Ради охорони здоров'я Нідерландів [416] для етилформату встановлена норма щоденного впливу етилового формату, що немає перевищувати 330 ppm/день (1000 мг/м).

Відомі декілька методів виявлення етилформату, включаючи газову хроматографію з полум'яно-іонізаційним детектором. Цей метод використовує нагрівання зразка з пшениці, ячменю протягом 30 хв при 80 ° С, уловлюючи виділений етилформат та визначаючи його концентрацію [417]. Етилформат, що виникає як залишковий побічний продукт при синтезі лікарських засобів азодикарбоксаміду, також виявляється за допомогою інфрачервоної спектроскопії з Фур'є перетворенням (FTIR) у розчинах C_2Cl_4 та $CHCl_3$ [418]. Етилформат з пшениці, ячменю, вівса та ріпаку також аналізували за допомогою газової хроматографії, обладнаної полум'яно-іонізаційним детектором, після екстракції розчином аміачної селітри [419]. Однак для цих методів зазвичай потрібні складні прилади та кваліфіковані оператори, що робить загальний метод виявлення більш дорогим та трудомістким.

У цьому дослідженні ЕХЛ етилформату з $Ru(bpy)_3^{2+}$ досліджено вперше. Далі обговорюється механізм аналітичної ЕХЛ реакції. Метод демонструє високу чутливість.

Хімічні речовини та реактиви

Етилформат, фруктоза, сахароза, мальтоза та лактоза були придбані у Sinopharm Group Chemical Reagent Co., Ltd. Хлорид трис(2,2'-біпіридил) рутенію (II) був придбаний у Sigma-Aldrich, а хлорид міді та сульфат свинцю були придбані у Xilong Chemical Co., Ltd. Глюкоза була придбана у Sangon Biotech (Shanghai) Co., Ltd. Інші хімічні речовини були аналітичного класу реагенту та використовувались без подальшого очищення. Значення рН карбонатного буферного розчину (КБР) регулювали 0,1 М $NaHCO_3$ та 0,1 М Na_2CO_3 . Вихідні розчини етилформату (10,0 мМ) та трис(2,2'-біпіридил) рутенію (II) хлориду (10,0 мМ) готували та зберігали в холодильнику (2 °С) для подальшого використання. Потім 2,0 г кави арабіка (ТОМОСА CAFFEE,

Ефіопія) розчиняли і кип'ятили у 100,0 мл води протягом 5 хв і фільтрували. Отриманий фільтрат відразу використовували для аналізу. В усіх експериментах використовували бідистильовану воду.

Прилади

Електрохімічні вимірювання проводили в звичайній триелектродній ячійці (об'ємом 0,5 мл) за допомогою електрохімічної робочої станції СНІ 660С (CH Instruments, Inc., Китай). Робочий електрод, допоміжний електрод і електрод порівняння являли собою склоподібний вуглецевий дисковий електрод (\varnothing 3,0 мм) в циліндричному ізоляторі PF46, золотий дріт (\varnothing 0,5 мм), згорнутий в спіраль (з площею поверхні близько 150 мм²), та Ag/AgCl/ нас. розчин KCl, відповідно. Робочий електрод перед використанням шліфувався за допомогою 0,3 мкм α -оксиду алюмінію та 0,05 мкм деагломерованого порошку γ -оксиду алюмінію (Buehler Co., США), потім електрод обробляли ультразвуком у подвійній дистильованій воді та сушили на повітрі при кімнатній температурі перед кожним аналізом. Циклічну вольтамперометрію проводили зі швидкістю сканування 0,1 В/с в потенційному діапазоні від 0,0 до 1,8 В відносно Ag/AgCl електрод порівняння в усіх експериментах, якщо інші умови не були заявлені. Фотоелектронний помножувач Hamamatsu CR-131 використовується в аналізаторі люмінесценції BPCL (Інститут біофізики Китайської академії наук, Пекін, Китай); він працював при – 1000 В живлення в усіх ЕХЛ дослідженнях.

Спектр випромінювання системи збирали в амперометричному режимі протягом 100 с за допомогою спектрографа IsoPlane 160 (Princeton Instruments Inc., США) у поєднанні з камерою ProEM-HS: 512BX3, для поляризації ячейки використовувався потенціостат СНІ 660С. Умовами вимірювання для камери були температура охолодження детектора - 70 ° С, коефіцієнт посилення $\times 100$, експозиція 100 с, дисперсійний елемент з 300 канавками на мм. Запуск камери синхронізувався зі запуском поляризації ячейки. Ячейка для спектроскопії була стандартною спектроскопічною кюветою з робочим відрізком 1 см. Потенціал поляризації на інтерфейсі робочий електрод/розчин становив 1,3 В

протягом 100 с експерименту для отримання одного кадра зображення.

Спектр був реконструйований як усереднення для 5 кадрів, що містили 512 паралельно зареєстрованих рядків спектра (вертикальна роздільна здатність пікселів вздовж робочого електрода). Обробка даних здійснювалась за допомогою програмного забезпечення WinSpec (Princeton Instrument, Co.), яке також використовувалося для управління камерою та спектрометром. Фоновий сигнал та вплив космічних проміннів автоматично вилучався з отриманих даних. Спектр в широкому діапазоні (рис. 6.31) було отримано шляхом складено зі спектрів шириною ~ 126 нм, що отримані при центруванні спектрометра до довжини хвилі 550,0, 600,0, 650,0 та 700,0 нм.

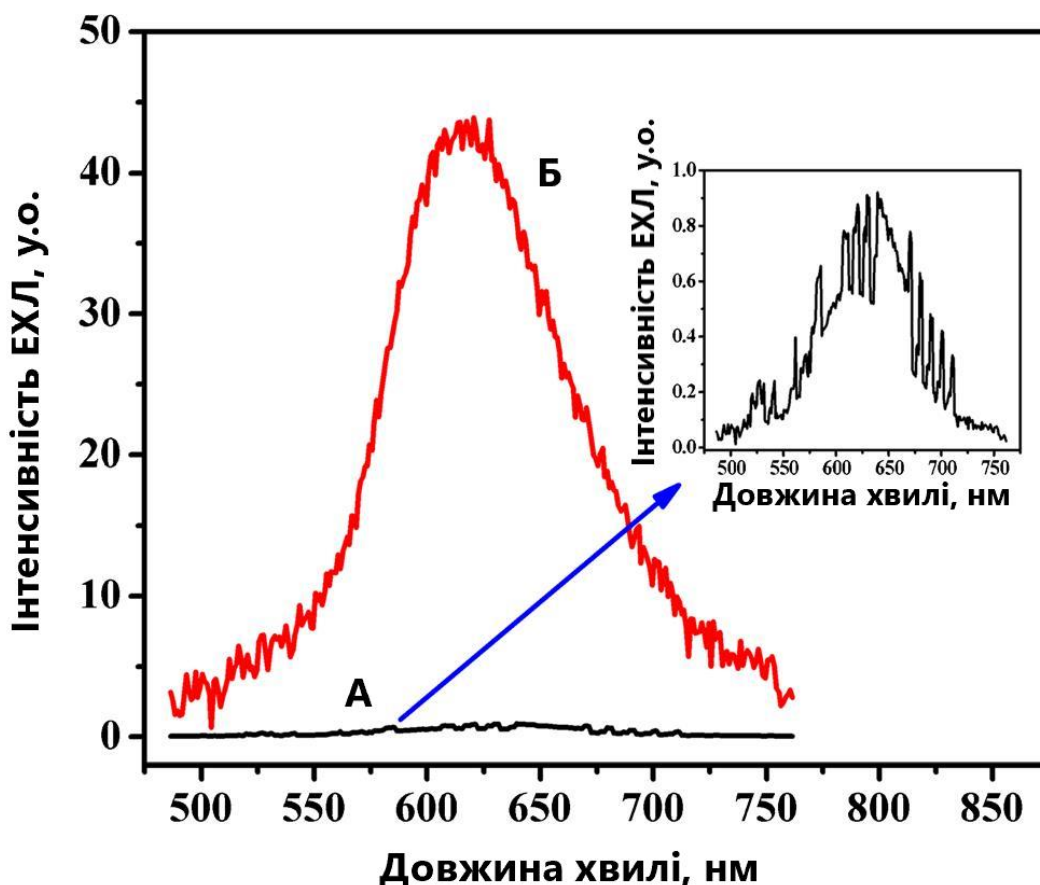


Рисунок 6.31 – Спектр емісії ЕХЛ розчинів (А) 0,5 мМ Ru(bpy)₃²⁺ та (Б) 1,0 мМ етилформат + 0,5 мМ Ru(bpy)₃²⁺. Вставка - це масштабований спектр емісії ЕХЛ розчину А. Умови виміру: 0,1 М карбонатний буфер з рН = 11,0.

ЕХ та ЕХЛ властивості етилформату.

Емісія ЕХЛ для $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ з додаванням етилформату (1,0 мМ) та без нього представлена на рис. 6.31А, та відповідні циклічні вольтамперограми - на рис. 1В. Відсутність ЕХЛ сигналу для 0,1 М КБР (а) та слабка ЕХЛ емісія спостерігалися для 1,0 мМ етилформату (б) та 0,5 мМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ (с). Як показано на рис. 6.31А (d), додавання етилату до розчину $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ значно підвищує інтенсивність ЕХЛ. Рис. 6.31В (b) показує, що етилформат має незворотний пік окислення близько 1,36 В. $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ показує пік окислення (рис. 6.31В (крива с)). Пік відновлення $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ не спостерігається, оскільки електрогенерований $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ швидко реагує з OH^- у лужному розчині. Додавання етилформату до розчину $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ надзвичайно збільшує струм окислення (рис. 6.31В (крива d)), що свідчить, що $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ може каталізувати електроокислення етилформату.

Вплив швидкості поляризації на емісію ЕХЛ для композиції $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /етилформат представлено на рис. 6.32А, В, відповідно. Анодні струми та лінійне збільшення інтенсивності ЕХЛ за квадратним коренем швидкості поляризації ($v^{1/2}$), показує, що ЕХЛ реакція контролюється дифузією [420, 421].

Досліджено спектр випромінювання композиції $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /етилформат, і результат показує, що довжина хвилі максимуму випромінювання знаходиться на рівні 615 нм (рис. 6.31), що свідчить про те, що в ЕХЛ композиції $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /етилформату емітером є люмінофор $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ [404, 422–425].

Відповідно до ЕХ та ЕХЛ поведінкита пропонується наступний механізм аналітичної реакції. На поверхні скловуглецевого електрода $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ спочатку електрохімічно окислюється, утворюючи $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ зростанні потенціалу поляризації (рівняння 6.1). Електрогенерований $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ може реагувати з етилформатом, утворюючи $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSO}]^*$ (рівняння 6.2). Пізніше сильно відновлюючий проміжний продукт $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OSO}]^*$ може брати участь в реакціях переносу електронів з $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$, отримуючи продукт збудженого

стану $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ (рівняння 6.4).

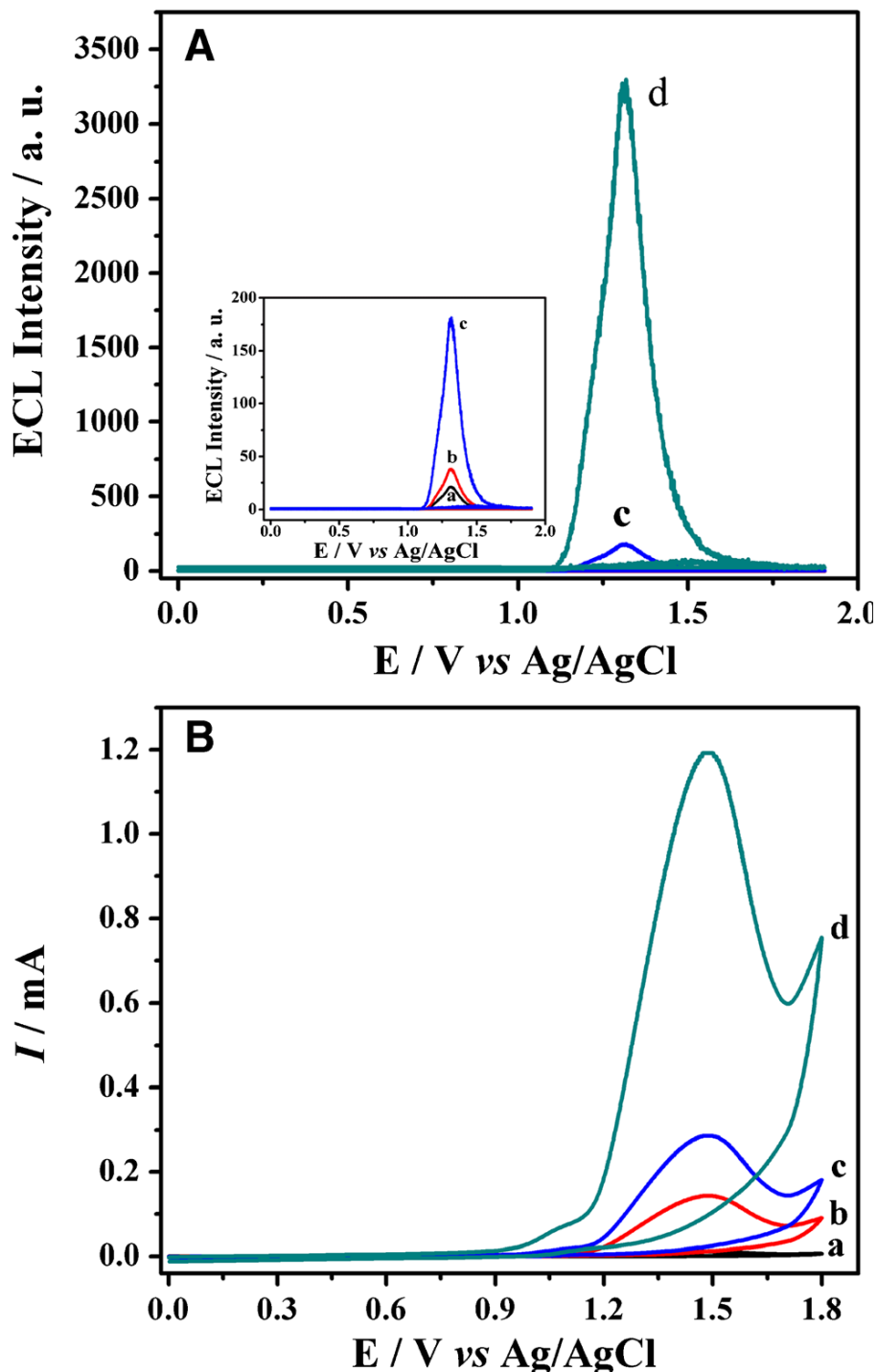


Рисунок 6.31 – Емісія ЕХЛ (А) та відповідна циклічна вольтамперограма (В) в карбонатному буферному розчині: (а) фон; (б) додавання 1,0 мМ етилформату; (с) додавання 0,5 мМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$; (д) додавання 1,0 мМ етилформату+ 0,5 мМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Вставка на (А) масштабована ЕХЛ емісія для (а) карбонатного буферного розчину, (б) етилформату та (с) $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Концентрація карбонатного буферного розчину 0,1 М, рН = 11,0, швидкість розгортки потенціалу 0,1 В/с. Напруга живлення ФЕП 1000 В.

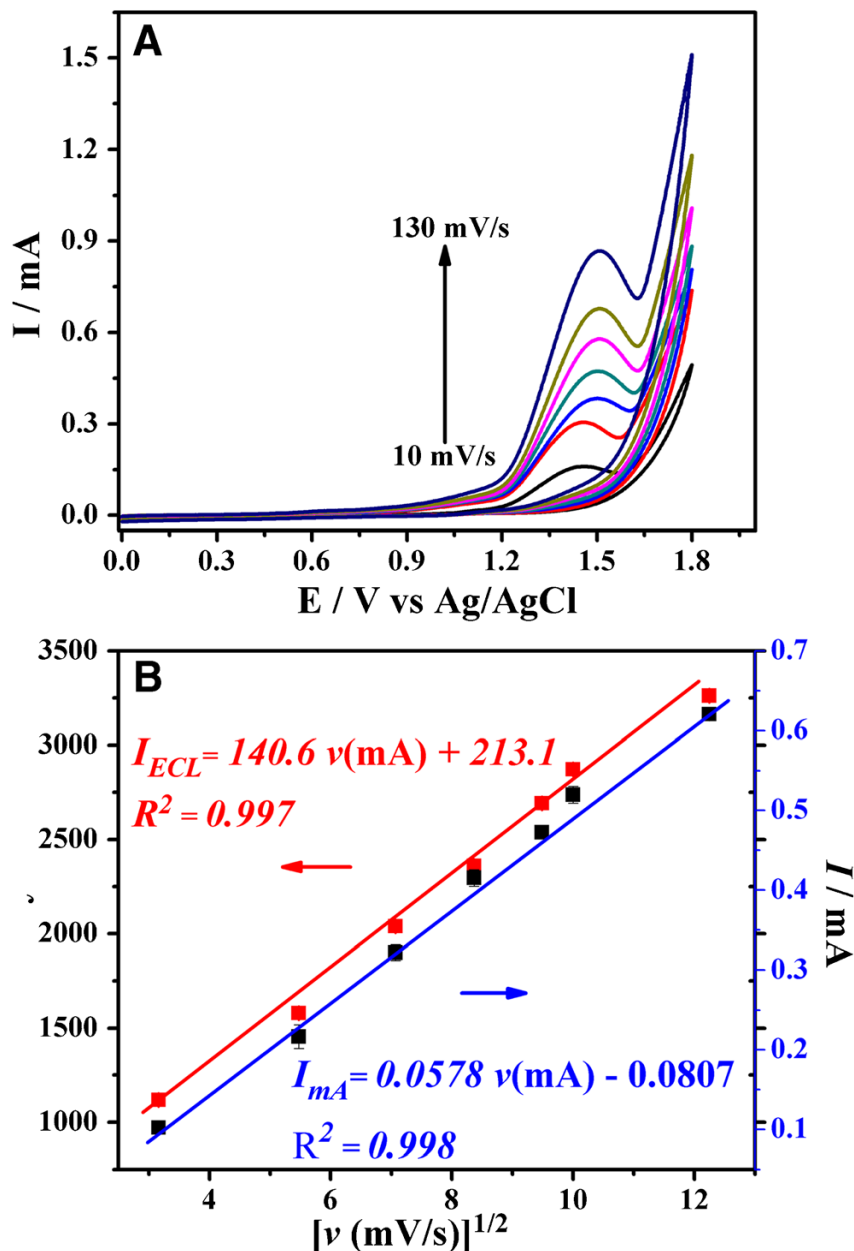
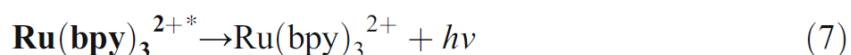
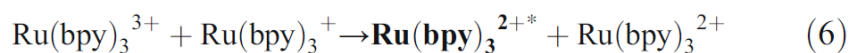
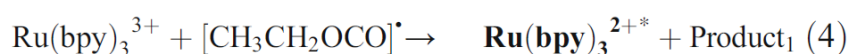
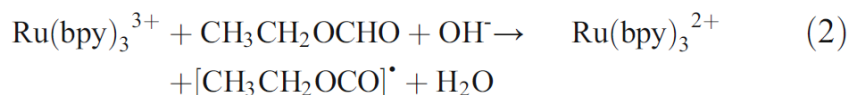
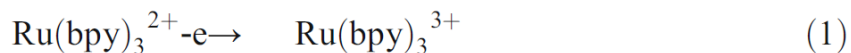


Рисунок 6.32 – Циклічна вольтамперограма для 0,5 мМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ та 1,0 мМ етілформату для швидкостей розгортки потенціалу: 10, 30, 50, 70, 90, 110, 130 мВ/с (А) та лінійна залежність між емісією ЕХЛ та корнем квадратним від швидкості розгортки потенціалу ($v^{1/2}$) (В), що досліджено на СВ електроді в карбонатному буферному розчині з рН = 11.0.

В якості альтернативи $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCHO}$ окислюється безпосередньо на склоподібному вуглецевому електроді, утворюючи $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCO}]^{\bullet}$ (рівняння 6.3), а потім $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCO}]^{\bullet}$ реагує з $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$, створюючи збуджений стан

$\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ (рівняння 6.4). По-третє, $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCO}]^{\bullet}$ може зменшити $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ до $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ (рівняння 6.5), який реагує з $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$, створюючи збуджений стан $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ (Рівняння 6.6). Нарешті, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$ переходить до основного стану, щоб згодом виробити квант світла (рівняння 6.7).



Оптимізація умов виявлення

Ефективність ЕХЛ пов'язана з багатьма факторами. Для досягнення найкращого результату були оптимізовані робочий потенціал, рН та концентрація $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$.

Вплив потенціалу на інтенсивність ЕХЛ

Вплив потенціалу на інтенсивність ЕСЛ досліджували в діапазоні 1,0–1,8 В. Як показано на рис. 6.32 А, інтенсивність ЕСЛ збільшується, коли застосований потенціал позитивно зміщується до + 1,36 В і зменшується потім. Для кращої точності та чутливості проводили подальші експерименти, вибираючи + 1,36 В для збудження ЕСЛ. Зниження інтенсивності ЕКЛ при вищому потенціалі можна пояснити побічними реакціями.

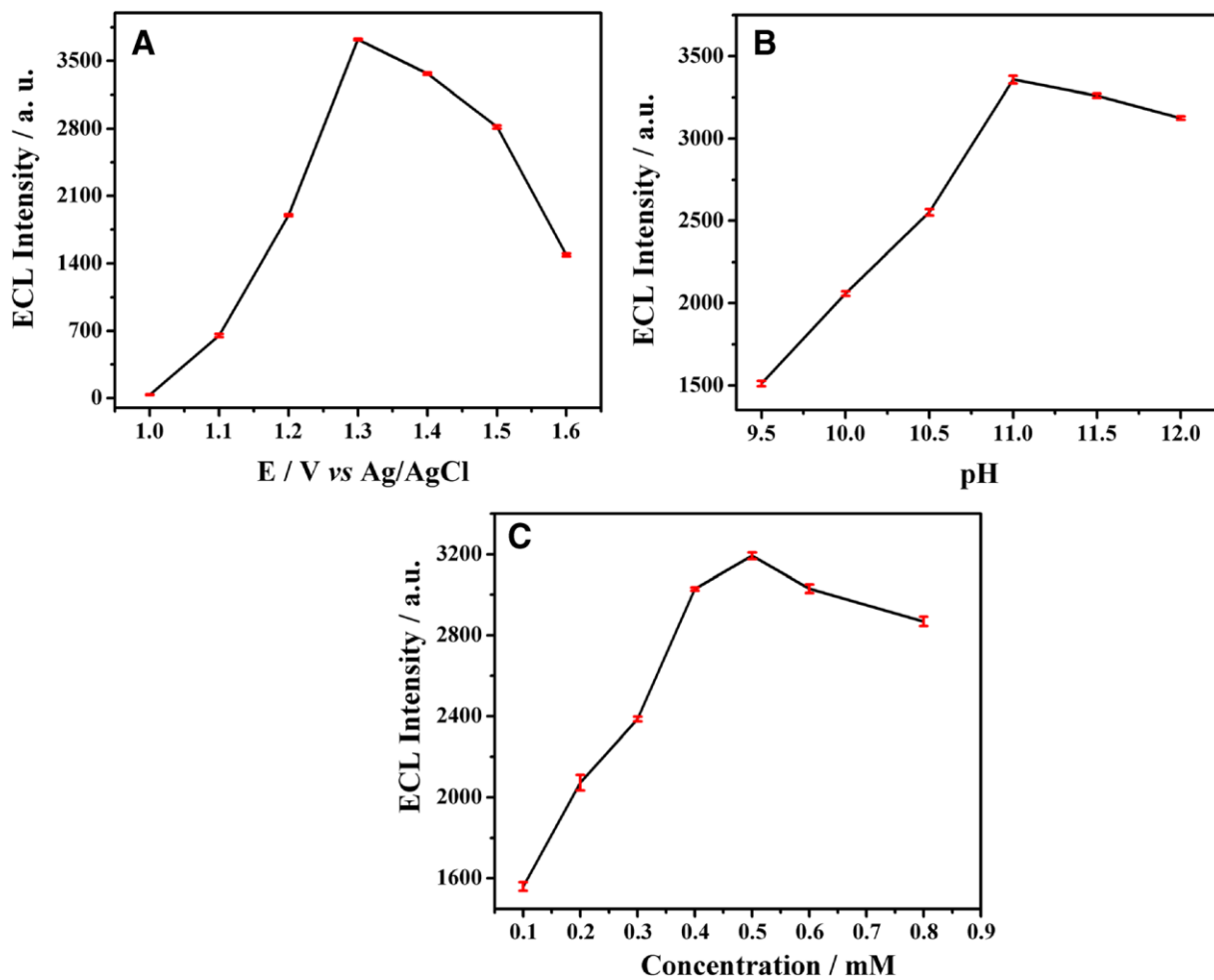


Рисунок 6.32 – ЕХЛ емісія як функція від: А) потенціалу поляризації робочого електрода, В) рН карбонатного буферного розчину, С) концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$. Розчин: 1,0 мМ етилформату + 0,5 мМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ Концентрація карбонатного буферного розчину 0,1 М, рН = 11,0 В. Напряга живлення ФЕП 1000В.

Вплив рН на інтенсивність ЕХЛ

Ефективність ЕХЛ для 0,5 мМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ та 1,0 мМ етилформату в 0,1 М карбонатному буфері при різних значеннях рН досліджено на скловуглецевому електроді. Результати продемонстрували, що як найяскравіша ЕХЛ, так і найбільше відношення сигнал/шуму (фоновий сигнал) були досягнуті при рН 11,0. Зниження інтенсивності ЕХЛ спостерігали, коли рН збільшувався або зменшувався від цього оптимального значення, як показано на рис. 6.32 В. Більш легке окислення етилформату при більш високому рН призводить до збільшення інтенсивності ЕХЛ в діапазоні з рН 9,5

до 11,0. Зниження ЕХЛ вище рН 11,0 пояснюється побічною реакцією з більш високою концентрацією OH^- .

Вплив концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ на інтенсивність ЕХЛ

Вплив концентрації $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ на інтенсивність ЕХЛ вивчали в діапазоні від 0,1 до 1,0 мМ, зберігаючи інші параметри постійними. З рис. 6.32 С, інтенсивність ЕХЛ зростає із концентрацією $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ до 0,5 мМ, а потім трохи зменшується. Збільшення інтенсивності ЕХЛ пояснюється утворенням більшої кількості $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ і більше радикалів етилформату в результаті окислення етилформату за допомогою $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$. Отже, ми використовували 0,5 мМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ для подальших експериментів.

Виявлення етилформату

Виявлення етилформату на основі цієї нової системи досліджували в оптимальних умовах. Отримано графік на основі аналізу зображень на рис. 6.33, інтенсивність ЕСЛ збільшується лінійно, коли концентрація етилформату збільшуються з 3,0 мкМ до 1,0 мМ. Лінійне рівняння становило $I_{\text{ECL}} = 2,08 C (\mu\text{M}) + 1209,7$ з коефіцієнтом кореляції $R^2 = 0,997$.

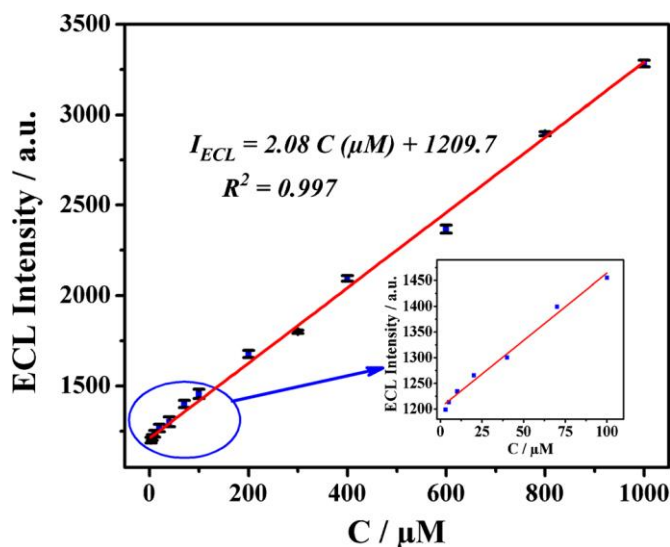


Рисунок 6.33 – Калібрувальний графік ЕХЛ відгуку як функції концентрації етилформату: 0.5 мМ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ в 0.1 М карбонільному буфері з рН = 11, напруга живлення фотопомножувача 1000 В;

Відносне стандартне відхилення становить 2,7% для дев'яти визначень при 0,5 мМ Ru(bpy)₃²⁺ та 1,0 мМ етилформату. Межа виявлення етилформату становила 0,7 мкМ для відношення сигнал шум рівного 3.

Дослідження селективності

Для подальшої оцінки ефективності запропонованого методу для аналізу етилформату в реальних зразках також були досліджені потенційні перешкоди у вигляді інших сполук, що відновлюються, та деякі компоненти матриці навколишнього середовища. До розчинів, що містять 1,0 мМ етилформату та 0,5 мМ Ru (bpy)₃²⁺, додавали інші види, включаючи аргінін (Arg), цистеїн (Cys), лимонну кислоту (лимон. кислота), фруктозу (Fru), глюкозу (Glu), сахароза (Suc), яблучна кислота (MA), пірогаллова кислота (Pyr), Cu²⁺ і Pb²⁺. Зміни інтенсивності ЕХЛ для зразків, що містять додатково інші компоненти, майже незначні.

Аналітичні додатки

Запропонований метод перевірявся на його точність на реальних зразках. Його застосовували для визначення навмисно доданого в комерційні зразки кави етилформату. Перед додаванням етилформату зразки кави (1,0 мг/0,5 мл, 2,0 мг/0,5 мл та 4,0 мг/0,5 мл) змішували з 0,5 мМ Ru(bpy)₃²⁺ в 0,1 М КБР рН = 11 і вимірювали відповідні інтенсивності ЕХЛ, щоб переконатися, що вміст етилформату пов'язано з ЕХЛ. Сигналу ЕХЛ не спостерігалось для фонові матриці, отже, етилформату у дослідженнях первинного зразка не виявлено. Потім до зразка кави додавали різну концентрацію етилформату. Аналіз ЕХЛ продемонстрував цілком задовільне відтворення результатів визначення; він знаходився в діапазоні 101,20–102,10%, а відносне стандартне відхилення було менше 1.0%. Усі ці результати продемонстрували високий потенціал цього методу для прикладного застосування та підкреслили високу точність визначення етилформату в каві.

6.9 Висновки за розділом

За результатами досліджень п. 6.1 можна зробити наступні висновки.

На прикладі дослідження композиції 1 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$ та 1 мМ $K_3[Fe(CN)_6]$ продемонстровано працездатність розробленого надшвидкого потенціостата. Наведені дані, щодо тестування функції компенсації омичних втрат в електрохімічній ячейці, підтверджують відповідність обраного технічного рішення при реалізації компенсації в каскаді перетворювача струм-напруга. Показано, що комбінація використання надшвидкого потенціостата та ультрамікроелектродів дає можливість поєднати часові обмеження та просторові, що дозволяє проводити електрохімічні дослідження з високою роздільною здатністю.

За результатами досліджень п. 6.2 можна зробити наступні висновки.

Отримані дані стосовно випробування надшвидкого потенціостата в поєднанні з обладнанням для реєстрації оптичного випромінювання за допомогою ФЕП від EX сенсора з ультрамікроелектродами показали принципову можливість контролю перебігу електрохімічних процесів через оптичний канал, реалізуючи метод ЕХЛ. Через це отримується можливість зменшити чутливість контролю ЕХ процесів до окремих актів за участі молекул або часток за умови використання ФЕП в режимі лічби фотонів.

За результатами досліджень п. 6.3 можна зробити наступні висновки.

Мініатюрний УЗП від побутового USB-зволожувача вперше було використано як ефективний генератор СХЛ. УЗП у поєднанні із економічно ефективним детектором смартфона забезпечують чутливе СХЛ виявлення АК та СОД. Через свою низьку вартість (близько 3 доларів за УЗП), невеликий розмір (кілька сантиметрів) та низьке енергоспоживання (менше 2 Вт), УЗП є багатообіцяючою альтернативою в СХЛ для розробки портативних та недорогих пристроїв, що будуються за принципом аналізу на місці.

В результаті досліджень розроблено метод сонохімілюмінесценції для візуального виявлення аскорбінової кислоти з лінійним діапазоном 1-40 мкМ та межею виявлення 0,35 мкМ. Крім цього, розроблено метод візуального виявлення супероксиддисмутази, який має лінійний діапазон 0,05-2,0 мкг/мл

та межу визначення 0,018 мкг/мл.

За результатами досліджень п. 6.4 можна зробити наступні висновки.

Показано використання нового матеріалу ta-C:N, алмазоподібного покриття (АПП), що нанесено на скловуглецеві (СВ) підкладки, для проведення електрохемілюмінесцентного аналізу. В роботі визначено сприяння інтенсифікації ЕХЛ сигналу для композиції, що частіш за все використовується в ЕХЛ аналізі біпіридиновий комплекс рутенія у реакції з трипропіламіном, як співреагентом. Окрім збільшення відгуку сигналу спостерігається зменшення фонові ЕХЛ, що відповідає шумовому сигналу сенсора. Отже застосуванням цього матеріалу досягається збільшення сигнал/шум в аналітичній системі.

За результатами досліджень п. 6.5 можна зробити наступні висновки.

Продемонстровано використання камери смартфона для зйомки зображень та кількісної оцінки емісії світла, продукованою композицією гемін/люмінол/артесунат. Результати цього дослідження показали, що розроблений метод зміг виявити гемін у зразку крові з коефіцієнтом розведення до 120 000. Розроблений метод також показав чудову селективність, та нечутливість до деяких заважаючих іонів металів та біомолекул. Він може диференціювати плями крові від сечі, ранкової слини, кави, води та червоного чаю, які є найбільш розповсюдженими супутніми плямами. З огляду як на сприятливу чутливість, так і на високу вибірковість, даний спосіб є привабливою альтернативою. У порівнянні з більшістю літературних джерел про виявлення геміну, запропонований нами метод є економічно вигідним, зручним і не вимагає складних процедур синтезу специфічних речовин.

За результатами досліджень п. 6.6 можна зробити наступні висновки.

Досліджено вперше ХЛ люмінол-флуорескаміну-ППФ. Флуорескамін може вступати в реакцію з люмінолом, випромінюючи сильне світло, а ППФ може додатково посилювати СЛ. Тирозиназа здатна каталізувати перетворення фенолу з утворенням о-хінону, що призводить до загасання ХЛ

системи люмінол-флуорескін-ППФ. На основі цього явища тушіння було розроблено новий метод ХЛ визначення активності тирозинази. Лінійний діапазон цього методу становить від 0,07 до 1,5 мкг мл⁻¹ (0,19–4,02 Од. мл⁻¹). Межа визначення становить 0,035 мкг мл⁻¹ (0,054 Од. мл⁻¹). Сенсор демонструє задовільну ефективність у аналізі зразків сироватки людини. Цей метод демонструє задовільні результати для дослідження зразків сироватки людини, та може бути перспективним для сенсорних систем на основі явища ХЛ.

За результатами досліджень п. 6.7 можна зробити наступні висновки.

Встановлено, що емісія ЕХЛ спостерігається при електрохімічному окисненні триптофану у водних розчинах в присутності сореагенту тетрафенілборату натрію. Ця емісія спостерігається в широкому діапазон значень рН розчину, з максимумом навколо рН = 6. Сигнал від сенсора особливо сильний за умови імпульсної поляризації електродів сенсора. Розроблений метод дозволяє визначити триптофан в діапазоні лінійної залежності 0,3 мкМ - 0,3мМ з межею визначення 0,2 мкМ.

За результатами досліджень п. 6.8 можна зробити наступні висновки.

Досліджено ЕХЛ композиції Ru(bpy)₃²⁺/етилформату на скловуглецевому робочому електроді. Запропонований метод був застосований для визначення етилформату, має хорошу відтворюваність та селективність, що дозволяє використовувати ЕХЛ метод для побудови сенсорів для визначення етилформату.

В оптимізованих умовах експерименту спостерігається лінійна залежність між інтенсивністю ЕХЛ та концентрацією етилформату від 3,0 мкМ до 1,0 мМ ($R^2 = 0,997$). Межа виявлення для етилформату становить 0,7 мкМ (С/Ш = 3). Відносне стандартне відхилення для виявлення 1,0 мМ з концентрації етилформату для дев'яти аналізів становить 2,7%. Відтворення аналізу склало 101.20–102.10%, що було отримано для аналізу реальних зразків.

Результати дослідження цього розділу викладено автором в наступних публікаціях [1-2, 5-6, 9, 13, 16, 22] та апробовано на міжнародних конференціях [25, 26, 37-45, 50-51].

ВИСНОВКИ

В роботі проведено аналіз застосування ЕХ, ХЛ та ЕХЛ методів аналізів для створення сенсорних технологій та перспективність їхнього поєднання з нанотехнологіями для побудови аналітичних систем. Продемонстровано перспективність їх застосування, та можливість отримання нових аналітичних можливостей в ході поєднання цих методів з нанотехнологіями.

Аналіз принципів потенціостатування та побудови відомих схемних реалізацій було критично перепрацьовано з метою створення концепції побудови надшвидкого потенціостату, що становить інструментальну основу ряду наноелектрохімічних методів. Ґрунтовне роз'яснення обраних конструкторських рішень для схеми побудови надшвидкого потенціостата створює теоретичну базу принципів його конструювання, що базуються на чотирьох основних ідеях. По-перше, використано виключно місцевий зворотний зв'язок в каскадах операційних підсилювачів. По-друге, реалізація компенсації омичних втрат у каскаді виміру струму робочого електрода за рахунок додаткового ланцюга позитивного зв'язку. По-третє, перемикання потенціостата в режим повторювача на високих частотах, за рахунок частотно-селективного ланцюга зворотного зв'язку. В четвертих, використання електрохімічної ячейки з великим співвідношенням площин протиелектрода до робочого електрода.

Для перевірки відповідності цієї концепції побудови надшвидкого потенціостата запропоновано схемотехнічну реалізацію на основі 7 операційних підсилювачів, що поєднано відповідно до розробленої концепції, проведено теоретичні та експериментальні дослідження. Шляхом математичного моделювання функціональної поведінки запропонованої схемної реалізації у САПР «Multisim 12.0» від Texas Instrument, Co. перевірена функціональність окремих блоків схеми та їхня робота в цілому. Визначено, що роботоспроможність потенціостату зберігається для ємнісного навантаження до 2000 пФ, що значно вище ніж характерне значення в 5-30 пФ

для мікроелектродів. Отримана в ході моделювання полоса робочих частот в 20 МГц для розробленої схеми потенціостата, забезпечує спроможність потенціостатування електрохімічної ячейки в умовах формування сигналу поляризації зі швидкістю понад 1МВ/с.

Розроблено технології створення мікроелектрода та ультрамікроелектрода, що дозволило створити зразки мікроелектродів з матеріалом робочої поверхні зі скловуглецю і Ø5 мкм та золота з Ø25 мкм та золотого ультрамікроелектрода з робочою поверхнею Ø500 нм. Отримані зразки електродів дозволили протестувати працездатність надшвидкого потенціостата в ЕХ та ЕХЛ композиціях в режимі швидкої поляризації ЕХ ячейки.

Розглянуто аспекти застосування певних нанотехнологій на формування сенсорного елементу аналітичних систем, а саме технології алмазоподібних покриттів, мономолекулярних шарів конденсованих органічних сполук, що отримуються методом Лангмюра-Блоджетт, та функціоналізації поверхні електрода вуглецевими нанотрубками.

Проведено розробку технології формування повідних алмазоподібних покриттів, що леговано азотом, з метою покращення аналітичних можливостей електродного матеріалу сенсорів. Визначено взаємозв'язок між технологічними параметрами нанесення покриттів та їхніми аналітичними можливостями. Так найбільш оптимальними з точки зору мінімальної кількості дефектів, високої провідності $5 \cdot 10^3$ Ом · см продемонстрували зразки АПП, які отримано при потенціалі зміщення 1000 В, що накладається на зразок під час нанесення покриття та тиску азоту $1 \cdot 10^{-4}$ Торр. Товщина плівок, що обмірювалась за допомогою інтерференційного мікроскопа МІІІ-4, складала 0,3-0,6 мкм. При обробці підкладок алмазною пастою з зернистістю ≤ 1 мкм товщина легованих алмазних покриттів без відшарувань могла бути доведена до 8 – 12 мкм і більш.

ЕХ дослідження зразків з АПП покриттям, що отримані з тиском азоту $2 \cdot 10^{-3}$ Торр виявили дещо більшу різницю (на $10 \div 20$ мВ) різницю між пиками

процесу окислення відновлення для зворотно електрохімічної реакції розчину $K_3[Fe(CN)_6] + K_4[Fe(CN)_6]$ відносно до теоретичної межі в 58 мВ, що свідчить про наближення поведінки отриманих АПП покриттів до класичних ЕХ матеріалів, що не мають ускладнень ЕХ процесів на їх поверхні.

Дослідження ЕХЛ властивостей АПП покриттів виявило більш низькі емнісні струми, та можливість проводити поляризацію в більшому діапазоні потенціалів. Зростання відгуку ЕХЛ сенсора на основі цього матеріалу спостерігається понад 8 разів порівняно зі скловуглецем, який є традиційним електродним матеріалом для цих задач.

Створена технологія формування через молекулу посередник – ліпоєву кислоту, між вуглецевими нанотрубками та поверхнею золотого електрода, дозволила функціоналізувати поверхню електрода наноматеріалом – вуглецевими нанотрубками. Це сприяло підвищенню чутливості електрода та набуття певних каталітичних властивостей, що притаманні ВНТ. У модельних дослідженнях з аскорбіновою кислотою отримано можливість визначати її вміст при потенціалі окислення 0,125 В (рН = 5,0), що є більш меншим значенням ніж для традиційних електродних матеріалів.

Використання технології Лангмюра-Блоджет дозволило створити модифіковані електроди з бінарними системами, що містили такі люмінофори, як біпіридил рутенію та рубрен. Показана принципова можливість використання водонерозчинних люмінофорів у водних розчинах, за рахунок фіксації ЕХЛ реагенту на електроді. Визначено оптимальний вміст водонерозчинного рубрену в матриці ПММА у співвідношенні 1:5 (в перерахунку на мономер), тобто 20%. Порушення цієї пропорції в більшу сторону призводить до нестабільності шарів, а зменшення концентрації відповідним чином відбивається на зменшенні відгуку ЕХЛ сенсора. Застосування цієї технології дозволяє створювати сенсори, як з відомими ЕХЛ люмінофорами, але які раніше неможливо було використовувати для аналізу водних зразків до цього, так і досліджувати нові ЕХЛ композиції.

Використання хемілюмінесцентного аналізу в поєднанні з новими речовинами для його проведення, дозволило створити нові аналітичні композиції для побудови сенсорних систем, що продемонстровано на прикладі аналізу тирозинази за допомогою гасіння ХЛ композиції люмінол-флуорескамін-ППФ, межа визначення тирозинази 35 нг/мл. Та визначення геміну через активацію ХЛ композиції люмінол-артесунат, межа визначення геміну становила 0,22 нМ.

Поєднуючи хемілюмінесцентний аналіз з використанням нанотехнологічного ультразвукового перетворювача для активації аналітичної реакції через генерацію активних форм кисню дозволило створити унікальну нанотехнологічну систему, що була застосована для визначення ряду біологічно значущих речовин. Так, було розроблено технології аналізу аскорбінової кислоти з межею визначення 0,35 мкМ, та супероксид дисмутази 0,018 мкг/мл. При цьому завдяки використанню ультразвукового перетворювача вдалося відмовитися від необхідності використання додаткових реагентів для активації ХЛ, наприклад, таких як H_2O_2 .

Продемонстровано використання надшвидкого потенціостату на прикладі аналізу фундаментальних констант хімічної реакції, що становила для бірадикальної рекомбінації діфенілантрацену $5,1 \text{ см с}^{-1}$. За рахунок поєднання надшвидкої вольтамперометрії, з технологією електрогенерованої хемілюмінесценції можливо дослідження окремих молекул та часток.

Досліджені аспекти використання різноманітних сенсорів оптичного випромінювання для побудови аналітичних систем. Розроблено групу приладів для проведення електрохімічних та оптичних досліджень, включаючи ХЛ та ЕХЛ методи аналізу, а саме колориметр «С 1001», прилад «Spark» для інтеграції ФЕП до сенсорних систем, швидкісний лічильник «Pulsar» для роботи з ФЕП у роботі в режимі лічби імпульсів, комплекс ЕХЛ аналізу «ЕЛАН-3D», комплекс для ЕХ та ЕХЛ досліджень у швидкісних режимах поляризації електродів сенсора. Показана перспективність

фотографічного методу реєстрації ЕХЛ, відпрацьовані рекомендації, щодо побудови сенсорних систем.

Перспективні напрямки подальших робіт: дослідження електрохімічних реакцій з високою просторовою та часовою роздільною здатністю, визначення констант швидкостей для хімічних реакцій, оцінки властивостей каталізаторів і наноструктурованих матеріалів; дослідження нових аналітичних методик на базі обладнання, концепція якого запропоновано, та того, що було реалізовано під час виконання дисертаційної роботи, дослідження аналітичних властивостей сенсорів, що використовують нові розроблені технології для розширення номенклатури речовин, що можуть ними визначатися; створення нових сенсорних систем, включаючи системи за принципом «аналізу на місці»; використання безпроводних технологій та інтеграції розроблених технологій до IoT (Інтернету миру речей).

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

Статті та патенти

1. C. Wang, Y. Chen, D. Snizhko, F. Du, X. Ma, B. Lou, J. Li, and G. Xu, «Development of luminol-fluorescamine-ППФ chemiluminescence system and its application to sensitive tyrosinase determination», *Talanta*, vol. 218, p. 121–177, Oct. 2020.
2. F. Du, X. Ma, F. Yuan, C. Wang, D. Snizhko, Y. Guan, and G. Xu, «Sonochemiluminescence Based on a Small, Cheap, and Low-Power USB Mesh-Type Piezoelectric Ultrasonic Transducer», *Analytical Chemistry*, vol. 92, no. 7, pp. 4755–4759, Mar. 2020.
3. Т.Н. Fereja, F. Du, C. Wang, D. Snizhko, Y. Guan, and G. Xu, «Electrochemiluminescence Imaging Techniques for Analysis and Visualizing», *Journal of Analysis and Testing*, vol. 4, no. 2, pp. 76–91, Apr. 2020.
4. Д.В. Сніжко, А.В. Кукоба, «Потенціостат», Патент України, UA №120330, 11.11.2019.
5. Т.Н. Fereja, S.A. Kitte, W. Gao, F. Yuan, D. Snizhko, L. Qi, A. Nsabimana, Z. Liu, and G. Xu, «Artesunate-luminol chemiluminescence system for the detection of hemin», *Talanta*, vol. 204, pp. 379–385, Nov. 2019.
6. D. Snizhko, A. Kukoba, «Ultrafast Potentiostat as Compromise between Current Sensitivity vs. Response Time», *Przegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 8, pp. 104–109, Aug. 2019.
7. Г.Б. Халед, А.В. Кукоба, О.М. Білаш, Ю.Т. Жолудов, Д.В. Сніжко, К.М. Музика, «Електрохемілюмінесцентна платформа для твердофазного визначення слідових концентрацій поліциклічних ароматичних вуглеводнів», *Радиотехника: Всеукр. межвед. научн.-техн. сб.*, вып. 192. сс. 106–112, 2018.
8. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Драйвер керування електрохемілюмінесцентним сенсором на базі системи цифрової обробки сигналів», *Системи обробки інформації*, Вип. 3, Т. 101. сс. 121–125, 2012.

9. T.H. Fereja, S.A. Kitte, D. Snizhko, L. Qi, A. Nsabimana, Z. Liu, and G. Xu, «Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) electrochemiluminescent determination of ethyl formate», *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 410, no. 26, pp. 6779–6785, Aug. 2018.
10. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, Г.М. Бендеберя, «Мікроелектрод і спосіб його виготовлення» Патент України, UA №104519, 10.02.2014.
11. Д.В. Сніжко, «Ультрамікроелектрод і спосіб його виготовлення», Патент України, UA №117304, 10.07.2018.
12. D. Snizhko, G. Bani-Khaled, K. Muzyka et al. «Apparatus 'Spark' for luminescent and electrochemiluminescent measurements», *Przeegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 6, pp. 40–44, Jun. 2018.
13. F. Yuan, L. Qi, T.H. Fereja, D.V. Snizhko, Z. Liu, W. Zhang, and G. Xu, «Regenerable bipolar electrochemiluminescence device using glassy carbon bipolar electrode, stainless steel driving electrode and cold patch», *Electrochimica Acta*, vol. 262, pp. 182–186, Feb. 2018.
14. D. Snizhko, O.A. Sushko, E.A. Reshetnyak et al. «Colorimeter based on color sensor», *Przeegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 5, pp. 98–103, May 2017.
15. Д.В. Сніжко, О.А. Сушко, «Мікро- та наноелектрооди для електрохімічних вимірювальних систем», *Системи обробки інформації*. № 6, Т. 143, сс. 156–160, 2016.
16. D.V. Snizhko, Y.T. Zholudov, O.M. Bilash, A.V. Kukoba, and M.M. Rozhitskii, «Electrochemiluminescence at nitrogen doped diamond-like carbon film electrodes», *Russian Journal of Electrochemistry*, vol. 50, no. 3, pp. 260–266, Mar. 2014.
17. Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина, Д.В. Снежко и др., «О применении портативного фотометра для регистрации цвета сорбентов в химическом анализе», *Вісник Харківського національного університету*, № 932. Хімія, Вип. 19, Т. 42, сс. 208–215, 2010.
18. Електрохемілюмінесцентний аналізатор ЕЛАН-3d для біомедичних досліджень / Жолудов Ю.Т., Сніжко Д.В., Кукоба А.В. та ін. // *Радіотехніка:*

Все-укр. міжвід. наук.-техн. зб., 2009. Вип. 158. С. 180 – 186.

19. Д.В. Снежко, «Система управления нанофотонным сенсорным устройством», *Системи управління, навігації та зв'язку*, Вип. 3, №11, сс. 151 – 155, 2009.

20. А.А. Лучанинов, А.О. Омаров, В.Е. Стрельницкий, Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицкий, «Электроды с алмазоподобным покрытием для электрохимических и электрохемилюминесцентных исследований», *Фізична інженерія поверхні*, Т.7, №1-2, сс. 104 – 109, 2009.

21. Д.В. Сніжко, «Рефлектометр для біомедичних досліджень», *Радіотехніка: Всеукр. міжвід. наук.-техн. зб.*, вип. 156, сс. 263 – 267, 2009.

22. Y. Zholudov, D. Snizhko, A. Kukoba, H. Bilash, and M. Rozhitskii, «Aqueous electrochemiluminescence of polycyclic aromatic hydrocarbons immobilized into Langmuir–Blodgett film at the electrode», *Electrochimica Acta*, vol. 54, no. 2, pp. 360–363, Dec. 2008.

23. А.М. Семеней, Д.В. Снежко, «Высоковольтный преобразователь напряжения для медицинской аппаратуры», *Прикладная радиоэлектроника*, Т.6, №1, сс.137–140, 2007.

Матеріали доповідей на конференціях, симпозиумах, сесіях

24. D. Snizhko, G. Xu «Photon Counting in ECL Instrumentation», in *The Seventeenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry & The Third International Meeting on Electrogenenerated Chemiluminescence*, Changchun, China, 2019, pp.228–229.

25. D. Snizhko, Y. Zholudov, A. Kukoba, and G. Xu, «Langmuir–Blodgett technique versatility for electrode modification and its ECL application», in *20th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence*, Nantes, France, 2018, sciencesconf.org:isbc-2018:179114.

26. N.M. Lysak, D.V. Snizhko, Yu.T. Zholudov, G. Xu, «Electrochemiluminescent method of tryptophan detection for assay of biological samples», in *5th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects*, Kharkiv, Ukraine, 2017, p.120.

27. D. Snizhko, K. Muzyka, and G. Xu, «Trans-impedance Amplifier for ECL Analyzer», in *20th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence*, Nantes, France, 2018, sciencesconf.org:isbc-2018:180601.

28. D. Snizhko, G. Xu, «Electrochemiluminescent Measurements on Wireless Chip by CMOS Photocamera», in *The Sixteenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry*, Changchun, China. 2017, pp. 94–96.

29. D. Snizhko, G.F.H. Bani Khaled, O.M. Bilash, A.V. Kukoba, «Apparatus «Spark» for luminescent and electrochemiluminescent measurement», in 6-й Междунар. радиоэлектронный форум «Прикладная радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития», Конф. «Проблемы биомедицины. Наука и технологии», Харьков, 2017, сс. 167–169.

30. D. Snizhko, O. Sushko, G. Xu, «CMOS Photocamera for ECL Detection on Wireless Chip», in *International Conference on Electrogenerated Chemiluminescence*, Bordeaux, France, 2016, p. WE.O6.

31. D. Snizhko, M. Rozhitskii, N. Tsierkezos, U. Ritter, «Ultrafast Voltammetry in Electroanalytics» in *The Fifteenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry*, Changchun, China, 2015, pp.70–71.

32. Д.В. Сніжко, «Лічильник імпульсів з USB інтерфейсом «Pulsar» для роботи у складі аналітичної системи електрохемілюмінесцентного аналізу», на 5-ом Міжнародному радіоелектронному форумі «Прикладна радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития». Сб. научн. трудов. Т 3, Харьков, Украина, 2014, сс. 221–223.

33. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Instrumentation for short time resolution in ECL measurements», in *The first International Meeting on Electrogenerated Chemiluminescence*, Bertinoro, Italy. 2014, p. 15.

34. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Наноды из углеродных нанотрубок для наноэлектрохимических сенсоров», на VI Междунар. научная конф. «Функциональная база наноэлектроники», Алушта, Украина, 2013, сс. 350–353.

35. D.V. Snizhko, U. Ritter, M.M. Rozhitskii, «Carbon Nanotubes Material for

Electrochemical and Electrochemiluminescent Bioanalytics», in 3rd *International Conference “Nanobiophotonics: Fundamental and Applied Aspects”*, Kharkiv, Ukraine, 2013, p. 63.

36. D.V. Snizhko, Yu.T. Zholudov, «Photonic probing of single-electron acts in electrochemical reactions», in *9th ECHEMS Meeting: Electrochemistry in “Molecular surface science and catalysis”*, Lochow, Poland, 2013, p. 40.

37. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Применение композитных полислоев Ленгмюра-Блоджетт для изучения прецессов в электрохемилюминесцентных сенсорах», на *V Междунар. научная конф. «Функциональная база нанoeлектроники»*, Кацивели, Украина, 30 сентября-05 октября, 2012, сс. 81–84.

38. Д.В. Сніжко, А.В. Кукоб, Н.Н. Рожицький, «Метод надшвидкої вольтамперометрії для нанoeлектрохімічного аналізу» на *Річній сесії наукової ради з проблеми «Аналiтична хiмiя»*, Гурзуф, 2011, С. 56.

39. D. Snizhko, A. Kukoba, M. Rozhitskii, «Peculiarities of ultra fast potentiostates realization for nanosecond resolution voltammetry», in *The 4th Elettrochemistry in Nanoscience meeting “ElecNano4”-7th ECHEMS*, Paris, France, 23-26 May 2011. – P. 20.

40. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Ultra-fast potentiostate for nanoelectrochemistry and nanomaterial characterization», in *4th German-Ukrainian Symposium “Physics and Chemistry of Nanostructures and Nanobiotechnology”*, Ilmenau, Germany, 2012, pp. 52–53.

41. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «The Electrochemical Instrumentation for the Ultra-Fast Voltammetry», in *The 63rd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry*, Prague, Czech Republic, 2012. – [CD-ROM].

42. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Нанoeлектрохімічні дослідження системи 9,10-діфенілантрацен», на Річній Сесії Наукової Ради з проблеми "Аналiтична хiмiя" НАН України, Гурзуф, Україна, 2012, с.104.

43. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Microelectrodes Characterization by Ultra-Fast Voltammetry», in *8th ECHEMS Meeting “Electrochemistry in*

“Molecular surface science and catalysis”, Bertinoro, Italy, 2012, p.18.

44. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Використання надшвидкого потенціостата в сучасній наноаналітиці» на *5-й Міжнародній науковій конференції «Функциональная компонентная база наноэлектроники»*, Харьков-Кацивели, Україна, 2012, сс. 189–192.

45. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Перспективи використання надшвидкого потенціостата для вирішення задач біомедичної інженерії», на *4-ом Міжнародному радіоелектронному форумі «Прикладная радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития»*, збірник наукових праць, Т. III, Конференція «Актуальные проблемы биомедицинской инженерии», Харьков, Україна, 2011, сс.171–173.

46. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Аспекти побудови надшвидкого потенціостата», на *IV Міжнародній науковій конференції «Функциональная база наноэлектроники»*. – Харьков, Україна, 2011, сс. 258–261.

47. Д.В. Сніжко, Н.Н. Рожицький, «Использование сканирующей зондовой микроскопии при разработке электрохемилуминесцентных нанотехнологических сенсоров», на *IX Міжнародній конференції методологічні аспекти сканирующей зондовой микроскопии*, Минск, Беларусь, 2010, сс. 211–215.

48. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Драйвер електрохімічного сенсора на базі МС ATX Mega-128A1 для аналізу рідких середовищ», на *III-й Міжнародній науковій конференції «Функциональная компонентная база микро-, опто- и наноэлектроники»*, Кацивели, Україна 2010, сс.331–334.

49. D. Snizhko, M. Rozhitskii, «Electrochemical Sensors Array Actuator Based on XMEGA AVR Microcontroller», на *4-й Міжнародній науково-технічній конференції «Сенсорна електроніка та мікросистемні технології»*, Одеса, Україна, 2010, с.77.

50. O.M. Bilash, D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Biomedical application of electrochemiluminescent nanotechnological sensors» на *Річній сесії наукової ради*

з проблеми «Аналітична хімія», Судак, Україна, 2010, с. 44.

51. O.M. Bilash, D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Nanodiamond film electrodes for water assay electrochemiluminescent sensors», in *Luminescence*, Vol. 25., 2010, pp. 203–204.

52. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Рефлектометр для аналітичних колориметричних досліджень», на *Річній сесії наукової ради з проблеми «Аналітична хімія»*, Новий Світ, Україна, 2009, с. 69.

53. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, А.І. Бих, «Нанопотонні сенсори в медицині та екології», на *II-й Міжнародній науковій конференції «Електронна компонентна база. Состояние и перспективы развития»*, Харьков-Кацивели, Україна, 2009, сс. 273–274.

54. D. Snizhko, O. Bilash, M. Rozhitskii, «Nanodiamond Thin Film Electrodes for Application in Electrochemiluminescent Analysis» in *The 3rd Electrochemistry in Nanoscience meeting “ElecNano3”*, Paris, France, 2009, p. 5.

55. Д.В. Сніжко, Н.Н. Рожицький, «Биомедицинское применение электрохемилюминесцентных нанотехнологических сенсоров», на *3-й Міжнародній науковій конференції «Прикладна електроніка. Состояние и перспективы развития»*. Харьков, Україна, 2008, сс. 327–330.

56. Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицький, «Алмазоподобные электроды для электрохемилюминесцентных сенсоров» на *3-ій Міжнародній науково-технічній конференції «Сенсорна електроніка та мікросистемні технології»*, Одеса, Україна, 2008, с. 160.

57. D. Snizhko, A. Kukoba, O. Bilash, «Electrochemistry and Electrogenated Chemiluminescence in Thin Film of Binary System Rubrene/Polymethylmethacrylate», in *3rd ECHEMS Meeting “Electrochemistry in “Nanosystems and Molecules at Work”*», Trest, Czech Republic, 2007, P.17.

58. Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицький, А.І. Бых, «Использование лангмюр-блужеттовской технологии при построении сенсорного элемента измерительной системы», на *Первой международной конференции «Современные информационные системы. Проблемы и тенденции развития»*,

Харьков-Туапсе, Україна, 2007, сс. 36–37.

59. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Нова аналітична система для контролю водних середовищ на базі електрохемілюмінесцентного сенсору з впорядкованих на електродах шарів хелату рутенія/стеаринової кислоти» на *Сесії Наукової Ради НАН України з проблеми «Аналітична хімія»*, Харків, Україна, 2007, с. 63.

Посилання до інших авторів:

60. P. Janos, G. Karoly, C. Vilmos, *Polarografia*, Budapest: Akademia Kiado, 1964.

61. Б.Б. Дамаскин, О.А. Петрий, Б.И. Подловченко, *Практикум по электрохимии*, Москва: Высшая школа, 1991.

62. М.Р. Тарасевич, Е.И. Хрущева, В.Ю. Филиновский, *Вращающийся дисковый электрод с кольцом*, Москва: Наука, 1987.

63. A.J. Bard, M. Stratmann, P.R. Unwin, *Encyclopedia of electrochemistry Vol.3 Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*, Wiley, 2003.

64. A.J. Bard, L.R. Faulkner *Chapter1. Introduction and overview of Electrode Processes in Electrochemical Methods. Fundamentals and Applications*, 2nd edit. New York: Wiley, 2000.

65. Zoski, C.G., & Bard, A.J. (Eds.) *Electroanalytical Chemistry: A Series of Advances: Vol. 23*, CRC Press, 2010.

66. Р.М-Ф. Салихджанова, Г.И. Гинзбург, *Полярोगрафы и их эксплуатация в практическом анализе и исследованиях*, Москва: Химия, 1988.

67. J.A. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, New York: John Wiley, 2001.

68. A.J. Bard, M. Stratmann, P.R. Unwin, *Encyclopedia of Electrochemistry, Volume 3, Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*, London: Willey, 2007.

69. R. J. Forster, *2.5 Miroelectrodes – Retrospect and Prospect*, in: *Encyclopedia of Electrochemistry, Vol.3, Instrumentation and Electroanalytical*

Chemistry, A.J. Bard, M. Stratmann, P. R. Unwin (Eds.), New York: Wiley, 2003.

71. Texas Instruments, "3 Femtoampere Input Bias Current Precision Amplifier," LMP7721 datasheet, 2013.

72. C.P. Andrieux, D. Garreau, P. Hapiot, J. Pinson, J.M. Savéant, «Fast sweep cyclic voltammetry at ultra-microelectrodes. Evaluation of the method for fast electron-transfer kinetic measurements», *J. of Electroanal. Chem.*, vol. 243, pp. 321-335, 1988.

73. C.P. Andrieux, D. Garreau, P. Hapiot, J.M. Savéant, Ultramicroelectrodes: cyclic voltammetry above one million V s^{-1} , *J. of Electroanal. Chem. and Interfacial Electrochem.* vol. 248, pp. 447-450, 1988.

74. J.O. Howell, R.M. Wightman, «Ultrafast voltammetry of anthracene and 9,10-diphenylanthracene», *J. of Phys. Chem.*, vol. 88, pp. 3915-3918, 1984.

75. C. Amatore, C. Lefrou, F. Pflüger, «On-line compensation of ohmic drop in submicrosecond time resolved cyclic voltammetry at ultramicroelectrodes», *J. of Electroanal. Chem.*, vol. 270, pp. 43-59, 1989.

76. C. Amatore, C. Lefrou, «New concept for a potentiostat for on-line ohmic drop compensation in cyclic voltammetry above 300 kV s^{-1} », *J. of Electroanal. Chem.*, vol. 324, pp. 33-58, 1992.

77. C. Amatore, E. Maisonhaute, G. Simonneau, «Ultrafast cyclic voltammetry: performing in the few megavolts per second range without ohmic drop», *Electrochem. Commun.*, vol. 2, pp. 81-84, 2000.

78. C. Amatore, E. Maisonhaute, G. Simonneau, «Ohmic drop compensation in cyclic voltammetry at scan rates in the megavolt per second range: access to nanometric diffusion layers via transient electrochemistry», *J. of Electroanal. Chem.*, vol. 486, pp. 141-155, 2000.

79. P. Fortgang, C. Amatore, E. Maisonhaute, B. Schollhorn, «Microchip for ultrafast voltammetry», *Electrochem. Commun.*, vol. 12, pp. 897-900, 2010.

80. Z. Guo, X. Lin, «Ultrafast cyclic voltammetry at scan rates of up to 3 MV s^{-1} through a single-opamp circuit with positive feedback compensation of ohmic drop», *J. of Electroanal. Chem.*, vol. 568, pp. 45-53, 2004.

81. Z. Y. Guo, X. Q. Lin, «Ultrafast cyclic voltammetry with asymmetrical potential scan», *Chin. Chem. Lett.*, vol. 19, pp. 85-88, 2008.
82. D.O. Wipf, R.M. Wightman, «Submicrosecond measurements with cyclic voltammetry», *Anal. Chem.*, vol. 60, pp. 2460-2464, 1988.
83. R.M. Wightman, D.O. Wipf, «High-speed cyclic voltammetry», *Accounts of Chem. Res.*, vol. 23, pp. 64-70, 1990.
84. C. Amatore, G. Farsang, E. Maisonhaute, P. Simon, «Voltammetric investigation of the anodic dimerization of p-halogenoanilines in DMF: Reactivity of their electrogenerated cation radicals», *J. Electroanal. Chem.*, vol. 462, pp.55-62, 1999.
85. C. Amatore, Y. Bouret, E. Maisonhaute, J. I. Goldsmith, H. D. Abruña, «Ultrafast voltammetry of adsorbed redox active dendrimers with nanometric resolution: An electrochemical microtome», *ChemPhysChem*, vol. 2, pp. 130-134, 2001.
86. C. Amatore, Y. Bouret, E. Maisonhaute, J.I. Goldsmith, H.D. Abruña, «Precise adjustment of nanometric-scale diffusion layers within a redox dendrimer molecule by ultrafast cyclic voltammetry: An electrochemical nanometric microtome», *Chemistry - A European Journal*, vol. 10, pp. 2206-2226, 2001.
87. C. Amatore, Y. Bouret, E. Maisonhaute, H. D. Abruña, J.I. Goldsmith, «Electrochemistry within molecules using ultrafast cyclic voltammetry», *Comptes Rendus Chimie*, vol. 6, pp. 99-115, 2003.
88. N. V. Rees, O. V. Klymenko, E. Maisonhaute, B. A. Coles, R.G. Compton, «The application of fast scan cyclic voltammetry to the high speed channel electrode», *J. of Electroanal. Chem.*, vol. 542, pp. 23-32, 2003.
89. Z. Guo, X. Lin, «Kinetic studies of dioxygen and superoxide ion in acetonitrile at gold electrodes using ultrafast cyclic voltammetry», *J. of Electroanal. Chem.*, vol. 576, pp. 95-103, 2005.
90. C.A. Amatore, A. Jutand, F. Pflüger, «Nanosecond time resolved cyclic voltammetry: Direct observation of electrogenerated intermediates with bimolecular

diffusion controlled decay using scan rates in the megavolt per second range», *J. of Electroanal. Chem. and Interfacial Electrochem.*, vol. 218, pp. 361-365, 1987.

91. C. Amatore, *Chap. 4. Electrochemistry at Microelectrodes*, in: *Physical Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*, I. Rubinstein (Ed.), Marcel Dekker: New York, 1995, pp. 131–208.

92. C. Amatore, E. Maisonhaute, J.-F. Nierengarten, B. Schöllhorn, “Direct Monitoring of Ultrafast Redox Commutation at the Nanosecond and Nanometer Scales by Ultrafast Voltammetry: From Molecular Wires to Cation Releasing Systems”, *Israel J. of Chem.*, vol. 48, pp. 203-214, 2008.

93. X.-S. Zhou, L. Liu, P. Fortgang, A.-S. Lefevre, A. Serra-Muns, N. Raouafi, C. Amatore, B.-W. Mao, E. Maisonhaute, B. Schöllhorn, “Do molecular conductances correlate with electrochemical rate constants? Experimental insights”, *JACS*, vol. 133, pp. 7509-7516, 2011.

94. C. Amatore, E. Maisonhaute, B. Schöllhorn, J. Wadhawan, “Ultrafast voltammetry for probing interfacial electron transfer in molecular wires”, *ChemPhysChem*, vol. 8, pp. 1321–1329, 2007.

95. R. Sonnenfeld, B.C. Schardt, “Tunneling microscopy in an electrochemical cell: Images of Ag plating”, *App. Phys. Lett.*, vol. 49, pp. 1172-1174, 1986.

96. P. Lustenberger, H. Rohrer, R. Christoph, and H. Siegenthaler, “Scanning tunneling microscopy at potential controlled electrode surfaces in electrolytic environment,” *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, vol. 243, no. 1, pp. 225–235, Mar. 1988.

97. Z.W. Tian, X.D. Zhuo, J.Q. Mu, J.H. Ye, Z.D. Fen, B.W. Mao, C.L. Bai, C.D. Dai, “A new electrochemical scanning tunneling microscope”, *Ultramicroscopy*, vol. 42-44, pp. 460-463, Jul 1992

98. R.M. Penner, M.J. Heben, T.L. Longin, N.S. Lewis, “Fabrication and Use of Nanometer-Sized Electrodes in Electrochemistry”, *Science*, vol. 250, no. 4984, pp. 1118-1121, Nov. 1990.

99. R. M. Wightman, D. O. Wipf., Ch. 3. *Voltammetry at Ultramicroelectrodes*, in *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 15, 1988, pp. 267-353.
100. K. Štulík, C. Amatore, K. Holub, V. Mareček, and W. Kutner, “Microelectrodes. Definitions, characterization, and applications (Technical report),” *Pure and Applied Chemistry*, vol. 72, no. 8, pp. 1483–92, Jan. 2000.
101. *Ultramicroelectrodes* M. Fleischmann, S. Pons, D.R. Rolison and P.P. Schmidt, Morganton: Datatech Systems Inc., 1987.
102. R.J. Forster, T.E. Keyes, “6 – *Ultramicroelectrodes*” in *Handbook of Electrochemistry*, C.G. Zoski (Edt.), Elsevier, 2007, pp. 155-171.
103. J. H. Bae, Y. Yu, and M. V. Mirkin, “Recessed Nanoelectrodes for Nanogap Voltammetry,” *ChemElectroChem*, vol. 3, no. 12, pp. 2043–2047, Oct. 2016.
104. R. Brina, S.Pons, M. Fleischmann, “Ultramicroelectrode sensors and detectors: Considerations of the stability, sensitivity, reproducibility, and mechanism of ion transport in gas phase chromatography and in high performance liquid phase chromatography”, *J. Electroanal. Chem. and Interf. Electrochem.*, vol. 244, iss. 1–2, pp. 81-90, 1988.
105. K. Štulík, C. Amatore, K. Holub, V. Mareček, W. Kutner, “Microelectrodes. Definitions, Characterization, and Applications”, *Pure Appl. Chem.*, vol. 72, no. 8, pp. 1483–1492, 2000.
106. *Analytical Electrochemistry*, J. Wang, Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, 2006.
107. M. Josowicz, K. Potje-Kamloth, “Ultramicroelectrode, Process for Making Same and Its Application,” US Patent 4 959 130, Sept. 25,1990.
108. Yu.V. Pleskov, A.Ya. Sakharova, M.D. Krotova, L.L. Bouilov, B.V. Spitsyn, *J. Electroanal. Chem.* vol. 228, pp. 19–27, 1987.
109. K. Yoo, B. Miller, R. Kalish, X. Shi, “Electrodes of Nitrogen-Incorporated Tetrahedral Amorphous Carbon, a Novel Thin-Film Electrocatalytic Material with Diamond-Like Stability,” *Electrochem. Solid-State Lett.*, vol. 2, no. 5, pp. 233-235, 1999.

110. Yu.V. Pleskov, M.D. Krotova, V.I. Polyakov, A.V. Khomich, A.I. Rukovishnikov, B.L. Druz, I. Zaritskiy, "Electrochemical behaviour of a-C:N:H films," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 519, pp. 60–64, 2002.

111. A. Fujishima, Y. Einaga, T.N. Rao, *Diamond electrochemistry*, Tokyo: BKC, 2005.

112. D. M. Gruen, "Nanocrystalline Diamond Films," *Annual Review of Materials Science*, vol. 29, no. 1, pp. 211–259, Aug. 1999.

113. C. Arena, B. Kleinsorge, J. Robertson, W. . Milne, and M. . Welland, "Electronic and topographic structure of ta-C, ta-C:N and ta-C:B investigated by scanning tunnelling microscopy," *Diamond and Related Materials*, vol. 8, no. 2–5, pp. 435–439, Mar. 1999.

114. J. Robertson, "Diamond-like amorphous carbon," *Materials Science and Engineering: R: Reports*, vol. 37, no. 4–6, pp. 129–281, May 2002.

115. Y. V. Pleskov, "Synthetic diamond, a new electrode material for electroanalysis," *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 55, no. 11, pp. 1045–1050, Nov. 2000.

116. Ю.Е. Евстифеева, Ю.В. Плесков, А.М. Куцай и др. «Свойства электродов из тетраэдрального аморфного углерода,» *Электрохимия*, т. 41, № 7, сс.772-777, 2005.

117. И.А. Новоселова, Э.В. Панов, Е.Н. Федоришена, Л.А. Романко, А.Г. Гонтарь, В.Ю. Горохов, «Электрохимическое поведение и коррозия а-С:Н пленок в нейтральных водных растворах,» *Сверхтвердые материалы*, №1, сс. 27-31, 2002.

118. Е.Н. Федоришена, «Электрохимические характеристики и коррозионная стойкость аморфного а-С и аморфного гидрогенизированного а-С:Н углерода,» *Укр.Хим.Журнал*, т. 86, №3, сс.45-46, 2002.

119. О. Федоришена, В. Куліковський, Е. Панов, І. Новоселова, М. Олійник, «Электрохімічні властивості плівок аморфного вуглецю,» *Вісник Львів. Ун-ту, Сер. Хім.*, Вип. 42, Ч.1, сс.105-108, 2002.

120. J. Jia, D. Kato, R. Kurita, Y. Sato, K. Maruyama, K. Suzuki, S. Hirono, T. Ando, O. Niwa, "Structure and Electrochemical Properties of Carbon Films Prepared by a Electron Cyclotron Resonance Sputtering Method," *Anal. Chem.*, vol. 79, no.1, pp. 98 -105, 2007.

121. B. Meyerson and F. W. Smith, "Chemical modification of the electrical properties of hydrogenated amorphous carbon films," *Solid State Commun.* 34, pp. 531-535, 1980.

122. J. Robertson, "Diamond-like amorphous carbon," *Mater. Science and Engineering R*, vol. 37, pp. 129-281, 2002.

123. B. Kleinsorge, A. C. Ferrari, J. Robertson, and W. I. Milne, "Influence of nitrogen and temperature on the deposition of tetrahedrally bonded amorphous carbon," *J. Appl. Phys.*, vol. 88, pp. 1149-1157, 2000.

124. B. Druz, Y. Yevtukhov, V. Novotny, I. Zaritsky, V. Kanarov, V. Polyakov, A. Rukavishnikov. Nitrogenated carbon films deposited using filtered cathodic arc. // *Diamond and Related Materials*, vol. 9, pp. 668–674, 2000.

125. І.І. Аксьонов, В.В. Васильєв, В.Е. Стрельницький, А.А. Воеводін, Дж. Г. Джонс, Дж. С. Забінські, "Дослідження плівок алмазоподібного вуглецю і з'єднань вуглецю з азотом, синтезованих вакуумно-дуговим методом," *Фізична інженерія поверхні*, т.3, №1-2, сс. 43-53, 2005.

126. Ю.В. Плесков. *Електрохимия алмаза*, Москва: Эдиториал УЗСС, 2003.

127. V. S. Veerasamy, J. Yuan, G. A. J. Amaratunga, W. I. Milne, K. W. R. Gilkes, M. Weiler, and L. M. Brown, "Nitrogen doping of highly tetrahedral amorphous carbon," *Phys. Rev. B* vol. 48, pp. 17954, 1993.

128. І.І. Аksenov, V.E. Strel'nitskij, V.V. Vasiljev, D.Yu. Zaleskij, "Efficiency of magnetic plasma filters," *Surf. Coat. Technol.*, vol.163-164, pp. 118, 2003.

129. I. Ruff, V.J. Friedrich, K. Demeter, K. Csillag, "Transfer diffusion. II. Kinetics of electron exchange reaction between ferrocene and ferricinium ion in alcohols," *J. of Phys. Chem.*, vol. 75, pp. 3303-3309, 1971.

130. N. Tachikawa, Y. Katayama, T. Miura, "Electrode kinetics of ferrocenium/ferrocene in some amide-based room-temperature ionic liquids," *Electrochemical and Solid-State Letters*, vol. 12, pp. F39-F41, 2009.

131. K. Winkler, "The kinetics of electron transfer in $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ redox system on platinum standard-size and ultramicroelectrodes," *J. Electroanal. Chem.* vol. 388, pp. 151-159, 1995.

132. I. Gerger and R. Haubner, "Cyclic voltammetry measurements on boron- and nitrogen-doped diamond layers," *Diamond and Related Materials*, vol. 14, no. 3-7, pp. 369-374, Mar. 2005.

133. Y. Zhang, S. Yoshihara, T. Shirakashi, and T. Kyomen, "Electrochemical characteristics of boron-doped, undoped and nitrogen-doped diamond films," *Diamond and Related Materials*, vol. 14, no. 2, pp. 213-219, Feb. 2005.

134. A.J.S. Fernandes, M.A. Neto, F.A. Almeida, R.F. Silva, F.M. Costa., "Nano- and micro-crystalline diamond growth by MPCVD in extremely poor hydrogen uniform plasmas," *Diamond and Related Materials.*, vol. 16, pp. 757-761, 2007.

135. В.В. Дворкин, Н.Н. Дзбановсий, А.Ф. Паль, Н.В. Суетен, А.Ю. Юрьев, П.Я. Детков, "Использование ультра дисперсного наноалмаза для селективного осаждения бором алмазных пленок," *Физика твердого тела*, т. 6, вып.4, сс. 710-713, 2004.

136. J. Robertson, "The deposition mechanism of diamond-like a-C and a-C: H," *Diamond and Related Materials*, vol. 3, no. 4-6, pp. 361-368, Apr. 1994.

137. J. Robertson, "Electronic structure of diamond-like carbon," *Diamond and Related Materials*, vol. 6, no. 2-4, pp. 212-218, Mar. 1997.

138. J. Robertson, "Improving the properties of diamond-like carbon," *Diamond and Related Materials*, vol. 12, no. 2, pp. 79-84, Feb. 2003.

139. H. Hofsäss, H. Feldermann, R. Merk, M. Sebastian, and C. Ronning, "Cylindrical spike model for the formation of diamondlike thin films by ion deposition," *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, vol. 66, no. 2, pp. 153-181, Feb. 1998.

140. А.И.Калиниченко, В.Е.Стрельницкий, “Роль термоупругих напряжений в формировании алмазоподобного покрытия при облучении аморфного углерода низкоэнергетическими ионами С+,” *Физика и химия обработки материалов*, №2, с.2-10, 2003.

141. A.I. Kalinichenko, S.S. Perepelkin, V.E. Strel'nitskij, “Thermodynamic conditions of ta-C formation at implantation of noble-gas ions in carbon,” *Diamond and Related Materials*, vol. 15, p. 365–370, 2006.

142. D.R. Mc Kenzie, W.D. Mc Fall., W.G. Sainty et al., “Compressive stress induced formation of cubic boron nitride,” *Diamond and Related Materials*, vol. 2, pp. 970–976, 1993.

143. P. Patsalas, S. Logothetidis, S. Kennou et al. Surface-activation processes and ion-solid interactions during the nucleation and growth of ultra-thin amorphous carbon films,” *Thin Solid Film.*, v. 428, p. 211–215.

144. S. Iijima, “Helical microtubules of graphitic carbon,” *Nature*, vol. 354, pp. 56–58, 1991.

145. G.G. Wildgoose, C.E. Banks, R.G. Compton, “Metal nanoparticles and related materials supported on carbon nanotubes: methods and applications,” *Small*, vol. 2, no. 2, pp.182.–193, 2006.

146. M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, A. Jorio, “Unusual properties and structure of carbon nanotubes,” *Annu. Rev. Mater. Res.*, vol. 34, pp.247 –278, 2004.

147. M. Terrones, “Carbon nanotubes: synthesis and properties, electronic devices and other emerging applications,” *Int. Mater. Rev.*, vol. 49, pp. 325–377, 2004.

148. R.L. McGreery, “Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry,” *Chem. Rev.*, vol. 108, pp. 2646-2687, 2008.

149. I. Heller, J. Kong, K. A. Williams, C. Dekker, and S. G. Lemay “Electrochemistry at Single-Walled Carbon Nanotubes: The Role of Band Structure and Quantum Capacitance,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 128, no.22, pp. 7353–7359, 2006.

150. N.G. Tsierkezos, E. Rathsmann, U. Ritter, "Electrochemistry on Multi-walled Carbon Nanotubes in Organic Solutions," *J. Solution Chem.*, vol. 40, pp. 1645, 2011.

151. N. Tsierkezos, U. Ritter, "Simultaneous detection of ascorbic acid and uric acid at MWCNT modified electrodes," *J. Nanosci. Lett.*, vol. 2., p. 25, 2012.

152. J. Kruusma, V. Sammelselg, S.E. Banks, "A systematic study of the electrochemical determination of hydrogen peroxide at single-walled carbon nanotube ensemble networks," *Electrochemistry Communication*, vol. 10, no. 12, pp. 1872 – 1875, 2008.

153. M.D. Rubianes, G.A. Rivas, "Dispersion of multi-wall carbon nanotubes in polyethylenimine: A new alternative for preparing electrochemical sensors," *Electrochemistry Communication*, vol. 9, no. 3, pp. 480 – 484, 2007.

154. J. Wang, "Carbon-Nanotube Based Electrochemical Biosensors: A Review," *Electroanalysis*, vol. 17. pp. 7–14, 2005.

155. X. Ji, R. O. Kadara, J. Krussma, Q. Chen and C. E. Banks, "Understanding the Physicoelectrochemical Properties of Carbon Nanotubes: Current State of the Art," *Electroanalysis*, vol. 22, iss. 1, pp. 7–19, 2010.

156. A. Eftekhari, *Nanostructured Materials in Electrochemistry*, Wiley-VCH, 2008.

157. D. Gingery, P. Buhlmann, "Formation of gold nanoparticles on multiwalled carbon nanotubes by thermal evaporation," *Carbon*, vol. 46, no. 14, pp.1966 –1972, 2008.

158. R.Y. Zhang, X.M. Wang, " One step synthesis of multiwalled carbon nanotube/gold nanocomposites for enhancing electrochemical response," *Chemistry of Materials*, vol. 19, no. 28, pp. 976.–978, 2007.

159. Y. Zhang, N. W. Franklin, R.J. Chen, H. Dai, "Metal coating on suspended carbon nanotubes and its implication to metal-tube interaction," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 331, pp. 35.–41, 2000.

160. C.P. Gu, J.R. Huang, J.H. Wang, C.J. Wang, M.Q. Li, J.H. Liu, "Enhanced electrochemical detection of DNA hybridization based on Au/MWCNTs nanocomposites," *Anal. Lett.*, vol. 40, no. 17, pp.3159.–3169, 2007.

161. J.H. Lin, C.Y. He, L.J. Zhang, S.S. Zhang, "Sensitive amperometric immunosensor for alpha-fetoprotein based on carbon nanotube/gold nanoparticle doped chitosan film," *Anal. Biochem.*, vol. 384, no. 1, pp.130.–135, 2009.

162. M.S. Raghuvver, S. Agrawal, N. Bishop, G. Ramanath, "Microwave-assisted single-step functionalization and in situ derivatization of carbon nanotubes with gold nanoparticles," *Chemistry of Materials*, vol. 18, no. 6, pp.1390.–1393, 2006.

163. R. Voggu, S. Pal, S.K. Pati, C.N. Rao, "Semiconductor to metal transition in SWNTs caused by interaction with gold and platinum nanoparticles," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 20, no. 21, pp.215211, 2008.

164. H. Xu, L.P. Zeng, S.J. Xing, G.Y. Shi, Y.Z. Xian, L.T. Jin, "Microwave-radiated synthesis of gold nanoparticles/carbon nanotubes composites and its application to voltammetric detection of trace mercury (II)," *Electroch. Comm.*, vol. 10, no. 12, pp.1839.–1843, 2008.

165. J. Chen, M.A. Hamon, H. Hu, Y.S. Chen, A.M. Rao, P.C. Eklund, R.C. Haddon, "Solution properties of single-walled carbon nanotubes," *Science*, 1998. – Vol. 282. – P.95.–98.

166. V. Georgakilas, D. Gournis, V. Tzitzios, L. Pasquato, D.M. Guldi, and M. Prato, "Decorating carbon nanotubes with metal or semiconductor nanoparticles," *J. Mat. Chem.*, vol. 17, no. 26, pp.2679.–2694, 2007.

167. S. Banerjee, T. Hemraj-Benny, S.S. Wong, "Covalent surface chemistry of single-walled carbon nanotubes," *Adv. Mat.*, vol. 17, no. 1, pp.17–29, 2005.

168. S. Banerjee, S.S. Wong, "Synthesis and characterization of carbon nanotube-nanocrystal heterostructures," *Nano Lett.*, vol. 2, no. 3, pp.195.–200, 2002.

169. D.H. Marsh, G.A. Rance, R.J. Whitby, F. Giustiniano, A.N. Khlobystov, "Assembly, structure and electrical conductance of carbon nanotube-gold

nanoparticle 2D heterostructures,” *J. Mat. Chem.*, vol. 18, no. 19, pp. 2249–2256, 2008.

170. K.S. Coleman, S.R. Bailey, S. Fogden, M.L. Green, “Functionalization of single-walled carbon nanotubes via the Bingel reaction,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 125, no. 29, pp. 8722–8723, 2003.

171. B.R. Azamian, K.S. Coleman, J.J. Davis, N. Hanson, M.L. Hreen, “Directly observed covalent coupling of quantum dots to single-wall carbon nanotubes,” *Chem. Comm.*, pp. 366–367, 2002.

172. R. Zanella, E. Basiuk, P. Santiago, V. Basiuk, E. Mireles, I. Puente-Lee, J.M. Saniger, “Deposition of gold nanoparticles onto thiol-functionalized multiwalled carbon nanotubes,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 109, no. 34., pp. 16290–16295, 2005.

173. J.P. Hu, J.H. Shi, S.P. Li, Y.J. Qin, Z. Guo, Y.L. Song, D.B. Zhu, “Efficient method to functionalize carbon nanotubes with thiol groups and fabricate gold nanocomposites,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 401, no. 4–6, pp. 352–356, 2005.

174. L. Han, W. Wu, F.L. Kirk, J. Luo, M.M. Maye, N.N. Kariuki, Y. Lin, C. Wang, C. Zhong, “A direct route toward assembly of nanoparticle-carbon nanotube composite materials,” *Langmuir*, vol. 20, no. 14, pp. 6019–6025, 2004.

175. G. Jeong, S. Suzuki, Y. Kobayashi, “Synthesis and characterization of Au-attached single-walled carbon nanotube bundles,” *Nanotechnology*, vol. 20, no. 28, pp. 285708, 2009..

176. Y. Yao, K. Shiu, “Direct electrochemistry of glucose oxidase at carbon nanotube/gold colloid modified electrode with poly(diallyldimethylammonium chloride) coating,” *Electroanalysis*, vol. 20, no. 14, pp. 1542–1548, 2008.

177. A.V. Ellis, K. Vijayamohanan, R. Goswami, N. Chakrapani, L.S. Ramanathan, P.M. Ajayan, G. Ramanath, “Hydrophobic anchoring of monolayer-protected gold nanoclusters to carbon nanotubes,” *Nano Letters*, vol. 3, no. 3, pp. 279–282, 2003.

178. Hamamatsu Photonics, “Digital color sensor,” S9037, datasheet, Sept. 2007.

179. Avago, "Miniature Surface-Mount RGB Digital Color Sensor", ADJD-S313-QR999, datasheet, Jan. 2007.
180. Hamamatsu Photonics K.K., *Photomultiplier tubes, Basics and application*, 4th ed., Inproject. Inc., Apr. 2017.
181. A.V. Kukoba, A.I. Bykh, I.B. Svir, "Analytical applications of electrochemiluminescence: An overview," *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, vol. 368, no.5, pp. 439–442, 2000.
182. J. Zhang, S. Arbault, N. Sojic, D. Jiang, "Electrochemiluminescence imaging for bioanalysis," *Annual Rev. Anal. Chem.*, vol.12 no.1, pp.275–295, 2019.
183. R.C. Engstrom, K.W. Johnson, S. DesJarlais, "Characterization of electrode heterogeneity with electrogenerated chemiluminescence," *Anal Chem.*, vol. 59, no 4, pp. 670–673, 1987.
184. F. Deiss, C.N. LaFratta, M. Symer, T.M. Blicharz, N. Sojic, D.R. Walt, "Multiplexed sandwich immunoassays using electrochemiluminescence imaging resolved at the single bead level," *J Am Chem Soc.*, vol. 131, no. 17, pp. 6088–6089, 2009.
185. W. Miao, J.-P. Choi, A.J. Bard, "Electrogenerated chemiluminescence 69: the tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II), (Ru(bpy)₃²⁺)/Tri-n-propylamine (TPrA) system revisited a new route involving TPrA^{•+} cation radicals," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, iss.48, pp. 14478–14485, 2002.
186. S. Sakura, "Electrochemiluminescence of hydrogen peroxide-luminol at a carbon electrode," *Anal. Chim. Acta.*, vol. 262, no. 1, pp. 49–57, 1992.
187. L. Xu, Y. Li, S. Wu, X. Liu, B. Su, "Imaging latent fingerprints by electrochemiluminescence," *Angew Chem Inter Edn.*, vol. 51, iss. 32, pp. 8068–8072, 2012.
188. N. Wang, Y. Feng, Y. Wang, H. Ju, F. Yan, "Electrochemiluminescent imaging for multi-immunoassay sensitized by dual DNA amplification of polymer dot signal," *Anal Chem.*, vol.90, no.12, pp. 7708–7714, 2018.

189. Y. Feng, N. Wang, H. Ju, "Highly efficient electrochemiluminescence of cyanovinylene-contained polymer dots in aqueous medium and its application in imaging analysis," *Anal Chem.*, vol. 90, no. 2, pp. 1202–1208, 2018.
190. G. Liu, C. Ma, B.-K. Jin, Z. Chen, J.-J. Zhu, "Direct electrochemiluminescence imaging of a single cell on a chitosan film modified electrode," *Anal Chem.*, vol. 90, no.7, pp. 4801–4806, 2018.
191. F.-R.F. Fan, D. Cliffel, A.J. Bard, "Scanning electrochemical microscopy. 37. Light emission by electrogenerated chemiluminescence at SECM tips and their application to scanning optical microscopy," *Anal Chem.*, vol. 70, iss. 14, pp. 2941–2948, 1998.
192. R.G. Maus, R.M. Wightman, "Microscopic imaging with electrogenerated chemiluminescence," *Anal Chem.*, vol. 73, iss. 16, pp. 3993–3998, 2001.
193. J.L. Delaney, C.F. Hogan, J. Tian, W. Shen, "Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors," *Anal Chem.*, vol. 83, no.4, pp. 1300–1306, 2011.
194. C. Amatore, C. Pebay, L. Servant, N. Sojic, S. Szunerits, L. Thouin, "Mapping electrochemiluminescence as generated at doubleband microelectrodes by confocal microscopy under steady state," *ChemPhysChem*, vol.7, no.6, pp. 1322–1327, 2006.
195. S. Szunerits, J.M. Tam, L. Thouin, C. Amatore, D.R. Walt, "Spatially resolved electrochemiluminescence on an array of electrode tips," *Anal Chem.*, vol. 75, iss. 17, pp. 4382–4388, 2003.
196. D.M. Hercules, "Chemiluminescence resulting from electrochemically generated species," *Science*, vol. 145, iss. 3634, pp. 808–809, 1964.
197. K.S.V. Santhanam, A.J. Bard, "Chemiluminescence of electrogenerated 9,10-diphenylanthracene anion radical," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 87, no.1, pp. 139–140, 1965.
198. R.C. Engstrom, C.M. Pharr, M.D. Koppang, "Visualization of the edge effect with electrogenerated chemiluminescence," *J. Electroanal. Chem. Interfere. Electrochem.*, vol. 221, no. 1, pp. 251–255, 1987.

199. P. Pantano, W.G. Kuhr, “Characterization of the chemical architecture of carbon-fiber microelectrodes. 2. Correlation of carboxylate distribution with electron-transfer properties,” *Anal Chem.*, vol. 65, iss. 18, pp. 2452–2458, 1993.

200. S. Szunerits, J.M. Tam, L. Thouin, C. Amatore, D.R. Walt, “Spatially resolved electrochemiluminescence on an array of electrode tips,” *Anal Chem.*, vol. 75, iss.17, pp. 4382–4388, 2003.

202. Y.-L. Chang, R.E. Palacios, F.-R.F. Fan, A.J. Bard, P.F. Barbara, “Electrogenerated chemiluminescence of single conjugated polymer nanoparticles,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol.130, iss.28, pp.8906–8907, 2008.

203. E.H. Doeven, E.M. Zammit, G.J. Barbante, C.F. Hogan, N.W. Barnett, P.S. Francis, “Selective excitation of concomitant electrochemiluminophores: tuning emission color by electrode potential,” *Angew. Chem. Inter. Edn.*, vol.51, iss.18, pp. 4354–4357, 2012.

204. L. Xu, Y. Li, S. Wu, X. Liu, B. Su, “Imaging latent fingerprints by electrochemiluminescence,” *Angew Chem Inter Edn.*, vol. 51, iss. 32, pp. 8068–8072, 2012.

205. J. Zhou, G. Ma, Y. Chen, D. Fang, D. Jiang, H.-Y. Chen, “Electrochemiluminescence imaging for parallel single-cell analysis of active membrane cholesterol,” *Anal Chem.* vol. 87, iss. 16, pp.8138–8143, 2015.

206. G. Valenti, S. Scarabino, B. Goudeau, A. Lesch, M. Jović, E. Villani, M. Sentic, S. Rapino, S. Arbault, F. Paolucci, N. Sojic, “Single cell electrochemiluminescence imaging: from the proof-of-concept to disposable device-based analysis,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol.139, iss. 46, pp. 16830–71683, 2017.

207. Y. Liu, W. Guo, B. Su, “Recent advances in electrochemiluminescence imaging analysis based on nanomaterials and micro-/nanostructures,” *Chinese Chem. Let.*, vol. 30, no. 9, pp. 1593–1599, 2019.

208. A. Zanut, A. Fiorani, S. Rebecani, S. Kesarkar, G. Valenti, “Electrochemiluminescence as emerging microscopy techniques,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 411, iss.19, pp. 4375–4382, 2019.

209. M. Sentic, F. Virgilio, A. Zanut, D. Manojlovic, S. Arbault, M. Tormen, N. Sojic, P. Ugo, "Microscopic imaging and tuning of electrogenerated chemiluminescence with boron-doped diamond nanoelectrode arrays," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol.408, iss.25, pp. 7085–7094, 2016.

210. W. Guo, Y. Liu, Z. Cao, B. Su, "Imaging analysis based on electrogenerated chemiluminescence," *J. Anal. Test.*, vol. 1, no. 2, pp.14, 2017.

211. W. Gao, K. Muzyka, X. Ma, B. Lou, G. Xu, "A single-electrode electrochemical system for multiplex electrochemiluminescence analysis based on a resistance induced potential difference," *Chem. Sci.*, vol. 9, iss.16, pp. 3911–3916, 2018.

212. X.-M. Chen, B.-Y. Su, X.-H. Song, Q.-A. Chen, X. Chen, X.-R. Wang, "Recent advances in electrochemiluminescent enzyme biosensors," *TrAC Trends Anal Chem.*, vol.30, no.5, pp. 665–676, 2011.

213. Z. Zhou, L. Xu, S. Wu, B. Su, "A novel biosensor array with a wheellike pattern for glucose, lactate and choline based on electrochemiluminescence imaging," *Analyst*, vol.139, iss.19, pp. 4934–4939, 2014.

214. C.A. Marquette, A. Degiuli, L.J. Blum, "Electrochemiluminescent biosensors array for the concomitant detection of choline, glucose, glutamate, lactate, lysine and urate," *Biosens Bioelectron.*, vol. 19, no. 5, pp. 433–439, 2003.

215. J. Zhang, J. Zhou, C. Tian, S. Yang, D. Jiang, X.-X. Zhang, Y. Hong, "Localized electrochemiluminescence from nanoneedle electrodes for very-high-density electrochemical sensing," *Anal. Chem.*, vol. 89, iss. 21, pp. 11399–11404, 2017.

216. N.P. Sardesai, J.C. Barron, J.F. Rusling, "Carbon nanotube microwell array for sensitive electrochemiluminescent detection of cancer biomarker proteins," *Anal. Chem.*, vol.83, iss.17, pp. 6698–6703, 2011.

217. K. Kadimisetty, S. Malla, N.P. Sardesai, A.A. Joshi, R.C. Faria, N.H. Lee, J.F. Rusling, "Automated multiplexed ECL immunoarrays for cancer biomarker proteins," *Anal. Chem.*, vol. 87, no. 8, pp.4472–4478, 2015.

218. L. Xu, Z. Zhou, C. Zhang, Y. He, B. Su, "Electrochemiluminescence imaging of latent fingerprints through the immunodetection of secretions in human perspiration," *Chem. Comm.*, vol.50, iss. 65, pp. 9097–9100, 2014.

219 E.G. Hvastkovs, M. So, S. Krishnan, B. Bajrami, M. Tarun, I. Jansson, J.B. Schenkman, J.F. Rusling, "Electrochemiluminescent arrays for cytochrome P450-activated genotoxicity screening DNA damage from benzo[a]pyrene metabolites," *Anal. Chem.*, vol. 79, no.5, pp. 1897–1906, 2007.

220. N. Wang, Y. Feng, Y. Wang, H. Ju, F. Yan, "Electrochemiluminescent imaging for multi-immunoassay sensitized by dual DNA amplification of polymer dot signal," *Anal. Chem.*, vol. 90, no. 12, pp. 7708–7714, 2018.

221. K.-F. Chow, F. Mavr e, R.M. Crooks, "Wireless electrochemical DNA microarray sensor," *J. Am. Chem. Soc.* vol. 130, iss. 24, pp. 7544–7545, 2008.

222. Y.-Z. Wang, S.Y. Ji, H.-Y. Xu, W. Zhao, J.-J. Xu, H.Y. Chen, "Bidirectional electrochemiluminescence color switch: An application in detecting multimarkers of prostate cancer," *Anal. Chem.*, vol. 90, no. 5, pp. 3570–3575, 2018.

223. E.H. Doeven, E.M. Zammit, G.J. Barbante, P.S. Francis, N.W. Barnett, C.F. Hogan, "A potential-controlled switch on/off mechanism for selective excitation in mixed electrochemiluminescent systems," *Chem. Sci.*, vol. 4, no. 3, pp. 977–982, 2013.

224. C. Tian, J. Zhou, Z.-Q. Wu, D. Fang, D. Jiang, "Fast serial analysis of active cholesterol at the plasma membrane in single cells," *Anal. Chem.* vol. 86, no.1, pp. 678–684, 2014.

225. J. Xu, D. Jiang, Y. Qin, J. Xia, D. Jiang, H.-Y. Chen, "C₃N₄ nanosheet modified microwell array with enhanced electrochemiluminescence for total analysis of cholesterol at single cells," *Anal. Chem.*, vo. 89, no. 4, pp. 2216–2220, 2017.

226. T.J. Anderson, B. Zhang, "Single-nanoparticle electrochemistry through immobilization and collision," *Acc. Chem. Res.*, vol. 49, iss. 11, pp. 2625–2631, 2016.

227. F.-R.F. Fan, S. Park, Y. Zhu, R.S. Ruoff, A.J. Bard, "Electrogenerated chemiluminescence of partially oxidized highly oriented pyrolytic graphite surfaces and of graphene oxide nanoparticles," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 131, no.3, pp. 937–939, 2009.

228. Y. Chen, J. Fu, C. Cui, D. Jiang, Z. Chen, H.-Y. Chen, J.J. Zhu, "In situ visualization of electrocatalytic reaction activity at quantum dots for water oxidation," *Anal Chem.*, vol. 90, iss. 14, pp. 8635–8641, 2018.

229. M.M. Richter, "Electrochemiluminescence (ECL)," *Chem. Rev.*, vol. 104, pp. 3003-3036, 2004.

230. W. Miao, "Electrogenerated Chemiluminescence and Its Biorelated Applications," *Chem. Rev.*, vol. 108, pp. 2506-2553, 2008.

231. L. Hu, G. Xu, "Applications and trends in electrochemiluminescence," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, pp. 3275-3304, 2010.

232. H. Wei, E. Wang, "Electrochemiluminescence of tris(2,2' -bipyridyl) ruthenium and its applications in bioanalysis: a review", *Luminescence*, vol.26, pp. 77-85, 2011.

233. J. Li, S. Guo, E. Wang, "Recent advances in new luminescent nanomaterials for electrochemiluminescence sensors," *RSC Adv.*, vol. 2, pp. 3579-3586, 2012.

234. S. Deng, H. Ju, "Electrogenerated chemiluminescence of nanomaterials for bioanalysis," *Analyst*, vol.138, pp.43-61, 2013.

235. K. Muzyka, Current trends in the development of the electrochemiluminescent immunosensors. *Biosens. Bioelectron.* 2014, 54, 393-407.

236. S. Zhang, Y. Ding, H. Wei, "Ruthenium Polypyridine Complexes Combined with Oligonucleotides for Bioanalysis: A Review," *Molecules*, vol.19, pp. 11933-11987, 2014.

237. P. Bertoncello, A.J. Stewart, L. Dennany, "Analytical applications of nanomaterials in electrogenerated chemiluminescence," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol.406, pp. 5573-5587, 2014.

238. L. Ge, J. Yu, S. Ge, M. Yan, "Lab-on-paper-based devices using chemiluminescence and electrogenerated chemiluminescence detection," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 406, pp. 5613-5630, 2014.

239. E. Puodziukynaite, J.L. Oberst, A.L. Dyer, J.R Reynolds, "Establishing Dual Electrogenerated Chemiluminescence and Multicolor Electrochromism in Functional Ionic Transition-Metal Complexes," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 134, pp. 968-978, 2012.

240. L.D. Ciana, S. Zanarini, R. Perciaccante, E. Marzocchi, G. Valenti, "Neutral and Dianionic Ru(II) Bathophenanthrolinedisulfonate Complexes: A Route To Enhance Electrochemiluminescence Performance in Aqueous Media," *J. Phys. Chem. C*. 2010, 114, 3653-3658.

241. Н.Н. Рожицкий, А.И. Бых, М.А. Красноголовец, "Электрохимическая люминесценция," Харьков: ХТУРЭ. 2000.

242. S. Majeed, W. Gao, Y. Zholudov, K. Muzyka, G. Xu, "Electrochemiluminescence of acridines," *Electroanalysis*, vol. 28, pp. 2672-2679, 2016.

243. K. Muzyka, M. Saqib, M. Liu, W. Zhang, G. Xu, "Progress and challenges in electrochemiluminescent aptasensors," *Biosens. Bioelectron.* Vol. 92, pp. 241-258, 2017.

244. D. Wang, Y. Li, Z. Lin, B. Qiu, L. Guo, "Surface-Enhanced Electrochemiluminescence of Ru@SiO₂ for Ultrasensitive Detection of Carcinoembryonic Antigen," *Analyt. Chem.*, vol. 87, pp. 5966-5972, 2015.

245. Z. Liu, W. Zhang, W. Qi, W. Gao, S. Hanif, M. Saqib, G. Xu, "Label-free signal-on ATP aptasensor based on the remarkable quenching of tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) electrochemiluminescence by single-walled carbon nanohorn," *Chem. Commun.*, vol.51, pp. 4256-4258, 2015.

246. R.F. Huang, H.X. Liu, Q.Q. Gai, G.J. Liu, Z. Wei, "A facile and sensitive electrochemiluminescence biosensor for Hg²⁺ analysis based on a dual-function oligonucleotide probe," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 71, pp. 194-199, 2015.

247. W. Deng, L.-R. Hong, M. Zhao, Y. Zhuo, M. Gao, "Electrochemiluminescence-based detection method of lead(II) ion via dual enhancement of intermolecular and intramolecular co-reaction," *Analyst*, vol. 140, pp. 4206-4211, 2015.

248. A. Bard, L. Faulkner, "*Electrochemical instrumentation*" in: *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, New York: John Wiley & Sons, 2000, pp. 632-658.

249. Wipf, D. Analog and digital instrumentation. In *Instrumentation and Electroanalytical Chemistry*, Bard, A.; Stratmann, M.; Unwin, P.; Eds.; Wiley: New York, USA, 2003; Volume 3, pp. 24-50.

250. Delaney, J.L.; Doeven, E.H.; Harsant, A.J.; Hogan, C.F. Use of a mobile phone for potentiostatic control with low cost paper-based microfluidic sensors. *Anal. Chim. Acta* 2013, 790, 56–60.

251. Liu, R.; Zhang, C.; Liu, M. Open bipolar electrode-electrochemiluminescence imaging sensing using paper-based microfluidics. *Sens. Actuators B Chem.* 2015, 216, 255–262.

252. Jia, X.; Dong, S.; Wang, E. Engineering the bioelectrochemical interface using functional nanomaterials and microchip technique toward sensitive and portable electrochemical biosensors. *Biosens. Bioelectron.* 2016, 76, 80–90.

253. W. Qi, J. Lai, W. Gao, S. Li, S. Hanif, G. Xu, "Wireless electrochemiluminescence with disposable minidevice," *Anal. Chem.*, vol. 86, pp. 8927 – 8931, 2014.

254. L. Qi, Y. Xia, W. Qi, W. Gao, F. Wu, G. Xu, "Increasing electrochemiluminescence intensity of a wireless electrode array chip by thousands of times using a diode for sensitive visual detection by a digital camera," *Anal. Chem.*, vol.88, pp.1123-1127, 2016.

255. J.K. Leland, M.J. Powell, "Electrogenerated chemiluminescence: an oxidative - reduction type ECL reaction sequence using tripropyl amine," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 137, pp. 3127-3131, 1990.

256. I. Rubinstein, A.J. Bard, "Electrogenerated chemiluminescence. 37. Aqueous ECL systems based on tris(2,2'-bipyridine)ruthenium²⁺ and oxalate or organic acids," *J. Amer. Chem. Soc.*, vol. 103, pp. 512-516, 1981.

257. *Electrogenerated Chemiluminescence*, Bard, A., Eds.; New York: Marcel Dekker, 2004.

258. D. W. Tholen, K. Linnet, M. Kondratovich, et al., "Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation: approved guideline; NCCLS document EP17-A," *National Committee for Clinical Laboratory Standards*: Wayne, USA, 2004.

259. D. A. Armbruster, T. Pry, "Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation," *Clin. Biochem. Rev.*, vol.29, Suppl. 1, pp. S49–S52, 2008.

260. Yu. Shishkin, S. Dmitrienko, O. Medvedeva, S. Badakova, L. Pyatkova, "Use of a Scanner and Digital Image-Processing Software for the Quantification of Adsorbed Substances," *J. Anal. Chem.*, vol. 59, № 2, pp. 102–106, 2004.

261. V. Ostrovskaya, E. Reshetnyak, N. Nikitina, A. Panteleimonov, Yu. Kholin, "A Test Method for Determining Total Metals with an Indicator Paper and Its Performance Characteristics," *J. Anal. Chem.*, vol. 59, № 10, pp. 995 – 1001, 2004.

262. Advantech, "PCI 1711/1731 User's manual," datasheet , 1999.

263. Hamamatsu Photonics K.K., "Metal package PMT. Photonsensor module H5784 series", datasheet, jul. 2010.

264. *Photomultiplier tubes. Basics and Application.*, 3rd ed., T. Hakamata, Hamamatsu photonics K.K., 2007.

265. G.S. Moschytz, P. Horn, *Active Filter Design Handbook: For Use with Programmable Pocket Calculators and Microcomputers*, John Wiley & Sons Ltd., 1981.

266. E.C. Ifeachor, B.W. Jervis, *Digital Signal Processing: A Practical Approach*, Second Edt., Prentice Hall, 2002.

267. Hamamatsu Photonics K.K., "Photon counting heard", H-10682, datasheet, jun. 2016.

268. M.M. Collinson, R.M. Wightman, "Observation of Individual Chemical Reactions in Solution," *Science*, vol. 268, pp. 1883-1885, 1995.

269. M.M. Collinson, R.M. Wightman, "High-Frequency Generation of Electrochemiluminescence at Microelectrodes," *Anal. Chem.*, vol. 65, pp. 2576-2582, 1993.

270. Collinson M. M., Pastore P., Maness K.M., Wightman R.M. "Electrochemiluminescence Interferometry at Microelectrodes," *J. Am. Chem. Soc.* vol. 116, pp. 4095-4096, 1994.

271. M.M. Collinson, R.M. Wightman, "Evaluation of Ion-Annihilation Reaction Kinetics Using High-Frequency Generation of Electrochemiluminescence," *J. Phys. Chem.*, vol. 98, pp. 11942-11947, 1994.

272. A.J. Bard, F.-R.F. Fan, "Electrochemical Detection of Single Molecules," *Acc. Chem. Res.*, vol. 29, pp. 572-578, 1996.

273. F.-R.F. Fan, A.J. Bard, "Observing Single Nanoparticle Collisions by Electrogenenerated Chemiluminescence Amplification," *Nano Letters.*, vol. 8, pp. 1746-1749, 2008.

274. Y.-Y. Peng, R.-C. Qian, M. E. Hafez, Y.-T. Long, "Stochastic Collision Nanoelectrochemistry: A Review of Recent Developments," *ChemElectroChem*, vol. 4., pp. 1–10, 2017.

275. Omer K.M., Bard A.J. Electrogenenerated Chemiluminescence of Aromatic Hydrocarbon Nanoparticles in an Aqueous Solution," *J. Phys. Chem. C.*, vol. 113, no. 27, pp. 11575-11578, 2009.

276. S.-C. Shen, Y.-J. Wang, and Y.-Y. Chen, "Design and fabrication of medical micro-nebulizer," *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 144, no. 1, pp. 135–143, May 2008.

277. L. Vecellio, "The mesh nebuliser: a recent technical innovation for aerosol delivery," *Breathe*, vol. 2, no. 3, pp. 252–260, Mar. 2006.

278. A. I. Acuña, M. Esparza, C. Kramm, F. A. Beltrán, A. V. Parra, C. Cepeda, C. A. Toro, R. L. Vidal, C. Hetz, I. I. Concha, S. Brauchi, M. S. Levine, and M. A.

Castro, “A failure in energy metabolism and antioxidant uptake precede symptoms of Huntington’s disease in mice,” *Nature Communications*, vol. 4, no. 1, Dec. 2013.

279. Y. Li and H. E. Schellhorn, “New Developments and Novel Therapeutic Perspectives for Vitamin C,” *The Journal of Nutrition*, vol. 137, no. 10, pp. 2171–2184, Oct. 2007.

280. D. Fernandez Rivas, M. Ashokkumar, T. Leong, K. Yasui, T. Tuziuti, S. Kentish, D. Lohse, and H. J. G. E. Gardeniers, “Sonoluminescence and sonochemiluminescence from a microreactor,” *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 19, no. 6, pp. 1252–1259, Nov. 2012.

281. W. Gao, C. Wang, K. Muzyka, S. A. Kitte, J. Li, W. Zhang, and G. Xu, “Artemisinin-Luminol Chemiluminescence for Forensic Bloodstain Detection Using a Smart Phone as a Detector,” *Analytical Chemistry*, vol. 89, no. 11, pp. 6160–6165, May 2017.

282. R. Jerome and A. K. Sundramoorthy, “Hydrothermal Synthesis of Boron Nitride Quantum Dots/Poly(Luminol) Nanocomposite for Selective Detection of Ascorbic Acid,” *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 166, no. 9, pp. B3017–B3024, 2019.

283. H. Chen, Q. Wang, Q. Shen, X. Liu, W. Li, Z. Nie, and S. Yao, “Nitrogen doped graphene quantum dots based long-persistent chemiluminescence system for ascorbic acid imaging,” *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 91, pp. 878–884, May 2017.

284. S. Hatanaka, H. Mitome, K. Yasui, and S. Hayashi, “Single-Bubble Sonochemiluminescence in Aqueous Luminol Solutions,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 124, no. 35, pp. 10250–10251, Aug. 2002.

285. C. H. Fischer, E. J. Hart, and A. Henglein, “Ultrasonic irradiation of water in the presence of oxygen $^{18}\text{O}_2$: isotope exchange and isotopic distribution of hydrogen peroxide,” *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 90, no. 9, pp. 1954–1956, Apr. 1986.

286. Q. Zhu, D. Dong, X. Zheng, H. Song, X. Zhao, H. Chen, and X. Chen, “Chemiluminescence determination of ascorbic acid using graphene

oxide@copper-based metal–organic frameworks as a catalyst,” *RSC Advances*, vol. 6, no. 30, pp. 25047–25055, 2016.

287. Y. He, X. He, X. Liu, L. Gao, and H. Cui, “Dynamically Tunable Chemiluminescence of Luminol-Functionalized Silver Nanoparticles and Its Application to Protein Sensing Arrays,” *Analytical Chemistry*, vol. 86, no. 24, pp. 12166–12171, Dec. 2014.

288. A.J. Bard, F-R.F. Fan, J.T. Maloy, *Electrogenerated chemiluminescence*, New York: Marcel Dekker, Inc., 2004, P. 231.

289. Y. V. Pleskov, M. D. Krotova, V. V. Elkin, V. G. Ralchenko, A. V. Saveliev, S. M. Pimenov, and P.-Y. Lim, “n-Type nitrogenated nanocrystalline diamond thin-film electrodes: The effect of the nitrogenation on electrochemical properties,” *Electrochimica Acta*, vol. 52, no. 17, pp. 5470–5478, May 2007.

290. Q. Chen, D. M. Gruen, A. R. Krauss, T. D. Corrigan, M. Witek, and G. M. Swain, “The Structure and Electrochemical Behavior of Nitrogen-Containing Nanocrystalline Diamond Films Deposited From CH₄/N₂/Ar Mixtures [J. Electrochem. Soc., 148, E44 (2001)],” *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 148, no. 4, p. L4, 2001.

291. Fausett B., Granger M.C., Hupert M.L., Wang J., Swain G.M., Gruen D.M., “The Electrochemical Properties of Nanocrystalline Diamond Thin-Films Deposited from C60/Argon and Methane/Nitrogen Gas Mixtures,” *Electroanalysis*, Vol. 12, p. 7-15, 2000.

292. Swain G.M. *In Thin-Film Diamond II*, C.E. Nebel, J. Ristein (Eds.), Amsterdam: Elsevier, 2004.

265. A. Fujishima, Y. Einaga, and T.N. Rao, *Diamond electrochemistry*, Tokyo: BKC, 2005, p. 28.

293. N. Klonis, D.J. Creek, L. Tilley, “Iron and heme metabolism in *Plasmodium falciparum* and the mechanism of action of artemisinin,” *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 16, no. 6, pp. 722–727, 2013.

294. L. Tilley, S.A. Charman, J.L. Vennerstrom, *Chapter 2 Semisynthetic Artemisinin and Synthetic Peroxide Antimalarials, Neglected Diseases and Drug Discovery*, The Royal Society of Chemistry, 2012, pp. 33-64.

295. J. Li, B. Zhou, "Biological actions of artemisinin: insights from medicinal chemistry studies," *Molecules*, vol. 15, iss. 3, pp. 1378–1397, 2010.

296. M. Asano, H. Iwahashi, "Determination of the structures of radicals formed in the reaction of antimalarial drug artemisinin with ferrous ions," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 127, (Supplement C), pp. 740–747, 2017.

297. W.-M. Wu, Y. Wu, Y.-L. Wu, Z.-J. Yao, C.-M. Zhou, Y. Li, F. Shan, "Unified mechanistic framework for the Fe(II)-Induced cleavage of qinghaosu and derivatives/analogues. The first spin-trapping evidence for the previously postulated secondary C-4 radical," *J. Am. Chem. Soc.*, vol.120, iss.14, pp. 3316–3325, 1998.

298. M.E. Lombardo, L.S. Araujo, A.B. Ciccarelli, A. Battle, "A spectrophotometric method for estimating hemin in biological systems," *Anal. Biochem.*, vol. 341, no. 2, pp. 199–203, 2005.

299. K.S. Lee, L.D. Raymond, B. Schoen, G.J. Raymond, L. Kett, R.A. Moore, L.M. Johnson, L. Taubner, J.O. Speare, H.A. Onwubiko, G.S. Baron, W.S. Caughey, B. Caughey, "Hemin interactions and alterations of the subcellular localization of prion protein," *J. Biol. Chem.*, vol. 282, iss.50, pp. 36525–36533, 2007.

300. Y. Sun, Y. Wang, J. Li, C. Ding, Y. Lin, W. Sun, C. Luo, "An ultrasensitive chemiluminescence aptasensor for indirect hemin detection based on aptamer recognition materials," *New J. Chem.*, vol.41, iss.14, pp. 6098–6104, 2017.

301. G.S. Supinski, L.A. Callahan, "Hemin prevents cardiac and diaphragm mitochondrial dysfunction in sepsis," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 40, no. 1, pp. 127–137, 2006.

302. E. Lim, Y. Joung, S. Jung, S.H. Park, J.H. Park, S.Y. Kim, Y.M. Yang, "Hemin inhibits cyclin D1 and IGF-1 expression via STAT5b under hypoxia in ER α -negative MDAMB 231 breast cancer cells," *Int. J. Oncol.*, vol. 36, pp. 1243–1251, 2010.

303. W.S. Sheng, S. Hu, A.R. Nettles, J.R. Lokensgard, G.M. Vercellotti, R.B. Rock, “Hemin inhibits NO production by IL-1 β -stimulated human astrocytes through induction of heme oxygenase-1 and reduction of p38 MAPK activation,” *J. Neuroinflammation* vol. 7, no.1, pp. 51–55, 2010.

304. S.J. Wilson, A.K. Keenan, “Role of hemin in the modulation of H₂O₂-mediated endothelial cell injury,” *Vasc. Pharmacol.*, vol. 40, no.2, pp. 109–118, 2003.

305. Y. Lin, M. Li, L. Huang, W. Shen, Y. Ren, “Involvement of heme oxygenase-1 in β -cyclodextrin–hemin complex-induced cucumber adventitious rooting process,” *Plant Cell Rep.* vol. 31, no. 9, pp. 1563–1572, 2012.

306. N.G.A.A. Kappas, “Pharmacological and clinical aspects of heme oxygenase,” *Pharmacol. Rev.*, vol. 60, pp. 79–127, 2008.

307. B. Panijpan, C. Mohan Rao, D. Balasubramanian, “Interaction of antimalarial drugs with hemin,” *Biosci. Rep.* vol. 3, no.12, pp. 1113–1117, 1983.

308. J.M. Combrinck, T.E. Mabothe, K.K. Ncokazi, M.A. Ambele, D. Taylor, P.J. Smith, H.C. Hoppe, T.J. Egan, “Insights into the role of heme in the mechanism of action of antimalarials,” *ACS Chem. Biol.*, vol. 8, no. 1, pp.133–137, 2013.

309. A.M. Gopalakrishnan, N. Kumar, “Antimalarial action of artesunate involves DNA damage mediated by reactive oxygen species,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 59, no. 1, pp. 317–325, 2015.

310. N. Berdelle, T. Nikolova, S. Quiros, T. Efferth, B. Kaina, “Artesunate induces oxidative DNA damage, sustained DNA double-strand breaks, and the ATM/ATR damage response in cancer cells,” *Mol. Cancer Ther.*, vol.10, no. 12, pp. 2224–2233, 2011.

311. H.S.J.G. Balla, J.W. Eaton, J.D. Belcher, G.M. Vercellotti, “Hemin: a possible physiological mediator of low density Lipoprotein oxidation and endothelial injury,” *Journal of the American Heart Association*, vol.11, pp. 1700–1711, 1991.

312. U. Baruah, N. Gogoi, G. Majumdar, D. Chowdhury, “Capped fluorescent carbon dots for detection of hemin: role of number of -OH groups of capping agent in fluorescence quenching,” *Scientific World Journal*, vol. 2013, pp. 529159, 2013.

313. W. Gao, C. Wang, K. Muzyka, S.A. Kitte, J. Li, W. Zhang, G. Xu, “Artemisinin-luminol chemiluminescence for forensic bloodstain detection using a smart phone as a detector,” *Anal. Chem.*, vol. 89, no.11, pp. 6160–6165, 2017.

314. Q. Mei, H. Jing, Y. Li, W. Yisibashaer, J. Chen, B. Nan Li, Y. Zhang, “Smartphone based visual and quantitative assays on upconversional paper sensor,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 75, pp. 427–432, 2016.

315. A. Roda, E. Michelini, L. Cevenini, D. Calabria, M.M. Calabretta, P. Simoni, “Integrating biochemiluminescence detection on smartphones: mobile chemistry platform for point-of-need analysis,” *Anal. Chem.*, vol.86, iss. 15, pp. 7299–7304, 2014.

316. Z. Li, Z. Li, D. Zhao, F. Wen, J. Jiang, D. Xu, “Smartphone-based visualized microarray detection for multiplexed harmful substances in milk,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 87, pp. 874–880, 2017.

317. Y. Chen, S.-M. Zhu, H.-Y. Chen, Y. Li, “Artesunate interaction with hemin,” *Bioelectrochem. Bioenerg.*, vol. 44, no. 2, pp. 295–300, 1998.

318. R. Dai, X. Xiao, F. Peng, M. Li, G. Gong, “Artesunate, an anti-malarial drug, has a potential to inhibit HCV replication,” *Virus Gene.*, vol. 52, no. 1, pp. 22–28, 2016.

319. S. Appalasamy, K.Y. Lo, S.J. Ch'ng, K. Nornadia, A.S. Othman, L.-K. Chan, “Antimicrobial activity of artemisinin and precursor derived from in vitro plantlets of *artemisia annua* L,” *BioMed Research International Article*, vol. 2014, pp. 215872, 2014.

320. G. Oboh, F.O. Bello, A.O. Ademosun, A.J. Akinyemi, T.M. Adewuni, “Antioxidant, hypolipidemic, and anti-angiotensin-1-converting enzyme properties of lemon (*Citrus limon*) and lime (*Citrus aurantifolia*) juices,” *Comp. Clin. Pathol.*, vol. 24, no.6, pp. 1395–1406, 2015.

321. J. Wang, J. Zhang, Y. Shi, C. Xu, C. Zhang, Y.K. Wong, Y.M. Lee, S. Krishna, Y. He, T.K. Lim, W. Sim, Z.-C. Hua, H.-M. Shen, Q. Lin, "Mechanistic investigation of the specific anticancer property of artemisinin and its combination with aminolevulinic acid for enhanced anticolorectal cancer activity," *ACS Cent. Sci.* vol. 3, no. 7, pp. 743–750, 2017.

322. N. Pandey, S. Pandey-Rai, "Updates on artemisinin: an insight to mode of actions and strategies for enhanced global production," *Protoplasma*, vol. 253, no.1, pp. 15–30, 2016.

323. M. Bancirova, "Sodium azide as a specific quencher of singlet oxygen during chemiluminescent detection by luminol and Cypridina luciferin analogues," *Luminescence*, vol. 26, no. 6, pp. 685–688, 2011.

324. G.R. Buettner, C.F. Ng, M. Wang, V.G.J. Rodgers, F.Q. Schafer, "A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state," *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 41, no. 8, pp. 1338–1350, 2006.

325. T.P. Khaket, R. Ahmad, "Biochemical studies on hemoglobin modified with reactive oxygen species (ROS)," *Appl. Biochem. Biotechnol.* Vol. 164, no. 8, pp. 1422–1430, 2011.

326. D.B. Jennings, M. Ehrenshaft, D.M. Pharr, J.D. Williamson, "Roles for mannitol and mannitol dehydrogenase in active oxygen-mediated plant defense," *Proc. Natl. Acad. Sci. Unit. States Am.*, vol. 95, iss.25, pp. 15129–15133, 1998.

327. B. Lipinski, "Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, no. 809696, 2011.

328. M. Saqib, S. Li, W. Gao, S. Majeed, L. Qi, Z. Liu, G. Xu, "N-Hydroxysuccinimide as an effective chemiluminescence coreactant for highly selective and sensitive detection," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 408, iss. 30, pp. 8851–8857, 2016.

329. "Statistical Software Survey," vol. 42, no. 1, Jul. 2019.

330. S. Dagon, "Die International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH)," *Handbuch Ethik und Recht der Forschung am Menschen*, pp. 541–545, 2014.

331. P. Araujo, "Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation," *J. Chromatogr. B*, vol. 877, iss. 23, pp. 2224–2234, 2009.

332. S.V.C. de Souza, R.G. Junqueira, "A procedure to assess linearity by ordinary least squares method," *Anal. Chim. Acta*, vol. 552, no.1, pp. 25–35, 2005.

333. B.H. Kang, N. Li, S.G. Liu, N.B. Li, H.Q. Luo, "A label-free, highly sensitive and selective detection of hemin based on the competition between hemin and protoporphyrin IX binding to G-quadruplexes," *Anal. Sci.*, vol. 32, no. 8, pp. 887–892, 2016.

334. Y. Shi, W.T. Huang, H.Q. Luo, N.B. Li, "A label-free DNA reduced graphene oxidebased fluorescent sensor for highly sensitive and selective detection of hemin," *Chem. Commun.*, vol. 47, iss. 16, pp. 4676–4678, 2011.

335. G. Guan, J. Sha, D. Zhu, "Heparin-MPA dual modified CdS quantum dots used as a simple and rapid label-free fluorescent sensor for protamine and hemin detection," *Microchem. J.*, vol. 133, Supplement C, pp. 391–397, 2017.

336. S.A. DeJong, Z. Lu, B.M. Cassidy, W.L. O'Brien, S.L. Morgan, M.L. Myrick, "Detection limits for blood on four fabric types using infrared diffuse reflection spectroscopy in mid- and near-infrared spectral windows," *Anal. Chem.*, vol.87, iss.17, pp. 8740–8747, 2015.

337. L. Gao, Y. Xiao, Y. Wang, X. Chen, B. Zhou, X. Yang, "A carboxylated graphene and aptamer nanocomposite-based aptasensor for sensitive and specific detection of hemin", *Talanta*, vol. 132, Supplement C, pp. 215–221, 2015.

338. H. Ao, Z. Qian, Y. Zhu, M. Zhao, C. Tang, Y. Huang, H. Feng, A. Wang, "A fluorometric biosensor based on functional Au/Ag nanoclusters for real-time monitoring of tyrosinase activity," *Biosens. Bioelectron.*, vol.86, pp. 542–547, 2016.

339. Z. Qu, W. Na, X. Liu, H. Liu, X. Su, "A novel fluorescence biosensor for sensitivity detection of tyrosinase and acid phosphatase based on nitrogen-doped graphene quantum dots," *Anal. Chim. Acta*, vol. 997, pp. 52–59, 2018

340. J. Zhao, X. Bao, S. Wang, S. Lu, J. Sun, X. Yang, "In situ fluorogenic and chromogenic reactions for the sensitive dual-readout assay of tyrosinase activity," *Anal. Chem.*, vol. 89, iss. 19, pp. 10529–10536, 2017.

341. X. Yan, H. Li, W. Zheng, X. Su, "Visual and fluorescent detection of tyrosinase activity by using a dual-emission ratiometric fluorescence probe," *Anal. Chem.* vol. 87, iss. 17, pp. 8904–8909, 2015.

342. G. Liu, J. Zhao, S. Lu, S. Wang, J. Sun, X. Yang, "Polymethyldopa nanoparticles based fluorescent sensor for detection of tyrosinase activity," *ACS Sens.*, vol. 3, no. 9, pp. 1855–1862, 2018.

343. L. Wang, Z.-F. Gan, D. Guo, H.-L. Xia, F. T. Patrice, M. E. Hafez, and D.-W. Li, "Electrochemistry-Regulated Recyclable SERS Sensor for Sensitive and Selective Detection of Tyrosinase Activity," *Analytical Chemistry*, Apr. 2019.

344. X. Liu, R. Yan, J. Zhu, J. Zhang, X. Liu, "Growing TiO₂ nanotubes on graphene nanoplatelets and applying the nanocomposite as scaffold of electrochemical tyrosinase biosensor," *Sensor. Actuator. B Chem.*, vol. 209, pp. 328–335, 2015.

345. D. Li, R. Gill, R. Freeman, I. Willner, "Probing of enzyme reactions by the biocatalyst induced association or dissociation of redox labels linked to monolayer-functionalized electrodes," *Chem. Commun.*, vol. 48, pp. 5027–5029, 2006.

346. Z. Yang, Y. Zhang, L. Sun, Y. Wang, X. Gao, Y. Cheng, "An ultrafiltration high-performance liquid chromatography coupled with diode array detector and mass spectrometry approach for screening and characterising tyrosinase inhibitors from mulberry leaves," *Anal. Chim. Acta*, vol. 719, pp. 87–95, 2012.

347. Z. Wang, S.H. Hwang, B. Huang, S.S. Lim, "Identification of tyrosinase specific inhibitors from *Xanthium strumarium* fruit extract using ultrafiltration-high performance liquid chromatography," *J. Chromatogr. B*, vol. 1002, pp. 319–328, 2015.

348. B. Liu, P. Huang, J. Li, F. Wu, "Colorimetric detection of tyrosinase during the synthesis of kojic acid/silver nanoparticles under illumination," *Sensor. Actuator. B Chem.*, vol. 251, pp. 836–841, 2017.

349. N. Moonrungsee, N. Peamaroon, A. Boonmee, S. Suwanchaoren, J. Jakmunee, "Evaluation of tyrosinase inhibitory activity in Salak (*Salacca zalacca*) extracts using the digital image-based colorimetric method," *Chem. Pap.*, vol. 72, no. 11, pp. 2729–2736, 2018.

350. Y. Teng, X. Jia, J. Li, E. Wang, "Ratiometric fluorescence detection of tyrosinase activity and dopamine using thiolate-protected gold nanoclusters," *Anal. Chem.* vol. 87, no. 9, pp. 4897–4902, 2015.

351. X. Wu, L. Li, W. Shi, Q. Gong, H. Ma, "Near-infrared fluorescent probe with new recognition moiety for specific detection of tyrosinase activity: design, synthesis, and application in living cells and zebrafish," *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 55, iss. 47, pp. 14728–14732, 2016

352. Z. Li, Y.-F. Wang, X. Zhang, C. Zeng, L. Hu, X.-J. Liang, "A tyrosinase-triggered oxidative reaction-based "Turn-on" fluorescent probe for imaging in living melanoma cells," *Sensor. Actuator. B Chem.*, vol. 242, pp. 189–194, 2017.

353. E. Alipanahpour Dil, M. Ghaedi, A. Asfaram, L. Tayebi, F. Mehrabi, "A ferrofluidic hydrophobic deep eutectic solvent for the extraction of doxycycline from urine, blood plasma and milk samples prior to its determination by high-performance liquid chromatography-ultraviolet," *J. Chromatogr. A*, vol. 1613, no. 460695, 2020.

354. E.A. Dil, M. Ghaedi, A. Asfaram, "Application of hydrophobic deep eutectic solvent as the carrier for ferrofluid: a novel strategy for pre-concentration and determination of mefenamic acid in human urine samples by high performance liquid chromatography under experimental design optimization," *Talanta*, vol. 202, pp. 526–530, 2019.

355. F. Mehrabi, A. Vafaei, M. Ghaedi, A.M. Ghaedi, E. Alipanahpour Dil, A. Asfaram, "Ultrasound assisted extraction of Maxilon Red GRL dye from water

samples using cobalt ferrite nanoparticles loaded on activated carbon as sorbent: optimization and modeling,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 38, pp. 672–680, 2017.

356. E. Alipanahpour Dil, M. Ghaedi, A. Asfaram, F. Mehrabi, A.A. Bazrafshan, “Optimization of process parameters for determination of trace Hazardous dyes from industrial wastewaters based on nanostructures materials under ultrasound energy,” *Ultrason. Sonochem.* Vol. 40, Part A, pp. 238–248, 2018.

357. E. Alipanahpour Dil, A. Asfaram, F. Sadeghfar, “Magnetic dispersive micro-solid phase extraction with the CuO/ZnO@Fe₃O₄-CNTs nanocomposite sorbent for the rapid pre-concentration of chlorogenic acid in the medical extract of plants, food, and water samples,” *Analyst*, vol. 144, no. 8, pp. 2684–2695, 2019.

358. C. Hu, J. Li, L. Yan, “A fluorescent probe for hypochlorite with colorimetric and fluorometric characteristics and imaging in living cells,” *Anal. Biochem.*, vol. 566, pp. 32–36, 2019.

359. L. Yan, C. Hu, J. Li, “A fluorescence turn-on probe for rapid monitoring of hypochlorite based on coumarin Schiff base,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 410, iss. 28, pp. 7457–7464, 2018.

360. M.I. Halawa, J. Lai, G. Xu, “Gold nanoclusters: synthetic strategies and recent advances in fluorescent sensing,” *Mater. Today Nano*, vol. 3, pp. 9–27, 2018.

361. Y. Tian, Z. Zhang, N. Gao, P. Huang, F.Y. Wu, “A label-free luminescent assay for tyrosinase activity monitoring and inhibitor screening with responsive lanthanide coordination polymer nanoparticles,” *Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 228, no. 117751, 2020.

362. M. Saqib, W. Gao, J. Lai, L. Qi, S. Majeed, M.R. Gilani, G. Xu, “Hydroxylamine-Osulfonic acid as an efficient coreactant for luminol chemiluminescence for selective and sensitive detection,” *Chem. Commun.*, vol. 51, iss. 30, pp. 6536–6539, 2015.

363. B. Liu, Y. He, C. Duan, N. Li, H. Cui, “Platinum nanoparticle-catalyzed lucigenin–hydrazine chemiluminescence,” *J. Photochem. Photobiol. Chem.*, vol. 217, no. 1, pp. 62–67, 2011.

364. C. Wang, Y. Lan, F. Yuan, T.H. Fereja, B. Lou, S. Han, J. Li, G. Xu, “Chemiluminescent determination of L-cysteine with the lucigenin-carbon dot system,” *Microchim. Acta.*, vol. 187, no. 1, pp. 50, 2019.

365. X. Liu, R. Freeman, E. Golub, I. Willner, “Chemiluminescence and chemiluminescence resonance energy transfer (CRET) aptamer sensors using catalytic hemin/Gquadruplexes,” *ACS Nano*, vol. 5, no. 9, pp. 7648–7655, 2011.

366. D. Yu, P. Wang, Y. Zhao, A. Fan, “Iodophenol blue-enhanced luminol chemiluminescence and its application to hydrogen peroxide and glucose detection,” *Talanta*, vol. 146, pp. 655–661, 2016.

367. Y. Zhong, J. Li, A. Lambert, Z. Yang, Q. Cheng, “Expanding the scope of chemiluminescence in bioanalysis with functional nanomaterials,” *J. Mater. Chem. B*, vol.7, iss. 46, pp. 7257–7266, 2019.

368. X. Tian, H. Liao, M. Wang, L. Feng, W. Fu, L. Hu, “Highly sensitive chemiluminescent sensing of intracellular Al^{3+} based on the phosphatase mimetic activity of cerium oxide nanoparticles,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 152, no. 112027, 2020.

369. P.J. Wirth, “*Electrophoresis. Detection Techniques: Staining, Autoradiography and Blotting*,” in: *Encyclopedia of Separation Science*, Edt. I.D. Wilson, Academic Press, 2000, P. 1233-1239.

370. S. Udenfriend, S. Stein, P. Bohlen, W. Dairman, W. Leimgruber, and M. Weigele, “Fluorescamine: A Reagent for Assay of Amino Acids, Peptides, Proteins, and Primary Amines in the Picomole Range,” *Science*, vol. 178, no. 4063, pp. 871–872, Nov. 1972.

371. F.F. Mohammed, Khalid M. Badr El-Din, S.M. Derayea, Switch on fluorescence probe for the selective determination of lisinopril in pharmaceutical formulations: application to content uniformity testing,” *RSC Adv.*, vol. 8, iss. 29, pp. 16269–16277, 2018.

372. M.E. Díaz-García, R. Badía-Laiño, “Fluorescence. Fluorescence Labeling,” in: *Encyclopedia of Analytical Science*, Second Edition, Edts. P. Worsfold, A. Townshend, C. Poole, Elsevier, 2005, P. 149-163.

373. J. Motoyoshiya, S. Tomioka, D. Kobayashi, T. Fujimoto, "A new cyano-substituted fluorecamine superior to its original form as a fluorescent probe for amino acid detection," *Tetrahedron Lett.*, vol. 59, iss. 12, pp. 1104–1107, 2018.

374. X. Xie, Y. Wang, J. Han, Y. Yan, "Extraction mechanism of sulfamethoxazole in water samples using aqueous two-phase systems of poly(propylene glycol) and salt," *Anal. Chim. Acta*, vol. 687, no. 1, pp. 61–66, 2011.

375. T. Pesnot, M.C. Gershater, J.M. Ward, H.C. Hailes, "The catalytic potential of coptis japonica NCS₂ revealed-development and utilisation of a fluorecamine-based assay," *Adv. Synth. Catal.*, vol. 354, iss. 16, pp. 2997–3008, 2012.

376. J.C. Brennan, D.E. Tillitt, "Development of a dual luciferase activity and fluorecamine protein assay adapted to a 384 micro-well plate format: reducing variability in human luciferase transactivation cell lines aimed at endocrine active substances," *Toxicol. Vitro*, vol. 47, pp. 18–25, 2018.

377. A. Karabchevsky, A. Mosayyebi, and A. V. Kavokin, "Tuning the chemiluminescence of a luminol flow using plasmonic nanoparticles," *Light: Science & Applications*, vol. 5, no. 11, pp. e16164–e16164, May 2016.

378. Y. Lan, F. Yuan, T.H. Fereja, C. Wang, B. Lou, J. Li, G. Xu, "Chemiluminescence of lucigenin/riboflavin and its application for selective and sensitive dopamine detection," *Anal. Chem.*, vol. 91, no. 3, pp. 2135–2139, 2019.

379. H. Lim, Y. Ju, J. Kim, "Tailoring catalytic activity of Pt nanoparticles encapsulated inside dendrimers by tuning nanoparticle sizes with subnanometer accuracy for sensitive chemiluminescence-based analyses," *Anal. Chem.*, vol. 88, no. 9, pp. 4751–4758, 2016.

380. H.S. Shin, H.J. Yang, S.B. Kim, M.S. Lee, "Mechanism of growth of colloidal silver nanoparticles stabilized by polyvinyl pyrrolidone in gamma-irradiated silver nitrate solution," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 274, no. 1, pp. 89–94, 2004.

381. K. Kaviyarasan, S. Anandan, R.V. Mangalaraja, T. Sivasankar, M. Ashokkumar, "Sonochemical synthesis of Cu₂O nanocubes for enhanced chemiluminescence applications," *Ultrason, Sonochem*, vol. 29, pp. 388–393, 2016.

382. S. Ahmed, N. Kishikawa, K. Ohyama, T. Maki, H. Kurosaki, K. Nakashima, N. Kuroda, "An ultrasensitive and highly selective determination method for quinones by high-performance liquid chromatography with photochemically initiated luminol chemiluminescence," *J. Chromatogr. A*, vol. 1216, iss.18, pp. 3977–3984, 2009.

383. J. Lind, G. Merenyi, T. Eriksen, "Chemiluminescence mechanism of cyclic hydrazides such as luminol in aqueous solutions," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 105, pp. 7655–7661, 1982.

384. L. Zhao, B. Lv, H. Yuan, Z. Zhao, D. Xiao, "A sensitive chemiluminescence method for determination of hydroquinone and catechol," *Sensors*, vol.7, no. 4, pp. 578–588, 2007.

385. D. He, Z. Zhang, C. He, "Investigation on the interaction between dihydroxybenzene and Fe³⁺-H₂O₂-Rh6G system based on enhancing chemiluminescence," *Luminescence*, vol. 1, pp. 15–19, 2006.

386. Y. Gong, H. Li, C. Jiao, Q. Xu, X. Xu, X. Zhang, Y. Liu, Z. Dai, X.Y. Liu, W. Chen, L. Liu, D. Zhan, "Effective hydrogenation of g-C₃N₄ for enhanced photocatalytic performance revealed by molecular structure dynamics", *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 250, pp. 63–70, 2019.

387. H. Li, W. Liu, F. Zhang, X. Zhu, L. Huang, H. Zhang, "Highly selective fluorescent probe based on hydroxylation of phenylboronic acid pinacol ester for detection of tyrosinase in cells," *Anal. Chem.*, vol. 90, no 1, pp. 855–858, 2018.

388. X. Ma, W. Gao, M.I. Halawa, Y. Lan, J. Li, G. Xu, "Lucigenin fluorescent assay of tyrosinase activity and its inhibitor screening," *Sensor. Actuator. B Chem.*, vol. 280, pp. 41–45, 2019.

389. R. Hardeland, "Melatonin and chromatin," *Melatonin Research*, vol. 2, no. 1, pp. 67–93, Feb. 2019.

390. Y. Potes, B. De Luxán-Delgado, A. Rubio-González, R. J. Reiter, and A.

M. Coto Montes, "Dose-dependent beneficial effect of melatonin on obesity; interaction of melatonin and leptin," *Melatonin Research*, vol. 2, no. 1, pp. 1–8, Feb. 2019.

391. D.P. Cardinali, "Are melatonin doses employed clinically adequate for melatonin-induced cytoprotection?," *Melatonin Research*, vol. 2, no. 2, pp. 106–132, Jun. 2019.

392. J. A. Smith, "The Pharmacology of Melatonin," *Melatonin: Current Status and Perspectives*, pp. 113–118, 1981.

393. "Melatonin and Type 2 Diabetes," *Melatonin in the Promotion of Health*, pp. 165–184, Aug. 2011.

394. G. Xu, S. Dong, "Electrochemiluminescent detection of chlorpromazine by selective preconcentration at a lauric acid-modified carbon paste electrode using Tris(2,2' -bipyridine)ruthenium(II)," *Anal. Chem.*, vol. 72, pp. 5308–5012, 2000.

395. W. Miao, "Electrogenerated chemiluminescence and its biorelated applications," *Chem. Rev.*, vol.108, pp. 2506–2553, 2008.

396. Z. Liu, W. Qi, G. Xu, "Recent advances in electrochemiluminescence," *Chem. Soc. Rev.*, vol.44, pp. 3117–3142, 2015.

397. B. Li, X. Zhou, H. Liu, H. Deng, R. Huang, D. Xing. "Simultaneous detection of antibiotic resistance genes on paper-based chip using [Ru(phen)₂dppz]²⁺ turn-on fluorescence probe," *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, vol. 10, no. 5, pp. 4494–4501, 2018.

398. Hu L, Li H, Han S, Xu G. Ru(bpy)₃²⁺ electrochemiluminescence in the presence of formaldehyde or formic acid," *J Electroanal Chem.*, vol. 656, pp. 289–292, 2011.

399. Y. Yuan, S. Han, L. Hu, S. Parveen, G. Xu, "Coreactants of tris(2,2' -bipyridyl)ruthenium(II) electrogenerated chemiluminescence," *Electrochim Acta*, vol. 82, pp. 484–92.

400. J.-P. Choi, A.J. Bard, "Electrogenerated chemiluminescence (ECL) 79. Reductive-oxidation ECL of tris(2,2' -bipyridine)ruthenium(II) using hydrogen

peroxide as a coreactant in pH 7.5 phosphate buffer solution.” *Anal Chim Acta.*, vol. 541, pp. 141–148, 2005.

401. L. Li, Y. Chen, J.-J. Zhu “Recent advances in electrochemiluminescence analysis,” *Anal Chem.*, vol. 89, pp. 358–371, 2017.

402. S. Ma, H. Sun, Y. Li, H. Qi, J. Zheng, “Discrimination between 5-hydroxymethylcytosine and 5-methylcytosine in DNA via selective electrogenerated chemiluminescence (ECL) labeling,” *Anal Chem.*, vol. 88, pp. 9934–9940, 2016.

403. T. Irkham, A. Fiorani, G. Valenti, F. Paolucci, Y. Einaga, “Co-reactant-on-demand ECL: electrogenerated chemiluminescence by the in situ production of $S_2O_8^{2-}$ at boron-doped diamond electrodes,” *J Am Chem Soc.*, vol. 138, pp. 15636–15641, 2016.

404. X. Liu, L. Shi, H. Li, W. Niu, G. Xu, “Tris(2,2′ -bipyridyl)ruthenium(II) electrochemiluminescent detection of coreactants containing aromatic diol group by the interaction between diol and borate anion,” *Electrochem Commun.*, vol. 9, pp. 2666–2670, 2007.

405. S.A. Kitte, C. Wang, S. Li, Y. Zholudov, L. Qi, J. Li, et al. “Electrogenerated chemiluminescence of tris(2,2′ - bipyridine)ruthenium(II) using N-(3-aminopropyl)diethanolamine as coreactant,” *Anal Bioanal Chem.*, vol. 408, pp. 7059–7065, 2016.

406. M.S. Lin, J.S. Wang, C.H. Lai, “Electrochemiluminescent determination of nicotine based on tri(2,2′ -bipyridyl) ruthenium (II) complex through flow injection analysis,” *Electrochim Acta*, vol. 53, pp. 7775–7780, 2008.

407. X. Zhou, D. Zhu, Y. Liao, W. Liu, H. Liu, Z. Ma, et al., “Synthesis, labeling and bioanalytical applications of a tris(2,2′ - bipyridyl)ruthenium(II)-based electrochemiluminescence probe,” *Nat. Protoc.*, vol. 9, pp. 1146, 2014.

408. L. Chen, D. Huang, S. Ren, Y. Chi, G. Chen, “Carbon dioxide gas sensor based on ionic liquid-induced electrochemiluminescence,” *Anal Chem.*, vol. 83, iss. 17, pp. 6862–6867, 2011.

409. H.X. Liu, X.M. Zhou, Q. Shen, D. Xing, “Paper-based electrochemiluminescence sensor for highly sensitive detection of amyloid- β oligomerization: toward potential diagnosis of Alzheimer’s disease,” *Theranostics*, vol. 8, no. 8, pp. 2289–2299, 2018.

410. G. Dojchinov, “Ethyl formate for farm stored grains,” *Pestic. Outlook*, vol. 14, pp. 241–242, 2003.

411. C. Lindinger, P. Pollien, R.C.H. de Vos, Y. Tikunov, J.A. Hageman, C. Lambot, et al., “Identification of ethyl formate as a quality marker of the fermented off-note in coffee by a nontargeted chemometric approach,” *J. Agric. Food. Chem.*, vol. 57, pp. 9972–9978, 2009.

412. M. Charles-Bernard, K. Kraehenbuehl, A. Rytz, D.D. Roberts, “Interactions between volatile and nonvolatile coffee components. 1. Screening of nonvolatile components,” *J. Agric. Food. Chem.*, vol. 53, pp. 4417–4425, 2005.

413. H.W. Gibson, “Chemistry of formic acid and its simple derivatives,” *Chem. Rev.*, vol. 69, pp. 673–692, 1969.

414. J.E. Amooore, E. Hautala, “Odor as an aid to chemical safety: odor thresholds compared with threshold limit values and volatilities for 214 industrial chemicals in air and water dilution,” *J. Appl. Toxicol.*, vol. 3, pp. 272–290, 1983.

415. D.L.J. Opdyke, “Ethyl formate,” *Food Cosm Toxicol.*, vol. 16, pp. 737–739, 1978.

416. Netherlands HCot. *Health-based Reassessment of Administrative Occupational Exposure Limits*. Committee on Updating of Occupational Exposure Limits. Ethyl formate, vol. 2000/15OSH/033. Health Council of the Netherlands, The Hague; 2002.

417. J.M. Desmarchelier, F.M. Johnston, L.T. Vu, “Ethyl formate, formic acid and ethanol in air, wheat, barley and sultanas: analysis of natural levels and fumigant residues,” *Pestic Sci.*, vol. 55, no. 8, pp. 815–824, 1999.

418. X. Otte, R. Lejeune, L. Thunus, “Fourier transform infrared spectrometry (FTIR) for qualitative and quantitative analysis of azodicarboxamide and its potential impurities,” *Anal. Chim. Acta.*, vol. 355, no. 1, pp. 7–13, 1997.

419. L.T. Vu, Y.L. Ren, “Natural levels of ethyl formate in stored grains determined using an improved method of analysis,” *J. Stored. Prod. Res.*, vol. 40, no. 1, pp. 77–85, 2004.

420. S. Han, W. Niu, H. Li, L. Hu, Y. Yuan, G. Xu, “Effect of hydroxyl and amino groups on electrochemiluminescence activity of tertiary amines at low tris(2,2' -bipyridyl)ruthenium(II) concentrations,” *Talanta*, vol. 81, pp. 44–47, 2010.

421. W. Miao, J.-P. Choi, A.J. Bard, “Electrogenerated chemiluminescence 69: the tris(2,2' -bipyridine)ruthenium(II), (Ru(bpy)₃²⁺)/tri-npropylamine (TPrA) system revisited: a new route involving TPrA⁺ cation radicals,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol.124, pp. 14478–14485, 2002.

422. K.L. Metera, K.D. Hänni, G. Zhou, M.K. Nayak, H.S. Bazzi, D. Juncker, et al., “Luminescent iridium(III)-containing block copolymers: selfassembly into biotin-labeled micelles for biodetection assays,” *ACS Macro Lett.*, vol.1, pp. 954–959, 2012.

423. R.J. Forster, P. Bertoncello, T.E. Keyes, “Electrogenerated chemiluminescence,” *Annu. Rev. Anal. Chem.*, vol.2, pp. 359–385, 2009.

424. J.R. Sun, W.Y. Gao, L.M. Qi, Y.F. Song, P. Hui, Z.Y. Liu, et al., “Detection of 1,3-dihydroxyacetone by tris(2,2' -bipyridine)ruthenium(II) electrochemiluminescence,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 410, pp. 2315–2320, 2018.

425. P. Hui, L. Zhang, W.Y. Gao, H.J. Zuo, L.M. Qi, S.A. Kitte, et al., “Detection of sodium dehydroacetate by tris(2,2' -bipyridine)ruthenium(II) electrochemiluminescence,” *ChemElectroChem*, vol. 4, pp. 1702–1707, 2017.

ДОДАТОК А

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
Харківського національного
університету радіоелектроніки" 16 "  Рубан І.В.
20 20 р.

АКТ

впровадження результатів дисертаційної роботи
Сніжка Дмитра Вікторовичана тему «Концепція побудови сенсорних систем
з використанням нанофотонних та наноелектрохімічних технологій»
у навчальний процес Харківського національного університету
радіоелектроніки

Комісія у складі голови комісії, завідувача кафедри біомедичної інженерії (БМІ), д.т.н., проф. Авруніна О.Г. та членів комісії: д.ф.-м. н., проф. Биха А.І., д.т.н., проф. Музики К.М. склали даний акт в тому, що результати докторської дисертаційної роботи Сніжка Дмитра Вікторовича «Концепція побудови сенсорних систем з використанням нанофотонних та наноелектрохімічних технологій» використовуються у навчальному процесі на кафедрі біомедичної інженерії ХНУРЕ при викладанні дисциплін «Матеріали та виробництво біомедичних апаратів», «Біомедичні прилади, комплекси, системи та технології. Частина 1. Лабораторна аналітична техніка», та «Нанотехнології в біології та медицині», що сприяє підвищенню якості підготовки бакалаврів і магістрів з біомедичної інженерії.

Завідувач каф. БМІ,
д.т.н.Професор каф. БМІ,
д.ф.-м.н.Професор каф. БМІ,
д.т.н.


Аврунін О.Г.

Бих А.І.

Музика К.М.

ДОДАТОК Б

ПРОТОКОЛ ВИПРОБУВАНЬ

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет радіоелектроніки

ЗАТВЕРДЖЕНО

Проректор з наукової роботи
Харківського національного
університету радіоелектроніки



М.І. Сліпченко

24 грудня 2014 р.


Протокол випробування

зразків мікроелектродів

за договором від 18.06.2014 р. № М/87-2014

НДР “Дослідження та розробка електродів модифікованих вуглецевими нанотрубками для (біо)аналітичних застосувань за допомогою високошвидкісної електрохімії”

керівник проекту

 /М.М. Рожицький /
24 грудня 2014 р.

Харків

2014

1 Загальні відомості

Мета дослідження:

Визначення електрохімічних властивостей зразків мікроелектродів.

Об'єкт дослідження:

Зразки мікроелектродів (8 шт.), що виготовлені за науково-дослідною роботою “Дослідження та розробка електродів модифікованих вуглецевими нанотрубками для (біо)аналітичних застосувань за допомогою високошвидкісної електрохімії” за договором від 18.06.2014 р. № М/87-2014 з Міністерством освіти і науки України

Метод дослідження:

Метод циклічної вольтамперометрії.

Керівник проекту: Рожицький Микола Миколайович.

Науковий ступінь доктор фізико-математичних наук.

Вчене звання професор.

Місце основної роботи: Харківський національний університет радіоелектроніки

Посада: професор, науковий керівник науково-дослідної та навчальної лабораторії «Аналітичної оптохемотроніки» кафедри біомедичної інженерії Харківського національного університету радіоелектроніки.

Відповідальний виконавець: с.н.с., к.т.н., с.н.с. кафедри БМІ ХНУРЕ
Сніжко Дмитро Вікторович

Місто проведення: науково-дослідна та навчальна лабораторія «Аналітичної оптохемотроніки» кафедри біомедичної інженерії Харківського національного університету радіоелектроніки.

Адреса: м. Харків, 61166, пр. Леніна 14, тел. (057) 7020369

2 Опис процедури випробувань

Для дослідження властивостей виготовлених мікроелектродів обрано електрохімічний метод, що базується на використанні зворотної електрохімічної реакції окислення та відновлення речовини на електроді. У якості такої системи обрано систему з двох речовин калій фероціанат та калій феріціанат $K_3Fe(CN)_6$ та $K_4Fe(CN)_6$. Ця пара має високу швидкість гетерогенного переносу електрону та гарну зворотність електрохімічної реакції окислення-відновлення. Тому вона дуже часто використовується для тестування електродних матеріалів, включаючи матеріали, що отримані з залученням нанотехнологій.

Параметри електродної системи. Робочий електрод мікроелектрод з золотим мікродиском діаметром 42 мкм, відповідна площа 0,1385 мм². Матеріал ізоляції електрода – скло. Протиелектрод – платинова фольга площиною 400 мм². Електрод порівняння – Ag/AgCl, що занурено у насичений розчин KCl.

Тестовий розчин складався з розчинника – бідистильованої води, електроактивних речовин 10^{-2} М $K_3Fe(CN)_6$ та 10^{-2} М $K_2Fe(CN)_6$ та фонового електrolіту KCl з концентрацією 0,1 М.

Результати дослідження наведено у вигляді відповідної вольт амперної характеристики та графіку, що відбиває відгук 8 зразків виготовлених мікроелектродів.

Для дослідження обрано метод циклічної лінійної розгортки потенціалу. Параметри поляризації швидкість розгортки потенціалу складає 100 мВ/с. Потенціали реверсу поляризації 0,15 В та 0,75 В відносно стандартного водневого електрода.

Дослідження проводилися за допомогою електрохімічної станції PGSTAT128N компанії Metrohm Autolab (копію сертифікату фірми на обладнання подано у додатку).

3 Результати тестування

Результати тестування зразків мікроелектродів (рис. 4.1) демонструють тотожність електрохімічного відгуку, який наведено у вигляді вольт амперної характеристики на рис. 4.1., отриманої до методу дослідження, що наведено у розділі 2.

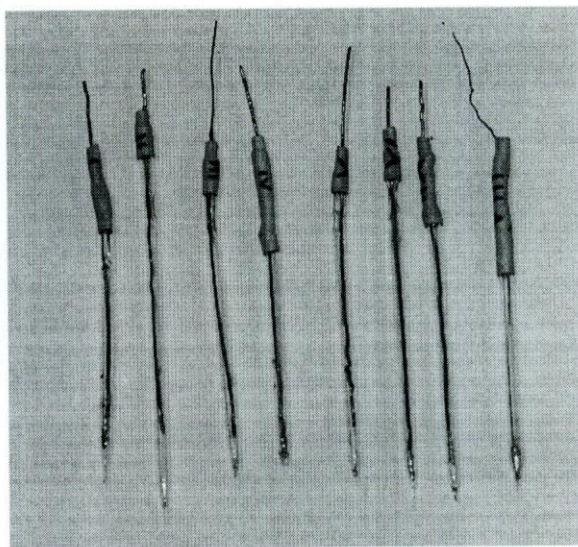


Рис. 4.1. Зразки електродів, що проходили тестування

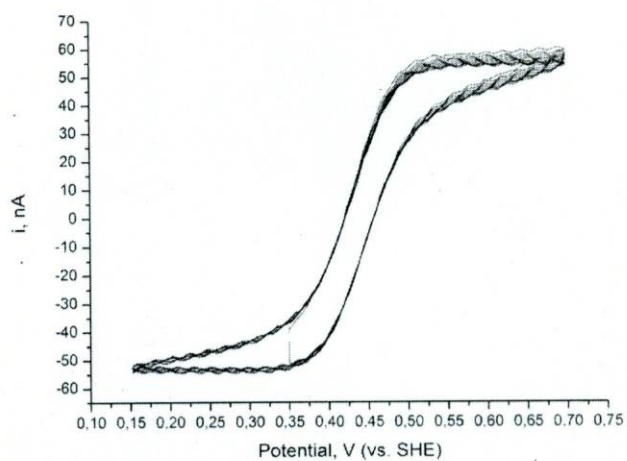


Рис. 4.2. Вольтамперна характеристика тестового електрода 1 у тестовому розчині. Швидкість розгортки потенціалу 100 мВ/с.

На рис. 4.3. Подано консолідовані результати дослідження 8 зразків електродів. Квадрати – відхилення різниці між потенціалами піків окислення та відновлення, пунктирна лінія відхилення потенціалу відновлення відносно 0,3875В відносно стандартного водневого електрода, неперервна лінія відхилення потенціалу окислення 0,4845В відносно стандартного водневого електрода.

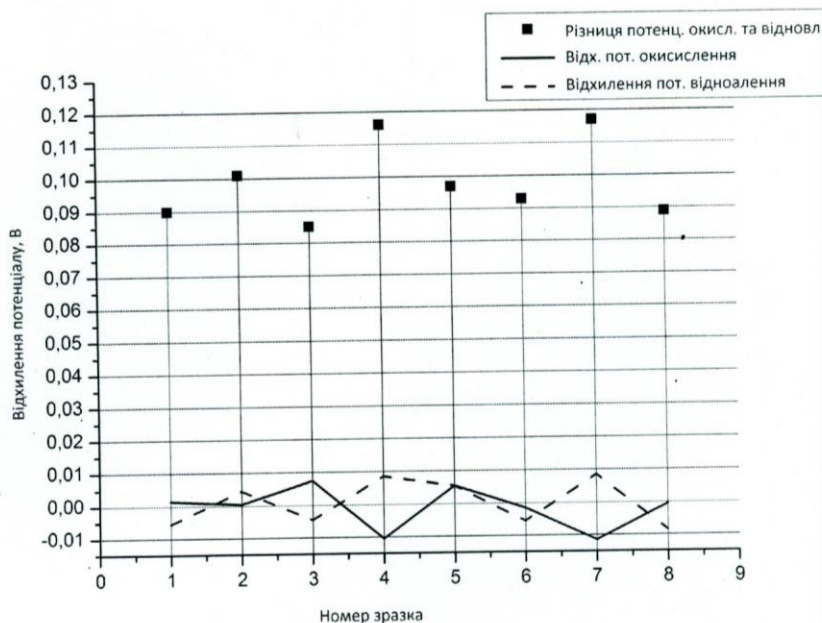


Рис. 4.2. Розбіжність у відгуку для тестової системи на різних зразках електродів.

Аналіз результатів тестування зразків:

потенціал окислення – 0,4845 В (медіана), 0,48563 В (середнє значення стандартне відхилення 0,0068 В.

потенціал відновлення – 0,3875 В (медіана), 0,38713 В (середнє значення) стандартне відхилення 0,00704 В.

Потенціали подано відносно стандартного водневого електрода

ВИСНОВКИ

Дослідження методом циклічної вольтамперометрії зразків мікроелектродів показали наявність електрохімічного відгуку, що свідчить про наявність електричного контакту мікродроту та проводу для підключення мікродроту до вимірювальної системи. Аналіз вольтамперограми, положення піків та амплітуди відгуку електроду відповідає поведінці золотих мікроелектродів з робочим диском радіусом 21 мкм.

Отримані електрохімічні характеристики при тестуванні зразків мікроелектродів демонструють можливість їх подальшого використання як елементів аналітичних систем та комплексів, та проведенні подальших досліджень з метою розробки методик аналізу певних біологічно важливих речовин за допомогою електрохімічних методів аналізу.

Instrument Inspection Certificate

This is to certify that the instrument mentioned below conforms to the specifications mentioned in the instrument manual.

Autolab type: PGSTAT 128N

Serial number: AUT84587

Date of inspection: 16-06-2011

Signature: 

All Autolab instruments are calibrated by traceable standards and measurement equipment. Metrohm Autolab B.V. is an ISO9001:2008 certified company.

The Autolab instrument you just have purchased has been manufactured by state-of-the-art technology and subjected to a rigorous computer-assisted quality control. The strict requirements regarding quality demand exact tolerance values in a range specified beforehand. This certificate confirms that your instrument specifications lies within these tolerance values. The test data will be archived at Metrohm Autolab B.V. for 10 years.



S. Coenen

Quality Manager,
Metrohm Autolab B.V.

Metrohm Autolab B.V.
Kanaalweg 29-G
3526 KM Utrecht
The Netherlands

ДОДАТОК В

ПЕРЕЛІК ПРАЦЬ ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті та патенти

1. C. Wang, Y. Chen, D. Snizhko, F. Du, X. Ma, B. Lou, J. Li, and G. Xu, «Development of luminol-fluorescamine-ППФ chemiluminescence system and its application to sensitive tyrosinase determination», *Talanta*, vol. 218, p. 121–177, Oct. 2020.
2. F. Du, X. Ma, F. Yuan, C. Wang, D. Snizhko, Y. Guan, and G. Xu, «Sonochemiluminescence Based on a Small, Cheap, and Low-Power USB Mesh-Type Piezoelectric Ultrasonic Transducer», *Analytical Chemistry*, vol. 92, no. 7, pp. 4755–4759, Mar. 2020.
3. T.H. Fereja, F. Du, C. Wang, D. Snizhko, Y. Guan, and G. Xu, «Electrochemiluminescence Imaging Techniques for Analysis and Visualizing», *Journal of Analysis and Testing*, vol. 4, no. 2, pp. 76–91, Apr. 2020.
4. Д.В. Сніжко, А.В. Кукоба, «Потенціостат», Патент України, UA №120330, 11.11.2019.
5. T.H. Fereja, S.A. Kitte, W. Gao, F. Yuan, D. Snizhko, L. Qi, A. Nsabimana, Z. Liu, and G. Xu, «Artesunate-luminol chemiluminescence system for the detection of hemin», *Talanta*, vol. 204, pp. 379–385, Nov. 2019.
6. D. Snizhko, A. Kukoba, «Ultrafast Potentiostat as Compromise between Current Sensitivity vs. Response Time», *Przegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 8, pp. 104–109, Aug. 2019.
7. Г.Б. Халед, А.В. Кукоба, О.М. Білаш, Ю.Т. Жолудов, Д.В. Сніжко, К.М. Музика, «Електрохемілюмінесцентна платформа для твердофазного визначення слідових концентрацій поліциклічних ароматичних вуглеводнів», *Радиотехника: Всеукр. межвед. научн.-техн. сб.*, вып. 192, сс. 106–112, 2018.
8. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Драйвер керування електрохемілюмінесцентним сенсором на базі системи цифрової обробки

сигналів»,

Системи обробки інформації, Вип. 3, Т. 101. сс. 121–125, 2012.

9. T.H. Fereja, S.A. Kitte, D. Snizhko, L. Qi, A. Nsabimana, Z. Liu, and G. Xu, «Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) electrochemiluminescent determination of ethyl formate», *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 410, no. 26, pp. 6779–6785, Aug. 2018.

10. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, Г.М. Бендеберя, «Мікроелектрод і спосіб його виготовлення» Патент України, UA №104519, 10.02.2014.

11. Д.В. Сніжко, «Ультрамікроелектрод і спосіб його виготовлення», Патент України, UA №117304, 10.07.2018.

12. D. Snizhko, G. Bani-Khaled, K. Muzyka et al. «Apparatus 'Spark' for luminescent and electrochemiluminescent measurements», *Przegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 6, pp. 40–44, Jun. 2018.

13. F. Yuan, L. Qi, T.H. Fereja, D.V. Snizhko, Z. Liu, W. Zhang, and G. Xu, «Regenerable bipolar electrochemiluminescence device using glassy carbon bipolar electrode, stainless steel driving electrode and cold patch», *Electrochimica Acta*, vol. 262, pp. 182–186, Feb. 2018.

14. D. Snizhko, O.A. Sushko, E.A. Reshetnyak et al. «Colorimeter based on color sensor», *Przegląd Elektrotechniczny*, vol. 1, no. 5, pp. 98–103, May 2017.

15. Д.В. Сніжко, О.А. Сушко, «Мікро- та наноелектрооди для електрохімічних вимірювальних систем», *Системи обробки інформації*. № 6, Т. 143, сс. 156–160, 2016.

16. D.V. Snizhko, Y.T. Zholudov, O.M. Bilash, A.V. Kukoba, and M.M. Rozhitskii, «Electrochemiluminescence at nitrogen doped diamond-like carbon film electrodes», *Russian Journal of Electrochemistry*, vol. 50, no. 3, pp. 260–266, Mar. 2014.

17. Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина, Д.В. Снежко и др., «О применении портативного фотометра для регистрации цвета сорбентов в химическом анализе», *Вісник Харківського національного університету*, № 932. Хімія, Вип. 19, Т. 42, сс. 208–215, 2010.

18. Електрохемілюмінесцентний аналізатор ЕЛАН-3d для біомедичних досліджень / Жолудов Ю.Т., Сніжко Д.В., Кукоба А.В. та ін. // *Радіотехніка: Все-укр. міжвід. наук.-техн. зб.*, 2009. Вип. 158. С. 180 – 186.

19. Д.В. Снежко, «Система управления нанофотонным сенсорным устройством», *Системи управління, навігації та зв'язку*, Вип. 3, №11, сс. 151 – 155, 2009.

20. А.А. Лучанинов, А.О. Омаров, В.Е. Стрельницкий, Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицкий, «Электроды с алмазоподобным покрытием для электрохимических и электрохемилюминесцентных исследований», *Фізична інженерія поверхні*, Т.7, №1-2, сс. 104 – 109, 2009.

21. Д.В. Сніжко, «Рефлектометр для біомедичних досліджень», *Радіотехніка: Всеукр. міжвід. наук.-техн. зб.*, вип. 156, сс. 263 – 267, 2009.

22. Y. Zholudov, D. Snizhko, A. Kukoba, H. Bilash, and M. Rozhitskii, «Aqueous electrochemiluminescence of polycyclic aromatic hydrocarbons immobilized into Langmuir–Blodgett film at the electrode», *Electrochimica Acta*, vol. 54, no. 2, pp. 360–363, Dec. 2008.

23. А.М. Семеней, Д.В. Снежко, «Высоковольтный преобразователь напряжения для медицинской аппаратуры», *Прикладная радиоэлектроника*, Т.6, №1, сс.137–140, 2007.

Матеріали доповідей на конференціях, симпозиумах, сесіях

24. D. Snizhko, G. Xu «Photon Counting in ECL Instrumentation», in *The Seventeenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry & The Third International Meeting on Electrogenenerated Chemiluminescence*, Changchun, China, 2019, pp.228–229.

25. D. Snizhko, Y. Zholudov, A. Kukoba, and G. Xu, «Langmuir–Blodgett technique versatility for electrode modification and its ECL application», in *20th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence*, Nantes, France, 2018, sciencesconf.org:isbc-2018:179114.

26. N.M. Lysak, D.V. Snizhko, Yu.T. Zholudov, G. Xu, «Electrochemiluminescent method of tryptophan detection for assay of biological

samples», in *5th International Conference Nanobiophysics: Fundamental and Applied Aspects*, Kharkiv, Ukraine, 2017, p.120.

27. D. Snizhko, K. Muzyka, and G. Xu, «Trans-impedance Amplifier for ECL Analyzer», in *20th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence*, Nantes, France, 2018, sciencesconf.org:isbc-2018:180601.

28. D. Snizhko, G. Xu, «Electrochemiluminescent Measurements on Wireless Chip by CMOS Photocamera», in *The Sixteenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry*, Changchun, China. 2017, pp. 94–96.

29. D. Snizhko, G.F.H. Bani Khaled, O.M. Bilash, A.V. Kukoba, «Apparatus «Spark» for luminescent and electrochemiluminescent measurement», in 6-й Междунар. радиоэлектронный форум «Прикладная радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития», Конф. «Проблемы биомедицины. Наука и технологии», Харьков, 2017, сс. 167–169.

30. D. Snizhko, O. Sushko, G. Xu, «CMOS Photocamera for ECL Detection on Wireless Chip», in *International Conference on Electrogenerated Chemiluminescence*, Bordeaux, France, 2016, p. WE.O6.

31. D. Snizhko, M. Rozhitskii, N. Tsierkezos, U. Ritter, «Ultrafast Voltammetry in Electroanalytics» in *The Fifteenth International Symposium on Electroanalytical Chemistry*, Changchun, China, 2015, pp.70–71.

32. Д.В. Сніжко, «Лічильник імпульсів з USB інтерфейсом «Pulsar» для роботи у складі аналітичної системи електрохемілюмінесцентного аналізу», на 5-ом Міжнародному радіоелектронному форумі «Прикладна радиоэлектроника. Состояние и перспективы развития». Сб. научн. трудов. Т 3, Харьков, Украина, 2014, сс. 221–223.

33. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Instrumentation for short time resolution in ECL measurements», in *The first International Meeting on Electrogenerated Chemiluminescence*, Bertinoro, Italy. 2014, p. 15.

34. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Наноды из углеродных нанотрубок для наноэлектрохимических сенсоров», на VI Междунар. научная конф. «Функциональная база нанoeлектроники», Алушта, Украина, 2013, сс.

350–353.

35. D.V. Snizhko, U. Ritter, M.M. Rozhitskii, «Carbon Nanotubes Material for Electrochemical and Electrochemiluminescent Bioanalytics», in *3rd International Conference “Nanobiophotonics: Fundamental and Applied Aspects”*, Kharkiv, Ukraine, 2013, p. 63.

36. D.V. Snizhko, Yu.T. Zholudov, «Photonic probing of single-electron acts in electrochemical reactions», in *9th ECHEMS Meeting: Electrochemistry in “Molecular surface science and catalysis”*, Lochow, Poland, 2013, p. 40.

37. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Применение композитных полислоев Ленгмюра-Блоджетт для изучения прецессов в электрохемилюминесцентных сенсорах», на *V Междунар. научная конф. «Функциональная база нанoeлектроники»*, Кацевели, Украина, 30 сентября-05 октября, 2012, сс. 81–84.

38. Д.В. Сніжко, А.В. Кукоб, Н.Н. Рожицький, «Метод надшвидкої вольтамперометрії для нанoeлектрохімічного аналізу» на *Річній сесії наукової ради з проблеми «Аналітична хімія»*, Гурзуф, 2011, С. 56.

39. D. Snizhko, A. Kukoba, M. Rozhitskii, «Peculiarities of ultra fast potentiostates re-alization for nanosecond resolution voltammetry», in *The 4th Elettrochemistry in Nanoscience meeting “ElecNano4”-7th ECHEMS*, Paris, France, 23-26 May 2011. – P. 20.

40. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Ultra-fast potentiostate for nanoelectrochemistry and nanomaterial characterization», in *4th German-Ukrainian Symposium “Physics and Chemistry of Nanostructures and Nanobiotechnology”*, Ilmenau, Germany, 2012, pp. 52–53.

41. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «The Electrochemical Instrumentation for the Ultra-Fast Voltammetry», in *The 63rd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry*, Prague, Czech Republic, 2012. – [CD-ROM].

42. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Нанoeлектрохімічні дослідження системи 9,10-діфенілантрацен», на *Річній Сесії Наукової Ради з проблеми "Аналітична хімія" НАН України*, Гурзуф, Україна, 2012, с.104.

43. D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Microelectrodes Characterization by Ultra-Fast Voltammetry», in *8th ECHEMS Meeting "Electrochemistry in Molecular surface science and catalysis"*, Bertinoro, Italy, 2012, p.18.

44. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Використання надшвидкого потенціостата в сучасній наноаналітиці» на *5-й Міжнародній науковій конференції «Функциональная компонентная база нанoeлектроніки»*, Харків-Кацивели, Україна, 2012, сс. 189–192.

45. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Перспективи використання надшвидкого потенціостата для вирішення задач біомед-інженерії», на *4-ом Міжнародному радіoeлектронному форумі «Прикладная радиоeлектроніка. Состояние и перспективы развития»*, збірник наукових трудов, Т. III, Конференція «Актуальные проблемы биомединженерии», Харків, Україна, 2011, сс.171–173.

46. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Аспекти побудови надшвидкого потенціостата», на *IV Міжнародній науковій конференції «Функциональная база нанoeлектроніки»*. – Харків, Україна, 2011, сс. 258–261.

47. Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицкий, «Использование сканирующей зондовой микроскопии при разработке электрохемилюминесцентных нанотехнологических сенсоров», на *IX Міжнародній конференції методологічні аспекти сканирующей зондовой микроскопии*, Мінськ, Біларусь, 2010, сс. 211–215.

48. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Драйвер електрохімічного сенсора на базі МС АТХМега-128А1 для аналізу рідких середовищ», на *III-й Міжнародній науковій конференції «Функциональна компонентна база мікро-, опто- и нанoeлектроніки»*, Кацивели, Україна 2010, сс.331–334.

49. D. Snizhko, M. Rozhitskii, «Electrochemical Sensors Array Actuator Based on XMEGA AVR Microcontroller», на *4-й Міжнародній науково-технічній конференції «Сенсорна електроніка та мікросистемні технології»*, Одеса, Україна, 2010, с.77.

50. O.M. Bilash, D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Biomedical application of electro-chemiluminescent nanotechnological sensors» на *Річній сесії наукової ради з проблеми «Аналітична хімія»*, Судак, Україна, 2010, с. 44.

51. O.M. Bilash, D.V. Snizhko, M.M. Rozhitskii, «Nanodiamond film electrodes for water assay electrochemiluminescent sensors», in *Luminescence*, Vol. 25., 2010, pp. 203–204.

52. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Рефлектометр для аналітичних колориметричних досліджень», на *Річній сесії наукової ради з проблеми «Аналітична хімія»*, Новий Світ, Україна, 2009, с. 69.

53. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, А.І. Бих, «Нанофотонні сенсори в медицині та екології», на *II-й Міжнародній науковій конференції «Електронна компонентна база. Состояние и перспективы развития»*, Харьков-Кацивели, Україна, 2009, сс. 273–274.

54. D. Snizhko, O. Bilash, M. Rozhitskii, «Nanodiamond Thin Film Electrodes for Application in Electrochemiluminescent Analysis» in *The 3rd Electrochemistry in Nanoscience meeting “ElecNano3”*, Paris, France, 2009, p. 5.

55. Д.В. Сніжко, Н.Н. Рожицький, «Биомедицинское применение электрохемилюминесцентных нанотехнологических сенсоров», на *3-й Міжнародній науковій конференції «Прикладна електроніка. Состояние и перспективы развития»*. Харьков, Україна, 2008, сс. 327–330.

56. Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицький, «Алмазоподобные электроды для электрохемилюминесцентных сенсоров» на *3-ій Міжнародній науково-технічній конференції «Сенсорна електроніка та мікросистемні технології»*, Одеса, Україна, 2008, с. 160.

57. D. Snizhko, A. Kukoba, O. Bilash, «Electrochemistry and Electrogenated Chemiluminescence in Thin Film of Binary System Rubrene / Polymethylmethacrylate», in *3rd ECHEMS Meeting “Electrochemistry in “Nanosystems and Molecules at Work”*», Trest, Czech Republic, 2007, P.17.

58. Д.В. Снежко, Н.Н. Рожицький, А.І. Бих, «Использование лан-гмюр-блужеттовской технологии при построении сенсорного элемента

измерительной системы», на *Первой международной конференции «Современные информационные системы. Проблемы и тенденции развития»*, Харьков-Туапсе, Украина, 2007, сс. 36–37.

59. Д.В. Сніжко, М.М. Рожицький, «Нова аналітична система для контролю водних середовищ на базі електрохемілюмінесцентного сенсору з впорядкованих на електродах шарів хелату рутенія/стеаринової кислоти» на *Сесії Наукової Ради НАН України з проблеми «Аналітична хімія»*, Харків, Україна, 2007, с. 63.