

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.571>  
<https://orcid.org/0000-0001-8783-5710>

VILNIAUS UNIVERSITETAS  
FIZINIŲ IR TECHNOLOGIJOS MOKSLŲ CENTRAS

Vytautas Žutautas

# Laidžių polimerų taikymas jutikliuose

**DAKTARO DISERTACIJA**

Gamtos mokslai,  
Chemija (N 003)

VILNIUS 2023

Disertacija rengta 2019–2023 metais Valstybinis mokslų tyrimų instituto Fizinių ir technologijos mokslų centro Nanoinžinerijos skyriuje.

**Mokslinės vadovės:**

dr. Inga Morkvėnaitė-Vilkončienė (Valstybinis mokslų tyrimų institutas Fizinių ir technologijos mokslų centras, gamtos mokslai, chemija, N 003), 2019-2020.

dr. Rasa Pauliukaitė (Valstybinis mokslų tyrimų institutas Fizinių ir technologijos mokslų centras, gamtos mokslai, chemija, N 003), 2020-2023.

Gynimo taryba:

**Pirmininkas** – prof. dr. Aivaras Kareiva (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, chemija, N 003).

**Nariai:**

dr. Marius Dagys (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, chemija, N 003),

dr. Mariana Emilia Ghica (Koimbros universitetas, Portugalija, gamtos mokslai, chemija, N 003),

doc. dr. Inga Grigoravičiūtė (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, chemija, N 003),

dr. Vilma Ratautaitė (VMTI Fizinių ir technologijos mokslų centras, gamtos mokslai, chemija, N 003).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2023 m. gruodžio mėn. 22 d. 11:00 val. VMTI Fizinių ir technologijos mokslų centras D 401 posėdžių salėje. Adresas: (Saulėtekio al. 3, D 401, Vilnius, Lietuva), tel. +370 5 264 9211 ; el. paštas office@ftmc.lt

Disertaciją galima peržiūrėti Fizinių ir technologijos mokslų centro ir Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu:

<https://www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendorius>

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.571>  
<https://orcid.org/0000-0001-8783-5710>

VILNIUS UNIVERSITY  
STATE RESEARCH INSTITUTE CENTRE FOR PHYSICAL SCIENCES AND  
TECHNOLOGY

Vytautas Žutautas

# Applications of Conductive Polymers in Sensors

**DOCTORAL DISSERTATION**

Natural Sciences,  
Chemistry (N 003)

VILNIUS 2023

The dissertation was prepared between 2019 and 2023 at the State Research Institute Centre for Physical Sciences and Technology.

**Academic supervisors:**

Dr. Inga Morkvėnaitė-Vilkončienė (State Research Institute Centre for Physical Sciences and Technology, Natural Sciences, Chemistry, N 003), 2019-2020.

Dr. Rasa Pauliukaitė (State Research Institute Centre for Physical Sciences and Technology, Natural Sciences, Chemistry, N 003), 2020-2023.

This doctoral dissertation will be defended in a public meeting of the Dissertation Defence Panel:

**Chairman** – Prof. Habil. Dr. Aivaras Kareiva (Vilnius University, Natural Sciences, Chemistry, N 003).

**Members:**

Dr. Marius Dagsys (Vilnius University, Natural Sciences, Chemistry, N 003),  
Dr. Mariana Emilia Ghica (University of Coimbra, Portugal, Natural Sciences, Chemistry, N 003),

Assoc. Prof. Dr. Inga Grigoravičiūtė (Vilnius University, Natural Sciences, Chemistry, N 003),

Dr. Vilma Ratautaitė (Centre for Physical Sciences and Technology, Natural Sciences, Chemistry, N 003).

The dissertation shall be defended at a public meeting of the Dissertation Defence Panel at 11:00 AM on the 22<sup>nd</sup> of December 2023 in meeting room D 401 of the Centre for Physical Sciences and Technology.

Address: Saulėtekio Av. 3, D 401, Vilnius, Lithuania

Tel. +370 5 264 9211; e-mail: office@ftmc.lt

The text of this dissertation can be accessed at the libraries of the State research institute Center for Physical Sciences and Technology, Vilnius University as well as on the website of Vilnius University:

[www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius](http://www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius)

## SANTRUMPOS

- A<sub>EA</sub>** – elektroaktyvusis plotas  
**A<sub>G</sub>** – geometrinis plotas  
**A<sub>SC</sub>** – paviršiaus padengimo plotas  
**AFM** – atominės jėgos mikroskopas  
**CA** – drėkinimo kampas  
**ChA** – chronoamperometrija  
**Chit** – chitozanas  
**CP** – laidūs polimerai  
**CPE** – pastovios fazės elementas  
**CT** – krūvio pernaša  
**CV** – ciklinė voltamperometrija  
**EEC** – elektrinė ekvivalentinė grandinė  
**EIS** – elektrocheminė impedanso spektroskopija  
**FA** – folatas  
**FWHM** – smailės plotis pusės maksimumo aukštyje  
**GCE** – stikliškosios anglies elektrodas  
**HOPG** – labai orientuotas pirolitinis grafitas  
**LIG** – lazeriu indukuotas grafenas  
**LIG355** – lazeriu indukuotas grafenas, naudojant 355 nm bangos ilgio lazerį  
**LIG532** – lazeriu indukuotas grafenas, naudojant 532 nm bangos ilgio lazerį  
**LL** – L-lizinas  
**LOD** – aptikimo riba  
**PA** – potenciometrija  
**PBS** – natrio fosfato buferinis tirpalas su 0,15 M NaCl  
**PFA** – polifolatas  
**PGE** – pirolitinio grafito elektrodas  
**PI** – poliimididas  
**PLL** – poli-L-lizinas  
**PRf** – poliriboflavinai  
**RAIRS** – absorbcijos infraraudonoji spinduliuotė  
**R<sub>CT</sub>** – krūvio pernašos varža  
**Rf** – riboflavinai  
**R<sub>Ω</sub>** – celės varža  
**SEM** – skenuojamoji elektroninė mikroskopija  
**SWV** – kvadratinės bangos voltamperometrija

## TURINYS

ĮVADAS.....	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA .....	11
1.1. Laidūs polimerai .....	11
1.1.1. Chitozanas.....	12
1.1.2. Poli-L-lizinas.....	13
1.1.3. Polifolatas.....	14
1.1.4. Poliriboflavinai .....	15
1.2. Elektrocheminiai jutikliai.....	17
1.2.1. Potenciometriniai jutikliai.....	19
1.2.2. Amperometriniai jutikliai.....	20
1.2.3. Impedimetriniai jutikliai .....	20
1.2.4. Voltamperometriniai jutikliai.....	21
1.3. pH ir atrazino jutikliai .....	21
2. EKSPERIMENTINĖ DALIS .....	24
2.1. Cheminės medžiagos ir tirpalai.....	24
2.2. Metodai .....	24
2.3. Elektrodo paruošimas.....	26
3. REZULTATAI .....	30
3.1. Nemodifikuotų elektrodo tyrimai.....	30
3.1.1. Ramano spektroskopija .....	30
3.1.2. Mikroskopiniai tyrimai .....	31
3.1.3. Elektrocheminiai tyrimai.....	32
3.2. Elektrodo modifikavimas laidžiais polimerais.....	40
3.2.1. Elektrodo modifikavimas poliriboflavinu .....	40
3.2.2. Elektrodo modifikavimas polifolatu .....	42
3.2.3. Elektrodo modifikavimas kopolimerais .....	47
3.3. Modifikuotų elektrodo elektrocheminiai tyrimai .....	50
3.3.1. Modifikuotų elektrodo stabilumas .....	50

3.3.2. Modifikuotų elektrodų elektroaktyvusis plotas.....	52
3.3.3. Elektrocheminė impedanso spektroskopija.....	60
3.4. Modifikuotų paviršių mikroskopiniai tyrimai .....	69
3.5. Elektrodų paviršiaus drėkinimo tyrimai .....	72
3.6. Modifikuotų elektrodų taikymai .....	74
3.6.1. Modifikuotų elektrodų, kaip pH jutiklių, pritaikomumas .....	74
3.6.1.1. pH jutiklių atsikartojamumas, stabilumas ir atrankumas .....	78
3.6.1.2. pH jutiklio praktiniai taikymai .....	82
3.6.2. Modifikuotų elektrodų kaip atrazino jutiklių pritaikomumas .....	83
3.6.2.1. Atrazino jutiklio testavimas natūraliame tiriamajame mėginyje ..	87
IŠVADOS.....	88
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	89
PRIEDAI .....	98
SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION .....	99
1. INTRODUCTION .....	99
2. EXPERIMENTAL.....	101
2.1. Methods.....	101
2.2. Electrode preparation .....	102
3. RESULTS AND DISCUSSIONS .....	106
3.1. Characterisation of unmodified electrodes.....	106
3.1.1. Raman spectroscopy .....	106
3.1.2. Microscopic analysis.....	107
3.1.3. Electrochemical analysis.....	108
3.2. Electrode modification with conductive polymers.....	110
3.2.1. Modification with polyriboflavin.....	111
3.2.2. Modification with polyfolate.....	112
3.2.3. Modification with copolymers .....	113
3.3. Electrochemical characterisation of modified electrodes.....	115
3.3.1. Stability of modified electrodes .....	115
3.3.2. Electroactive area of modified electrodes .....	115

3.3.3. Electrochemical impedance spectroscopy.....	119
3.4. Microscopic analysis of modified surfaces .....	123
3.5. Electrode surface wettability.....	125
3.6. Applications of modified electrodes .....	126
3.6.1. The applicability of modified electrodes as pH sensors.....	126
3.6.1.1. The formation of pH sensors.....	126
3.6.1.2. Repeatability, stability and selectivity of pH sensors .....	127
3.6.1.3. Practical applications of the pH sensor .....	129
3.6.2. The applicability of the modified electrodes as atrazine sensors .....	131
3.6.2.1. Testing the atrazine sensor with a natural sample.....	132
CONCLUSIONS .....	134
PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS .....	135
TRUMPAS GYVENIMO APRAŠYMAS .....	137
PADĖKA.....	138
UŽRAŠAMS .....	139



## ĮVADAS

Dauguma cheminių ir biologinių procesų priklauso nuo pH. Paprastai stabilus pH užtikrinamas naudojant buferinius tirpalus. Tačiau egzistuoja ir keletas pakopinių procesų su skirtingais pH, ypač sintezės ar gamybos procesuose, kai reikia stebėti pH pokytį. Tam dažnai naudojamas stiklo elektrodas, tačiau tokį elektrodą sunku integruoti į miniatiūras, ypač plokščias ar lanksčias sistemas, be to jį reikia kalibruoti. Dėl šių priežasčių reikalingas naujo tipo pH elektrodas.

Žemės ūkyje siekiant padidinti pasėlių derlingumą ir jų atsparumą ligoms, naudojami pesticidai. Tačiau didelės jų koncentracijos yra toksiškos tiems patiems augalams, gyvūnams ir žmonėms. Daugelio anksčiau naudotų ir pigesnių pesticidų sudėtyje yra chlororganinių junginių, kurie dirvožemyje ir vandenyje gali išlikti daugelį metų ir kauptis maisto grandinėje. Atrazinas arba diamino-1,3,5-triazinas yra vienas iš toksiškiausių požeminiame vandenyje ir maisto grandinėje randamų chlororganinių junginių. Nors atrazinas 2001 uždraustas Jungtinių Tautų Stokholmo konvencija dėl patvariųjų organinių teršalų. Tačiau jo dar gali būti likę ekosistemoje [1]. Atrazino kiekis neturėtų siekti 0,02 mg vienam kilogramui žmogaus organizmo masės [1], o didžiausia leistina atrazino koncentracija geriamajame vandenyje yra 3 µg/l (13,9 nM) [2]. Dėl šių priežasčių labai svarbu stebėti jo koncentraciją geriamajame vandenyje ir dirvožemyje. Tam reikalingi patikimi ir jautrūs atrazino jutikliai.

Kai kurie jutikliai sudaryti iš toksiškų arba atsparių biodegradacijai komponentų. Apie natūralias ir lengvai suyrančias medžiagas, naudojamas elektrocheminiuose jutikliuose, rašoma nedaug. Todėl polimerai iš natūralių monomerų kelia didelį susidomėjimą, nes jie yra biologiškai suderinami, lengvai biologiškai skaidomi ir nekenksmingi aplinkai. Dėl to yra svarbu, kad naujos kartos jutikliai būtų biodegraduojami ir nepavojingi sveikatai.

Šioje disertacijoje daugiausia nagrinėjamos dvi temos. Šios temos yra: 1) galimybė sekti tirpalo pH naudojant patogesnę ir lankstesnę elektrodą ir 2) pasiūlyto elektrodo pritaikomumas kaip pesticidų jutiklis. Pagal šias temas kuriami pH ir atrazino jutikliai panaudojant laidžius polimerus iš natūralių monomerų, tokių kaip riboflavinai ir folatas, chitozanas bei amino rūgštis L-lizinas.

### **Darbo tikslas**

Sukurti elektrocheminius pH ir atrazino jutiklius naudojant laidžius polimerus iš natūralių monomerų.

### **Darbo tikslui įgyvendinti iškelti uždaviniai**

1. Surasti laidų polimerą, sudarytą iš riboflavino ir folato monomerų, tinkantį pH nustatymui intervale nuo 6 iki 9.

2. Sukurti lankstų pH jutiklį naudojant ant poliimido lazeriu-indukuotą grafeną ir patikrinti jo veikimą.
3. Sukurti atrazino jutiklį naudojant laidžius kopolimerus sudarytus iš riboflavino, folato ir L-lizino monomerų.

### **Darbo naujumas**

1. Polifolatas pirmą kartą panaudojamas pH jutiklio kūrime, nes jis yra laidus, jautrus pH pokyčiui, biodegraduojamas, sveikatai nepavoingas junginys.
2. Folato ir L-lizino kopolimeras pirmą kartą panaudojamas atrazino jutiklio kūrime dėl rastos polifolato elektrokatalizės atrazinui ir L-lizino gebėjimo pagerinti atrazino prisijungimą prie neigiamą krūvį turinčio polifolato.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Laidūs polimerai

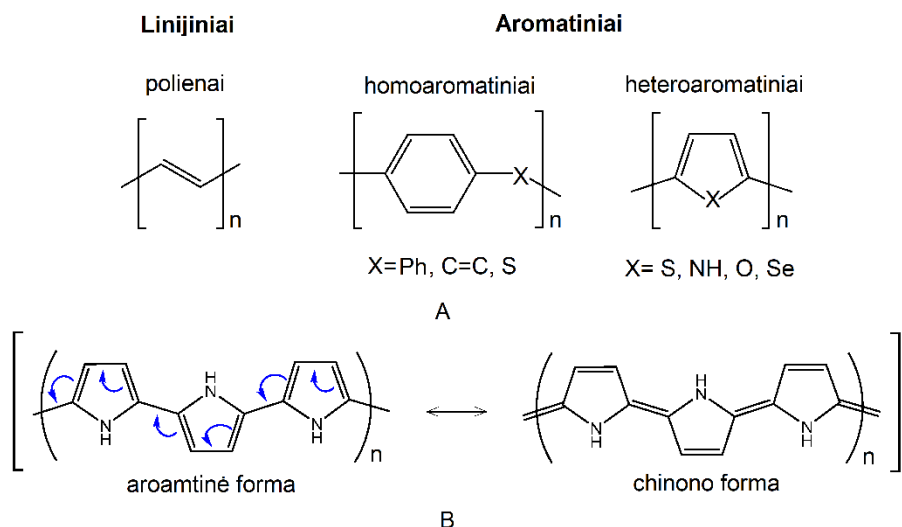
Elektros laidumas apibrėžiamas gebėjimu praleisti srovę, ir nuo kambario temperatūroje išmatuoto laidumo medžiagos skirstomos į izoliatorius, puslaidininkius ir laidininkus [3]. Laidūs polimerai (angl. CP), yra elektros srovei laidžių polimerinių organinių junginių klasė. Pirmą kartą laidumą polimeruose (polietilene) 1977 m. atrado A.J. Heeger, o 2000 m. už išsamius laidžiųjų polimerų tyrimus A.J. Heeger kartu su H. Shirakawa ir A.G. MacDiarmid gavo Nobelio premiją. O CP skirstomi į penkias grupes [4]:

1. Redokso polimerai (polimero grandinėje su viduje esančiomis redokso grupėmis; polimerai su prisijungusiomis redokso grupėmis; jonų mainų polimerai, turintys elektrostatiškai sujungtus redokso centrus)
2. Elektroninio laidumo polimerai (polimerai iš aromatinių aminių; polimerai iš aromatinių heterociklinių junginių; polimerai iš neheterociklinių aromatinių junginių; kiti polimerai)
3. Elektroninio laidumo polimerai su redokso grupėmis
4. Kopolimerai
5. Sudėtinės medžiagos.

Kai kurių CP laidumas panašus į metalų arba puslaidininkių [5] ir yra susijęs su konjuguota elektronine struktūra, kuri palaiko krūvio judėjimą išilgai polimero grandinės. Šie polimerai pasižymi paprasta sinteze ir lengvai modifikuojama chemine struktūra, kas leidžia kontroliuoti polimero savybes [6]. Tai daro CP tinkamus medžiagų, kurios gali reaguoti į išorinius dirgiklius [7], kūrimui.

CP laidumas priklauso nuo  $\pi$  ryšių sistemos, sudarytos iš polimero grandinėje vienas po kito einančių viengubų ( $\sigma$ ) ir dvigubų ( $\pi$ ) ryšių [8]. Plokštumų išsidėstymas bei  $p$  ir  $s$  orbitalės leidžia dvigubiems ryšiams persikloti. Nesuporuoti elektronai yra delokalizuoti per visą polimero ilgį [9]. Kadangi  $\pi$  ryšių sąveikos silpnesnės už  $\sigma$  ryšių, elektronai lengviau pasišalina iš  $\pi$  ryšių ir sudaro palankias sąlygas cheminėms reakcijoms vykti. Tai taip pat rodo, kad konjuguoti junginiai gali pasižymėti puslaidininkių arba metalų savybėmis [10]. Šie konjuguoti polimerai pagal struktūrą skirstomi į linijinius ir aromatinius (homo ir heteroaromatinius) (1A pav.).

Homoaromatinės medžiagos dažniausiai sudaryti iš benzeno žiedų, o heteroaromatiniuose vienas anglies atomas pakeistas kitu atomu kaip pavaizduota 1A pav. Skirtingai nuo linijinių ir homoaromatinių, heteroaromatiniai polimerai turi ne tik aromatinę, bet ir chinono formą (1B pav.).



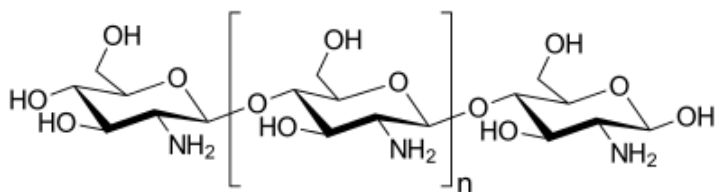
**1 pav.** Pagrindinė konjuguotų polimerų klasifikacija (A), polipirolo mezomerinės aromatinė ir chinono formos (B).

Toliau šiame skyriuje plačiau aprašomi CP ir kopolimerai, kurie naudojami šio darbo eksperimentiniuose tyrimuose: tokie kaip polifolatas (PFA), poliriboflavinas (PRf), bei stabilumą suteikiantys elektroaktyvūs polimerai – chitozanas (Chit) ir poli-L-lizinas (PLL).

### 1.1.1. Chitozanas

Chitozanas (Chit) yra natūralus polimeras, sudarytas iš deacetilinto gliukozamino 2 pav., turinčio trijų tipų reaktyvias funkcines grupes:

1. vieną amino grupę
2. dvi pirmines hidroksilo grupes
3. dvi antrines hidroksilo grupes.



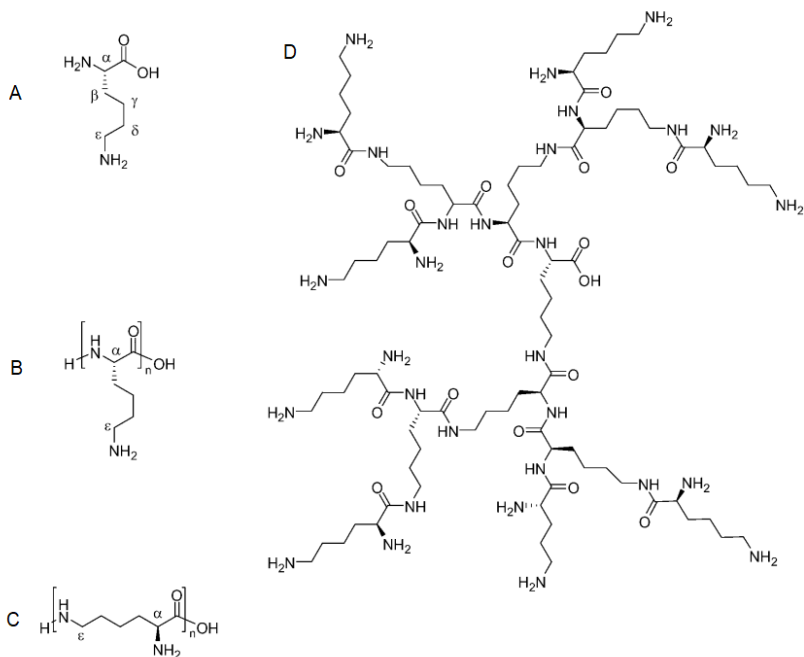
**2 pav.** Chitozано cheminė struktūra.

Dėl tokios struktūros Chit gali būti įvairiai modifikuojamas palaikyti chemines reakcijas tokias kaip sąveika su aldehidais ir ketonais, H ryšys su poliniais atomais, kryžminis susiejimas ir kt. [11]. Funkcines Chit plėvelių savybes galima pagerinti jas derinant su kitomis medžiagomis [12]. Be to, tai

yra elektroaktyvus polimeras, turintis hidrogelio savybių, todėl jis yra biologiškai suderinamas ir nekenksmingas aplinkai. Dėl šių savybių jis dažnai naudojamas kuriant elektrocheminius jutiklius [4, 13].

### 1.1.2. Poli-L-lizinas

PLL yra iš vienos amino rūgšties sudarytas polimeras, kuris dar vadinamas polilizinū. Kadangi L-lizino molekulėje yra dvi amino grupės (3 pav.) jis sudaro elektroaktyvų polimerą. PLL egzistuoja  $\alpha$ -PLL arba  $\varepsilon$ -PLL (dažniau aptinkamas gamtoje), arba dendritinės formos, kas priklauso nuo to, per kurią amino grupę vyksta polimerizacija, jungiantis prie  $\alpha$  arba  $\varepsilon$  anglies, kurių pK vertės atitinkamai yra 8,95 ir 10,53 [14]. Šis polimeras pirmą kartą aprašytas 1977 m. S. Shima ir H. Sakai [15], kaip natūralios fermentacijos produktas. Jis netrukus pradėtas vartoti kaip maisto konservantas.



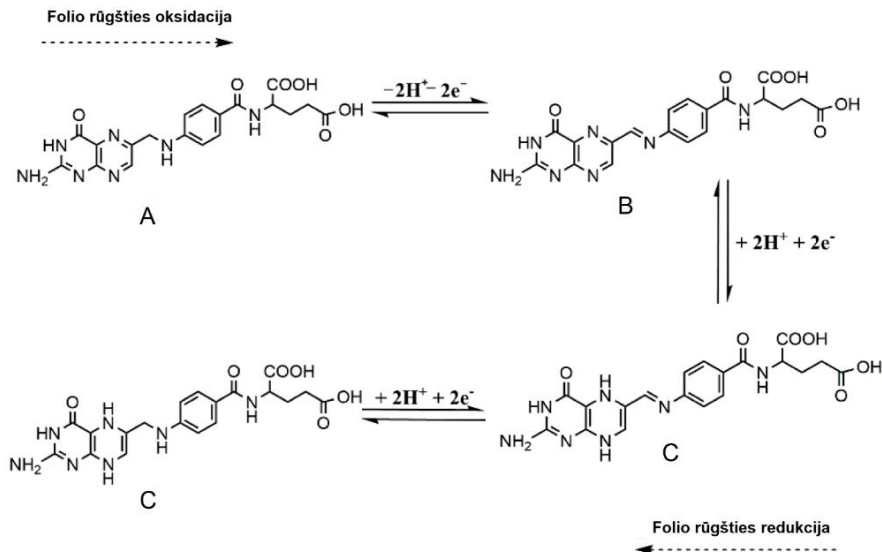
**3 pav.** L-lizino (A) ir įvairių poli(L-lizino) cheminės struktūros: linijinis  $\alpha$ -PLL (B), linijinis  $\varepsilon$ -PLL (C) ir 3 kartos dendritinis PLL (D) [16].

PLL atveju vandeniniuose tirpaluose, kurių pH yra mažesnis nei 10,7,  $\text{NH}_2$  grupės yra protonuotos. Ramano spektrai rodo, kad PLL turi atsitiktines spiralines struktūras [17]. Kai tirpale  $\text{pH} > 10,7$ , PLL įgyja  $\alpha$ -spiralinę konformaciją, o aukštesnėje temperatūroje ( $\geq 80$  °C) ji pereina į  $\beta$ -klosčių konformaciją [18]. Fiziologinio pH tirpale kiekviena PLL lizino grupė turi

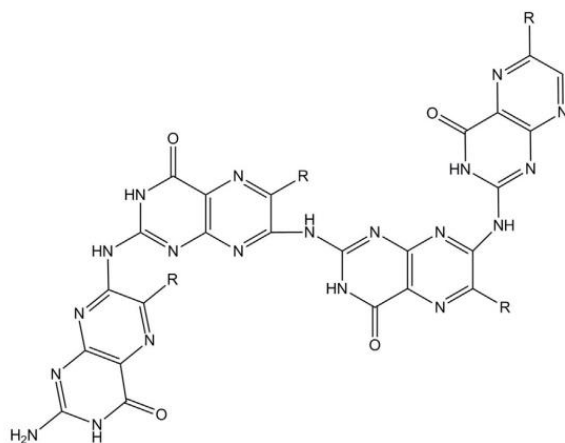
teigiamą krūvį, todėl gali jungtis su neigiamai įkrautais fosfolipidais. Medicinoje ir moksliniuose tyrimuose įvairios PLL formos taip pat naudojamos kaip polimerai, baltymų nešikliai, nanodalelės, hidrogeliai, fermentų inhibitoriai ir t. t. [19, 20]. PLL taip pat naudojamas ir elektrocheminiuose biojutikliuose, kuriuose jis sulaiko molekules arba nanoobjektus bei užtikrina nanodalelių biologinį suderinamumą kas sustiprina biojutiklių atsako signalą. Jis taip pat gali būti naudojamas citopatologijoje kaip katijoninis polielektrolitas [21].

### 1.1.3. Polifolatas

PFA yra laidus redokso polimeras (4 pav.), sudarytas iš elektrochemiškai polimerizuoto folato (FA) monomero, kuris yra deprotonuotos folio rūgšties arba (2S)-2-[[4-[(2-amino-4-okso-1H-pteridin-6-il)-metilamino]benzoil] amino] pentanedio rūgšties, forma, kuri dar vadinama vitaminu B9, kurią 1941 m. atrado Henry Mitchell. Tai sudėtingas heterociklinis junginys, kurio cheminė struktūra pavaizduota 4A pav. Be to, FA yra elektrochemiškai aktyvus heterociklinis redokso junginys, pasižymintis biologiniu aktyvumu. Įrodyta, kad jis gali būti polimerizuojamas elektrocheminiu būdu, sudarant laidų polimerą, kuris greičiausiai yra oligomeras [22].



**4 pav.** Elektrocheminis grįžtamasis FA (A) redukavimas į 5,8-dihydrofolio rūgštį (C) [23].



**5 pav.** Galima PFA tetramero cheminė struktūra. R = 2'-(4'-(metilamino)benzoamido pentanedio rūgštis [22].

FA buvo sėkmingai elektropolimerizuotas elektrodo paviršiuje, gaunant PFA (5 pav.), ir jis buvo panaudotas kaip pagrindas tolesniam gliukozės [24] ir dopamino [25] (bio)jautiklių kūrimui. FA polimerizacija reikalinga tam, kad šis junginys prisijungtų prie elektrodo paviršiaus kaip sunkiai tirpstančio arba netirpaus junginio forma. Yra du pagrindiniai FA prijungimo prie elektrodo paviršiaus metodai: naudojant kitą junginį, pvz., Chit [26, 22] arba naudojant polimerizaciją. FA polimerizaciją, kuriant dopamino jutiklį, pirmą kartą atliko M. He ir X. Zheng 2012 m. [25]. Pastebėta, kad geriausias elektrocheminis stabilumas ir homogeniškiausia PFA plėvelė buvo gauta polimerizuojant 2,0 pH tirpale [21]. Tačiau kai ši plėvelė buvo išbandyta kuriant biojautiklį, jos stabilumas ir jautrumas buvo nepatenkinami. O kai PFA plėvelė, nusėdusi fosfatinio buferinio druskos tirpale, pH 5,0, padengta grafeno-chitozano sluoksniu, pasižymėjo geru stabilumu [24]. Tai rodo, kad FA elektropolimerizacija ant elektrodo paviršiaus priklauso nuo nusodinimo tirpalo pH. Be to, skirtingos nusodinimo terpės lėmė paviršiaus morfologijos pokyčius [22].

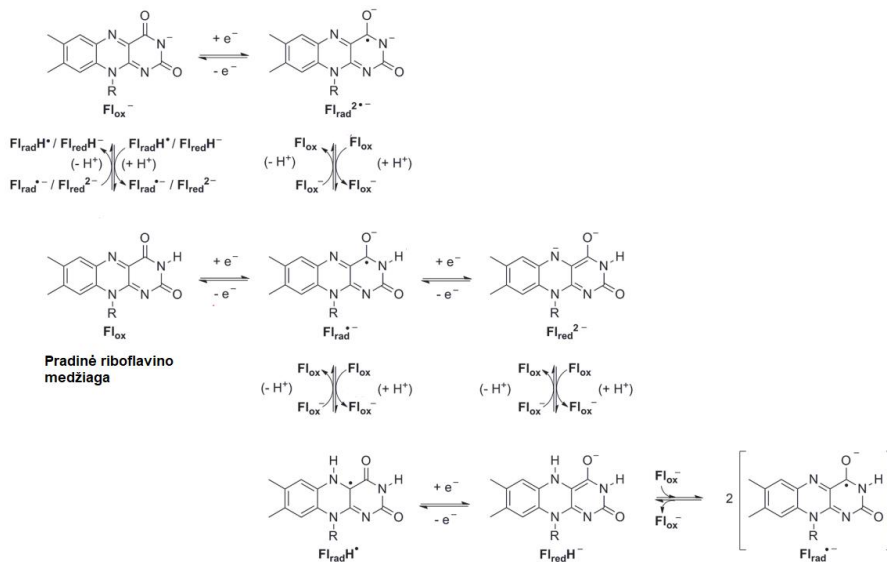
#### 1.1.4. Poliriboflavinai

Prf yra laidus redokso (6 pav.) polimeras sudarytas iš polimerizuoto vitamino B2 arba riboflavino (Rf) (7,8-dimetil-10-[(2S,3S,4R)-2,3,4,5-tetrahidroksipentil]benzo[g]pteridin-2,4-diono) dar vadinamo vitaminu G [27]. Rf yra abiejų kofaktorių – flavino adenino dinukleotido ir flavino mononukleotido, sudedamoji dalis [28]. Pirmą kartą geltonai žalia fluorescencija pasižymintį pigmentą 1872 m. piene atrado A.W. Blyth, tačiau

riboflavinu buvo pavadintas tik 1930 m. pradžioje. Riboflavinas buvo antrasis išgrynintas vitaminas, o vitamino maistinė reikšmė įrodyta 1939 m. [29].

Kaip matyti iš 6 pav., Rf sudaro izoaloksazino žiedas ir ribitilo grandinė, todėl vitaminas B2 yra elektroaktyvus [30]. Be to, dėl savo amido grupių, jis gali būti polimerizuojamas elektrochemiškai. Polimerizuoto produkto kokybė priklauso nuo polimerizacijos sąlygų. Paprastai siekiant tirti Rf elektrochemines savybes prie elektrodo paviršiaus iš prisotintų vandeninių tirpalų jis prijungiamas paprasta fizikine adsorbcija [31]. Taip pat jutiklių kūrimui gaminamos sudėtinės plėvelės su anglies nanomedžiagomis [32, 33, 24].

Pirmą kartą elektrocheminiu būdu PRf susintetino Y.N Ivanova ir A.A Kariakin 2004 m. [35]. Autoriai ant stikliškosios anglies elektrodų elektropolimerizavo įvairius flavinus ir ištyrė jų elektroaktyvumą. Tačiau daugiau dėmesio tame darbe skirta kofaktoriams, t. y. FAD ir FMN, o ne Rf.

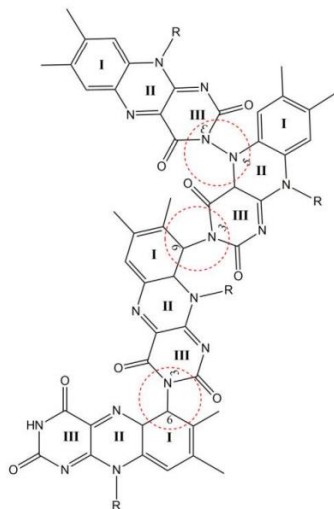


**6 pav.** Elektrocheminiai grįžtamieji Rf redokso procesai. R = D-ribitilo grupė [36].

Po išsamesnių Rf polimerizacijos tyrimų [27] buvo įrodyta, kad Rf gali būti elektrochemiškai polimerizuojamas esant skirtingomis sąlygomis, tačiau stabiliausia PRf plėvelė gaunama neutraliame fosfatinio buferio druskos tirpale. Ramano spektrai parodė, kad PRf egzistuoja oksiduota forma. Abu atspindžio ir absorbcijos infraraudonosios spinduliuotės (RAIRS) ir Ramano spektroskopijos duomenys rodo, kad izoaloksazino žiedas III dalyvauja polimerizacijos procese (7 pav.). PRf, suformuotų ant Au elektrodo pH 7,0 buferiniame tirpale, RAIRS spektre matomas platus ruožas ties  $1148\text{ cm}^{-1}$ . Jis



priskirtas C—N ryšių tempimo vibracijai, susidariančiai izoaloksazino žiedų polimerizacijos metu. Labiausiai tikėtina, kad polimerizacija vyksta tarp III žiedo N3 atomo ir I žiedo C6 atomo (7 pav.). Mažiau tikėtina polimerizacija tarp III ir II izoaloksazino žiedų per N3 ir N5 jungtis.



**7 pav.** Galima PRf tetramero cheminė struktūra. R = D-ribitilo grupė [4].

## 1.2. Elektrocheminiai jutikliai

Cheminis jutiklis tai prietaisas, kuris cheminius duomenis, pradėdamas vieno komponento koncentracija ir baigiant visos sudėties analize, paverčia analitiškai naudingą signalu. Dažniausiai cheminį jutiklį sudaro du pagrindiniai funkciniai vienetai: receptoriai ir fizikinis-cheminis keitiklis. Receptoriai yra įvairūs ir gali kisti nuo aktyvuotų ar legiruotų paviršių iki sudėtingų (makro)molekulių, sukurančių specifinę sąveiką su analite [37]. O elektrocheminiai jutikliai – tai cheminių jutiklių klasė, kurioje sąveikaujant su analite, kaip keitiklio elementas naudojamas elektrodas (8A pav.) [38]. Elektrocheminio jutiklio signalas paprastai gaunamas iš elektrinio atsako, atsižvelgiant į analizės buvimą. O elektrocheminiai jutikliai skirstomi į keturias kategorijas [37]:

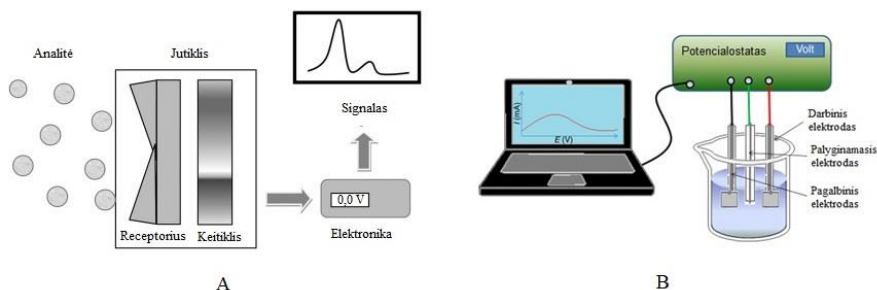
1. Potenciometriniai
2. Amperometriniai
3. Impedimetriniai
4. Voltamperometriniai

Potenciometrinių jutiklių atveju ties darbinio elektrodu matuojamas elektronų kiekis arba įtampa, lyginant su palyginamuoju elektrodu, kai tarp jų neteka srovė [39]. Dėl specifinės jutiklio ir analizės sąveikos susidaro Nernst'o

pusiausvyra, kurios metu sistemoje neteka srovė, ir kas suteikia informaciją apie analitės koncentraciją. Ši sąveika apibūdinama naudojant Nernst'o lygtį [40]:

$$E_{\text{cell}} = E_{\text{cell}}^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Ox}]}{[\text{Red}]} \quad (1),$$

kur  $E_{\text{cell}}$  – celės potencialas tiriamoje temperatūroje (mV),  $E^{\circ}$  – standartinis celės potencialas (mV),  $R$  – dujų konstanta ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ),  $T$  – absoliučioji temperatūra (K),  $n$  – reakcijos metu perduotų elektronų skaičius,  $F$  – Faradėjaus konstanta ( $96500 \text{ C mol}^{-1}$ ),  $[\text{Ox}]$  – oksiduotos formos koncentracija, o  $[\text{Red}]$  – redukuotos formos koncentracija.



**8 pav.** Bendra elektrocheminio jutiklio schema (A) ir elektrocheminis elementas su trijų elektrodų sistema (B) [38].

Amperometriinių jutiklių atveju darbiniam elektrodai suteikiama įtampa, kuri sukelia oksidacijos ir redukcijos reakcijas, kurios išskiria srovę, išmatavus susidariusią srovę galima nustatyti analitės koncentraciją naudojant Cottrell'o lygtį [35]:

$$i = \frac{nFAC_0\sqrt{D_j}}{\sqrt{\pi t}} \quad (2),$$

kur  $i$  yra srovė (A),  $n$  – elektronų skaičius,  $F$  – Faradėjaus konstanta ( $96500 \text{ C mol}^{-1}$ ),  $A$  – elektrodo plotas ( $\text{cm}^2$ ),  $C_0$  – pradinė redokso junginio koncentracija ( $\text{mol cm}^{-3}$ ),  $D_j$  – difuzijos koeficientas ( $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ),  $t$  – laikas (s).

Impedimetrinių jutiklių atveju specifinės analitės ant elektrodo reakcijos ir kiekybinis įvertinimas vyksta matuojant paviršiaus impedanso pokyčius [6]. O voltamperometriinių jutiklių atveju darbiniam elektrodai suteikiamas potencialas ir išmatuojama vykstančių elektrocheminių oksidacijos arba redukcijos reakcijų srovė. Srovės atsakas paprastai gaunamas smailės pavidalu, jos aukštis proporcingas redokso junginių koncentracijai [41]. Redokso smailė aprašoma naudojant Randles–Ševčik lygtį [412]:

$$I_p = 0,4463 nFAC \sqrt{\frac{nFvD}{RT}} \quad (3),$$

kur  $I_p$  yra srovė (A),  $n$  – elektronų skaičius,  $F$  – Faradėjaus konstanta (96500 C mol<sup>-1</sup>),  $A$  – elektrodo plotas (cm<sup>2</sup>),  $C$  – redokso junginio koncentracija (mol cm<sup>-3</sup>),  $D$  – redokso junginio difuzijos koeficientas (cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>),  $T$  – absoliučioji temperatūra (K),  $v$  – įtampos skleidimo greitis (V s<sup>-1</sup>),  $R$  – dujų konstanta (8,314 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>).

Elektrocheminiai jutikliai turi daug privalumų, įskaitant didelį jautrį, su maža aptikimo riba (angl. LOD) [43]; greitą atsaką, dėl kurio jie tinka tirti judančią terpę ir naudoti sistemose reikalaujančiose greito pokyčio aptikimo; paprastumą, leidžiantį praktiškai neribotą geometrijos, elektrodų medžiagų ir konfigūracijų įvairovę; paprastą naudojimą (paprasta ir nebrangi įranga, galimybė integruoti kaip aptikimo modulį į įvairias analizės sistemas). Vienas iš plačiausiai naudojamų metodų apskaičiuoti LOD yra vadinamas  $3\sigma$ . Šio metodo esmė kelis kartus atliekami mėginio be tiriamojo junginio matavimai, tada rezultatai perskaičiuojami į koncentracijos vienetus ir apskaičiuojamas standartinis nuokrypis. Šis statistinis rodiklis padauginamas iš 3 ir gaunamas rezultatas – aptikimo riba. Jei mėginių be tiriamojo junginio nėra, vietoj jų gali būti naudojamas mažiausios koncentracijos tirpalas. Tačiau, LOD galioja tik tada, kai ji yra didesnė už naudotos koncentracijos penktadalį [44].

### 1.2.1. Potenciometriniai jutikliai

Potenciometriniai jutikliai plačiai naudojami nuo XX a. ketvirtojo dešimtmečio pradžios ir jie pasižymi paprastumu ir nedidele kaina. Potenciometriniai elektrodai skirstomi į tris kategorijas [37]:

1. Atrankūs jonų elektrodai
2. Membrana padengtos vielos elektrodai
3. Lauko efekto tranzistoriai.

Konstruojant vienai medžiagai atrankų elektrodą naudojama membrana, kurios tipas ir sudėtis įtakoja šio elektrodo atsaką. Šio tipo elektrodai gali tirti įvairius junginius, o vienintelis apribojimas yra membranos matricos legiruojančių medžiagų ir jonų sudėtis. Pagal membranos tipą atrankūs jonų elektrodai gali būti skirstomas į tris kategorijas: stiklo elektrodai, skysti elektrodai ir kieti elektrodai.

Jau kelis dešimtmečius pH elektrodai yra plačiausiai naudojami potenciometriniai prietaisai. Kai kuriems pH elektrodams gaminti naudojama plona jonams jautri stiklo membrana. Vis dėlto, pH nustatymui galima naudoti ir kitų tipų potenciometrinius jutiklius, kuriuose naudojami organiniai

polimerai (pvz., polimetileno mėlynasis) arba redokso aktyvios molekulės (pvz., ferocenai ir chinonai). Stiklinių membraninių elektrodų naudojimas pH tirpalams nustatyti pasirodė esąs labai efektyvus, tačiau dabar jis apsiriboja tik matavimais vandeniniuose tirpaluose. Nustatant vandenilio jonų koncentraciją nevandeniniuose skysčiuose būtina kalibracija naudojant tirpalą [45].

### 1.2.2. Amperometriniai jutikliai

Amperometriniai jutikliai pagrįsti srovės, kuri susidaro elektroaktyvių molekulių oksidacijos ir redukcijos metu, kiekybiniu nustatymu, ši srovė yra proporcinga redokso junginio koncentracijai. Jutikliui reikalinga kontroliuojamo potencialo sistema, o elektrocheminį elementą sudaro du elektrodai, panašinti į atitinkamos sudėties analičių tirpalą. Dažniau naudojama sudėtingesnė trijų elektrodų celė (8B pav.), kurioje vienas iš elektrodų atlieka etaloninio elektrodo funkciją [46]. Darbinis elektrodas apibrėžiamas kaip elektrodas, kuriame vyksta dominantė reakcija, o palyginamasis elektrodas (pvz., Ag/AgCl arba Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) apibrėžiamas kaip elektrodas, kuris išlaiko pastovų potencialą, palyginti su darbinio elektrodu [47]. Kaip pagalbinis elektrodas dažnai naudojama inertinė laidžioji medžiaga (pvz., platina arba grafitas). Kontroliuojamo potencialo tyrimuose pagalbinė analizė būtina, kad būtų išvengta elektromigracijos efektų, sumažinta tirpalo varža ir išlaikytas pastovus jonų stipris [48, 49]. O analizės koncentracija įtakoja elektroaktyvių medžiagų oksidacijos ir redukcijos greitį bei srovės pokytį [50].

### 1.2.3. Impedimetriniai jutikliai

Naudojant impedimetrinis jutiklius tiriamasis objektas stimuliuojamas nedidelio dydžio kintamuoju potencialu ir naudojant atitinkamą modelį stebimas srovės pokytis, kai yra keičiamas dažnis, atsakas yra proporcingas ir priklausomas nuo analizės koncentracijos [39], esant pastoviai būsenai. Svarbus privalumas yra tai, kad leidžia eksperimento metu atlikti jautrius matavimus, turi galimybę teoriškai apdoroti atsaką naudojant apibendrintas tiesines srovės ir potencialo charakteristikas. Šie matavimai gali būti atliekami plačiame laiko ar dažnio diapazone, o dėl atsako pastovumo galima suskaičiuoti rezultatų vidurkį [51]. Šie jutikliai dažnai sudaryti iš polimerų arba polimerų su įkomponuotais laidininkais [52].

#### 1.2.4. Voltamperometriniai jutikliai

Voltamperometrinių jutiklių veikimas priklauso nuo elektrodų, naudojamų jiems paruošti, tipo ir kokybės. Anksčiau šiems jutikliams, dėl lengvo paviršiaus atkūrimo, atsinaujinimo ir lygumo, buvo naudojamas skysto gyvsidabrio elektrodas [53]. Tačiau dėl gyvsidabrio toksiškumo, pradėtos naudoti kitos medžiagos: taurieji metalai, anglies medžiagos ir CP [41, 54, 55] pavyzdžiui, stikliškosios anglies elektrodą (angl. GCE), pirolitinio grafito elektrodą (PGE), anglies pastos elektrodą, aukso ir platinos elektrodus, poli(3,4-etilendioksitiofeną) ir t. t. Voltamperometriniai jutikliai pagal užrašytų voltamperometrinių smailių potencialą gali lengvai atpažinti tiriamas medžiagas, o tai suteikia puikų atrankumą ir jautrį. Tačiau, naudojant voltamperometrinių jutiklių, pagrindinė problema yra susiliejusios smailės. Tai įvyksta, kai tiriamame tirpale esančių junginių oksidacijos ir redukcijos smailės susidaro ties panašiu potencialu, o gautos smailės persikloja. Tam išvengti naudojami elektrodai modifikuojami geliais su anglies nanovamzdeliais arba įvairiais polimerais, tokiu kaip polipiroly [56, 57].

#### 1.3. pH ir atrazino jutikliai

Tobulinant pH jutiklių technologiją daugiausia dėmesio skiriama jautriui, veikimo trukmei, biologiniam suderinamumui, greitam atsakui platesniuose pH diapazonuose, ekonomiškumui ir t. t., o tai pasiekama naudojant tinkamas pH jautrias medžiagas. Priklausant nuo taikymo, pH jutikliai gali būti elektrocheminiai (potenciometriniai, kondukciniai, talpiniai ir varžiniai) ir neelektrocheminiai (įskaitant kalorimetrinius ir optinius). Jautrūs elektrodai, kurie yra pagrindinė bet kurio elektrocheminio pH jutiklio sudedamoji dalis, daugiausia yra formuojami naudojant stiklo membranos elektrodus, metalų oksidus, metalus/metalų oksidus, polimerus ir anglies elektrodus. 1 lentelė. rodo pH jutiklių formavime naudojamų skirtingų medžiagų privalumus ir trūkumus.

Pagrindiniai atrazino nustatymo metodai yra masių spektrometrija, ELISA ir chromatografija. Naudojant šiuos metodus reikalinga įranga yra stambiagabaritė, stacionari, veikianti tik laboratorinėmis sąlygomis, o analizė yra ilga bei ją atlikti gali tik kvalifikuoti specialistai. Elektrocheminiai jutikliai, kurie yra greiti ir gali būti naudojami lauko sąlygomis, pradėti kurti palyginti neseniai, nuo ~ 2010 m. ir naujaisi yra nurodyti 2 lentelėje.

**1 lentelė.** Pagrindinių medžiagų, naudojamų elektrocheminiams pH jutikliams gaminti, palyginimas [58].

<b>Naudotos medžiagos</b> <b>Elektrodo charakteristikos</b>	<b>Stiklo elektrodai</b>	<b>Metalų oksidai</b>	<b>Polimerai arba anglies elektrodai</b>	<b>Metalai/Metalų oksidai</b>
Jautris	Arti Nernst'o atsako	Arti Nernst'o atsako	Arti Nernst'o atsako	Nuokrypis nuo Nernst'o atsako
Atsako greitis	Vidutinis	Greitas	Greitas	Greitas
Tikslumas	Didelis	Didelis	Didelis	Didelis
Stabilus pH intervale	Stabilus plačiame pH intervale	Stabilus ribotame pH intervale	Stabilus ribotame pH intervale	Stabilus ribotame pH intervale
Saugojimo laikas	Keleri metai	Keleri metai	Iki vienerių metų	Keleri metai
Atrankumas	Atrankus	Atrankus	Atrankus	Atrankus
Mechaninis ir cheminis stabilumas	Prastas	Geras	Geras	Geras
Panaudojimas miniatiūriniuose sistemose	Netinkamas	Lengvai pritaikomas	Lengvai pritaikomas	Lengvai pritaikomas
Lankstumas	Nelankstus	Lankstus	Lankstus	Nelankstus
Panaudojimas impedimetriniuose jutikliuose	Netinkamas	Gali būti naudojami	Priklausomai nuo polimero gali būti naudojami	Gali būti naudojami
Biosuderinamumas	Prastas	Prastas	Geras	Prastas
Kalibravimas	Reikalauja dažno kalibravimo	Priklausomai nuo sudėties	Priklausomai nuo sudėties	Priklausomai nuo sudėties
Skyra	Gera	Priklausomai nuo sudėties	Priklausomai nuo sudėties	Priklausomai nuo sudėties
Kaina	Priklausomai nuo sandaros	Priklausomai nuo sudėties	Priklausomai nuo sudėties	Priklausomai nuo sudėties

**2 lentelė.** Literatūroje publikuoti elektrocheminiai jutikliai atrazino nustatymui.

Elektrodas	Metodas	LOD*, nM	Jautris*, $\mu\text{A cm}^{-2} \mu\text{M}^{-1}$	LR*, $\mu\text{M}$	Lit. šaltinis
BDD	SWV	10,0	1,30	0,05–40	[59]
MIP/Au	DPV	1,0	122	0,0005–0,014	[60]
MWCNT-ZnO nanosiūlai/GCE	EIS	5,368 zM	21.61 ( $\text{k}\Omega \mu\text{g}^{-1} \text{mL}^{-1}$ ) $\text{cm}^{-2}$	10 zM–1 $\mu\text{M}$	[61]
Anti-ATZ/PANi/Gr/Pt	SWV	19,9	–	Iki 9,0	[62]
Anti-ATZ/MNP/PB/Au	DPV	51 pM	–	0,23-6.9 pM	[63]

\* Jei vienetai nesutampa, tai jie įrašyti papildomai.

Lentelėje naudojami santrumpos: BDD – deimantas legiruotas B; MIP – molekuliniai įspaudai o-fenilenediamine; DPV – diferencinio impulso voltamperometrija; Anti-ATZ/PANi/Gr – Antiatrazinas/ polianilinas/ grafenas; Anti-ATZ/MNP/PB – Antiatrazinas/ magnetinės nanodalelės/ Prusijos mėlis.

Literatūroje aprašyti ir praktikoje naudojami pH ir atrazino jutikliai turi įvairių trūkumų, kurie riboja jų panaudojimą, todėl reikia naujų ir modernių jutiklių. Siekiant išspręsti šią problemą šiame darbe kuriami nauji elektrocheminiai pH ir atrazino jutikliai naudojant pasirinktus CP.

## 2. EKSPERIMENTINĖ DALIS

### 2.1. Cheminės medžiagos ir tirpalai

Folio rūgštis, KCl, NaCl,  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ , L-lizinas ir chitozanas įsigyti iš Sigma Aldrich (Vokietija). Riboflaviną įsigytas iš Alfa Aesar (Vokietija). Neodisher FA (Dr. Weigert, Vokietija). Tris-HCl (Fisher BioReagents, Lietuva). 1,0, 0,3 ir 0,05  $\mu m$   $Al_2O_3$  iš ALS co., Ltd (Japonija). Reagentai buferiniams tirpalams ir pH palaikymui:  $NaH_2PO_4$ ,  $Na_2HPO_4$ , NaOH ir HCl iš ROTH GmbH (Vokietija). Visi naudoti reagentai analitinės klasės ir naudojami be tolimesnio gryninimo.

Vandeniai tirpalai ruošiami itin gryname MilliQ-vandenyje (varža 18,2 MWcm), iš Synergy 185 įrenginio su UV lempa (Millipore, JAV).

Elektrocheminiams eksperimentams kaip elektrolitas naudojamas 0,1 M natrio fosfato buferinis tirpalas su 0,15 M NaCl (PBS), pH  $6,00 \pm 0,09$  (0,085 M  $NaH_2PO_4$  ir 0,015 M  $Na_2HPO_4$ ),  $7,00 \pm 0,11$  (0,039 M  $NaH_2PO_4$  ir 0,061 M  $Na_2HPO_4$ ),  $8,00 \pm 0,14$  (0,006 M  $NaH_2PO_4$  ir 0,094 M  $Na_2HPO_4$ ) ir  $9,00 \pm 0,10$  (0,0007 M  $NaH_2PO_4$  ir 0,0993 M  $Na_2HPO_4$ ). Tačiau, kai kuriais atvejais elektrolitu naudojamas ir 0,1 M KCl su 0,01 M HCl priedu, pH  $2,00 \pm 0,04$ .

### 2.2. Metodai

Labai orientuoto pirolitinio grafito (angl. HOPG) elektrodo paviršiaus topografija analizuojama naudojant **atominės jėgos mikroskopiją** (angl. AFM), (NanoWizard 3, Bruker) su MLCT-A zondų (Bruker) kiekybinio vaizdavimo režimu. Kiekvienam nuskaitymui nustatomas  $10 \times 10 \mu m$  plotas,  $512 \times 512$  pikselių skiriamoji geba ir 1 nN pradinė jėga. Paviršiaus analizė atliekama ant nepadengto HOPG substrato (NTMTD, Airija), vėliau padengiamas Chit sluoksniu (Chit/HOPG) ir galiausiai – polifolatu (PFA/Chit/HOPG). Paviršiaus analizė ir vaizdų apdorojimas atliekamas naudojant JPK SMP duomenų apdorojimo (v6.1.120) programinę įrangą.

**Optinė mikroskopija** atliekama naudojant vertikalią fluorescencinę mikroskopą Olympus BX51 ("Olympus", Japonija), turintį objektyvus, kurie gali būti naudojami ore arba panardinus į vandenį ir CCD kamerą su Peltier aušinimu F-View II. Vaizdai gaunami naudojant "Stream motion" programinę įrangą ("Olympus", Vokietija), analizė atliekama naudojant viešai prieinamą vaizdų apdorojimo programą "ImageJ". Šviesaus lauko vaizdai gaunami ore.

Skenuojantys elektroniniai mikroskopai Helios NanoLab 650 (FEI) ir JSM-6490 LV (JEOL) naudojami tiriant lazeriu apdoroto poliimido (PI) bandinio paviršiaus morfologijos pokyčius. Bandiniai, kurie tiriami



**skenuojamosios elektroninės mikroskopijos (SEM)** metodu naudojami be jokio papildomo paruošimo. Vaizdai gaunami su "He-lios NanoLAB 650", kai įtampa 3-5 kV ir padidinama 1000-200000 kartų, o su "JSM-6490 LV" įtampa 7-10 kV ir padidinama 500-1000 kartų.

**Ramano spektroskopiniai tyrimai** atliekami naudojant Ramano spektrometrą/mikroskopą Via (Renishaw, JK) su termoelektriškai aušinamu (-70 °C) CCD detektoriumi. Bandiniai žadinami naudojant 632,8 nm bangos ilgio He-Ne lazerio apšvitą ir išskleidant 1200 griovelių/mm grotelėmis. Spektrai gaunami naudojant 50×/0,75NA objektyvą. Gaunami duomenys apdorojami su Voigto funkcija naudojant "OriginPro 8.5" programinę įrangą iš OriginLab Corporation, JAV.

**Drėkinimo kampo** (angl. CA) tyrimai atliekami norint nustatyti paviršiaus hidrofobiškumą. Šie tyrimai atliekami naudojant optinę kontaktinio kampo matavimo ir kontūrų analizės sistemą (OCA 15EC, Data-Physics Instruments GmbH) kartu su CCD kamera, kuria fiksuojami šoniniai vandens lašelių, užlašintų ant plokščių modifikuotų lazeriu-indukuotų grafeno (LIG) elektrodų, vaizdai. Švirkštu su 1 mm skersmens pipete ("Fisnar QuantX™", "Brand") užlašinamas 1 µL deionizuoto vandens lašas ant švarių LIG ir 3 µL ant Chit ir PFA/Chit modifikuotų elektrodų. Šviesos šaltinis su šviesą išskiriančiu diodu, vandens lašelis ir fotoaparatas sulygiuojami į vieną liniją. Todėl skaitmeniniu fotoaparatu užfiksuojama vandens lašelio projekcija. Analizė atliekama naudojant KRÜSS ADVANCE programinę įrangą.

**Elektrocheminiams tyrimams** naudojamas potencialostatas/galvanostatas CompactStat ("Ivium Technologies", Nyderlandai) su trijų elektrodų sistema. Plokščias ir lankstus LIG (1,0 x 2,0 cm, LIG355 arba LIG532) ant PI plėvelės, pirolitinio grafito elektrodas (PGE), HOPG (10x10 mm, aukštis 1,7 mm, ZYH orientacija), stikliškosios anglies elektrodas (GCE) ir aukso (Au) elektrodas naudojami kaip darbiniai elektrodai. Pagalbinis elektrodas – Pt viela, o palyginamasis – Ag/AgCl elektrodas (pripildytas sotočiuoju KCl tirpalu). Visi tolimesniuose tyrimuose pateikiami potencialai nurodomi šio elektrodo atžvilgiu.

Elektrocheminiams tyrimams naudojami šie metodai: ciklinė voltamperometrija (CV), chronoamperometrija (ChA), potenciometrija (PA), elektrocheminė impedanso spektroskopija (EIS) ir kvadratinės bangos voltamperometrija (angl. SWV). Gaunami duomenims nubraižomi naudojant OriginPro 9 (OriginLab Corporation, JAV).

Palyginamieji **pH tyrimai** atliekami naudojant PH211 mikroprocesorinį "Hanna Instruments" (JAV) pH matuoklį.

### 2.3. Elektrodo paruošimas

Elektrodo savybės ir panaudojimas priklauso nuo jų sudedamųjų komponentų ir struktūros. Šiame darbe įvairiems tyrimams ir gaunamų dangų efektyvumo palyginimams naudojami skirtingi elektrodai: elektrocheminiai – PGE, GCE, Au ir LIG, atominės jėgos mikroskopijai – HOPG. LIG naudojami optinės ir skenuojančios elektronų mikroskopijū, Ramano spektroskopijos ir drėkinimo kampo tyrimams.

Prieš modifikavimą **PGE** paviršius su "MiliQ" vandeniu sudrėkintu "Sunmigt" švitrinu popieriumi P800 (JAV), kruopščiai poliruojamas 10 s, po to nuplaunamas "MiliQ" vandeniu. Po mechaninio poliravimo elektrodas poliruojamas elektrochemiškai 0,1 M KCl tirpale, pakartotinai skleidžiant potencialą nuo  $-1,0$  V iki  $+1,0$  V, skleidimo greitis  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , kartojama ne mažiau kaip 50 ciklų, kol gaunamos pastovios voltamogramos. Tolimesniuose tyrimuose nupoliruotas PGE elektrodas dengiamas reikalingais polimerais.

Modifikuojant polifolatu paruoštą elektrodą, pirmiausia PGE plaunamas MiliQ vandeniu ir perkeliama į elektropolimerizacijos tirpalą, sudarytą iš 0,1 M PBS, pH 6,0, ir 1,0 mM FA. PFA gaunamas pakartotinai skleidžiant potencialą nuo  $-1,0$  V iki  $+1,5$  V, kai potencialo skleidimo greitis  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , kol redokso smailių srovės tankis nebedidėja, ne mažiau kaip 32 ciklus.

Kitais atvejais dengiant PFA/Chit, PGE elektrodas po mechaninio ir elektrocheminio poliravimo nuplaunamas MiliQ vandeniu. Tada jis lašinant padengiamas 1 % Chit ištirpinto 1 % acto rūgšties tirpale ir džiovinamas ore vieną dieną. Po džiovinimo modifikuotas elektrodas perkeliama į elektropolimerizacijos tirpalą ir polimerizuojamas pagal anksčiau nurodytą procedūrą 41 ciklą.

Nupoliruotas PGE elektrodas dengiamas Rf polimeru; tam naudojamas 0,1 M PBS, pH 6,0, ir 1,0 mM Rf tirpalas. Elektropolimerizacijos procedūra tokia pat kaip ir PFA atveju.

Paruoštas PGE dengiamas Rf ir LL bei FA ir LL kopolimerais; tam naudojami polimerizacijos tirpalai sudaryti iš 0,1 M PBS, pH 5,5, ir 0,1 M  $\text{K}_2\text{SO}_4$ . Norint gauti PRf-PLL dangą, tirpale papildomai po 1,0 mM LL ir Rf, o elektrodą dengiant PFA-PLL, polimerizacijos tirpale yra 1,0 mM LL ir 0,1 mM FA, potencialas skleidžiamas tarp  $-1,1$  V ir  $+2,2$  V, polimerizacijos parametrai tokie pat kaip ir PGE dengiant FA polimeru.

**HOPG** elektrodo paviršius atnaujinamas nuplėšiant viršutinį sluoksnį lipnia juosta, padengimas FA polimeru: pirmiausia lašinant padengiamas  $50 \mu\text{L}$  1 % acto rūgšties su 1 % Chit tirpalu ir džiovinamas ore 1 dieną. Tada ant paviršiaus lašinama  $150 \mu\text{L}$  to paties FA elektropolimerizacijos tirpalo. Į lašelį įdedami mikro Pt vielos pagalbinis ir mikro Ag/AgCl palyginamasis

elektrodai, o PFA sintetinamas taikant tą pačią procedūrą kaip ir polimerizijos ant PGE atveju, tik potencialų skleidimas atliekamas 10 ciklų.

Prieš modifikavimą **GCE** paviršius kruopščiai nupoliruojamas iki veidrodinio blizgumo, naudojant 1,0, 0,3 ir 0,05  $\mu\text{m}$  dydžio  $\text{Al}_2\text{O}_3$  suspensijas ir nuplaunamas MiliQ vandeniu. Po mechaninio poliravimo, elektrodas poliruojamas elektrochemiškai tokiomis pačiomis sąlygomis kaip ir PGE elektrodas.

Nupoliruoto GCE elektrodo padengimas Chit ir FA polimerais vyksta polimerizuojant tokiomis pat sąlygomis kaip PGE elektrodo atveju, tik polimerizacija atliekama potencialą sleidžiant 54 ciklus.

FA arba Rf polimerizacija ant nupoliruoto GCE, su 0,1 M PBS ir 1,0 mM FA (pH 5) arba 10,0 mM Rf (pH 7) tirpalu, polimerizacija atliekama taip pat kaip ir padengiant PGE PFA.

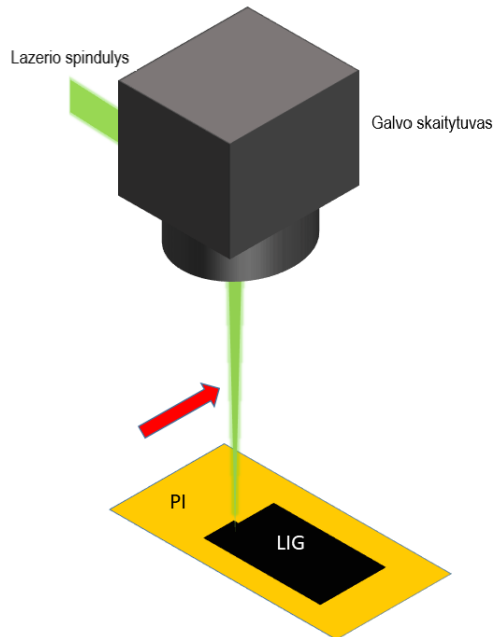
Toliau GCE padengiamas FA ir Rf kopolimerais. Priklausant nuo naudotų monomerų santykio gaunami PFA-PRf3 (FA ir Rf santykis 1:3), PFA-PRf5 (1:5) ir PFA-PRf10 (1:10). Nupoliruotas GCE perkeliamas į elektropolimerizacijos tirpalą, sudarytą iš 0,1 M PBS, pH 6,0, ir FA su Rf, jų kiekis priklauso nuo monomerų santykio galutiniame kopolimere (šiuo atveju 1 atitinka 1 mM). Elektropolimerizacijos procesai tokie pat kaip ir FA polimerizacijos ant PGE.

Nupoliruoto GCE padengimas FA ir LL kopolimeru atliekamas taip pat, kaip šiuo kopolimeru dengiant PGE tik potencialas skleidžiamas 20 ciklų.

Prieš modifikavimą **Au** paviršius nuplaunamas MiliQ vandeniu. Elektrodas poliruojamas elektrocheminiu būdu 0,5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  tirpale, pakartotinai skleidžiant potencialą nuo  $-0,3$  V iki  $+1,7$  V, skleidimo greitis  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ , ne mažiau kaip 100 ciklų, kol gaunamos pastovios švarų elektrodą atitinkančios voltamogramos. Au elektrodo padengimas PFA atliekamas pakartotinai skleidžiant potencialus 0,1 M PBS, pH 6,0, ir 1,0 mM FA tirpale. Naudojamas potencialas nuo  $-0,64$  V iki  $+0,94$  V, kai potencialo skleidimo greitis  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ , ne mažiau kaip 100 ciklų.

**LIG** suformuojamas ant  $127$   $\mu\text{m}$  storio PI plėvelės paviršiaus naudojant pikosekundinį lazerį "Atlantic" ("Ekspla", Lietuva). Lazerio impulso trukmė  $10$  ps, impulsų papildymo dažnis –  $100$  kHz, o švitinimo bangos ilgiai –  $355$  nm ir  $532$  nm. Spinduliai kontroliuojami naudojant SANLAB (Vokietija) galvo skenerius SCANcube ( $355$  nm bangos ilgiui) ir hurrySCAN ( $532$  nm bangos ilgiui). Toliau tekste šie LIG bandiniai atitinkamai vadinami LIG355 ir LIG532. PI plėvelė dedama  $4$  mm virš fokuso ( $355$  nm bangos ilgio spindulys) arba fokuso plokštumoje ( $532$  nm bangos ilgio spindulys), o stačiakampio formos ( $1,0 \times 2,0$  cm) nuskaitomos lazerio spinduliu (9 pav.).

Lazerinio apdorojimo parametrai pateikiami 3 lentelėje. Šie lazerinio apdorojimo parametrai nustatomi prieš PI švitinimą.



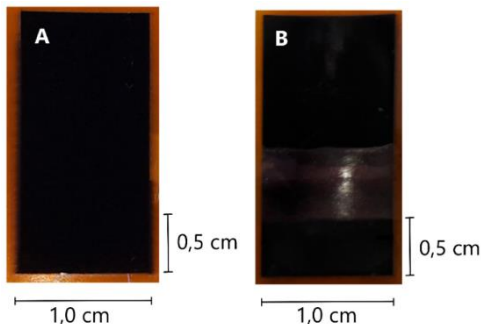
**9 pav.** LIG formavimas naudojant pikosekundinio lazerio konfigūraciją.

**3 lentelė.** LIG formavimo lazeriniu parametrai.

<b>Bandinys</b>	<b>LIG355</b>	<b>LIG532</b>
Bangos ilgis, nm	355	532
Švitinimo galia, mW	200	500
Nuskaitymo greitis, mm/s	10	50
Pakartojimai	5	5
Lukštenimas, $\mu\text{m}$	10	10
Pozicija spindulio fokusu atžvilgiu	4 mm virš fokuso	Ties fokusu

Prieš modifikavimą LIG paviršius nuplaunamas "MiliQ" vandeniu ir išdžiovinamas  $\text{N}_2$  srove. Atliekant elektrocheminius tyrimus, į tirpalą panardinama 1,0 x 0,5 cm dydžio elektrodo dalis. Ji nuo likusio elektrodo izoliuojama chitozono danga, kuri iš viršaus padengiama nagų laku (10 pav.). Po to elektrodas elektrochemiškai poliruojamas 0,1 M KCl tirpale, pakartotinai skleidžiant potencialą nuo  $-1,0$  V iki  $+1,0$  V, kai skenavimo

greitis  $200 \text{ mV s}^{-1}$ , ne mažiau kaip 20 ciklų, kol gaunama pastovi voltamperograma. Modifikuojant elektrodą su PFA, elektropolimerizacijos parametrai tokie pat kaip ir PFA padengimo ant PGE metu, tik su LIG skleidimo potencialas tarp  $-1,5 \text{ V}$  ir  $+1,7 \text{ V}$ , potencialo skleidimo greitis  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , o ciklų skaičius 75 (su LIG355) ir 72 (su LIG532).



**10 pav.** 1,0 x 2,0 cm LIG elektrodų nuotraukos. LIG elektrodas (A) su pasirinkta 1,0 x 0,5 cm eksperimentine dalimi ir LIG elektrodas, kurio eksperimentinė dalis izoliuota chitozano danga su nagų laku (B).

Kitais atvejais į tirpalą panardinama  $0,5 \text{ cm}^2$  dalis padengiama  $70 \mu\text{L}$  1 % Chit tirpalo 1 % acto rūgštyje ir džiovinama ore 1 dieną. Tada atliekama elektropolimerizacija, kaip aprašyta ant nepadengto LIG elektrodo, ir džiovinama ore 1 dieną, taip gaunami modifikuoti elektrodai, kurie užrašomi PFA/Chit/LIG355 arba PFA/Chit/LIG532.

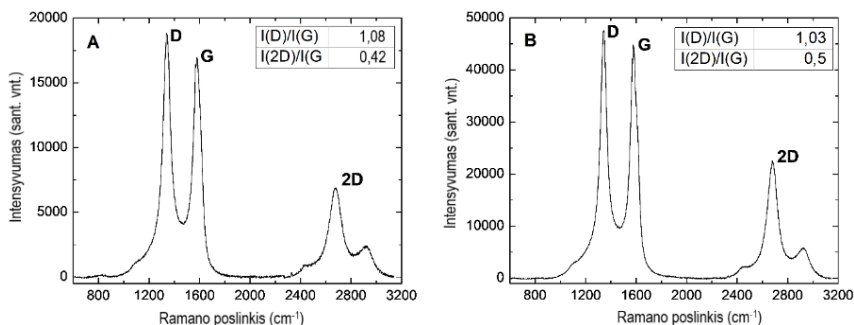
### 3. REZULTATAI

#### 3.1. Nemodifikuotų elektrodų tyrimai

Priklausomai nuo elektrodo struktūros, jų analizei naudojami skirtingi metodai. PGE ir GCE tiriami naudojant CV ir EIS, o LIG elektrodai naudojant Ramano spektroskopiją, optinę mikroskopiją, SEM, CV ir EIS.

##### 3.1.1. Ramano spektroskopija

LIG struktūra tiriama naudojant Ramano spektroskopiją. Ramano spektrai gali būti surenkami iš mažo tūrio (skersmuo mažesnis už 1  $\mu\text{m}$ , o įsiskverbimo gylis – keli šimtai nanometrų). Kitas privalumas yra tas, kad tai yra nedestruktyvus (jei lazerio galia analizuojamame plote yra mažesnė nei 1 mW), paprastas (nereikalingas mėginio paruošimas, milteliai gali būti analizuojami tiesiogiai) ir greitas metodas [64]. Dėl šių savybių Ramano spektroskopija yra viena geriausių priemonių anglies nanomedžiagų apibūdinimui. LIG355 ir LIG532 Ramano spektrai pateikiami 11 pav. Abiejų bandinių spektruose matomos išryškėjusios smailės, būdingos daugiasluoksniui grafenui. Be to, abiejuose spektruose matomas panašus intensyvumas,  $I(D)/I(G)$  santykis artimas 1, ir tuo patvirtinami identiški taškiniai defektai abiejose medžiagose. Iš išsamesnės spektrinių savybių analizės matoma, kad LIG532 smailių pločiai ties puse aukščio (angl. FWHM) yra siauresni nei LIG355 bandinio (4 lentelė), tuo įrodoma, kad LIG532 turi mažiau struktūrinių defektų nei LIG355. Taip pat LIG532 gerokai didesnis  $I(2D)/I(G)$  santykis (0,5, lyginant su 0,42 LIG355), rodantis, kad šiame bandinyje susiformavusi LIG struktūra yra artimesnė į grafeną panašiai kristalinei struktūrai, nes didelio intensyvumo 2D juosta yra ryškus grafeno struktūrų, sudarytų iš kelių sluoksnių, bruožas.



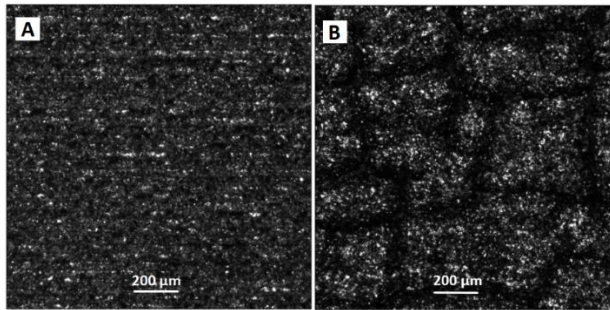
11 pav. Išmatuoti LIG355 (A) ir LIG532 (B) bandinių Ramano spektrai.

**4 lentelė.** LIG355 ir LIG532 mėginių spektrinių linijų FWHM.

Bandinys	LIG355	LIG532
FWHM (D), $\text{cm}^{-1}$	88,2	79,7
FWHM (G), $\text{cm}^{-1}$	77,6	71,5
FWHM (2D), $\text{cm}^{-1}$	131	106

### 3.1.2. Mikroskopiniai tyrimai

LIG elektrodų paviršių kokybė tiriama stebint jų topografiją naudojant optinę ir skenuojančią elektronų mikroskopijas.

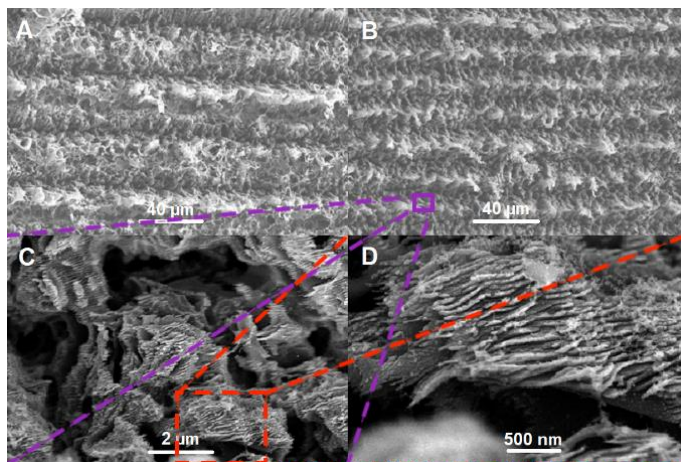


**12 pav.** Optinės mikroskopijos vaizdai: LIG355 (A) ir LIG532 (B). Abiem atvejais didinimas 10 kartų.

Pirmiausia abiejų LIG bandinių paviršiaus morfologijos tyrimai atliekami naudojant optinį mikroskopą. Atliekant tyrimus su LIG355 (12A pav.) matomas šiurkštus paviršius su neryškiomis lazerio paliktomis linijomis. Ši struktūra gali būti sudaroma, kai iš PI plėvelės medžiaga pašalinama išgarinant ar vykstant tolimesniam paviršiaus karbonizacijos procesui [65]. Kitoks vaizdas ant LIG532 (12B pav.), paviršiuje matomos įtrūkimus primenančios struktūros. Kurios sudaromos N, H ir O virtimo į dujas metu ir dėl tolimesnės karbonizacijos ir tūrio didėjimo [65]. Be to, pastebima, kad LIG355 ir LIG532 struktūrų spalva yra juoda, beveik nepastebima šviesos atspindžių. Todėl paviršių stebėjimas optiniu mikroskopu yra sudėtingas ir tikslesniems tyrimams naudojamas SEM.

LIG elektrodų analizė atliekama naudojant SEM (13 pav.). Ant abiejų elektrodų pastebimos periodinės struktūros, susidarančios skenuojant PI paviršių fokusuotu, impulsiniu lazerio spinduliu. Lazerio spinduliavimas suformuoja šiurkštų paviršių, suardydamas PI molekulių cheminius ryšius. Abiejuose bandiniuose matomos į dribsnius panašios struktūros. LIG355 atveju matoma, kad lazerio švitinimu suardomas paviršius, o dribsnių pasiskirstymas netolygus. Be to, lyginant su LIG532 paviršiumi, geriau

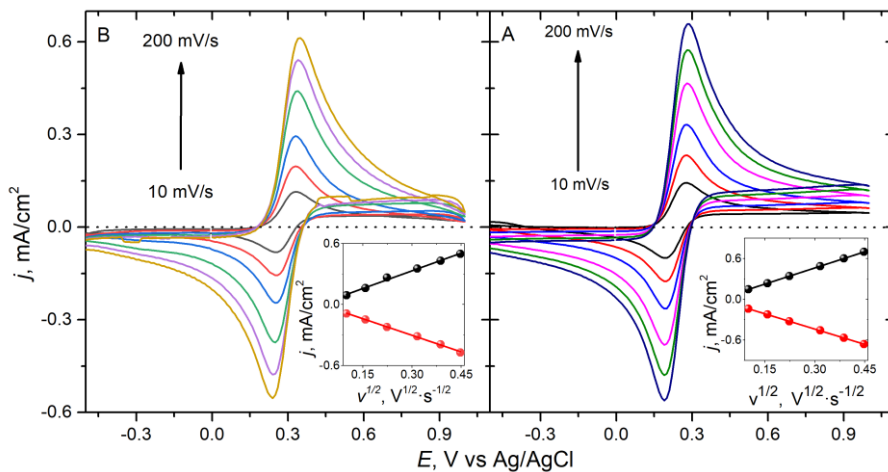
matomi dribsnių dydžio pokyčiai. LIG532 bandinio kelių sluoksnių grafeno struktūrų susidarymas pastebimas padidinant vaizdą (13C, D pav.).



**13 pav.** SEM vaizdai: LIG355 (A), LIG532 (B), kai didinimas 1000x. Dar labiau padidinti LIG532 elektrodo vaizdai: 20000x (C), 65047x (D).

### 3.1.3. Elektrocheminiai tyrimai

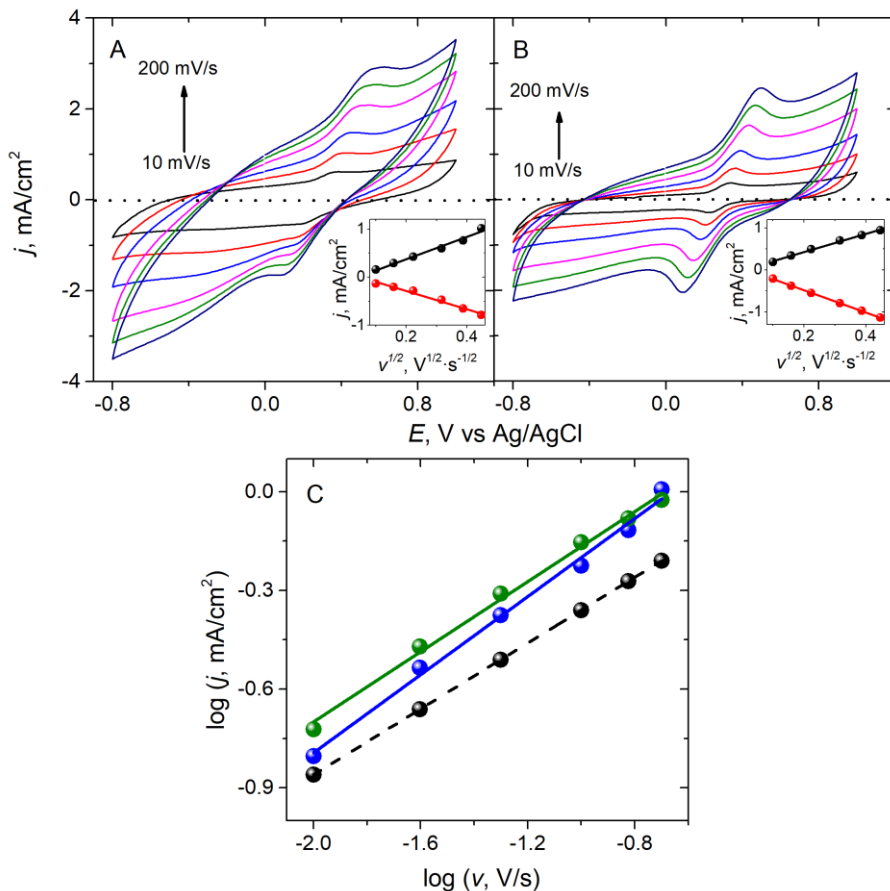
Tolesniam PGE, GCE ir LIG elektrodų paviršių tyrimui ir mikroskopinių tyrimų rezultatų patvirtinimui, naudojami elektrocheminiai metodai, tokie kaip CV (14 ir 15 pav.) ir EIS (16 ir 17 pav.).



**14 pav.** CV PGE (A) ir GCE (B) elektrodams 0,1 M KCl/HCl, pH 2,0, tirpale kuriame yra 2,0 mM  $K_4[Fe(CN)_6]$ , esant skirtingiems skleidimo greičiams (10, 25, 50, 100, 150 ir 200 mV s<sup>-1</sup>) atėmus foninę CV. Įterptuose A ir B grafikuose pateikta smalių srovės tankio priklausomybė nuo kvadratinės šaknies iš skleidimo greičio.



Kai kuriais atvejais, CV leidžia apskaičiuoti laidžių paviršių elektroaktyvius plotus ( $A_{EA}$ ) ir nustatyti kokio tipo redokso procesai vyksta naudojant tiriamus elektrodus. EIS duomenys analizuojami naudojant ekvivalentinių elektrinių elementų grandines, kurios leidžia tirti elektroaktyvių dalelių koncentracijos, krūvio ir masės pernašos iš tirpalo į elektrodo paviršių, elektrolito varžos įtaką elektrocheminiams procesams. Be to, šie duomenys leidžia nustatyti tiriamų elektrodų paviršiaus savybes.



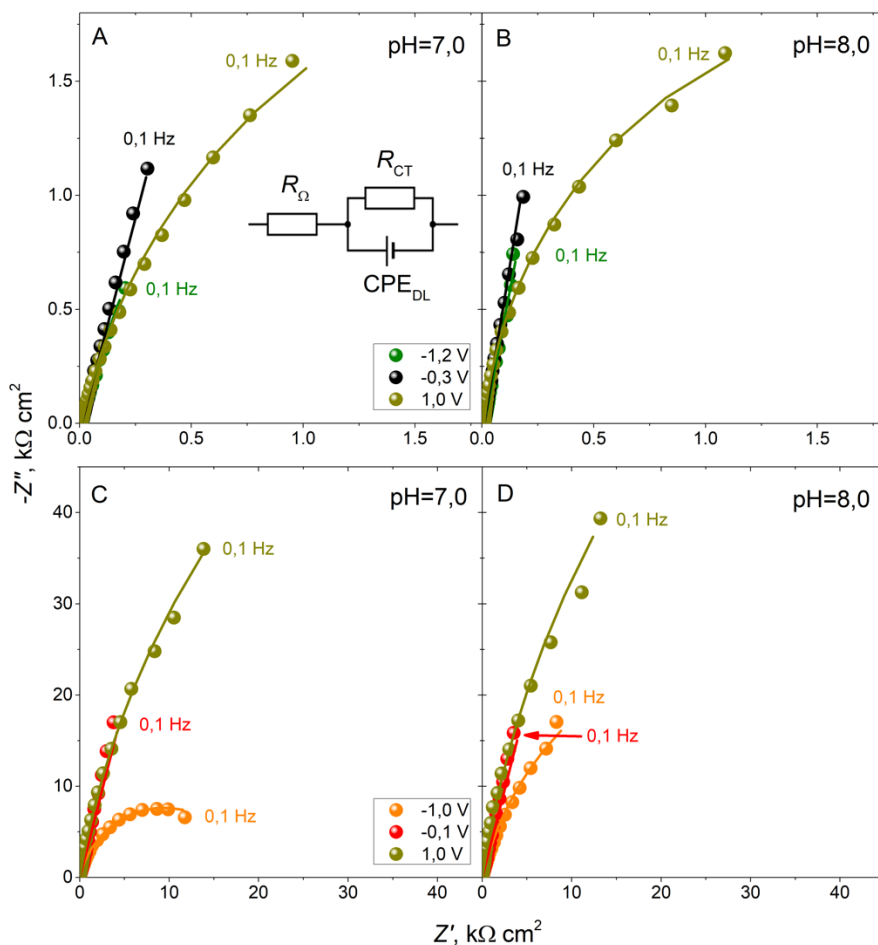
**15 pav.** CV užrašytos LIG355 (A) ir LIG532 (B) elektrodams 0,1 M KCl/HCl, pH 2,0, tirpale su 2,0 mM  $K_4[Fe(CN)_6]$ , esant skirtingiems sklaidimo greičiams (10, 25, 50, 100, 150 ir 200  $mV s^{-1}$ ). Oksidacijos ir redukcijos smailių srovės tankio priklausomybė nuo kvadratinės šaknies iš sklaidimo greičio (įterpti A ir B pav.) ir srovės tankio logaritmo nuo sklaidimo greičio logaritmo (C) LIG355 (tamsiai mėlyna) ir LIG532 (tamsiai žalia) elektroduose. Brūkšnine juoda linija rodoma prognozuojama srovė pagal Randles–Ševčík lygtį ir geometrinį elektrodo paviršiaus plotą.

Pirmiausiai PGE, GCE ir LIG elektrodai tiriami naudojant  $K_4[Fe(CN)_6]$  0,1 M KCl/HCl elektrolite.  $K_4[Fe(CN)_6]$  yra stabilus tik rūgštinėje terpėje, todėl naudojamas pH 2,0 tirpalas, esant skirtingiems potencialo skleidimo greičiams (10, 25, 50, 100, 150 ir 200  $mV s^{-1}$ ). PGE ir GCE paviršių tyrimai pateikiami 14 pav.; kaip matoma iš šio paveikslo, smailių padėtis nekinta. Pagal Nernst'o lygtį (1) žinoma, kad potencialų skirtumas tarp elektrodo redokso poros (oksidacijos ir redukcijos smailės) potencialų grįžtamiosiose elektrocheminėse reakcijose yra 59mV, o kvazigrįžtamiosiose – iki 140 mV [66].

Šiame darbe tirtų elektrodų potencialų skirtumas tarp redokso smailių yra 74 ir 85 mV atitinkamai PGE ir GCE, t. y. artimas 1 elektrono reakcijai pagal Nernst'o lygtį (1). PGE elektrodo redokso smailių aukščio santykis ~1,0, o GCE – 0,94, o tai būdinga grįžtamosioms redokso reakcijoms. PGE ir GCE tiesinė srovės tankio priklausomybė yra nuo kvadratinės šaknies iš potencialo skleidimo greičio (14 pav. intarpai), o tai reiškia, kad procesai valdomi difuzijos. Šių tiesinių priklausomybių PGE atveju nuolinkio kampas yra 1,16 ir  $-1,09 mA cm^{-2} V^{-1/2} s^{1/2}$  atitinkamai oksidacijai ir redukcijai, o GCE nuolinkio kampas – 1,57 ir  $-1,50 mA cm^{-2} V^{-1/2} s^{1/2}$ . Kadangi procesas ribojamas difuzijos, tai  $A_{EA}$  apskaičiavimui pritaikoma Randles–Ševčik lygtis (3 lygtis), o gauti plotai yra 0,058 ir 0,079  $cm^2$  atitinkamai PGE ir GCE (geometrinis plotas 0,071  $cm^2$ ). Kitų autorių tyrimuose buvo pastebėta, kad PGE  $A_{EA}$  yra mažesnis už geometrinį [13], kas buvo patvirtinta ir šiuo eksperimentu.

LIG35 ir LIG532 tyrimams taip pat buvo naudota CV su  $K_4[Fe(CN)_6]$  priedu naudojant skirtingus skleidimo greičius (15A ir B pav.). Nustatyta, kad smailių srovės tankių tiesinė priklausomybė yra nuo kvadratinės šaknies iš potencialo skleidimo greičio (15A ir B pav. intarpai). Tačiau, priklausomai nuo skleidimo greičio, skirtumas tarp redokso smailių potencialų naudojant LIG355 vyrauja nuo 160 iki 414 mV, o LIG532 – nuo 107 iki 385 mV. Tokį didelį skirtumą tarp redokso smailių gali lemti elektrodų paviršiaus morfologija ir mažesnis elektrodo laidumas lyginant su PGE ar GCE. Jau prieš dešimtmetį elektrochemikai diskutavo apie krūvio perdavimą plonų plėvelių difuzijos ir difuzijos valdomuose elektrocheminiuose procesuose: smailių atskyrimą lemia pusiau begalinė difuzija, o ne elektrokatalizinis poveikis [67, 68]. Ar reakcija valdoma difuzijos, ar adsorbcijos galima rasti nubrėžiant oksidacijos smailės srovės logaritmo priklausomybės nuo skleidimo greičio logaritmo grafiką ir stebint nuolinkio kampą. Randles–Ševčik lygtis (3) aprašo grynai difuzinius procesus ir jų smailės srovės nuo skleidimo greičio logaritmio grafiko nuolinkio kampas yra 0,5, o kai elektrocheminius

procesus kontroliuoja adsorbciniai procesai nuolinkio kampas yra 1,0 [67]. 15C pav. pavaizduojamas grafikas logaritminėje skalėje, kai naudojami LIG elektrodai. Šios priklausomybės nuolinkio kampas LIG355 atveju yra 0,572, o LIG532 atveju – 0,546. Šios vertės panašios į idealios pusiau begalinės difuzijos vertę [67, 68]. Remiantis šiais faktais daroma išvada, kad elektrocheminiai procesai LIG355 ir LIG532 elektrodams priklauso nuo pusiau begalinės difuzijos, todėl Randles–Ševčik lygtis (3) gali būti taikoma nustatant  $A_{EA}$ , kurie, LIG355 ir LIG532 atitinkamai yra 0,773 cm<sup>2</sup> ir 0,879 cm<sup>2</sup>. Kaip matoma, dėl šiurkštaus elektrodo paviršiaus  $A_{EA}$  abiejuose bandiniuose didesnis už geometrinį (0,5 cm<sup>2</sup>).



**16 pav.** EIS kompleksinės varžos PGE (A ir B) ir GCE (C ir D) elektrodų spektrai 0,1 M PBS tirpale, pH 7,0 (A ir C) ir pH 8,0 (B ir D), esant skirtingiems potencialams, pateiktiems grafikuose. Intarpas (A): "paprastoji" ekvivalentinė grandinė, naudojama EIS spektrams analizuoti.

PGE, GCE ir LIG elektrodų tyrimui naudojama EIS, kuri yra vienas iš patikimiausių elektrocheminių tyrimų metodų. EIS spektrai registruojami esant pastoviam potencialui 0,1 M PBS tirpale, pH 7,0 (PGE, GCE ir LIG) ir pH 8,0 (PGE ir GCE), skleidžiant dažnį nuo 100 kHz iki 100 mHz. Šiame darbe dauguma tyrimų atliekama neutraliuose tirpaluose ir dėl šios priežasties EIS taip pat registruojami tirpale, kurio pH yra 7,0. Norint sužinoti pH įtaką PGE ir GCE elektrocheminei elgsenai, EIS registruojamas ir pH 8,0 tirpale.

Tiriant PGE potencialas fiksuojamas pagal CV, užrašytą 0,1 M PBS pH 7,0 ir 8,0 tirpaluose, (paveikslai nepateikti), t. y.  $-0,3$  V dvigubojo sluoksnio (angl. DL) diapazone, ir esant kraštiniams potencialams  $+1,0$  bei  $-1,2$  V, kur atitinkamai prasideda deguonies arba vandenilio išsiskyrimas.

16A pav. pateikiami EIS kompleksinės varžos, kitaip vadinamos Nyquist'o grafiku, spektrai minėtiems potencialams. PGE spektrai (16A pav.) analizuojami naudojant elektrinę ekvivalentinę grandinę (angl. EEC), sudarytą iš celės varžos  $R_{\Omega}$ , nuosekliai sujungiamos su lygiagrečiąja pora, krūvio pernašos (angl. CT) varžos  $R_{CT}$  ir pastovios fazės elemento (angl. CPE), kaip neidealios DL talpos. Kaip matoma iš 16A pav., spektras, esant  $-0,3$  V potencialui, atspindi talpuminę elgseną. Tuo tarpu spektras ties  $+1,0$  V pasižymi labiau varžiniu pobūdžiu dėl anglies paviršiuje susidarantių deguoninių funkcinių grupių.

Spektrų analizės rezultatų paklaidos, reiškiančios ekvivalentinės grandinės standartinį nuokrypį nuo praktinių taškų, mažesnės nei 5 %. Naudojama ši CPE išraiška:

$$CPE = \frac{-1}{(Ci\omega)^{\alpha}} \quad (4),$$

kur  $C$  – idealus kondensatorius,  $\omega$  – kampas radianais, o koeficientas  $\alpha$  šiurkštumo faktorius apibūdinantis paviršiaus nevienalytiškumą [13]. Kai koeficientas  $\alpha = 1$ , reiškia, kad sistema elgiasi kaip idealus kondensatorius, tarpfazis tarp elektrodo ir tirpalo yra tobulai lygus. Šiuo atveju  $C$  elgiasi kaip dvigubojo sluoksnio talpa,  $C_{DL}$ .

Spektrai DL diapazone analizuojami naudojant EEC, sudarytą iš celės varžos ir tiesiškai prijungto CPE (16A pav.). CPE, kaip ir „paprastosios“ EEC atveju, atspindi neidealią talpą DL srityje. PGE elektrodai  $R_{\Omega}$  yra  $9,76 \pm 0,25 \Omega \text{ cm}^2$  (pH 7,0) ir  $10,58 \pm 0,03 \Omega \text{ cm}^2$  (pH 8,0) bei nepriklauso nuo potencialo, bet kaip matyti, silpnai priklauso nuo pH.

EIS spektrų analizė pateikta 5 lentelėje. Krūvio pernaša priklauso nuo suteikto potencialo bei pH. DL srityje ( $-0,3$  V) krūvio pernaša nevyksta, todėl EEC yra be  $R_{CT}$  elemento. Kai pH 7,0, tai  $R_{CT}$  yra didesnė redukcijos srityje, o tuo tarpu, krūvio pernaša nestebima esant tam pačiam potencialui, kai pH

8,0, nes redukcijos potencialas priklauso nuo pH ir vandenilio skyrimasis prasideda žemesniuose pH. Oksidacijos dalyje  $R_{CT}$  yra didesnė, kai pH 8,0, nes deguonies skyrimasis prasideda aukštesniuose pH.

$C_{DL}$  (kuri apskaičiuojama iš CPE pagal 4 lygtį) mažėja nuo labiausiai neigiamos iki labiausiai teigiamos potencialo vertės. pH šiuo atveju turi tik tokią įtaką, kad esant pH 8,0,  $C_{DL}$  priklausomybė nuo potencialo nėra tokia ryški kaip pH 7,0 atveju. Galiausiai, šiuurkštumo koeficientas  $\alpha$ , gaunamas iš CPE, yra lygus  $0,885 \pm 0,013$ , o tai reiškia, kad elektrodo paviršius yra šiuurkštus ir neturi aiškios priklausomybės nuo potencialo.

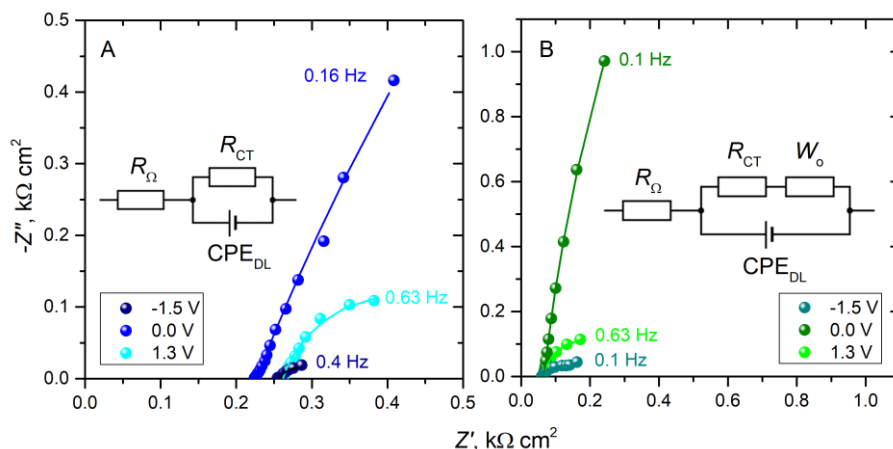
**5 lentelė.** PGE ir GCE elektrodų EIS spektrų (16 pav.) analizės ECC parametrai.  $C_{DL}$  apskaičiuota iš CPE pasinaudojant 4 lygtimi.

Elektrodas	pH	$E, V$	$R_{\Omega}, \Omega \text{ cm}^2$	$R_{CT}, \text{k}\Omega \text{ cm}^2$	$C_{DL}, \mu\text{F cm}^{-2}$	$\alpha$
PGE	7,0	-1,2	10,1	8,40	634	0,885
		-0,3	9,67	–	162	0,883
		+1,0	9,51	5,18	131	0,863
	8,0	-1,2	10,6	–	240	0,877
		-0,3	10,6	–	244	0,896
		+1,0	10,6	3,95	170	0,905
GCE	7,0	-1,0	5,15	18,9	4,06	0,865
		-0,1	5,24	–	6,12	0,874
		+1,0	5,21	190	8,91	0,892
	8,0	-1,0	10,5	66,3	9,24	0,855
		-0,1	10,7	–	8,36	0,884
		+1,0	10,6	232	10,7	0,904

EIS spektrai registruojami ir ant GCE, taip pat pasirinkami 3 potencialai:  $-0,1 V$  – kontroliniam matavimui DL diapazone; ir kraštiniai  $+1,0$  ir  $-1,0 V$ . Spektrų forma ir impedanso vertės šiek tiek skiriasi nuo PGE: impedanso vertės apie 25 kartus didesnės GCE elektrodai ir, kaip matyti iš spektrų formos, vandenilio išsiskyrimas prasideda anksčiau lyginant su PGE. Spektrai taip pat analizuojami pasinaudojant tomis pačiomis EEC kaip ir PGE atveju.  $R_{\Omega}$  ant GCE daug stipriau priklauso nuo pH nei PGE, t. y.  $5,20 \pm 0,04$  (pH 7) ir  $10,60 \pm 0,08 \Omega \text{ cm}^2$  (pH 8). Panašiai, priešinga priklausomybė stebima ir  $R_{CT}$  esant skirtingiems potencialams. DL srityje taip pat krūvio pernaša nestebima, bet ji didesnė esant  $+1,0$  negu  $-1,0 V$ , tai rodo, kad oksidacija esant šiam potencialui vyksta sunkiau nei redukcija. Nepaisant to, bendrai  $R_{CT}$  vertės ant šio elektrodo yra keliasdešimt kartų didesnės nei PGE atveju.

Lengvesnė krūvio pernaša stebima esant pH 7,0.  $C_{DL}$  priklausomybė nuo potencialo, ypač esant pH 8,0, turi tas pačias tendencijas kaip ir PGE atveju, tik talpos vertės ant GCE yra apie 50 kartų mažesnės. Šiurkštumo koeficientas taip pat panašus į PGE ir jo vertė yra  $0,879 \pm 0,016$ . Tik GCE elektrodai šiurkštumas nežymiai mažėja didėjant potencialui nuo neigiamo iki teigiamo. Bet iš esmės elektrodas yra šiurkštus visais atvejais.

EIS spektrai taip pat užregistruojami LIG elektrodams tarpfazio tarp elektrodo ir tirpalo elektrocheminių procesų ištyrimui. Potencialai nustatomi pagal CV (17A, B pav.): redukcijos potencialas  $-1,50$  V, oksidacijos potencialas  $+1,30$  V ir  $0,0$  V – DL sritis. Kaip ir tikimasi, LIG355 talpuminiai procesai dominuoja DL srityje (17A pav., mėlyni simboliai), o krūvio pernaša dominuoja esant oksidacijos ( $+1,3$  V, 6A pav., šviesiai mėlyni simboliai) ir redukcijos ( $-1,5$  V, 17A pav., tamsiai mėlyni simboliai) potencialams, kas aiškiai matoma iš pusapskritimio spektre. Esant  $-1,5$  V potencialui dėl vandenilio išsiskyrimo susidaro burbuliukai, todėl spektras esant žemiems dažniams išsibarsto ir paskutiniai taškai nenaudojami spektrų analizei. Aukštų dažnių srityje aiškus pusapskritimis, kuris dažnai pastebimas anglies nanomedžiagų elektroduose [67], šiuo atveju nesusiformuoja.



**17 pav.** EIS spektrai pateikti kompleksinės varžos koordinačių sistemoje LIG355 (A) ir LIG532 (B) elektrodams 0,1 M PBS tirpale, pH 7,0, esant skirtingiems potencialams:  $-1,5$  V,  $0,0$  V ir  $+1,3$  V. Ekvivalentinės elektrinių elementų grandinės, naudojamos EIS spektrams analizuoti: A – "paprastoji", naudojama LIG355 analizei, B – Randles'o, naudojama LIG532 elektrodams.

EIS spektrai LIG532 elektrodai užregistruojami esant tiems patiems potencialams, kaip su LIG355 ir pateikiami 17B pav. Spektrai turi tokią pačią tendenciją kaip ir LIG355 atveju. Tačiau iš tiesės ties  $0,0$  V (17B pav., žali simboliai) matoma, kad DL srityje vyksta tik krūvių pasiskirstymas, bet ne

pernaša. Oksidacijos ir redukcijos atveju gaunami netaisyklingos formos pusapskritimiai, rodantys krūvio pernašą. Be to, esant redukcijos ir vandenilio išsiskyrimo potencialui, spektras neišsibarstęs (17B pav., tamsiai žali simboliai), o dujų burbuliukai šiuo atveju netrukdo, kas patvirtina kitokią paviršiaus struktūrą nei LIG355. Be to, spektruose aukštų dažnių srityse matomi nedideli deformuoti pusapskritimiai, o tai reiškia, kad ant LIG532 susidaro anglies nanostruktūros. Šie faktai patvirtina Ramano spektroskopijos duomenis, kad LIG532 turi į grafeną panašių struktūrų.

$R_{\Omega}$  yra apie  $250 \Omega \text{ cm}^2$  ir nepriklausoma nuo potencialo. Kaip ir tikimasi, mažiausia  $R_{CT}$  yra DL srityje (esant 0,0 V) –  $6,74 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ , didžiausia  $+1,3 \text{ V}$  yra  $0,310 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ , o esant  $-1,50 \text{ V}$  yra  $0,055 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ . Šios varžos reiškia, kad sunkiausiai krūviai pernešami ten, kur vyksta deguonies išsiskyrimas. Šiurkštumo koeficientas yra apie 0,878 ir nepriklauso nuo suteikto potencialo, tai reiškia, kad paviršius tarpfazyje yra palyginti šiurkštus. Naudojant 4 lygtį talpa perskaičiuojama iš CPE. Ji turi priešingą  $R_{CT}$  tendenciją ir yra mažiausia DL srityje  $0,471 \text{ mF cm}^{-2}$ ,  $1,22 \text{ mF cm}^{-2}$  esant  $+1,3 \text{ V}$  ir  $2,93 \text{ mF cm}^{-2}$  esant  $-1,5 \text{ V}$ .

Ta pati ekvivalentinė grandinė netinka LIG532 spektrams, todėl jie analizuojami naudojant Randles'o ekvivalentinę elementų grandinę, t.y. „paprastą“ grandinę papildant atviru Warburgo elementu ( $W_o$ , 5 lygtis) (17B pav.). Tai reiškia, kad elektroaktyviųjų dalelių difuzija šiuo atveju atlieka svarbų vaidmenį.

$$W_o = \frac{R_{dif} \text{ctng}([i\tau\omega]^\alpha)}{(i\tau\omega)^\alpha} \quad (5),$$

kur  $R_{dif}$  – difuzijos varža,  $\tau$  – laiko konstanta, priklausanti nuo difuzijos greičio ( $\tau = l^2/D$ , kur  $l$  – efektyvusis difuzijos storis, o  $D$  – efektyvusis difuzijos koeficientas), o  $\alpha = 0,5$ , kai sąsaja yra tobulai vienalytė ir plokščia. Esant aukštiems dažniams, impedanso elgsena yra būdinga begalinės difuzijos sistemoms (fazės kampas  $45^\circ$ ), o esant žemiems – kondensatoriaus (fazės kampas  $90^\circ$ ). Mažesnės nei  $0,5$   $\alpha$  vertės reiškia, kad paviršius tarpfazyje nėra vienalytis [13].

LIG532 atveju  $R_{\Omega}$  apie  $60 \Omega \text{ cm}^2$  ir nepriklausanti nuo potencialo.  $R_{CT}$  turi tą pačią tendenciją kaip ir LIG355 atveju:  $12,2 (0,00 \text{ V}) > 0,255 (+1,30 \text{ V}) > 0,100 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2 (-1,50 \text{ V})$ . Paviršius tarpfazyje šio elektrodo atveju yra lygus, nes koeficientas  $\alpha$  artimas 1 (nuo 0,980 iki 0,999). CPE pokyčiai panašūs kaip ir LIG355, tačiau perskaičiuojant į talpą ši tendencija pasikeičia:  $1,17 (+1,30 \text{ V}) < 1,27 (0,00 \text{ V}) < 9,44 \text{ mF cm}^{-2} (-1,50 \text{ V})$ .

Parametrai, apskaičiuoti pagal  $W_o$ , pateikiami 6 lentelėje.  $R_{dif}$  priklausomybės nuo potencialo tendencija yra priešinga  $R_{CT}$ :  $21,5 (0,00 \text{ V}) <$

77,6 (+1,30 V) < 707  $\Omega$  cm<sup>2</sup> (-1,50 V). Elektrodo gana porėtas, kaip matoma pagal koeficientą  $\alpha$ , gautą iš  $W_o$ , kuris yra ~0,44. Pagal laiko konstantos vertes sprendžiama, kad difuzija yra palyginti greita, t.y. milisekundžių intervale. Be to, LIG532 porėtas pobūdis matomas iš spektrų, kaip pastebėjo Lasia [69]. Autorius sumodeliavo ir porų formą analizuodamas EIS spektrus, tačiau jis nenaudojo Warburgo elemento. Kadangi porėtų paviršių atveju difuzija yra svarbus veiksnys, dauguma modelių naudoja Warburgo elementus [70]. Nguyenas ir Breilkopfas naudojo  $W_o$ , analizuodami mikroporėtų medžiagų spektrus [71]. Jie, remdamiesi modifikuotu Warburgo ekvivalentinės grandinės modeliu, nustatė dujų difuzijos į akytąją medžiagą koeficientą.

Apibendrinant, LIG355 paviršius šiurkštus, o LIG532 – mikroporėtas, kas panašiai pastebima iš Ramano spektroskopijos ir SEM, kuriais randamos į grafeną panašios struktūros.

**6 lentelė.** Warbugo elemento parametrai, apskaičiuoti LIG532 pagal 17B pav., naudojant tame pačiame pav. pavaizduotą ekvivalentinę grandinę.

E, V	$R_{dif}, \Omega$ cm <sup>2</sup> ( $W_o$ )	$\tau$ , s ( $W_o$ )	$\alpha$ ( $W_o$ )
-1,50	707	4,63	0,469
0,00	21,5	0,099	0,443
+1,30	77,6	15,4	0,432

Palyginimai su kitais darbais yra sudėtingi, nes dauguma literatūroje pateiktųjų tyrimų atliekami pridant  $[Fe(CN)_6]^{4-}$  jonų, todėl EEC papildomai išplečiamas Warbugo elementu. Panaši EEC taikoma analizuojant anglies plėvelės elektrodus, tačiau dėl kitokio paviršiaus ir skirtingų spektrų, šių elektrodų  $R_{CT}$  yra daug didesnis nei PGE, o dėl didesnės minėtų elektrodų varžos  $CPE_{DL}$  – daug mažesnis nei PGE [66].

### 3.2. Elektrodų modifikavimas laidžiais polimerais

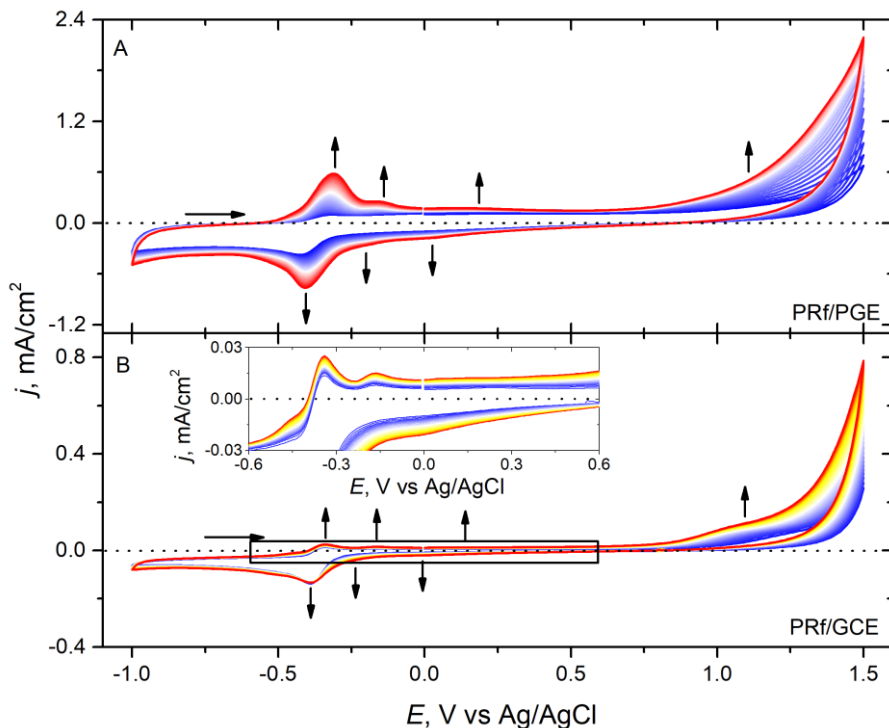
Šio darbo tikslui pasiekti kuriami pH ir atrazino jutikliai. Tam pasiekti išbandomi du skirtingi polimerai – PFA ir PRf bei kopolimerai PFA-PRf, PFA-PLL ir PRf-PLL ant skirtingų elektrodų: PGE, GCE, HOPG, Au bei LIG. Skirtingos prigimties aukščiau pateikti ir modifikuoti elektrodai naudojami polimerizacijos ir gautų polimerų savybių palyginimui. Pasirinkti elektrodai ruošiami pagal eksperimentinėje dalyje aprašytą metodiką.

#### 3.2.1. Elektrodų modifikavimas poliriboflavinu

Riboflavino polimerizacijai pasirenkami PGE ir GCE, kadangi abu yra anglies elektrodai ir galima spręsti apie elektrodo struktūros įtaką polimero



formavimuisi. Pirmiausia Rf polimerizuojamas ant PGE (18A pav.) ir matoma, kad per pirmuosius ciklus redokso smailės nedidelės, bet jos ryškėja didinant ciklų skaičių. Iš gautų voltamperogramų matoma, kad redukcijos ir oksidacijos smailės atitinkamai yra ties  $-0,41$  V ir  $-0,32$  V, o potencialo skirtumas tarp jų yra  $90$  mV, kas būdinga kvazigrįžtamoms redokso reakcijoms. Tuo tarpu ties  $-0,3$  V vyksta  $Fl_{rad}^-$  oksidacija į  $Fl_{ox}$  radikalą. Po ilgesnio polimerizacijos laiko atsiranda papildoma oksidacijos smailė ties  $-0,15$  V, kurios metu vyksta flavihydrochinono ( $Fl_{red}H^-$ ) oksidacija [72,73]. Be to, srovės tankis didėja, kai potencialas artėja prie  $+1,5$  V. Kaip matyti, visų oksidacijos ir redukcijos smailių srovės tankis auga didinant potencialo skleidimo ciklų skaičių.



**18 pav.** Rf elektropolimerizacijos CV ant PGE (A) ir GCE (B),  $1,0$  mM Rf,  $0,1$  M PBS,  $7,0$  pH buferis. Potencialų intervalas nuo  $-1,0$  V iki  $+1,5$  V, ciklų skaičius 32, skleidimo greitis  $50$   $mV s^{-1}$ . Vertikalios rodyklės rodo srovės pokyčio kryptį, kai didinamas ciklų skaičius, horizontalios rodyklės rodo potencialo skleidimo kryptį. Intarpe pateikiama padidinta polimerizacijos CV dalis.

Naudojant GCE elektrodą (18B pav.), redukcijos ir oksidacijos smailės atitinkamai yra ties  $-0,38$  ir  $-0,34$  V, o skirtumas tarp jų tik 40 mV, kas rodo grįžtamą redokso reakciją. Papildoma oksidacijos smailė matoma ties  $-0,16$  V. Redokso smailės matomos jau po pirmųjų polimerizacijos ciklų, bet ciklų skaičiui augant srovės tankio pokytis nedidelis. Ties  $+1,0$  V matomas kitoks vaizdas, šios oksidacinės smailės pokytis, didėjant ciklų skaičiui, yra ryškus.

Naudojant PGE, Rf polimerizacijos metu srovės tankio augimas didesnis nei su GCE elektrodu, redokso oksidacijos ir redukcijos smailių aukščiai panašūs. Su GCE redokso oksidacijos smailės aukštis mažesnis už redukcijos. Redukcijos metu sudaromas didesnis  $Fl_{rad}^-$  radikalų kiekis, nei sunaudojamas oksidacijos metu. Tačiau su GCE elektrodu ryškesnė smailė ties  $+1,0$  V. Abiem atvejais polimerizacija atliekama per 28-32 ciklus.

### 3.2.2. Elektrodo modifikavimas polifolatu

FA polimerizacijos CV ant PGE ir GCE pateikiamos 19A,C pav. Redokso smailės ties maždaug  $-0,5$  V siejamos su grįžtamuoju 5,8-dihydrofolio rūgšties redokso procesu, kuomet ji tautomerizuoja ir virsta 7,8-dihydrofolio rūgštimi. Dvigubos oksidacijos banga ties maždaug 0,0 V, kuri vėliau redukuojama viena plačia banga, atsiranda dėl 7,8-dihydrofolio rūgšties darinio redukcinio skilimo tarp C(9) (pterino žiedo ir aminobenzoinės rūgšties dalies) ir N(10) (aminobenzoinės rūgšties dalies aminogrupė) padėčių. Paskutinė oksidacijos banga atsiranda dėl negrįžtamos 5,6,7,8-tetrahydro-6-metil pterino oksidacijos į 7,8 dihydro-6-metil pteriną [74]. Akbar ir kt. tyrimai parodė, kad redukcijos bangose yra "išankstinių bangų" [74], ir priskyrė jas FA adsorbcijai ant elektrodo paviršiaus.

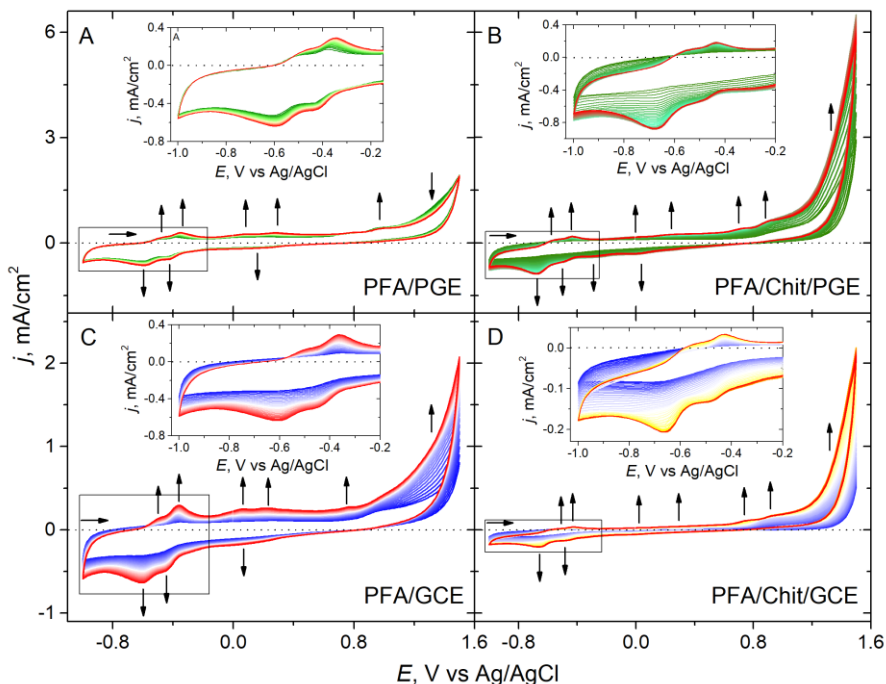
Mūsų atveju beveik visada, ypač elektrooksidacijos dalyje, stebimos ne "išankstinės bangos", o dvigubos smailės. Tai greičiausiai priklauso nuo elektrodo paviršiaus, kaip buvo pastebėta ankstesniuose mūsų laboratorijos darbuose [22,24] – substrato paviršius daro įtaką CV formai. Šio darbo metu pirmosios polimerizacijos smailės arba nedidėja su ciklų skaičiumi, arba didėja daug lėčiau nei antroji smailė. Tikėtina, kad tai susiję su FA oligomerizacija, o "pagrindinė" smailė priklauso oligomero/polimero redokso procesams. Ant PGE smailės matomos per pirmuosius ciklus, o ant GCE per pirmuosius ciklus beveik neužfiksuota jokių smailių, tačiau po kelių ciklų pastebimos aiškios bangos ir "išankstinės bangos", taip pat jų augimas spartesnis nei ant PGE.

Gaunami nestabilūs PFA sluoksniai, kurie nuo elektrodo paviršiaus nuplaunamas per kelis potencialo ciklus buferiniame tirpale (žr. 3.3.1. skyrelyje). Siekiant pagerinti elektrodo stabilumą, jie modifikuojami Chit,

kuris padeda FA tvirtai prikibti prie elektrodų. Pirmasis PGE padengimo Chit ir PFA metodas: polimerizacija atliekama tirpale sudarytame iš 0,1 M PBS, pH 6,0, 1 % Chit (1 % acto rūgštyje) ir 1,0 mM FA. Per 30 potencialo skleidimo ciklą, smailių tipišku FA polimerizacijai nepastebima, tai rodo, kad PFA nesusidaro. Antrasis metodas – Chit tirpalas lašinimas ant PFA/PGE paviršiaus ir išdžiovinamas. Chit sulėtina elektronų pernašą ir vėl tipiškos PFA redokso smailės nepastebimos. Galiausiai, trečiasis ir sėkmingiausias elektrodo modifikavimo būdas: ant PGE lašinamas Chit tirpalas nudžiovinamas, paskui ant jo sluoksnio polimerizuojamas FA. FA polimerizacijų ant Chit/PGE ir Chit/GCE CV pateikiamos 19B,D pav. Stebimas aiškus srovės tankio augimo skirtumas ties Chit/PGE ir Chit/GCE. Per pirmuosius ciklus beveik neužfiksuojama jokių smailių, tačiau po kelių ciklų pastebimos aiškios bangos ir "išankstinės bangos", taip pat jų augimas spartesnis nei ant PGE ir GCE. Naudojant Chit/PGE srovės tankis esant +1,0 V ir didesnei teigiamai įtampai, kai susidaro katijoniniai radikalai kaip polimerizacijos iniciatoriai, didėja labai sparčiai ir pasiekia  $6 \text{ mA cm}^{-2}$  (19B pav.). Kai potencialas mažesnis už +1,38 V, ant Chit/GCE srovės tankis mažesnis nei ant GCE. Polimerizacija vykdoma tol, kol srovės tankis nebedidėja. Polimerizacijų ciklų skaičius skiriasi priklausant nuo naudotų elektrodų: kai naudojamas Chit/PGE arba Chit/GCE atitinkamai reikia apie 35–41 arba 49–54, ciklų, tuo tarpu, kai naudojami PGE arba GCE – 27–32 ciklų. Dėl didesnio srovės tankio PFA/Chit/PGE yra tinkamesnis jutiklių kūrimui nei PFA/Chit/GCE.

Gaunami nestabilūs PFA sluoksniai, kurie nuo elektrodo paviršiaus nuplaunamas per kelis potencialo ciklus buferiniame tirpale (žr. 3.3.1. skyrelyje). Siekiant pagerinti elektrodų stabilumą, jie modifikuojami Chit, kuris padeda FA tvirtai prikibti prie elektrodų. Pirmasis PGE padengimo Chit ir PFA metodas: polimerizacija atliekama tirpale sudarytame iš 0,1 M PBS, pH 6,0, 1 % Chit (1 % acto rūgštyje) ir 1,0 mM FA. Per 30 potencialo skleidimo ciklą, smailių tipišku FA polimerizacijai nepastebima, tai rodo, kad PFA nesusidaro. Antrasis metodas – Chit tirpalas lašinimas ant PFA/PGE paviršiaus ir išdžiovinamas. Chit sulėtina elektronų pernašą ir vėl tipiškos PFA redokso smailės nepastebimos. Galiausiai, trečiasis ir sėkmingiausias elektrodo modifikavimo būdas: ant PGE lašinamas Chit tirpalas nudžiovinamas, paskui ant jo sluoksnio polimerizuojamas FA. FA polimerizacijų ant Chit/PGE ir Chit/GCE CV pateikiamos 19B,D pav. Stebimas aiškus srovės tankio augimo skirtumas ties Chit/PGE ir Chit/GCE. Per pirmuosius ciklus beveik neužfiksuojama jokių smailių, tačiau po kelių ciklų pastebimos aiškios bangos ir "išankstinės bangos", taip pat jų augimas spartesnis nei ant PGE ir GCE. Naudojant Chit/PGE srovės tankis esant +1,0

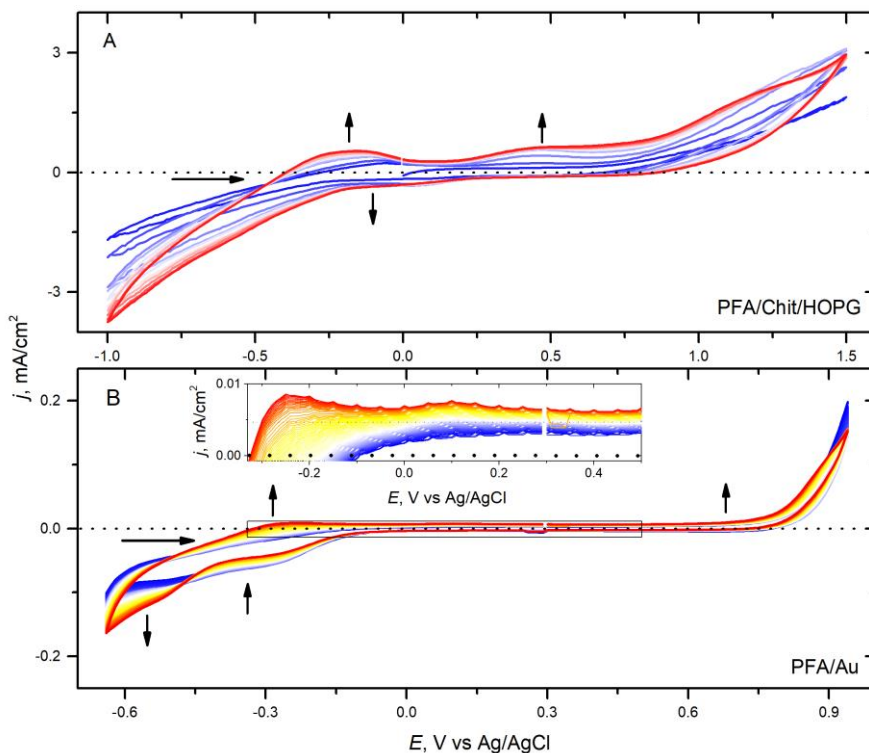
V ir didesnei teigiamai įtampai, kai susidaro katijoniniai radikalai kaip polimerizacijos iniciatoriai, didėja labai sparčiai ir pasiekia  $6 \text{ mA cm}^{-2}$  (19B pav.). Kai potencialas mažesnis už  $+1,38 \text{ V}$ , ant Chit/GCE srovės tankis mažesnis nei ant GCE. Polimerizacija vykdoma tol, kol srovės tankis nebedidėja. Polimerizacijų ciklų skaičius skiriasi priklausant nuo naudotų elektrodų: kai naudojamas Chit/PGE arba Chit/GCE atitinkamai reikia apie 35–41 arba 49–54, ciklų, tuo tarpu, kai naudojami PGE arba GCE – 27–32 ciklų. Dėl didesnio srovės tankio PFA/Chit/PGE yra tinkamesnis jutiklių kūrimui nei PFA/Chit/GCE.



**19 pav.** FA elektropolimerizacijos CV ant PGE (A), Chit/PGE (B), GCE (C) ir Chit/GCE (D),  $1,0 \text{ mM}$  FA  $0,1 \text{ M}$  PBS, pH 6,0. Potencialų intervalas nuo  $-1,0 \text{ V}$  iki  $+1,5 \text{ V}$ , ciklų skaičius 32 (A ir C), 41 (B) ir 54 (D), sklaidimo greitis  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Vertikalios rodyklės rodo srovės pokyčius su ciklų skaičiumi, horizontalios rodyklės rodo potencialo nuskaitymo kryptį. Intarpai rodo padidintas redokso poras smailes.

Kaip minėta šio skyriaus pradžioje, polimerizacijos savybių patikrinimui naudojamas ir HOPG, kuris padengiamas PFA ir Chit plėvelėmis. Šis elektrodas yra šiek tiek panašus į PGE, nes tai grafito elektrodas ir yra labiausiai tinkamas AFM tyrimams. Dėl kitokio paviršiaus lyginant su PGE ir GCE, PFA plėvelė ant HOPG gaunama sklaidžiant bent 10 potencialo ciklų, nes paskui CV srovės tankis jau nebedidėja. Be to, polimerizacijos srovės

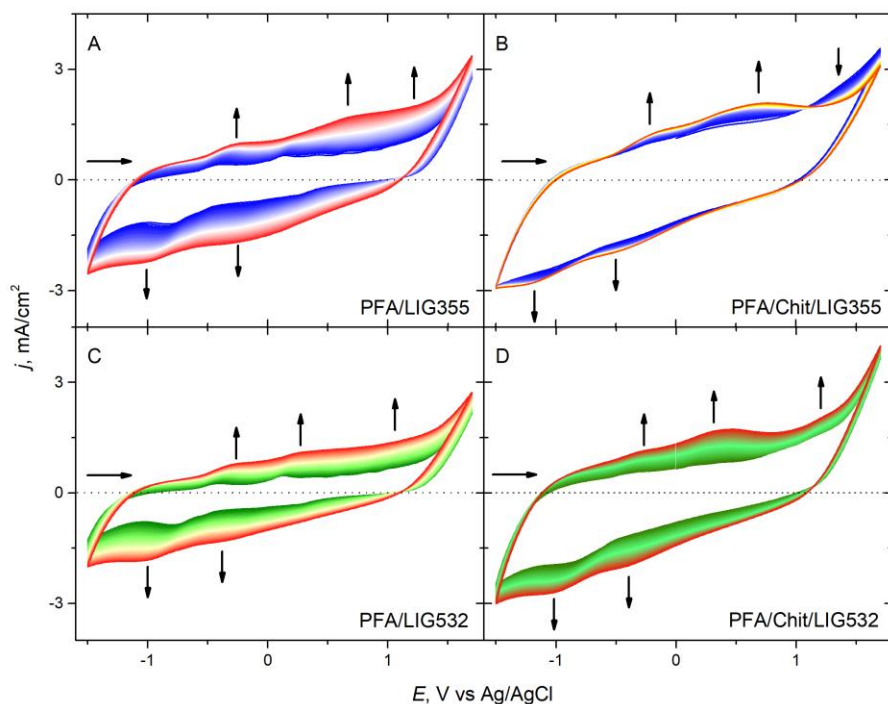
tankis šiek tiek skiriasi nuo PGE, kuris savo struktūra artimesnis HOPG (20A pav.). Redukcijos smailė ties  $-0,54$  V, oksidacijos smailė ties  $-0,18$  V, skirtumas tarp jų yra 360 mV, kas būdinga negrįžtamoms redokso reakcijoms. Tačiau susidariusios redokso smailės siejamos su grįžtama 5,8-dihydrofolio rūgšties tautomerizacija į 7,8-dihydrofolio rūgštį. Oksidacijos banga prasidedanti ties  $+0,25$  V, atsiranda dėl 7,8-dihydrofolio rūgšties darinio redukcinio skilimo. Tokiu būdu stebima ir dar vieno elektrodo paviršiaus įtaka PFA formavimuisi.



**20 pav.** FA elektropolimerizacijos CV ant Chit/HOPG (A) ir Au (B), 1,0 mM FA 0,1 M PBS, pH 6,0. Potencialų intervalas nuo  $-1,0$  V iki  $+1,5$  V (A) ir nuo  $-0,64$  V iki  $+0,94$  V (B), ciklų skaičius 41 (A), 100 (B), sklaidimo greitis  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Vertikalios rodyklės rodo srovės pokyčius su ciklų skaičiumi, horizontalios rodyklės rodo potencialo nuskaitymo kryptį. Intarpe pateikiama padidinta polimerizacijos CV oksidacijos dalis.

Kaip ir tikimasi, visiškai kitokia situacija vykstant FA polimerizacijai ant Au paviršiaus: srovės tankis nebedidėja tik po 100 ciklų. Žinoma, kad Au CV oksidacijos dalis smailių neturi iki 1,0 V, kur pradeda formuotis Au oksido monosluoksnis [75]. Todėl PFA polimerizacijoje naudojamas potencialas nuo  $-0,64$  iki  $+0,94$  V (20B pav.). Redukcijos dalyje dvigubas sluoksnis prasideda

ties  $-0,3$  V, o smailė ties  $-0,51$  V, oksidacijos smailė yra ties  $-0,25$  V, o skirtumas tarp redokso smailių yra  $250$  mV, kas būdinga negrįžtamoms redokso reakcijoms. Oksidacijos banga prasideda ties  $+0,1$  V. Matoma, kad dėl skirtingos paviršiaus morfologijos ir pasirinktų potencialo ribų, ant Au elektrodo skiriasi smailių padėtis, lyginant su polimerizacijomis ant PGE ir GCE elektrodų. Be to, dėl paviršiaus hidrofiliškumo Chit sluoksnis tvirtai neprikimba prie Au paviršiaus ir polimerizacija galima tik ant nemodifikuoto metalo paviršiaus.



**21 pav.** FA elektropolimerizacijos CV ant LIG355 (A), Chit/LIG355 (B), LIG532 (C) ir Chit/LIG532 (D),  $1,0$  mM FA  $0,1$  M PBS, pH  $6,0$ . Potencialo intervalas nuo  $-1,5$  V iki  $+1,7$  V, ciklų skaičius  $75$  (A, B) ir  $72$  (C, D), sklaidimo greitis  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ . Vertikalios rodyklės rodo srovės pokyčius su ciklų skaičiumi, horizontalios rodyklės rodo potencialo nuskaitymo kryptį.

Pereinant prie plokščių elektrodų, pirmiausia naudojami LIG elektrodai. Polimerizacijos CV pateikiamos 21A,C pav. Kaip ir tikimasi, su visais elektrodais stebimas srovės tankio augimas su potencialo ciklų skaičiaus didinimu. Per pirmuosius ciklus užfiksuojamos tik nedidelės smailės, tačiau po kelių ciklų jos padidėja. Smailių skaičius ir padėtys panašios į FA polimerizacijos ant PGE ir GCE. Iš aukščiau aprašytų tyrimų matoma, kad Chit pagerina PFA stabilumą, todėl prieš FA polimerizaciją, LIG elektrodai

taip pat padengiami Chit sluoksniu. Per pirmuosius polimerizacijos ciklus ant Chit/LIG smailių beveik nesimato (21B,D pav.), tačiau didinant ciklų skaičių smailės atsiranda. Srovės tankio augimas ant Chit/LIG spartesnis nei ant LIG. Chit sluoksniu įtaka srovės tankio augimui esant galutiniam potencialui (+1,5 V) su abiem LIG elektrodais skirtinga: ant Chit/LIG355 srovės tankis mažesnis nei ant LIG355, o ant Chit/LIG532 – didesnis nei ant LIG532. Šie skirtumai susiję su tuo, kad nemodifikuotų elektrodų paviršius yra šiurkštus, o Chit plėvelė jį išlygina. Polimerizacija taip pat vykdoma tol, kol srovės tankis nebedidėja, t. y. 75 potencialo skleidimo ciklai polimerizuojant ant LIG355 ir Chit/LIG355, o ant LIG532 ir Chit/LIG532, – 72 ciklai.

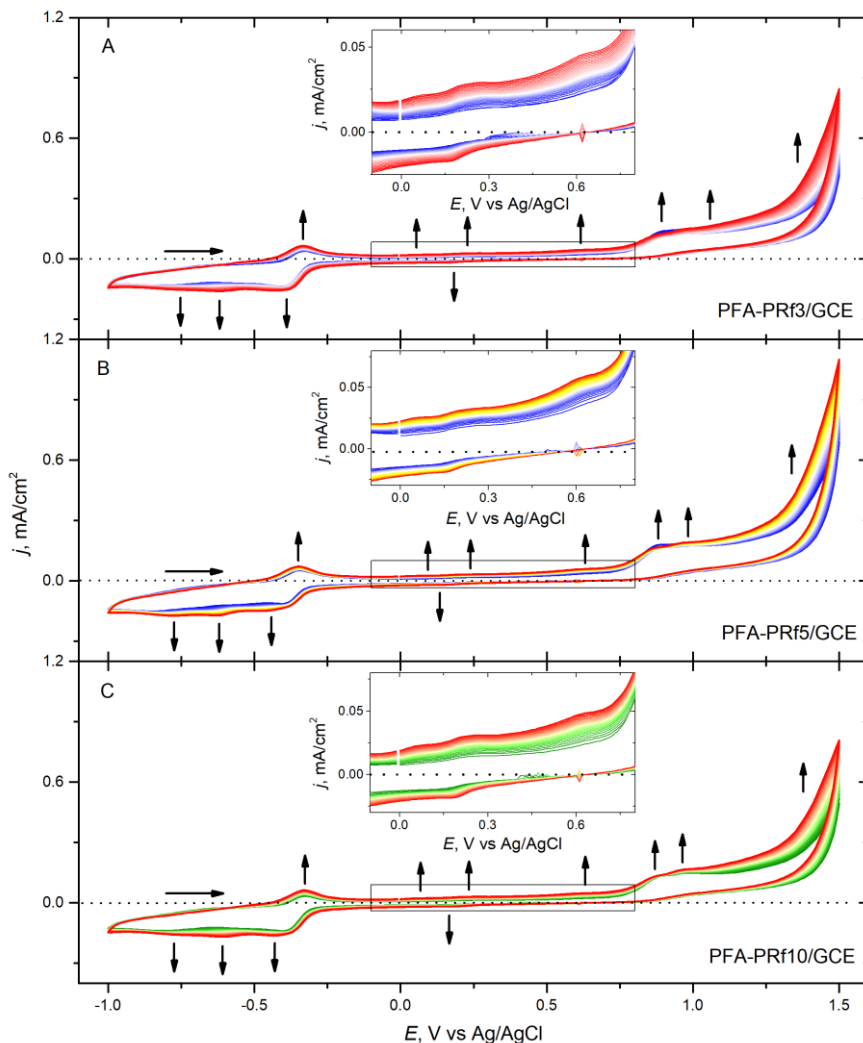
### 3.2.3. Elektrodų modifikavimas kopolimerais

Buvo išbandyti ir kopolimerai, tikintis, kad kombinuojant skirtingų polimerų savybes gautas kopolimeras bus tinkamesnis elektrocheminiams jutikliams. PFA-PRf kopolimerai sintetinami ant GCE paviršiaus, o polimerizacijos CV pateiktos 22 pav. Siekiant gauti geriausiomis elektroanalizinėmis savybėmis pasižyminčius kopolimerus, optimizuojamos polimerizacijos sąlygos, tam pasirenkami skirtingi FA ir Rf santykiai: 1,0:3,0, 1,0:5,0 ir 1,0:10,0, o gauti modifikuoti elektrodai vadinami atitinkamai PFA-PRf3/GCE, PFA-PRf5/GCE ir PFA-PRf10/GCE. Polimerizacijos CV skiriasi nuo atskirų FA ir Rf monomerų polimerizacijų. Tačiau smailių skaičius ir padėtys panašesnės į FA, o ne į Rf polimerizaciją. Redukcijos smailė stebima ties  $-0,38$  V, o oksidacijos ties  $-0,33$  V. Kaip matoma, redokso smailių potencialių skirtumas yra 50 mV, kas rodo grįžtamą redokso procesą. Taip pat matomos ir FA polimerizacijai būdingos oksidacijos bangos, teigiamoje potencialų srityje. Kopolimerizacijos metu radikalų susidarymas geriau išreikštas maždaug ties  $+0,90$  V (22 pav.). Be to, srovės tankis kopolimero formavimosi metu mažesnis nei atskirų polimerų. Visų PFA-PRf kopolimerų elektrosintezės metu potencialai skleidžiami kol redokso smailių srovės tankis nebedidėja 28–32 ciklus.

Išbandomi ne tik vitaminų, bet ir vitaminų bei amino rūgščių kopolimerai. Yra žinoma, kad teigiamą krūvį turintis PLL naudojamas pagerinti prisijungimą prie neigiamą krūvį turinčio polimero, šiuo atveju PRf arba PFA [76]. Todėl nuspręsta naudoti PLL ir elektropolimerizuojami PRf-PLL ir PFA-PLL kopolimerai.

Iš pradžių, polimerizuojant Rf ir LL ant PGE (23A pav.) per pirmuosius ciklus matoma Rf oksidacijos smailė ties  $-0,50$  V, kuri didinant ciklų skaičių pasislenka iki  $-0,30$  V; ji priskiriama  $Fl_{rad}^{\cdot-}$  radikalo oksidacijai į  $Fl_{ox}$ . Be to,

didinant ciklų skaičių atsiranda antra smailė, siejama su  $\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^+$  oksidacija, ties  $-0,10$  V. Po 32 ciklų abi smailės pasiekia panašų srovės tankį ir susilieja.

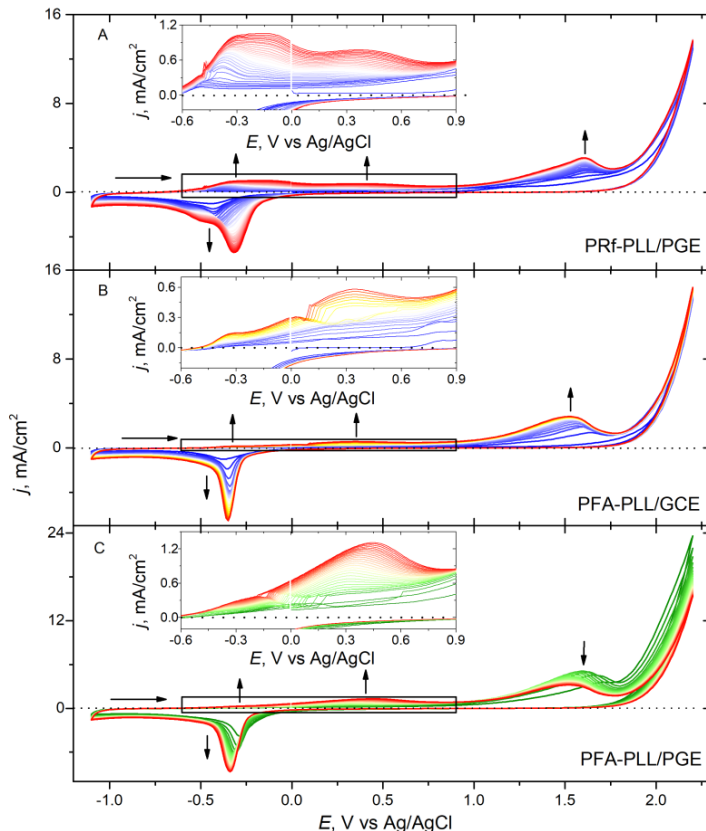


**22 pav.** FA-Rf elektropolimerizacijos CV ant GCE. FA ir Rf, monomerų santykis buvo 1:3 (A), 1:5 (B) ir 1:10 (C), 0,1 M PBS, pH 6,0. Potencialų intervalas nuo  $-1,0$  V iki  $+1,5$  V, ciklų skaičius 32, sklaidimo greitis  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Vertikalios rodyklės rodo srovės pokyčius su ciklų skaičiumi, horizontalios rodyklės rodo potencialo nuskaitymo kryptį. Intarpai rodo padidintas FA polimerizacijai, teigiamoje potencialų dalyje, būdingas oksidacijos bangas.

Taip pat dėl chinono grupių inkorporavimo elektrodo paviršiuje, atsiranda oksidacijos smailė ties  $+0,37$  V [14]. Toliau, dėl Rf peroksidacijos atsiranda smailė ties  $+1,60$  V [77]. Neigiamų srovių dalyje per pirmuosius ciklus



matoma L-lizino redukcijos smailė ties  $-0,43$  V, o ciklų skaičiui augant ši smailė pasislenka į mažiau neigiamo potencialo pusę iki  $-0,32$  V. Rf redukcijos smailė matoma po 4 ciklų ties  $-0,60$  V ir su ciklų skaičiumi taip pat pasislenka į mažiau neigiamų potencialų pusę iki  $-0,50$  V, kas rodo polimero formavimąsi.



**23 pav.** Rf-LL ir FA-LL elektropolimerizacijų CV. Rf ir LL ant PGE (A), FA ir LL ant GCE (B) arba PGE (C). Naudojama 1,0 mM Rf ir LL (A), arba 0,1 mM FA ir 1,0 mM LL (B ir C), 0,1 M PBS, pH 5,5, ir 0,1 M  $K_2SO_4$ . Potencialas skleidžiamas tarp  $-1,1$  V ir  $+2,2$  V, ciklų skaičius 32 (A ir C) ir 20 (B), skleidimo greitis  $50$   $mV\ s^{-1}$ . Vertikalios rodyklės rodo srovės pokyčius su ciklų skaičiumi, horizontalios rodyklės rodo potencialo skleidimo kryptį. Intarpai rodo padidintą polimerizacijos dalį.

FA-LL polimerizacija ant GCE (23B pav.) per pirmuosius ciklus oksidacijos smailę nematoma, bet su ciklų skaičiumi atsiranda FA oksidacijos smailė ties  $-0,33$  V, o dėl 7,8-dihydrofolio rūgšties darinio redukcinio skilimo banga atsiranda ties  $0,0$  V, ties  $+0,34$  V matoma chinono grupių inkorporavimo smailė, o ties  $+1,53$  V matoma folato peroksidacijos smailė.

Redukcijos dalyje matoma tik LL redukcijos smailė ties  $-0,38$  V, su ciklų skaičiumi ji nežymiai pasislenka į mažiau neigiamų potencialų pusę, t.y. iki  $-0,35$  V. FA redukcijos smailių nesimato.

Polimerizuojant FA-LL ant PGE (23C pav.) polimerizacijos ciklinės voltamperogramos šiek tiek panašios į GCE padengimo FA-LL polimeru. Šiuo atveju FA polimerizacijos smailių nesimato, o chinono grupių inkorporavimo smailės, ties  $+0,44$  V, srovės tankis yra didesnis nei ant GCE elektrodo. FA peroksidacijos smailė su ciklų skaičiumi pasislenka nuo  $+1,60$  V iki  $+1,52$  V. Be to, šios smailės srovės tankis mažėja su ciklų skaičiumi, tai rodo, kad monomerų skaičiaus sumažėjimą. Redukcijos dalyje LL redukcijos smailė su ciklų skaičiumi pasislenka nuo  $-0,27$  V iki  $-0,34$  V. Ant PGE FA polimerizacija vyksta potencialą skleidžiant iki 28–32 ciklus, o ant GCE – iki 20 ciklų.

Iš gautų polimerizacijų CV matoma, kad geriausiai ant įvairių elektrodų polimerizuojasi FA. O didžiausias srovės tankis gaunamas, kai FA polimerizuojamas ant chitozanu modifikuotų LIG elektrodų, o iš jų – Chit/LIG532. Sunkiausiai FA polimerizacija vyko ant Au elektrodo, nes srovės tankis yra mažesnis nei ant kitų elektrodų.

Iš sudėtinių polimerų sunkiausiai sintetinami PFA-PRf kopolimerai. Geriausiai polimerizacijos smailės matomos, kai sintetinamas PRf-PLL kopolimeras, tuomet jau įmanoma atskirti naudotų monomerų oksidacijos ir redukcijos smailės.

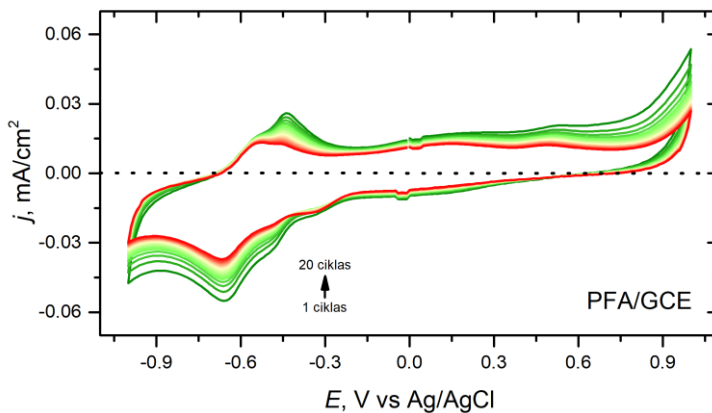
### 3.3. Modifikuotų elektrodų elektrocheminiai tyrimai

#### 3.3.1. Modifikuotų elektrodų stabilumas

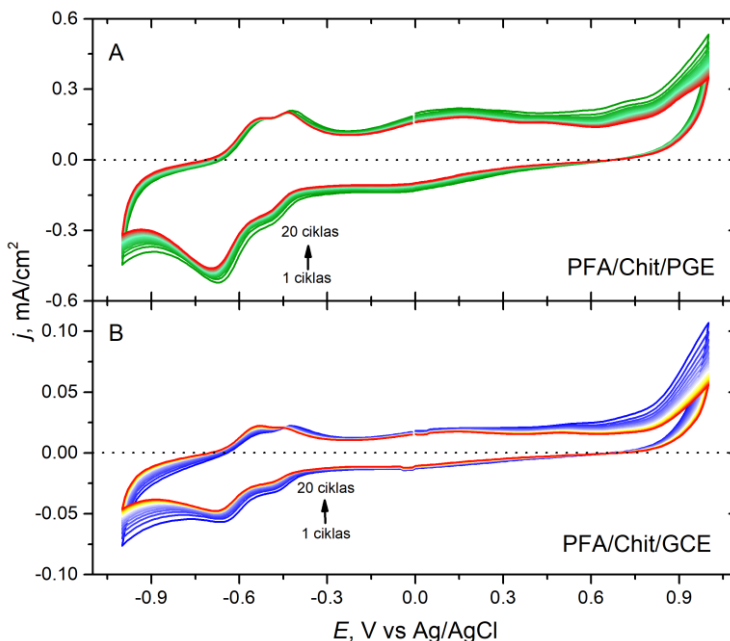
Prieš tiriant modifikuotus elektrodus elektrochemiškai, naudojant CV, išsiaiškinama ar naudoti polimerai yra stabilūs.

Pirmiausia stebimas PFA stabilumas ant PGE ir GCE elektrodų registruojant CV 0,1 M PBS, 7,0 pH buferyje, kai potencialas skleidžiamas nuo  $-1,0$  V iki  $+1,0$  V  $50$  mV s<sup>-1</sup> greičiu 20 ciklų. PFA/PGE (grafikai nepateikti) dvigubų bangų, siejamų su 5,8-dihydrofolio rūgšties redokso procesu ( $-0,56$  iki  $-0,45$  ir  $-0,51$  iki  $-0,70$  V), srovės tankis sumažėja per 20 ciklų, išskyrus bangą ties  $-0,56$  V, kuri nepakito. Oksidacijos smailė ties  $-0,45$  V, sumažėja apie 47 %, o redukcijos ties  $-0,70$  V – apie 40 %. Tuo tarpu, tiriant PFA/GCE (24 pav.), smailių srovės tankio pokytis panašus kaip ir PGE atveju, tik oksidacijos dalyje smailė ties  $-0,44$  V, sumažėja 87 %, o redukcijos ties  $-0,66$  V – 45 %.

Kaip matyti, PFA polimeras ant PGE ir GCE yra nepakankamai stabilus praktiniams taikymams. Panašūs rezultatai gauti ir su PRf, bet polimeras dar labiau nestabilus (duomenys nepateikti), todėl tolesniems tyrimams naudojama PFA.



**24 pav.** PFA stabilumo CV, 0,1 M PBS, 7,0 pH, GCE. Potencialų intervalas nuo  $-1,0$  V iki  $+1,0$  V, ciklų skaičius 20, sklaidimo greitis  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ .



**25 pav.** PFA stabilumo CV, 0,1 M PBS, 7,0 pH, Chit/PGE (A) ir Chit/GCE (B). Potencialų intervalas nuo  $-1,0$  V iki  $+1,0$  V, ciklų skaičius 20, sklaidimo greitis  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ .

Norint pagerinti PFA stabilumą ant PGE ir GCE, prieš FA polimerizaciją, elektrodai padengiami Chit plėvele. PFA stabilumas ant Chit/PGE stebimas naudojant CV tomis pačiomis sąlygomis kaip ir PFA/GCE atveju. Po 20 potencialo skleidimo ciklą visos PFA/Chit/PGE (25A pav.) smailės pasislenka apie 20 mV į neigiamo potencialo pusę, o redokso poros oksidacijos smailių srovės tankis nepakinta, o redukcijos smailė ties  $-0,67$  V sumažėja iki 18 %.

Naudojant PFA/Chit/GCE (25B pav.) smailės pasislenka iki 30 mV į neigiamo potencialo pusę. Pirmosios oksidacijos smailės ties  $-0,54$  V srovės tankis padidėja 66 %, o ties  $-0,42$  V sumažėja 17 %. Kitoks vaizdas redukcijos dalyje, ant GCE srovės tankio pokytis didesnis: sumažėja apie 27 %.

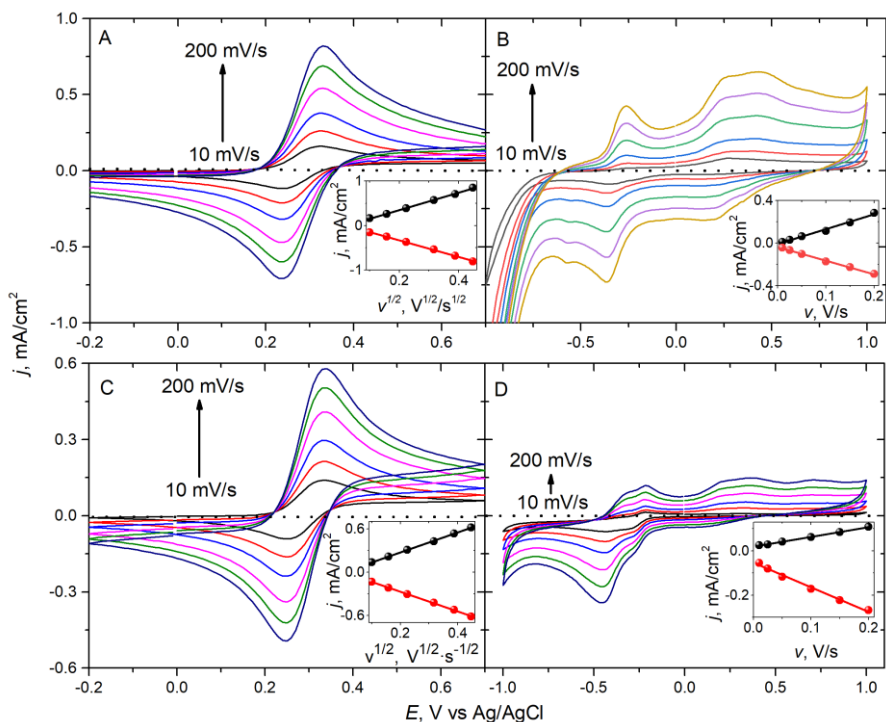
Iš atliktų tyrimų matoma, kad Chit pagerina polimerų stabilumą ir ant PGE oksidacijos smailių srovės tankis nesikeičia, o ant GCE oksidacijos dalyje smailė ties  $-0,54$  V padidėja.

Gauti rezultatai rodo, kad elektrodai padengti su PFA/Chit yra stabilesni, nes dėl Chit-PFA sąveikos per vandenilinius ryšius [78] redokso polimeras ilgiau laikosi ant elektrodo paviršiaus, todėl tolimesni tyrimai atliekami su PFA/Chit modifikuotais elektrodais.

### 3.3.2. Modifikuotų elektrodų elektroaktyvusis plotas

Jau minėta anksčiau, kad elektroaktyvusis plotas yra svarbus elektrodų parametras, nes nuo jo priklauso srovės atsakas. Kaip ir 3.1.3 skyrelyje naudojant CV apskaičiuojamas modifikuotų elektrodų  $A_{EA}$  ir nustatius kuris procesas kontroliuoja elektrocheminę redokso reakciją.

Pirmiausia atliekami tyrimai su Chit modifikuotais PGE ir GCE, tomis pačiomis sąlygomis, kaip ir su PGE ir GCE.  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  redokso smailių potencialų skirtumas yra 85 ir 86 mV atitinkamai ant Chit/PGE ir Chit/GCE (26 pav.), t. y. atitinka kvazigrįžtamą redokso reakciją. Redokso smailių aukščio santykis  $\sim 0,961$  ir  $0,996$  atitinkamai Chit/PGE ir Chit/GCE, o tai būdinga grįžtamosioms redokso reakcijoms. Abiejų elektrodų atveju tiesinė srovės tankio priklausomybė yra nuo kvadratinės šaknies iš potencialo skleidimo greičio (26A ir C pav. intarpai), o tai reiškia, kad procesai valdomi difuzijos. Šių tiesinių priklausomybių nuolinkio kampas Chit/PGE atveju yra  $1,97$  ir  $-1,87$   $\text{mA cm}^{-2} \text{V}^{-1/2} \text{s}^{1/2}$  atitinkamai oksidacijai ir redukcijai, o Chit/GCE –  $1,39$  ir  $-1,37$   $\text{mA cm}^{-2} \text{V}^{-1/2} \text{s}^{1/2}$ . Kadangi procesas ribojamas difuzijos, tai  $A_{EA}$  apskaičiavimui pritaikoma Randles–Ševčík lygtis (3), o gauti plotai yra  $0,099$  ir  $0,071$   $\text{cm}^2$  atitinkamai Chit/PGE ir Chit/GCE (geometrinis plotas  $0,071$   $\text{cm}^2$ ). Iš šio eksperimento matoma, kad Chit/PGE  $A_{EA}$  yra didesnis už PGE, o padengus GCE Chit sluoksniu  $A_{EA}$  nežymiai sumažėja (3.1.3. skyrelis).



**26 pav.** CV užrašytos įvairiems elektrodams: Chit/PGE (A), PFA/Chit/PGE (B), Chit/GCE (C) ir PFA/Chit/GCE (D), 0,1 M KCl/HCl, pH 2,0, tirpale (A-D), kuriame yra 2,0 mM  $K_4[Fe(CN)_6]$  (A ir C), esant skirtingiems skleidimo greičiams (10, 25, 50, 100, 150 ir 200  $mV s^{-1}$ ). Įterptuose grafikuose pateiktos smailių srovės tankio priklausomybės nuo skleidimo greičio.

26B pav. pavaizduota PFA/Chit/PGE elgsena esant skirtingam skleidimui greičiu tame pačiame elektrolite, kaip ir Chit modifikuoto elektrodo atveju, tik  $K_4[Fe(CN)_6]$  nenaudojamas, nes PFA pats yra redokso junginys ir voltamperogramoje matomos aiškios redokso smailės. Aiškios redokso smailės stebimos ties  $-0,35$  ir  $-0,26$  V, didinant skleidimo greitį redukcijos smailė šiek tiek pasilenka į labiau neigiamo potencialo pusę. Priklausomai nuo potencialo skleidimo greičio redokso smailių potencialų skirtumas svyruoja nuo 90 iki 103 mV. Ši kvazigrįžtamoji redokso pora siejama su grįžtamuju 5,8-dihydrofolio rūgšties virtimu 7,8-dihydrofolio rūgštimi [74]. Šio elektrocheminio proceso kvazigrįžtamumas greičiausiai sukeltas po PFA esančio Chit sluoksnio, kuris sulėtina elektronų pernašos greitį.

Kita grįžtamoji redokso pora pastebėta ties 0,21 ir 0,28 V, tačiau ji yra neaiškiai išreikšta. Remiantis 3.3.2. skyriuje aptartais duomenimis, ji priklauso C(9) redokso procesui [74]. Nauja oksidacijos banga, kuri rodo, kad

tai yra greitas procesas, atsiranda ties 0,42 V, esant 50 mV s<sup>-1</sup> ir didesniam skleidimo greičiui. Ją galima priskirti oksidacijai redukuotos formos N(10) padėtyje [74]. Dar vienas greitas nežinomos kilmės redukcijos procesas pasirodė ties -0,55 V esant 50 mV s<sup>-1</sup> ir didesniam skleidimo greičiui. Kadangi polimeras yra adsorbuotas, vargu ar tai galima priskirti PFA adsorbicijai. Greičiausiai įmanoma, kad 2e<sup>-</sup> ir 2H<sup>+</sup> reakcija, esant greitam potencialo skleidimo greičiui, yra suskaidoma į dviejų etapų reakcijas, kur pirmasis etapas yra lėtas, o antrasis – greitas. Kadangi pirmoji redokso pora yra išreikšta aiškiai, tai jos priklausomybė nuo potencialo skleidimo greičio pateikta 26B pav. intarpe. Kaip matyti, tiesinė srovės tankio priklausomybė yra nuo skleidimo greičio, o tai rodo, kad procese dominuoja adsorbicija, kaip buvo pastebėta ankstesniuose darbuose su CP [22,24]. Šių priklausomybių nuolinkio kampas yra 1,40 ir -1,29 mA cm<sup>-2</sup> V<sup>-1</sup> s<sup>1</sup> atitinkamai redukcijai ir oksidacijai. Kaip minėta, atstumas tarp redokso poros smailių panašus į kvazigrįžtamo proceso; be to, redokso smailės srovės tankio santykis gerokai mažesnis nei 1,0. Šie faktai leidžia daryti išvadą, kad elektronų pernašos procesas yra negrįžtamas pagal Nernst'o lygtį ir A<sub>EA</sub> nustatymui negalima taikyti Randles–Ševčik lygties. Todėl paviršiaus padengimo plotas (angl. A<sub>SC</sub>) apskaičiuotas taikant DL talpą apskaičiuotą iš CV [79]:

$$A_{SC} = \frac{C_{DL}}{C_s} \quad (6),$$

kur C<sub>DL</sub> (mF) yra DL talpa, o C<sub>s</sub> (mF cm<sup>-2</sup>) – savitoji talpa. C<sub>DL</sub> yra lygus:

$$C_{DL} = \frac{I}{v} \quad (7),$$

t. y. srovės priklausomybė nuo potencialo skleidimo greičio DL srityje.

PFA/Chit/PGE C<sub>s</sub> nėra žinoma, todėl ji paimta iš grafito, padengto polianilinu. Kadangi žinoma, kad polimero padengimas šiek tiek sumažina C<sub>s</sub> (500 ir 437 mF cm<sup>-2</sup> atitinkamai švariam grafitui ir polianilinu padengtam elektrodui [80]), naudojama C<sub>s</sub> yra 430 mF cm<sup>-2</sup>. Nustatyta, kad A<sub>SC</sub> yra 0,00047 cm<sup>2</sup>.

Tyrimai pakartojami naudojant PFA/Chit/GCE tomis pačiomis sąlygomis kaip ir su PFA/Chit/PGE. Šiuo atveju redokso procese matomos dvigubos bangos: oksidacijos nuo -0,34 iki -0,21 V ir redukcijos nuo -0,28 iki -0,45 V. Šios redokso dalies ryški oksidacijos smailė yra ties -0,21 V, o redukcijos ties -0,45 V, o priklausomai nuo skleidimo greičio, jų potencialų skirtumas svyruoja nuo 226 iki 244 mV, o srovės tankių santykis didesnis nei 1,0, kas būdinga negrįžtamoms reakcijoms. Šių smailių srovės tankio tiesinė priklausomybė yra nuo skleidimo greičio ir jų nuolinkio kampas yra 0,44 ir -1,11 mA cm<sup>-2</sup> V<sup>-1</sup> s<sup>1</sup> atitinkamai redukcijai ir oksidacijai. Paviršiaus

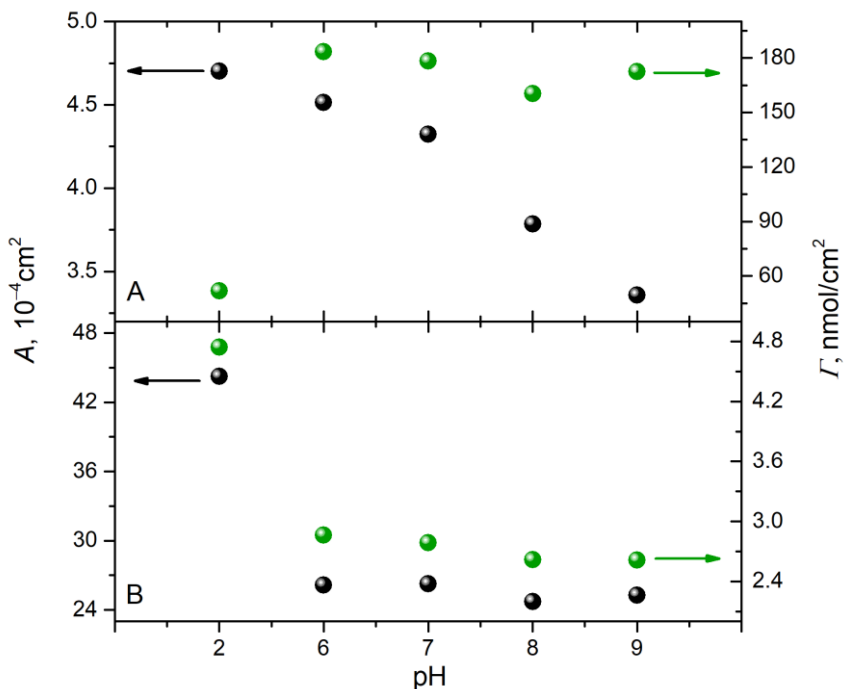
padengimo plotas nustatomas tokiu pat metodu, kaip ir PFA/Chit/PGE atveju. Žinoma, kad GCE  $C_s$  yra  $9,18 \text{ mF cm}^{-2}$  [81], o apskaičiuotas  $A_{SC}$  yra  $0,0044 \text{ cm}^2$ . Kita redokso pora, kuri yra grįžtamoji, pastebėta ties  $0,15 \text{ V}$  ir  $0,20 \text{ V}$ , tačiau ji kaip ir PFA/Chit/PGE atveju yra neaiški.

Su abiem modifikuotais elektrodais tyrimai pakartojami PBS tirpaluose, kurių pH keičiamas nuo  $6,0$  iki  $9,0$ , PFA/Chit/PGE  $A_{SC}$  yra atitinkamai  $0,00045 \text{ cm}^2$  ir  $0,00034 \text{ cm}^2$ , o PFA/Chit/GCE –  $0,0026 \text{ cm}^2$  ir  $0,0025 \text{ cm}^2$  (27 pav. juodi apskritimai). Matoma, kad keičiant pH nuo  $6,0$  iki  $9,0$  PFA/Chit/PGE paviršiaus padengimo plotas mažėja, o PFA/Chit/GCE atveju pasikeičia nežymiai. Taip pat matoma, kad PFA/Chit/PGE  $A_{SC}$  yra mažesnis nei PFA/Chit/GCE.

Kadangi PFA nusodintas ant elektrodo, paviršiaus padengimas ( $\Gamma$ ), apskaičiuojamas taikant adsorbuotų polimerų maksimalios srovės modelį [82]:

$$I_p = \frac{n^2 F^2}{4RT} v A_{SC} \Gamma \quad (8),$$

kur  $I_p$  – didžiausia srovė,  $n$  – elektronų skaičius,  $F$  ir  $R$  – atitinkamai Faradėjaus ir dujų konstantos,  $T$  – temperatūra,  $v$  – potencialo skleidimo greitis,  $A_{SC}$  – paviršiaus padengimo plotas.



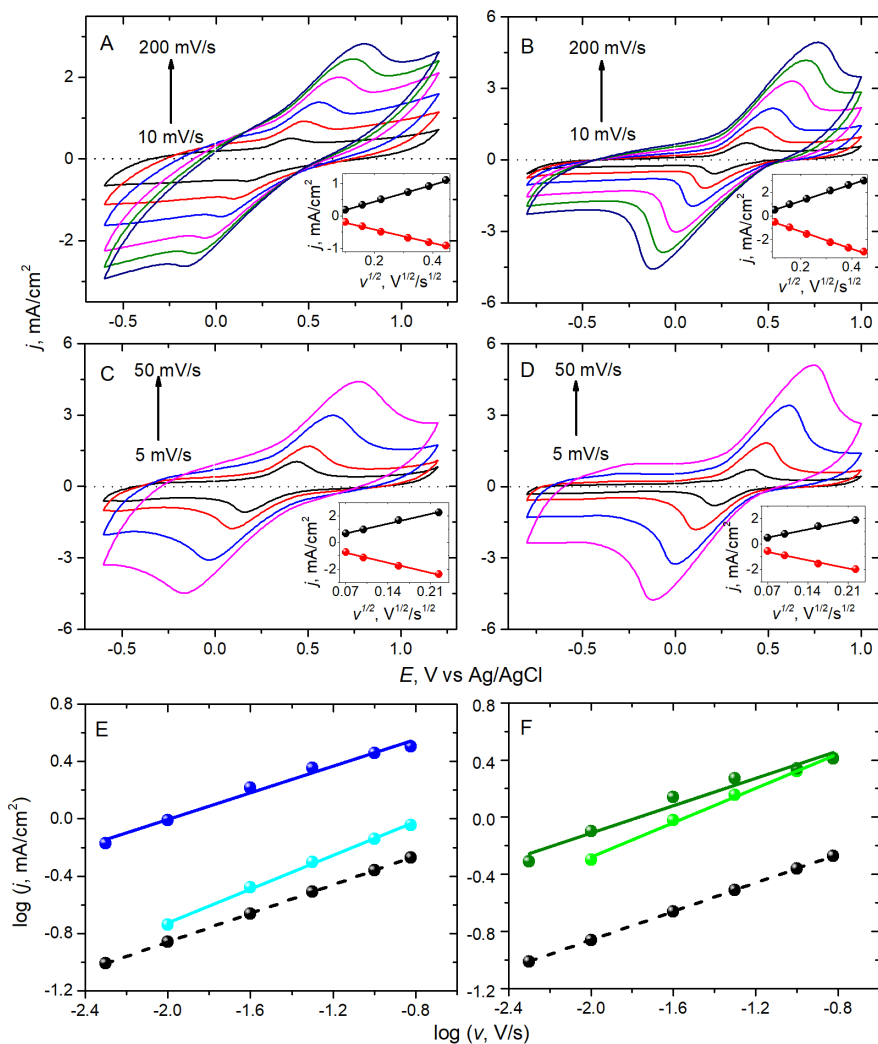
**27 pav.**  $A_{SC}$  (juodi apskritimai) ir  $\Gamma$  (žali apskritimai) priklausomybė nuo pH, PFA/Chit/PGE (A) ir PFA/Chit/GCE (B).

Pagal (8) lygties modelį, PFA/Chit/PGE ir PFA/Chit/GCE paviršiaus padengimas, esant pH 2,0, atitinkamai yra  $52 \text{ nmol cm}^{-2}$  ir  $4,7 \text{ nmol cm}^{-2}$ , o kai pH keičiamas nuo 6,0 iki 9,0, atitinkamai 160 ir 183  $\text{nmol cm}^{-2}$  su PFA/Chit/PGE ir 2,8 ir 2,8  $\text{nmol cm}^{-2}$  (27 pav., žali apskritimai), o tai sutampa su kitomis CP plėvelėmis [83]. Visiškai monosluoksniu padengtas paviršius paprastai būna kelių  $\text{nmol cm}^{-2}$  eilės [83], taigi šiuo atveju PFA plėvelė ant Chit/PGE yra daug storesnė už monosluoksni. Palyginimui, ankstesniame darbe [22] ant grafeno–Chit sluoksnio elektropolimerizuotas PFA yra plonas ir neištisinis ( $0,267 \text{ nmol cm}^{-2}$ ). Šiuos skirtumus lemia ne tik po juo esančio sluoksnio prigimtis, bet ir skirtingi PFA formavimo protokolai. Matoma, kad paviršiaus padengimas pasikeičia nežymiai, kai PFA/Chit/PGE ir PFA/Chit/GCE pH intervale nuo 6,0 iki pH 9,0. Taip pat PFA/Chit/PGE paviršiaus padengimas yra didesnis nei PFA/Chit/GCE.

Tyrimai atliekami ir su Chit plėvele modifikuotais LIG elektrodais. CV, lyginant su LIG, reikšmingai nepasikeitė. LIG355 elektrodų srovės tankis šiek tiek didesnis nei be Chit (15 pav.), o LIG532 elektrodų srovės tankio pokytis didesnis (28A, B pav.), nes Chit yra elektroaktyvus polimeras. Dėl polimero sąlygoto difuzijos barjero atstumas tarp smailių padidėja, lyginant su elektrodais be Chit, ir priklausomai nuo potencialo skleidimo greičio Chit/LIG355 ir Chit/LIG532 atveju kito atitinkamai nuo 228 iki 900 mV ir nuo 177 iki 859 mV, o redokso smailės aukščių santykis buvo artimas 1,0. Smailių srovės tankis tiesiškai priklauso nuo kvadratinės šaknies iš potencialo skleidimo greičio, o jų nuolydžiai yra  $2,56 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  ir  $-2,07 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  bei 7,13 ir  $-7,34 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$ , atitinkamai Chit/LIG355 ir Chit/LIG532.

Kadangi redokso procesas pagal Nernst'o lygį yra negrįžtamas dėl didelio skirtumo tarp smailių pozicijų, buvo atliekama detalesnė analizė nustatant, ar procesas yra kontroliuojamas difuzijos. Kaip matyti, procesas pasižymėjo pusiau begaline difuzija, nustatyta iš oksidacijos smailės srovės nuo skleidimo greičio grafiko logaritminėje skalėje (28 pav., E, F), kaip ir Chit/LIG elektrodų atveju. Šios priklausomybės nuolinkio kampas Chit/LIG355 atveju yra 0,590, o Chit/LIG532 – 0,602. Nors šios vertės šiek tiek didesnės nei nemodifikuotų elektrodų, jos vis tiek yra artimos teorinei vertei, todėl Randles–Ševčik lygtimi galima nustatyti  $A_{EA}$ , kuris Chit/LIG355 atveju yra  $0,933 \text{ cm}^2$ , o Chit/LIG532 atveju –  $2,732 \text{ cm}^2$ , t. y. gerokai didesnis nei nemodifikuotų elektrodų atveju ( $0,5 \text{ cm}^2$ ). Didelį modifikuotų elektrodų elektroaktyvųjį plotą įtakoja porėtas LIG355 ir LIG532 paviršius, kaip nustatyta 3.1.2. skyrelyje. Kadangi paviršiaus porėtumas LIG532 atveju yra gerokai didesnis, todėl ir šio elektrodo  $A_{EA}$  yra 5.5 karto didesnis už geometrinį.





**28 pav.** CV užrašytos Chit/LIG355 (A), PFA/Chit/LIG355 (C), Chit/LIG532 (B) ir PFA/Chit/LIG532 (D) elektrodams, 0,1 M KCl/HCl, pH 2,0, tirpale, kuriame yra 2,0 mM  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , esant skirtingiems skleidimo greičiams: 10, 25, 50, 100, 150 ir 200  $\text{mV s}^{-1}$  (A, B) ir 5, 10, 25 ir 50  $\text{mV s}^{-1}$  (C, D). Oksidacijos ir redukcijos smailių srovės tankio priklausomybė nuo kvadratinės šaknies iš skleidimo greičio (įterpti A, B, C ir D paveiksluose) ir srovės tankio logaritmo nuo skleidimo greičio logaritmo, atitinkamai modifikuotose LIG355 ((E), šviesiai mėlyna spalva padengta Chit ir tamsiai mėlyna spalva padengta PFA/Chit) ir LIG532 ((F), šviesiai žalia spalva padengta Chit ir tamsiai žalia spalva padengta PFA/Chit). Brūkšnine juoda linija rodoma prognozuojama srovė pagal Randles–Ševčik lygtį ir geometrinį elektrodo paviršiaus plotą.

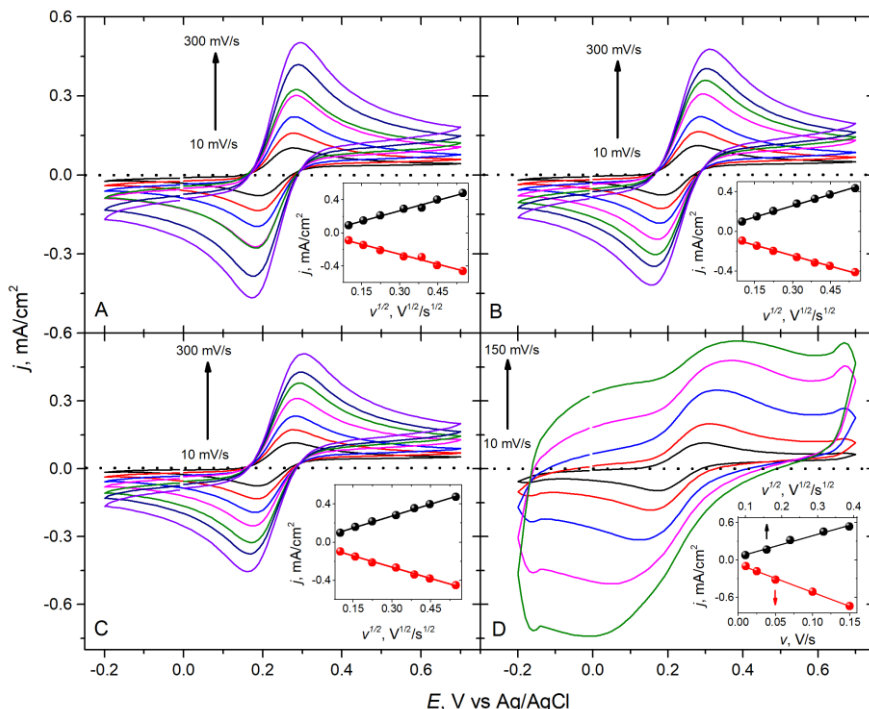
28C, D paveiksluose pavaizduota elektrocheminė elgsena atitinkamai PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532, esant skirtingiems skleidimo greičiams tokiomis pačiomis sąlygomis kaip ir ankstesnių elektrodų atveju. Nors PFA yra redokso junginys, kaip pastebėta ankstesniame darbe [22], aiškių redokso smailių nepastebėta, todėl naudotas papildomas redokso junginys –  $K_4[Fe(CN)_6]$ . Kadangi CV deformuojasi, kai potencialo skleidimo greitis didesnis nei  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , modifikuoti elektrodai tiriami skleidimo greičio diapazone nuo 5 iki  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . CV panašios į Chit modifikuoto elektrodo, tačiau srovės tankis PFA/Chit/LIG355 (28C pav.) ir PFA/Chit/LIG532 (28D pav.) beveik du kartus didesnis nei be PFA. PFA modifikuoto elektrodo potencialų skirtumas tarp redokso smailių didesnis, esant tiems patiems skleidimo greičiams (28C ir D pav.). PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 atstumas tarp smailių svyruoja atitinkamai nuo 275 iki 932 mV ir nuo 290 iki 921 mV, priklausomai nuo potencialo skleidimo greičio. Šių elektrodų elektrocheminė elgsena labiausiai priklauso nuo pagrindo pobūdžio. Be to, PFA labiau veikia kaip puslaidininkinis polimeras [22].

Kaip matyti, tiesinė srovės tankio priklausomybė nuo kvadratinės šaknies iš potencialo skleidimo greičio yra 10,51 ir  $-10,78 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  (28C pav. intarpe) bei 9,06 ir  $-9,23 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  (28D pav. intarpe), atitinkamai oksidacijos ir redukcijos atveju, o tai rodo, kad procese dominuoja difuzija, kitaip nei ankstesniuose darbuose [22,24]. Redokso smailių srovės tankių santykis artimas 1,0. Oksidacijos smailės srovės nuo skleidimo greičio logaritminės tiesinės priklausomybės (28E, F pav.) nuolinkio kampai šiek tiek mažesni nei Chit/LIG elektrodų: 0,466 ir 0,479 atitinkamai PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532, o tai rodo pusiau begalinę difuziją. PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532  $A_{EA}$  yra 3,808 ir 3,282  $\text{cm}^2$ . Šie faktai rodo, kad kiekvieno polimero sluoksnis padidina  $A_{EA}$ . Dėl LIG porėtumo PFA įsiterpia giliau, susidaro elektroaktyvių centrų ir stebimas toks  $A_{EA}$  padidėjimas lyginant su geometrinium plotu ( $0.5 \text{ cm}^2$ ).

Tiriami ir vitaminų kopolimerai. Pirmiausia PFA-PRf3, PFA-PRf5 ir PFA-PRf10 elektrocheminiai tyrimai atliekami naudojant CV, kai pridodamas  $K_4[Fe(CN)_6]$ , nes be jo kopolimerų smailės neaiškios. Pirmiausiai registruojamos CV kreivės, esant skirtingiems potencialo skleidimo greičiams (29 pav.).

Kaip matyti, PFA-PRf3/GCE, PFA-PRf5/GCE ir PFA-PRf10/GCE CV panašios visiems trimis kopolimerais modifikuotiems elektrodams (29 pav.). Visais atvejais atstumas tarp smailių yra 90 mV, o tai rodo kvazigrįžtamą procesą, kurį lemia kitokia kinetika kopolimerais modifikuotame elektrode nei ant švaraus GCE [67]. Visais trimis atvejais elektrocheminis procesas yra ribojamas difuzijos, kaip matyti iš redokso smailių, ties 0,29 V ir 0,17 V

atitinkamai oksidacijos ir redukcijos, srovės tankių priklausomybės nuo kvadratinės šaknies iš potencialo skleidimo greičio (29 pav. intarpai). Šių tiesinių priklausomybių nuolinkio kampai yra 0,835 ir  $-0,795 \text{ mA cm}^{-2} \text{ mV}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  atitinkamai oksidacijai ir redukcijai.  $A_{EA}$ , apskaičiuotas pagal Randles–Ševčik lygtį, PFA-PRf3/GCE, PFA-PRf5/GCE ir PFA-PRf10/GCE yra po 0,043  $\text{cm}^2$ . Kaip matyti, geometrinis plotas ( $0,071 \text{ cm}^2$ ) yra didesnis, kaip įprasta FA pagrindu susintetintiems polimerams [67].



**29 pav.** CV užrašytos PFA-PRf3/GCE (A), PFA-PRf5/GCE (B), PFA-PRf10/GCE (C) ir PFA-PLL/GCE (D) elektrodams 0,1 M KCl/HCl, pH 2,0, tirpale, kuriame yra 2,0 mM  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , esant skirtingiems skleidimo greičiams: 10, 25, 50, 100, 150, 200 ir  $300 \text{ mV s}^{-1}$  (A, B ir C) arba 10, 25, 50, 100 ir  $150 \text{ mV s}^{-1}$  (D). Įterptuose grafikuose (A, B ir C) pateikta oksidacijos ir redukcijos smailių srovės tankio priklausomybė nuo kvadratinės šaknies iš skleidimo greičio. Įterptame D grafike pateikta smailių srovės tankio priklausomybė nuo skleidimo greičio (raudoni apskritimai) ir nuo šaknies iš skleidimo greičio (juodi apskritimai).

Toliau tiriamas ir FA kopolimeras su LL – PFA-PLL/GCE tomis pačiomis sąlygomis kaip ir PFA-PRf/GCE. Kaip matyti iš 29D pav., potencialų skirtumas tarp smailių siekia 140 mV, o tai rodo negrįžtamą elektronų pernašos procesą pagal Nernst'o lygtį. Dėl šios priežasties  $A_{EA}$  negalima

nustatyti pagal Randles–Ševčik lygtį. Be to, oksidacijos ir redukcijos procesai vyksta skirtingais mechanizmais, nes tiesinė priklausomybė nuo kvadratinės šaknies iš potencialo skleidimo greičio yra tik oksidacijos atveju. Šios priklausomybės nuolinkio kampas yra  $1,61 \text{ mA cm}^{-2} \text{ mV}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  (29D pav. intarpas juodi apskritimai), o redukcijos smailės srovės tankis priklauso nuo skleidimo greičio, kurios nuolinkio kampas yra  $-4,49 \text{ mA cm}^{-2} \text{ mV s}^{-1}$  (28D pav. raudoni apskritimai). O tai rodo, kad oksidacija kontroliuojama difuzijos, o redukcija – adsorbcijos. Todėl paviršiaus padengimo plotas apskaičiuojamas naudojant DL talpą gautą iš CV (6 lygtis). Šiuo atveju  $A_{SC}$  yra  $0,025 \text{ cm}^2$ , kai tuo tarpu geometrinis plotas –  $0,071 \text{ cm}^2$ .

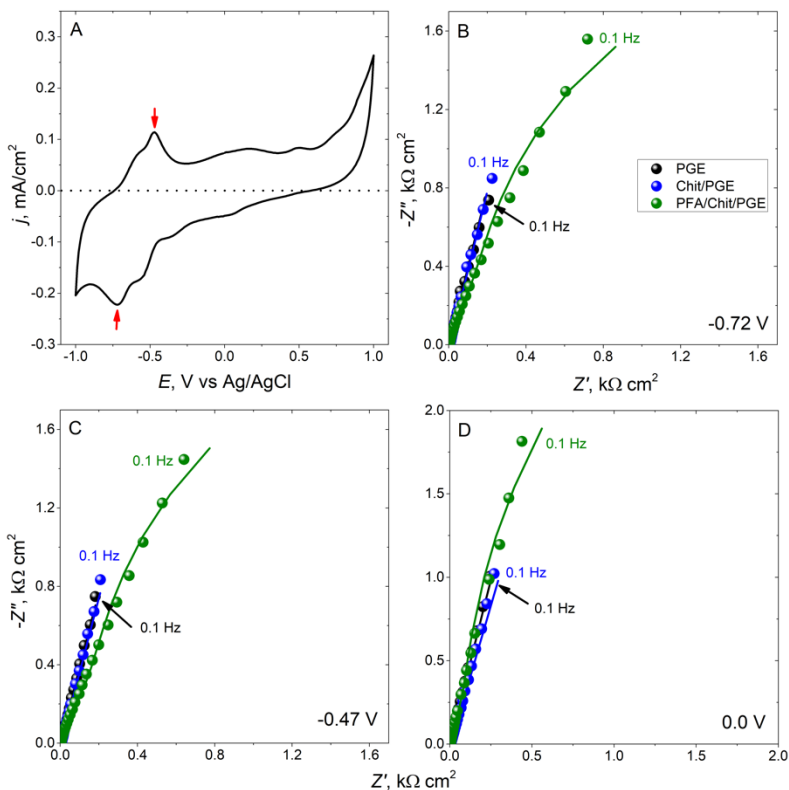
Iš atliktų tyrimų matoma, kad elektrodus padengiant Chit plėvele, jų  $A_{EA}$  keičiasi priklausant nuo naudoto elektrodų prigimties: ant GCE sumažėja 10 %, o ant PGE, LIG355 ir LIG532 padidėja atitinkamai 71 %, 21 % ir 211 %. Tuo tarpu, kai chitozanu padengti elektrodai toliau modifikuojami PFA, jų  $A_{EA}$  sumažėja 99 % ir 94 % atitinkamai PGE ir GCE atvejais, o LIG355 ir LIG532 – padidėja atitinkamai 308 % ir 20 %. Padengus GCE kopolimerais jų  $A_{EA}$  sumažėja 39 ir 65 % atitinkamai PFA–PRf/GCE (nepriklausomai nuo monomerų santykio) ir PFA–PLL/GCE. Elektrocheminiuose procesuose reakcijos vyksta ant elektrodo paviršiaus, todėl didesnis elektroaktyvusis plotas yra naudingesnis šioms reakcijoms. Taigi, didžiausią  $A_{EA}$  turi PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532, o kopolimerų atveju – PFA-PRf/GCE, todėl jie labiausiai tinkami elektrocheminių jutiklių kūrimui.

### 3.3.3. Elektrocheminė impedanso spektroskopija

Jau minėta anksčiau, kad svarbu žinoti elektrodų paviršiaus savybes, nes nuo jų priklauso elektroaktyvių dalelių krūvio ir masės pernaša iš tirpalo į elektrodo paviršių. Elektrolito varžos įtaka elektrocheminiams procesams taip pat nemažiau svarbi. Kaip ir 3.1.3. skyrelyje šių procesų parametrai gaunami naudojant EIS.

Chit ir PFA/Chit modifikuotų PGE, GCE ir LIG elektrodų tyrimams EIS registruojami esant pastoviam potencialui  $0,1 \text{ M}$  PBS tirpale, pH 7,0, skleidžiant dažnį nuo  $100 \text{ kHz}$  iki  $100 \text{ mHz}$ .

Tiriant modifikuotus PGE, potencialas fiksuojamas pagal PFA/Chit/PGE CV (30A), t. y.  $0,0 \text{ V}$  DL diapazone, ir  $-0,47$  bei  $-0,72 \text{ V}$ , ties atitinkamais redokso poros oksidacijos ir redukcijos potencialais. 30B–D pav. pateikiami EIS kompleksinės varžos, kitaip vadinamos Nyquist'o grafiku, spektrai minėtiems potencialams. Gauti spektrai Chit/PGE yra panašūs į PGE.



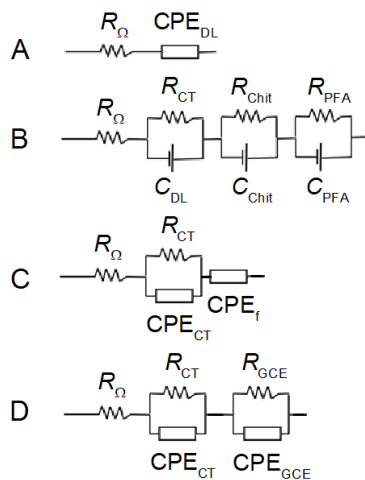
**30 pav.** CV PFA/Chit/PGE elektrodui (A) ir EIS kompleksinės varžos PGE (juodi simboliai), Chit/PGE (mėlyni simboliai) ir PFA/Chit/PGE (žali simboliai) elektrodų spektrai 0,1 M PBS tirpale, kurio pH 7,0, esant skirtingiems potencialams:  $-0,72$  V (B),  $-0,47$  V (C) ir  $0,0$  V (D). Raudonos rodyklės nurodo redukcijos ir oksidacijos smailes (A).

**7 lentelė.** PGE ir Chit/PGE (30 pav.) EIS spektrų analizė naudojant 31 pav. pavaizduotas ekvivalentines grandines. Visos paklaidos mažesnės nei 1 %.

Elektrodas	$E$ , V	$R_{CT}$ , $k\Omega\text{ cm}^2$	$C_{DL}$ , $mF\text{ cm}^{-2}\text{ s}^{\alpha-1}$	$\alpha$
PGE	$-0,72$	55,8	2,13	0,855
	$-0,47$	70,9	2,05	0,849
	0,0	98,6	1,46	0,850
Chit/PGE	$-0,72$	–	1,88	0,845
	$-0,47$	–	1,87	0,864
	0,0	–	1,44	0,852

PGE spektrai gauti, esant tiems patiems potencialams, analizuojami naudojant EEC, pavaizduotą 17A pav. Iš gautų analizės rezultatų matyti, kad  $R_{\Omega}$  yra  $4,46 \pm 0,03\ \Omega\text{ cm}^2$  ir nepriklauso nuo taikomo potencialo. Tuo tarpu,

$R_{CT}$  didėja nuo neigiamiausio iki teigiamiausio potencialo: nuo 56 iki 99  $k\Omega\text{ cm}^2$ .  $CPE_{DL}$  pokyčiai priešingi  $R_{CT}$  pokyčiams ir didėja nuo 1,14 iki 2,13  $s^{-1}\text{ mF cm}^{-2}$  (nuo teigiamo iki neigiamo). Tai rodo, kad vykstantis procesas yra talpuminis ir krūvis lengvai pernešamas. Galiausiai, šiurkštumo koeficientas  $\alpha$ , gautas iš CPE, yra  $0,851 \pm 0,006$  ir taip pat nepriklauso nuo taikomo potencialo, o tai rodo, kad elektrodo paviršius yra palyginti šiurkštus. Šie rezultatai sutampa su mikroskopinės analizės rezultatais. Sunku palyginti su kitais darbais, nes dauguma literatūroje pateiktų tyrimų atliekami pridodant redokso junginių, todėl EEC išplečiama Warburgo elementu. Panaši EEC taikoma analizuojant anglies plėvelės elektrodus, tačiau dėl kitokio paviršiaus ir skirtingų spektrų  $R_{CT}$  daug didesnė nei PGE, o  $CPE_{DL}$ , dėl didesnės varžos, – daug mažesnis [84].



**31 pav.** Ekvivalentinės elektrinių elementų grandinės, naudojamos 30, 32 ir 33 pav. EIS spektrams analizuoti.

Tačiau EEC naudotos nemodifikuoto elektrodo analizei šiuo atveju jau netiko, nes naudojant tą pačią EEC kaip PGE atveju,  $R_{CT}$  vertės turi dideles paklaidas. Tai galima paaiškinti tuo, kad Chit, kaip elektroaktyvus polimeras, palengvina CT, nes iš CV pastebėta, kad elektroaktyvusis plotas taip pat didesnis nei esant PGE. Todėl naudojama EEC pateikta 31A pav., nes CPE kaip neidealios talpos užtenka spektrui aprašyti. Analizės rezultatai pateikti 7 lentelėje.  $R_{\Omega}$  šiek tiek didesnė nei PGE ir siekia  $5,40 \pm 0,07\ \Omega\text{ cm}^2$ . Kaip matyti iš 7 lentelėje pateiktų duomenų,  $R_{CT}$  su tirtais potencialais nenaudojama.  $CPE_{DL}$  mažėja nuo 1,88 iki 1,44  $s^{-1}\text{ mF cm}^{-2}$ , atitinkamai nuo neigiamo iki teigiamo potencialo. Šiurkštumo koeficientas panašus į PGE koeficientą ir lygus  $0,854 \pm 0,005$ .

Spektrai, gauti naudojant PFA/Chit/PGE, tiriami pritaikant visiškai skirtingą EEC (31 B pav.), sudarytą iš tirpalo varžos,  $R_{\Omega}$ , nuosekliai su CT varžos pora,  $R_{CT}$ , ir DL talpos,  $C_{DL}$ , nuosekliai su dviem lygiagrečiomis R–C poromis, atitinkamai PFA ir Chit plėvelėms. DL srityje, ties 0,0 V potencialu, kaip ir tikėtasi, dominuoja krūvių pasiskirstymas (30D pav.). Spektrai, užregistruoti esant gerai išreikštos redokso poros oksidacijos ir redukcijos potencialams (atitinkamai –0,47 ir –0,72 V), beveik identiški (30C ir B pav), tačiau tiriamame dažnių diapazone stebimas pusapskritimio formavimasis. Greičiausiai taip yra todėl, kad adsorbcija yra limituojantis elektrocheminės reakcijos etapas, kas nustatyta iš CV. Išsami spektrų analizė pagal EEC pateikta 8 lentelėje. Analizės paklaidos kiekvienam elektriniam elementui mažesnės nei 5 %.  $R_{\Omega}$  taip pat nepriklauso nuo potencialo ir šiuo atveju yra apie  $4,41 \pm 0,05 \Omega \text{ cm}^2$ .

**8 lentelė.** EIS PFA/Chit/PGE spektrų analizės parametrai (30 pav.), naudojant 31B pav. pavaizduotą EEC. Visos paklaidos mažesnės nei 5 %.

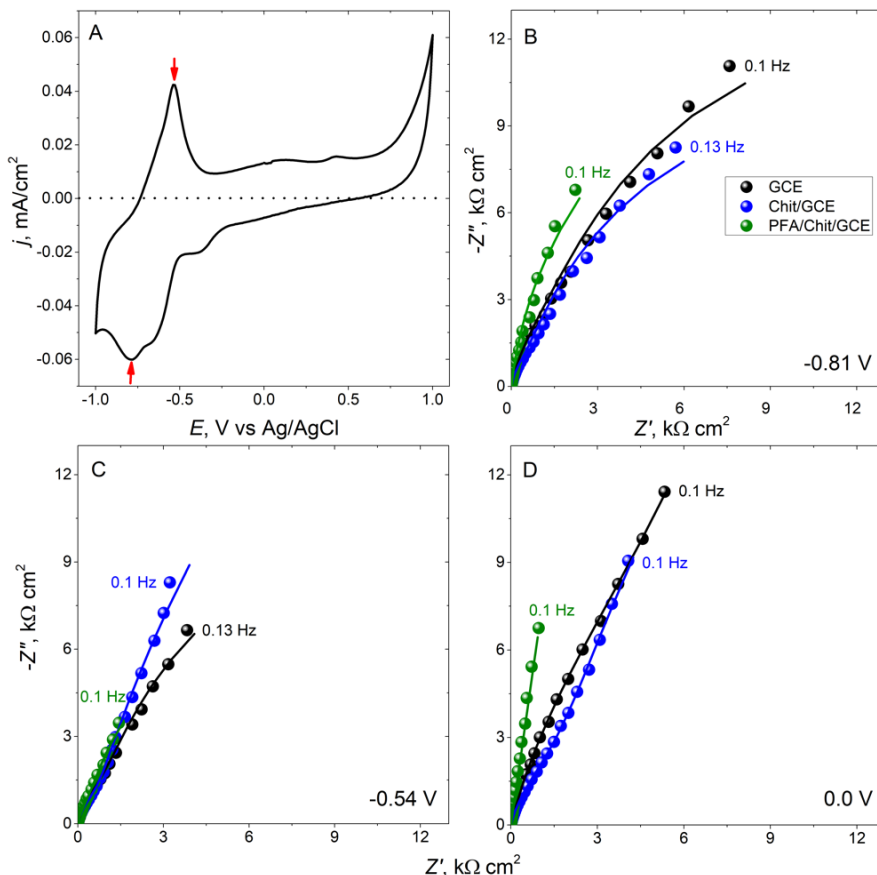
$E, \text{ V}$	$R_{CT}, \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$	$C_{DL}, \text{ mF cm}^{-2}$	$R_{Chit}, \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$	$C_{Chit}, \text{ mF cm}^{-2}$	$R_{PFA}, \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$	$C_{PFA}, \text{ mF cm}^{-2}$
–0,72	38,2	0,866	1,81	1,12	0,006	1,22
–0,47	41,9	0,923	0,146	0,953	8,29	0,829
0,0	7,88	0,803	0,078	1,55	3,36	0,998

PFA/Chit/PGE  $R_{CT}$  rodo, kad lengviausia CT yra esant 0,0 V. Keista, kad  $R_{CT}$  gana didelis ten, kur vyksta PFA redokso procesai, t. y. esant –0,72 ir –0,47 V.  $R_{Chit}$  gerokai mažesnis ir yra  $\Omega \text{ cm}^2$  eilės, išskyrus ties –0,72 V.  $R_{PFA}$  atveju, ji yra didesnis nei Chit plėvelės, išskyrus ties –0,72 V, o tai rodo, kad PFA redukcija yra procesas su mažesniu pasipriešinimu. Panaši EEC naudojama apibūdinant kai kuriuos CP, tačiau su daug didesnėmis varžomis, 100 k $\Omega$ , intervale [85], tačiau ji nesunormuota elektrodo plotui, todėl sunku palyginti.

Tyrimas pakartojamas ir su modifikuotais GCE; šiuo atveju pasirenkami potencialai: 0,0 V DL diapazone, ir –0,54 bei –0,81 V (32 pav.), kai atitinkamai stebimi PFA redokso poros oksidacijos ir redukcijos potencialai.

Iš EIS rezultatų su modifikuotais GCE matoma, kad menamojo impedanso vertės yra apie 6 kartus didesnės nei naudojant PGE. Padengus GCE Chit plėvele impedansas ties –0,81 V beveik nepasikeičia nuo švaraus elektrodo (32B pav.). Tuo tarpu DL srityje 0,0 V (32D pav.) pokytis nedidelis, o lyginant su GCE, ties –0,54 V (32C pav.), Chit/GCE menamojo impedanso vertės, žemų dažnių diapazone, išauga. Iš EIS spektrų naudojant PFA/Chit/GCE matoma, kad jų menamojo impedanso vertės, lyginant su Chit/GCE, sumažėja ir DL bei ties redukcijos smailės potencialu spektrų forma pasikeičia –

stebimos talpiniams procesams būdingos tiesės (32B,D pav.). Tuo tarpu oksidacijos dalyje impedanso forma išlieka tokia pat kaip ir Chit/GCE (32C pav.).



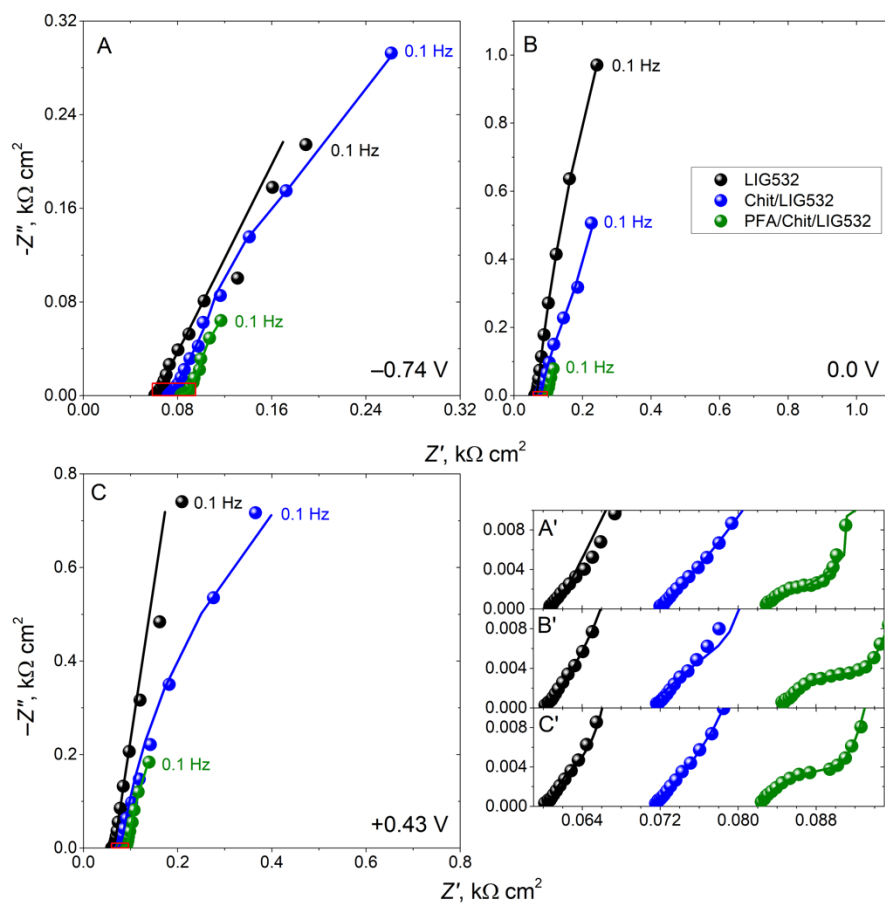
**32 pav.** CV PFA/Chit/GCE elektrodui (A) ir EIS kompleksinės varžos GCE (juodi simboliai), Chit/GCE (mėlyni simboliai) ir PFA/Chit/GCE (žali simboliai) elektrodų spektrai 0,1 M PBS tirpale, kurio pH 7,0, esant skirtingiems potencialams:  $-0,81$  V (B),  $-0,54$  V (C) ir  $0,0$  V (D). Raudonos rodyklės nurodo redukcijos ir oksidacijos smailes (A).

Spektrų, gautų naudojant nemodifikuotą bei Chit ir PFA modifikuotus elektrodus, analizė taip pat atliekama naudojant EEC. GCE elektrodui netiko EEC modelis naudotas PGE elektrodui ir spektrus aprašo tik dvi R-CPE lygiagrečios poros sujungtos nuosekliai (31D pav.). Pirmoji pora priskiriama kaip paprastai, krūvio pernašos varžai ir dvigubojų sluoksnio talpai, esančioms elektrodo ir tirpalo tarpfazyje. Kadangi elektrodas nemodifikuotas, tai antroji pora priskiriama pačiam GCE elektrodui, kurio paviršiuje, matyt, yraoksi-grupių.



**9 lentelė.** EIS GCE, Chit/GCE ir PFA/Chit/GCE spektrų analizės (32 pav.), naudojant 31 pav. pavaizduotas EEC. Visos paklaidos mažesnės nei 5 %.

<b>Elektrodas</b>	<b><math>E, V</math></b>	<b><math>R_{CT}, k\Omega cm^2</math></b>	<b><math>C_{DL}, \mu F cm^{-2} s^{a-1}</math></b>	<b><math>\alpha_{DL}</math></b>	<b><math>R_f, k\Omega cm^2</math></b>	<b><math>C_f, \mu F cm^{-2} s^{a-1}</math></b>	<b><math>\alpha_f</math></b>
GCE	-0,81	24,2	111	0,971	1,92	166	0,834
	-0,54	21,7	161	0,927	1,14	183	0,830
	0,0	5,99	159	0,854	–	222	0,834
Chit/GCE	-0,81	22,7	186	0,961	0,414	107	0,874
	-0,54	80,8	164	0,953	0,423	150	0,838
	0,0	113	188	0,866	1,34	164	0,848
PFA/Chit/GCE	-0,81	28,6	210	0,933	–	–	–
	-0,54	15,5	411	0,942	0,488	682	0,860
	0,0	–	235	0,909	–	–	–



**33 pav.** EIS spektrai pateikti kompleksinės varžos koordinačių sistemoje: LIG532 (juodi simboliai), Chit/LIG532 (mėlyni simboliai) ir PFA/Chit/LIG532 (žali simboliai) elektrodams 0,1 M PBS tirpale, pH 7,0, esant skirtingiems potencialams:  $-0,74$  V (A),  $0,0$  V (B) ir  $+0,43$  V (C). A', B' ir C' rodo atitinkamai A, B ir C grafikų spektrų pradžias, pažymėtas raudonais rėmeliais.

Kaip ir kitais atvejais,  $R_{\Omega}$  taip pat nepriklauso nuo potencialo ir GCE elektrodai yra  $3,52 \pm 0,02 \Omega \text{ cm}^2$ . Kiti duomenys pateikti 9 lentelėje.  $R_{CT}$  yra mažiausia DL srityje, kaip it buvo tikėtasi,  $C_{DL}$  yra apie  $160 \mu\text{F cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$  nuo  $0,0$  iki  $-0,54$  V ir vėliau mažėja. Tai rodo, kad tarpfazėje krūvio pernaša turi nedidelį pasipriešinimą. Pats elektrodas paviršius yra pakankamai porėtas, nes šiuurkštumo faktorius  $\alpha$  nesiekia net  $0,85$  ir nelabai priklauso nuo potencialo. Tuo tarpu pats paviršius yra pakankamai lygus elektrochemiškai, nes  $\alpha_{DL}$  yra arti 1. GCE paviršinio sluoksnio varža gerokai mažesnė, o talpa gerokai didesnė nei  $C_{DL}$ . Susumuojant, GCE struktūra gerokai skiriasi nuo PGE ir čia stebimos 10 kartų mažesnės talpos, o EEC sudaryta iš daugiau elementų rodo,

kad egzistuoja tarsi 2 paviršiai, t. y. impedansas išmatuojamas ir iš paviršinio elektrodo sluoksniu.

Padengus GCE Chit plėvele, spektrai taip analizuojami 31D pav. pateikta EEC. Tendencijos praktiškai tos pačios kaip ir GCE, bet antra R-C pora yra priskiriama Chit plėvelei.  $R_{\Omega}$  nežymiai padidėja lyginant su GCE ir yra  $3,82 \pm 0,03 \Omega \text{ cm}^2$ . Dėl Chit hidrogelinių savybių  $C_{DL}$  yra šiek tiek didesnė nei nemodifikuoto elektrodo atveju, tačiau  $R_{CT}$  taip pat padidėja, nes Chit veikia kaip krūvio pernašos barjeras, tačiau pačioje plėvelėje varža yra gerokai mažesnė nei GCE. Vėl gi, pati plėvelė yra pakankamai porėta, kas buvo pastebėta ir iš morfologinių tyrimų (34 pav. (AFM)).

Šiek tiek kitokie rezultatai gaunami naudojant PFA/Chit/GCE, nes laidus polimeras pakeičia paviršiaus savybes. Šiuo atveju 32D pav. pateikta EEC tinkama spektrui užregistruotam esant  $-0,54 \text{ V}$ . Tuo tarpu, kaip potencialas yra  $-0,81 \text{ V}$ , tai naudojama 17A pav. pateikta EEC, o esant  $0,0 \text{ V}$  – 31A pav. Šiuo atveju  $R_{\Omega}$  dar šiek tiek padidėja ir yra  $4,99 \pm 0,05 \Omega \text{ cm}^2$ . Dėl laidaus polimero  $R_{CT}$  sumažėja ir yra panaši į GCE, o talpa gerokai išauga dėl elektroaktyvių funkcinų grupių. Taip pat tarpfazis yra pakankamai lygus, nes  $\alpha_{DL}$  yra virš  $0,9$  ir nesumažėja net  $0,0 \text{ V}$  srityje, kur spektras būdingas idealiam krūvininkų atsiskyrimui dvigubame elektriniame sluoksnyje.

EIS spektrai taip pat užregistruojami LIG elektrodams. Tačiau modifikuoto LIG355 EIS spektrai per daug išsibarstę, todėl šis metodas taikomas tik modifikuotiems LIG532 elektrodams. Potencialai taip pat nustatomi pagal PFA/Chit/LIG532 CV: redukcijos smailės potencialas  $-0,74 \text{ V}$ , oksidacijos smailės  $+0,43 \text{ V}$  ir  $0,0 \text{ V}$  – DL sritis (33 pav.). Gautų spektrų aukšto dažnio srityje matomi maži pusapskritimiai, kurie būdingi anglinėms nanostruktūroms [21] ir pateikiami 33A', B' ir C' pav.

Modifikuoto LIG532 EIS spektrai, priklausomai nuo potencialo ir elektrodo modifikacijos, tiriama naudojant įvairias ekvivalentines grandines, pateiktas 31 paveiksle. EIS spektrų analizė pateikta 10 lentelėje.

Chit/LIG532 spektrai taip pat analizuojami pritaikant EEC modelius, šiuo konkrečiu atveju – Randles ekvivalentinę grandinę (17B pav.). Nors tikimasi, kad Chit padengs elektrodo poras, kaip ir GCE atveju, ši plėvelė pati veikia kaip difuzijos barjeras. Kiekviename, nuo LIG532 iki PFA/Chit/LIG532, modifikavimo etape  $R_{\Omega}$  padidėja apie  $10 \Omega \text{ cm}^2$ . Chit plėvelė yra elektroaktyvi, bet pasižymi mažu laidumu, dėl jos elektrocheminių savybių, esant visiems potencialams,  $R_{CT}$  didžiausias Chit/LIG532. Mažiausias  $R_{CT}$  stebimas LIG532 atveju, o po modifikavimo PFA/Chit yra mažesnis nei Chit/LIG532 elektrodai (10 lentelė). Panaši tendencija stebima ir  $C_{DL}$ , išskyrus DL sritį, kur talpa mažiausia Chit/LIG532 nes, nes ten vyksta tik krūvininkų atsiskyrimas.

**10 lentelė.** Modifikuotų LIG532 elektrodų EIS spektrų (33 pav.) analizės EEC parametrai.  $C_{DL}$  apskaičiuota iš CPE pasinaudojant 4 lygtimi.

$E, V$	Elektrodas	$R_{\Omega}, \Omega \text{ cm}^2$	$R_{CT}, \Omega \text{ cm}^2$	$C_{DL}, \text{mF cm}^{-2}$	$\alpha$	$R_{dif}, \Omega \text{ cm}^2$	$\tau, s$	$\alpha_1$
-0,74	LIG532	60,7	0,754	0,221	0,999			
	Chit/LIG532	73,3	362	6,61	1,00	490	4,29	0,468
	PFA/Chit/LIG532	80,6	10,1	1,27	0,989	509	1,41	0,440
0,00	LIG532	60,6	4,96	3,13	0,916			
	Chit/LIG532	70,5	824	1,01	0,999	27,7	0,056	0,460
	PFA/Chit/LIG532	84,4	9,95	2,58	0,964			
+0,43	LIG532	60,7	4,59	0,520	0,905		1,38	0,869
	Chit/LIG532	70,8	2657	1,45	0,960	27,9	0,134	0,440
	PFA/Chit/LIG532	82,0	10,3	1,39	0,901		7,95	0,864

Tiriant PFA/Cit/LIG532, difuzijos įtaka nedidelė, nes, išskyrus redukcijos smailes ties  $-0,74$  V, spektrai neatitinka Randles EEC. Kitais atvejais R–C lygiagreti pora pratęsta su nuosekliai sujungta plėvelės CPE ( $CPE_i$ ), kaip parodyta 31C pav. Tai, atsitinka dėl laidžios PFA plėvelės, kuri modifikuoja Chit plėvelę, kas matyti ir iš morfologijos pokyčių, 35 ir 36 pav. Greičiausiai PFA taip pat patenka į Chit plėvelę arba susimaišo su ja ir sumažina difuzijos barjerą, kas pastebėta ir PFA/Chit/GCE atveju. Tačiau tai priklauso nuo taikomo potencialo: elektroaktyviųjų polimerų difuzija vis dar svarbi esant PFA/Chit/LIG532  $-0,74$  V įtampai. Dėl komplikotos EEC analizės rezultatų interpretacijos, PFA/Chit/LIG532 plėvelės talpa iš CPE žemo dažnio srityje netiriama.

Difuzijos parametrų analizė iš Warburgo elemento rodo, kad esant  $-0,74$  V įtampai  $R_{dif}$  panašus Chit/LIG532 ir PFA/Chit/LIG532 atvejais, o difuzijos laiko konstanta ilgesnė nei 1 s (10 lentelė), o tai rodo kitokią plėvelės struktūrą nei esant kitiems tiriamiems potencialams. Chit/LIG532 elektroaktyviųjų polimerų difuzija gerokai greitesnė, esant 0,0 V įtampai – apie 60 ms, o esant  $+0,43$  V – apie 130 ms. Tuo tarpu  $R_{dif}$  taip pat susijęs su greitesne difuzija ir yra gerokai mažesnė nei esant  $-0,74$  V įtampai – ji siekia apie  $28 \Omega \text{ cm}^2$ . Plėvelė gana nevienalytė, nes homogeniškumo koeficientas mažesnis nei 0,5. Tokia koeficiento vertė yra gana įprasta plėveliniams elektrodams [23].

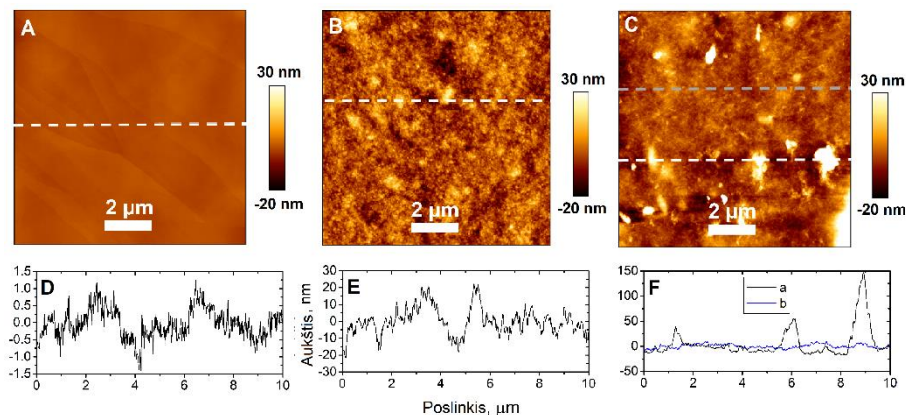
### 3.4. Modifikuotų paviršių mikroskopiniai tyrimai

Siekiant įvertinti modifikuotų elektrodų paviršiaus kokybę, jų topografija tiriama naudojant skirtingus mikroskopijos metodus: AFM tiriamas PGE (HOPG, nes panašiausias į PGE), o optinę mikroskopiją ir SEM – LIG355 ir LIG532 (nes pastarųjų AFM neįmanoma dėl didelio paviršiaus nelygumo).

Kadangi dėl savo formos ir dydžio PGE netinkamas mikroskopiniams tyrimams, tai kaip etaloninė medžiaga naudojamas HOPG, nes jis savo struktūra panašus į PGE. Be to, jis paprastai naudojamas AFM kalibravimui [24]. HOPG padengiamas Chit ir PFA ir po kiekvieno sluoksnio padengimo atliekami AFM tyrimai.

34A, D pav. pateikiamas HOPG elektrodas, kurio paviršiaus nelygumų aukščių skirtumas daugiausiai siekia 3 nm, kas rodo, kad yra keli grafeno skuoksniai. Kai paviršius padengiamas Chit plėvele, paviršius pasidaro nelygesnis, t.y. paviršiaus nelygumų aukščių skirtumas daugiausiai siekia 40 nm (34B, E pav.). Chit plėvelė iš tarpusavyje susijungusių nanodalelių suformuoja tinklinę struktūrą, kuri įprasta tokio tipo polimerinėms dangoms [24].

Po PFA elektropolimerizacijos ant Chit paviršiaus (34C, F pav.) pastebėtos į polimero pluoštą panašios struktūros, o Chit nanodalelių nebematyti. Tai tikriausiai priklauso ne tik nuo PFA, bet ir nuo Chit struktūros pakitimo vykstančio potencialo skleidimo metu. Bendras aukščių skirtumas yra didesnis nei padengus tik Chit, t. y. didžiausi aukščių skirtumai yra iki 165 nm PFA/Chit, o 10 ir 20 nm kitoje to paties paviršiaus srityje, kurioje nėra klasterių (34C, F pav.).



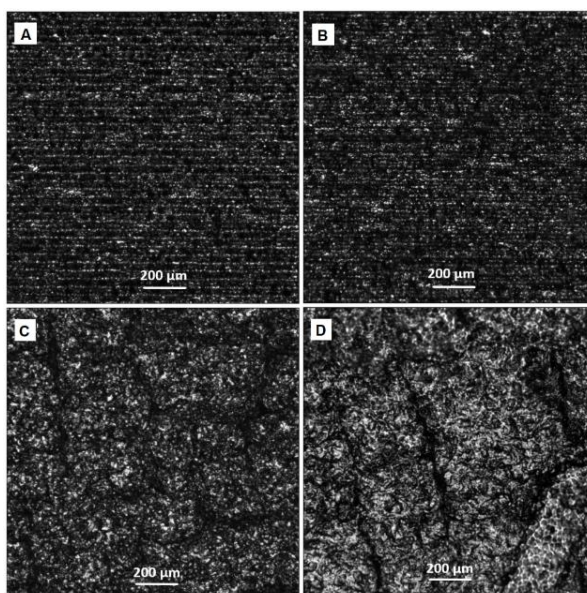
**34 pav.** AFM vaizdai (A–C), kuriuose matomas HOPG (A), Chit/HOPG (B) ir PFA/Chit/HOPG (C), ir aukščio profiliai (D–F) tose vietose, kuriose skirtumai yra didžiausi (C1) arba mažiausi (C2) pažymėti brūkšninėmis linijomis.

Paviršiaus šiurkštumas nustatomas apskaičiuojant vidutinį kvadratinį paviršiaus aukščio vidurkį (angl. RMS) visame vaizdo plote arba pasirinktoje jo srityje. RMS rezultatai apibendrinami 11 lentelėje. Naudojant 34D pav. pateiktais aukščio profilio duomenimis, mažiausias RMS apskaičiuotas iš HOPG. Nors ant HOPG yra plokščios sritys, šiurkštumas, kuris yra 0,4 nm, rodo skirtingą grafito sluoksnių skaičių minėtame plote. Kai HOPG padengiamas Chit sluoksniu, šiurkštumo vertė beveik padvigubėja (8,0 nm) visame nuskaitytame plote, o tai rodo, kad padengimas yra sėkmingas. Didžiausias šiurkštumas yra PFA/Chit/HOPG atveju, paėmus iš viso paviršiaus – 16,5 nm. Iš aukščio profilio (34F(a) pav.) pastebėti keli PFA klasteriai (34C pav.), susidarantys, kai FA monomerai jungiasi vienas su kitu sudarydami polimerizacijos centrus, kurių vieni auga greičiau, kiti lėčiau. Tai rodo, kad PFA dengiasi ne lygia plėvele, bet pavienėmis nanostruktūromis, kurios vėliau susijungia. Šių klasterių aukštis vyrauja nuo 40 iki 165 nm, o skersmuo nuo 0,5 iki 1,0 μm. Panašiai buvo pastebėta ir kituose darbuose [25]. Aiškūs elektrodų paviršiaus topografijų skirtumai po kiekvieno sluoksnio

padengimo, yra sėkmingo paviršiaus modifikavimo Chit ir PFA polimerais požymis.

**11 lentelė.** Aukščių skirtumai tarp aukščiausio ir žemiausio taško 34 pav. pavaizduotuose pjūviuose ir RMS vertės, apskaičiuotos pagal AFM vaizdus.

Elektrodas	Didžiausi aukščio skirtumai, nm	RMS, nm
HOPG	3,02	0,40
Chit/HOPG	40,1	8,01
PFA/Chit/HOPG	165	16,5



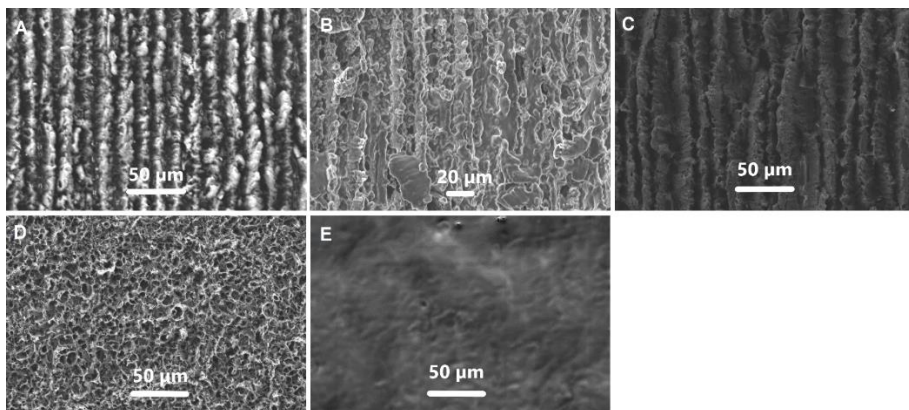
**35 pav.** Optinės mikroskopijos vaizdai: Chit/LIG355 (A), PFA/Chit/LIG355 (B), Chit/LIG532 (C) ir PFA/Chit/LIG532 (D). Visais atvejais didinama 10 kartų.

Mikroskopiniams tyrimams LIG elektrodai naudojant chitozano ir nagų lako dangas padalijami į tris po 0,5 cm<sup>2</sup> ploto sekcijas: i) paliktas švarus LIG, ii) padengtas chitozanu (Chit/LIG) ir iii) padengtas chitozanu ir PFA (PFA/Chit/LIG). PFA ir Chit modifikuotų LIG elektrodų paviršius tiriamas atliekant optinę mikroskopiją panašia tvarka, kaip aprašyta aukščiau. LIG paviršiaus tyrimai aprašyti 3.1.2. skyrelyje. Chit plėvelė ant LIG355 (35A pav.) geriausiai matoma ant lazeriu suformuotų linijų. Atlikus FA elektropolimerizaciją ant Chit/LIG355 paviršiaus (35B pav.), topografija jau skiriasi nuo Chit modifikuoto LIG. Be to, atrodo, kad tarpai tarp Chit užpildyti

PFA, tačiau greičiausiai Chit struktūra pasikeitė FA elektropolimerizacijos metu.

Kitoks vaizdas pastebėtas ant modifikuoto LIG532, matoma, kad Chit užpildo įdubas ir nelygumus ir suformuoja į tinklą panašias struktūras (35C pav.). Po FA elektropolimerizacijos ant Chit/LIG532 (35D pav.) nebesimato Chit plėvelės struktūrų, tačiau pastebimos polimero pluoštą primenančios struktūros, sudarančios storos plėvelės įspūdį.

Norint atlikti tikslesnius paviršiaus tyrimui naudojamas SEM ir nuotraukos pateiktos 36 pav. LIG lazeriu suformuotos linijos aiškiai matomos LIG355 paviršiaus nuotraukose (36A pav.). Chit plėvele padengus LIG355 (36B pav.), linijinės grafeno struktūros pasidengia į tinklą panašia plėvele. PFA/Chit/LIG355 pasižymi tvarkingu paviršiumi su pluoštą primenančiomis polimero struktūromis (36C pav.).



**36 pav.** SEM vaizdai: LIG355 (A), Chit/LIG355 (B), PFA/Chit/LIG355 (C), LIG532 (D) ir Chit/LIG532 (E), kai didinimas 500x (A,C–E) ir 600x (B).

Tuo tarpu LIG532 (36D pav.) stebima netvarkinga grafeno struktūra ir lazeriu suformuotų linijų nematyti. Padengus LIG532 paviršių Chit plėvele (36E pav.), susidaro vientisas paviršius, kuriame nebematyti grafeno struktūrų. Padengus PFA ant Chit/LIG532, plėvelė sukietėja, o SEM vakuuminėje kameroje ji atkimba ir yra suplėšoma, todėl šios modifikacijos paviršiaus topografijos ištirti neįmanoma.

### 3.5. Elektrodo paviršiaus drėkinimo tyrimai

Svarbu žinoti LIG elektrodo hidrofilines savybes, kad būtų galima sukonstruoti jautrų elektrodą, kurio hidrofilinė dalis būtų veikiamą elektrolito tirpalo, o hidrofobinė dalis būtų naudojama elektriniams kontaktams.

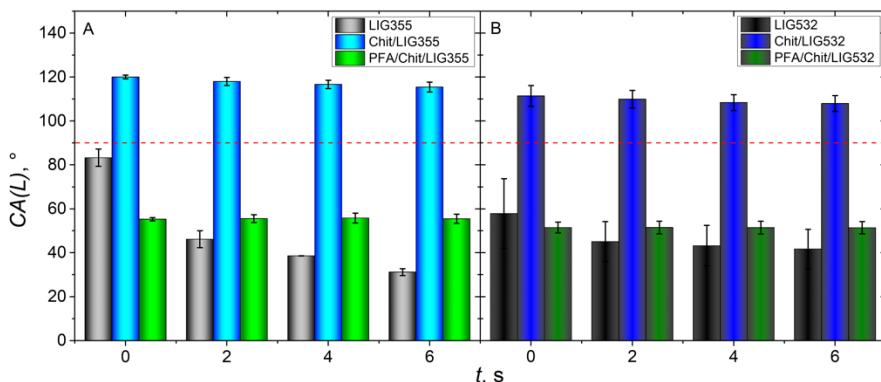
Hidrofiliškumas paprastai tiriamas matuojant vandens lašo kontakcinį kampą [86], kas, dėl elektrodo dydžio gali būti atliekama tik ant LIG elektrodo



(37 pav.). Šiuo atveju kontaktinis kampas matuojamas 6 s, naudojant 1 ir 3  $\mu\text{L}$  Milli-Q vandens [86]. Kaip žinoma, jei kontaktinis kampas  $< 90^\circ$ , paviršius yra hidrofiliškas, o kai jis  $> 90^\circ$  – hidrofobinis [87].

Pirmiausiai, kontaktinis kampas išmatuojamas iš karto po to, kai lašas užlašinamas ant elektrodo. LIG355 atveju jis yra  $83,28 \pm 3,93^\circ$ , tačiau per 6 s kontaktinis kampas sumažėja iki  $31,21 \pm 1,56^\circ$ . Kitokia situacija yra su LIG532, kontaktinis kampas pasikeičia nuo  $57,85 \pm 15,85^\circ$  (0 s) iki  $41,72 \pm 8,93^\circ$  (6 s). Tai leidžia daryti išvadą, kad LIG, dėl paviršiaus struktūrinių savybių, yra hidrofiliškas. Greičiausiai hidrofiliškumą lemia didelis LIG porėtumas, kuris pastebimas naudojant kitus tyrimo metodus, tokius kaip SEM (12 pav.) ir EIS (3.1.3. skyriuje).

LIG elektrodus padengus Chit sluoksniu, jų paviršius tampa hidrofobiniu; kontaktinis kampas ant Chit/LIG355 pakinta nuo  $120,03 \pm 0,87^\circ$  iki  $115,44 \pm 2,26^\circ$ , o ant Chit/LIG532 – nuo  $111,42 \pm 4,73^\circ$  iki  $107,99 \pm 3,59^\circ$ . Nors hidrofiliškas paviršius galima tikėtis iš Chit plėvelių, tai ne pirmas atvejis, kai gaunama hidrofobinė Chit plėvelė, ir šis reiškinys paaiškinamas termodinamiškai palankesniu funkcinė grupių perorientavimu džiovinimo metu ir vandenilinių ryšių susidarymu [88].



**37 pav.** Kontaktinio kampo pokyčiai laikui bėgant (iki 6 s) ant skirtingai modifikuotų LIG355 (A) ir LIG532 (B) elektrodų. Matavimo metodas: nusėdęs lašas; lašo fazė: vanduo; aplinkinė fazė: oras; naudojamas tūris:  $\sim 1,0 \mu\text{L}$  ant nemodifikuotų elektrodų ir  $\sim 3,0 \mu\text{L}$  ant modifikuotų elektrodų.

Kaip ir tikimasi, tolesnis Chit/LIG modifikavimas PFA vėl lemia hidrofiliškas elektrodo pobūdį: PFA/Chit/LIG355 kontaktinis kampas keičiasi nuo  $55,28 \pm 0,75^\circ$  iki  $55,45 \pm 2,11^\circ$  (per 6 s), o PFA/Chit/LIG532 – nuo  $51,48 \pm 2,49^\circ$  iki  $51,39 \pm 2,81^\circ$ .

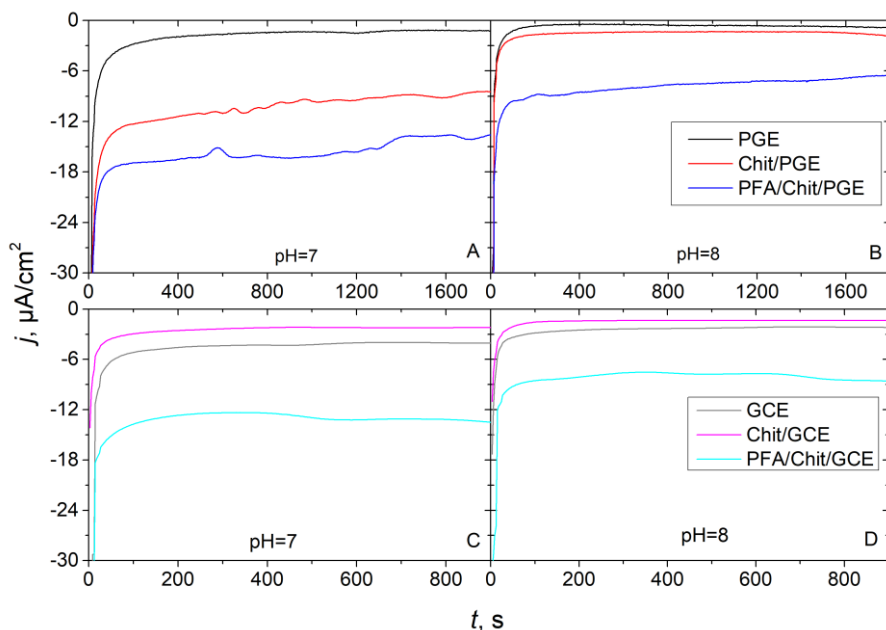
Įvertinus drėkinamumo pokyčius matyti, nepaisant to, kad po LIG355 ir LIG532 modifikavimo chitozanu kontaktinis kampas gerokai padidėjo, po to modifikavus polifolatu kontaktinis kampas sumažėjo. Gauti rezultatai įrodo,

kad PFA/Chit/LIG355 arba PFA/Chit/LIG532 yra tinkami pH matavimams vandeniniuose tirpaluose atlikti.

### 3.6. Modifikuotų elektrodų taikymai

#### 3.6.1. Modifikuotų elektrodų, kaip pH jutiklių, pritaikomumas

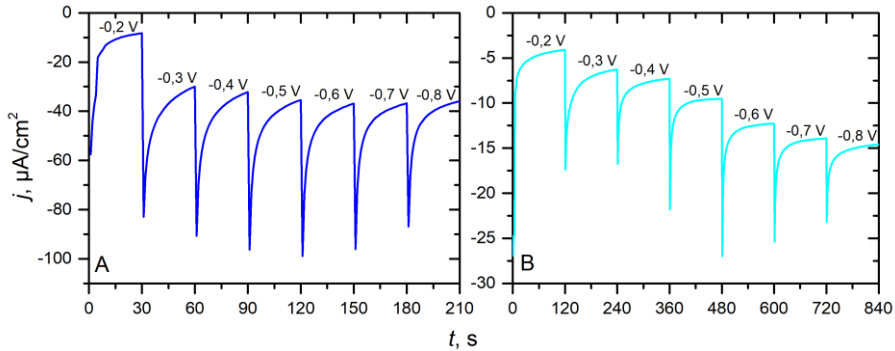
PFA/Chit/PGE ir PFA/Chit/GCE naudojami pH nustatymui, vandeniniuose tirpaluose nuo silpnai rūgštinio iki silpnai šarminio. Pirmiausiai, siekiant patikrinti, kaip šie jutikliai elgiasi pH 7,0 ir 8,0 tirpaluose, pasitelkiama fiksuoto potencialo ChA. Kontroliniai eksperimentai taip pat atliekami naudojant nemodifikuotus ir Chit padengtus PGE ir GCE, o rezultatai pateikiami 38 pav.



**38 pav.** Modifikuotų PGE (A, B) ir GCE (C, D) fiksuoto potencialo ChA 0,1 M PBS pH 7,0 (A ir C) ir 8,0 (B ir D) tirpaluose, potencialas  $-0,5$  V.

Potencialas, kuriam esant užrašoma ChA optimizuojamas nuo  $-0,2$  iki  $-0,8$  V, keičiant potencialą kas 100 mV; šis intervalas pasirinktas iš CV (25 pav.), kur vyksta PFA/Chit modifikuotų elektrodų redokso procesai. Nustatoma, kad geriausias atsakas yra esant  $-0,5$  V (39A pav.), t. y. potencialui, artimam PFA oksidacijai. Esant šiam potencialui ChA registruojama 1800 s. PGE pasiekia pastovų srovės tankį po  $\sim 800$  s esant pH 7,0 ( $-1,36 \mu\text{A cm}^{-2}$ ) ir  $\sim 320$  s esant 8,0 ( $-0,5 \mu\text{A cm}^{-2}$ ). Tačiau atsakas naudojant Chit/PGE jau gerokai stipriau priklauso nuo pH, srovės tankis yra

–8,9 ir –1,4  $\mu\text{A cm}^{-2}$  po 1500 s, atitinkamai 7,0 ir 8,0 pH tirpaluose. Taigi skirtumas yra 7,56  $\mu\text{A cm}^{-2}$ , o tai rodo, kad vykstantys procesai priklauso nuo protonų koncentracijos. PFA/Chit/PGE atsako pokytis ryškūs – ~13,8  $\mu\text{A cm}^{-2}$  esant pH 7,0 ir –7,05  $\mu\text{A cm}^{-2}$ , kai pH 8,0, o skirtumas yra 6,75  $\mu\text{A cm}^{-2}$ .



**39 pav.** PFA/Chit/PGE (A) ir PFA/Chit/GCE (B) potencialo optimizavimas 0,1 M PBS pH 7,0 tirpale. Potencialas keičiamas nuo –0,2 iki –0,8V.

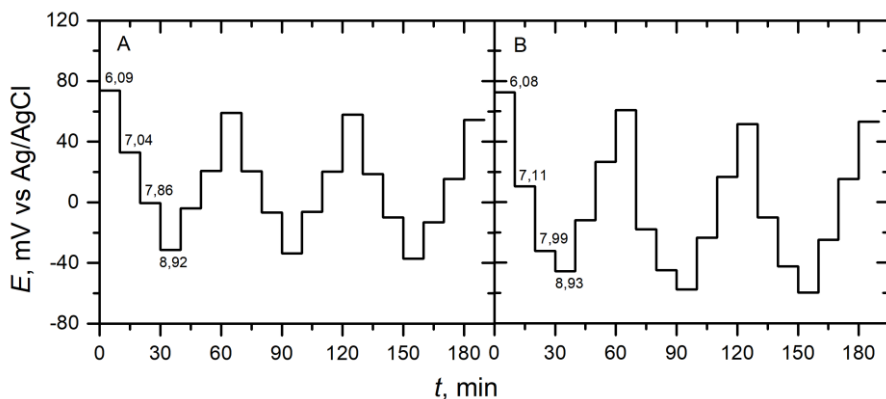
Po modifikuotų GCE elektrodų potencialo optimizavimo (39B pav.) pasirenkamas –0,5 V potencialas ir su jais atliekami tokie pat tyrimai kaip ir su modifikuotais PGE elektrodais, tik dėl greitesnio srovės tankio nusistovėjimo, eksperimento laikas trumpesnis, t. y. 900 s. Matoma, kad pH turi nedidelę įtaką nemodifikuotų ir Chit padengtų elektrodų srovės tankiui. GCE atveju po 900 s srovės tankis pasiekia –4,05 ir –2,2  $\mu\text{A cm}^{-2}$  atitinkamai 7,0 ir 8,0 pH tirpaluose, o Chit/GCE – –2,19 ir –1,37  $\mu\text{A cm}^{-2}$ . Taigi skirtumai tarp skirtingo pH tirpalų GCE atveju yra 1,85  $\mu\text{A cm}^{-2}$ , o Chit/GCE – 0,82  $\mu\text{A cm}^{-2}$ . PFA/Chit/GCE atsako pokytis yra daug ryškesnis, t. y. –13,52  $\mu\text{A cm}^{-2}$  esant pH 7,0 ir –8,6  $\mu\text{A cm}^{-2}$  kai pH 8,0, o skirtumas yra 4,92  $\mu\text{A cm}^{-2}$ .

Nepaisant nedidelio srovės tankio pokyčio per 1500 s modifikuoto PGE atveju ir modifikuoto GCE – 900 s, rezultatai rodo, kad PFA/Chit/PGE ir PFA/Chit/GCE atskiria tarp neutralaus ir silpnai šarminio pH. Taip pat matoma, kad PFA/Chit/PGE yra jautresnis pH pokyčiui už PFA/Chit/GCE.

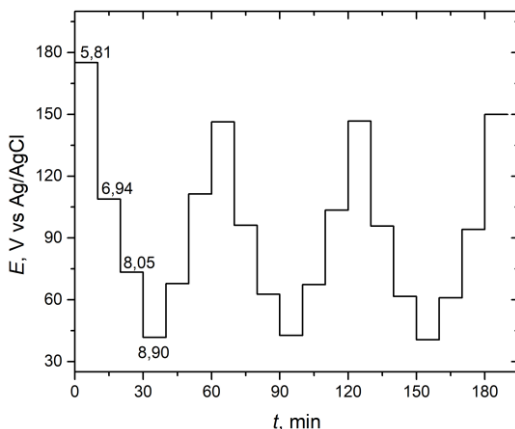
Išsiaiškinus, kad PFA/Chit modifikuoti PGE ir GCE reaguoja į pH pokytį, tolesni pH matavimai atliekami taikant potenciometriją, kuri yra tikslesnis pH nustatymo metodas [89]. Šiuo atveju, potenciometrinis metodas naudojamas pH nustatymui intervale nuo 5,0 iki 10,0. Tačiau atsakas esant pH 5,0 beveik nesiskyrė nuo atsako esant pH 6,0, o pH 10,0 tirpale PFA jau yra nestabilus. Todėl tolesni tyrimai atliekami pH intervale 6,0–9,0. Rezultatai pateikiami 40

pav. Kaip matoma, PFA/Chit/PGE atveju atsakas didinant ir mažinant pH, išskyrus pirmojo bandymo metu, yra toks pat. Tai reiškia, kad prieš elektrodo praktinį panaudojimą, jį reikia paruošti. Kiti matavimai atsikartoja ir jų atsikartojamumas yra 95,6 %. Jautris didinant pH yra  $40,2 \pm 0,2$ , o mažinant  $46,8 \pm 2,6$  mV pH<sup>-1</sup>, vidutinė vertė yra  $43,5 \pm 2,6$  mV pH<sup>-1</sup>.

Tokie pat tyrimai kartojami ir su PFA/Chit/GCE. Kai pH yra didinamas, potencialo priklausomybė nuo pH yra netiesinė. Mažinant pH, jau stebima tiesinė priklausomybė, kurios atsikartojamumas yra 97,7 %, o jautris –  $36,8 \pm 0,9$  mV pH<sup>-1</sup>. Nors PFA/Chit/PGE ir PFA/Chit/GCE jautriai yra nepakankamai artimi e<sup>-</sup> / H<sup>+</sup> teoriniams, gaunamiems iš Nernst'o lygties, šie elektrodai gali būti naudojami praktiniuose taikymuose.



**40 pav.** PFA/Chit/PGE (A) ir PFA/Chit/GCE (B) potencialo priklausomybė nuo pH 0,1 M PBS tirpaluose nuo pH 6,0 iki 9,0.

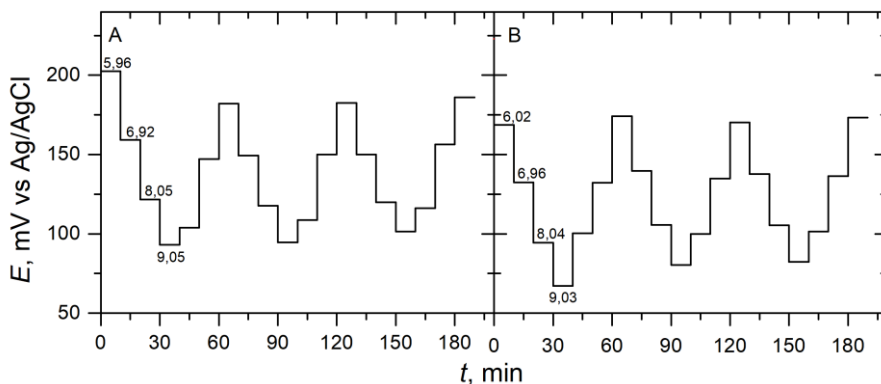


**41 pav.** PFA/Au potencialo priklausomybė nuo pH 0,1 M PBS tirpaluose nuo pH 6,0 iki 9,0.

Kaip minėta 3.2. skyrelyje, siekiant ištirti medžiagos įtaką pH jutiklio kūrimui, kaip substratas naudojamas ir Au elektrodas. Kadangi Au paviršius

yra hidrofobinis, tai jo negalima padengti Chit plėvele ir todėl tiriamas tik PFA/Au atsakas į vandenilio jonų koncentraciją naudojant potenciometriją (41 pav.). PFA/Au jautris yra apie  $40 \pm 5,3 \text{ mV pH}^{-1}$ , kas panašu į PFA/Chit/PGE ( $43,5 \pm 2,6 \text{ mV pH}^{-1}$ ), tačiau Au pagrindu sudaryti jutikliai yra brangesni už jutiklius kuriamus naudojant anglies darinius, todėl PFA/Au jutiklis nėra ekonomiškai efektyvus.

pH matavimai atliekami ir su PFA/Chit/LIG355 bei PFA/Chit/LIG532 elektrodais. Potenciometrinis metodas taikomas tokiomis pat sąlygomis kaip ir PFA/Chit/PGE atveju. Rezultatai pateikiami 42 pav. Kaip matoma, atsakai didinant ir mažinant pH yra vienodi, išskyrus pirmuosius bandymus. Tai reiškia, kad prieš naudojant elektrodus, juos reikia paruošti. PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 atsikartojamumas yra  $96,5 \pm 0,1 \%$ . PFA/Chit/LIG355 jautris yra  $26,89 \pm 0,97$  ir  $28,83 \pm 0,65 \text{ mV pH}^{-1}$ , atitinkamai didinant ir mažinant pH, o vidutinė vertė yra  $27,86 \pm 0,81 \text{ mV pH}^{-1}$ . PFA/Chit/LIG532 jautris abiem kryptimis yra  $30,32 \pm 0,50 \text{ mV pH}^{-1}$ , palyginti su PFA/Chit modifikuotų PGE ir GCE jautriais, kurie atitinkamai yra  $43,5 \pm 2,6$  ir  $36,8 \pm 0,9 \text{ mV pH}^{-1}$ , jautriai mažesni už pastarųjų elektrodų jautrius. Nepaisant to, PGE ir GCE elektrodai nėra nei plokšti, nei lankstūs, todėl PFA/Chit/LIG532 tinkamas naudoti praktiniuose taikymuose, kur stiklo elektrodas netinkamas dėl savo formos.



**42 pav.** PFA/Chit/LIG355 (A) ir PFA/Chit/LIG532 (B) potencialo priklausomybė nuo pH 0,1 M PBS tirpaluose nuo pH 6,0 iki 9,0.

Daugumos pH jutiklių, sudarytų CP pagrindu, jautriai paprastai yra apie  $60 \text{ mV/pH}$ , t. y.  $2 e^- / 2 \text{ H}_3\text{O}^+$  reakcija [23]. Pirmoji hipotezė ta, kad PFA redokso reakcija taip pat yra  $2 e^- / 2 \text{ H}^+$  elektrocheminė reakcija (4 lygtis) [22]. Tačiau potenciometrijos rezultatai rodo, kad arba ankstesnė hipotezė yra klaidinga, arba šiuo atveju minėta reakcija vyksta pagal kitą mechanizmą – kai reakcija vyksta palaipsniui. Deja, vien tik elektrocheminiai tyrimai negali atsakyti į šį klausimą. Lyginant gautą jutiklį su literatūroje aprašomais darbais pastebima,

kad modifikuotų PGE ir GCE jautriai panašūs ( $47 \pm 2$  mV pH<sup>-1</sup>) į neseniai paskelbtame darbe publikuoto dėvimo pH jutiklio [90], pagaminto iš grafito ir poliuretano elektrodo. Tačiau kaupimo laikas minėtame darbe daug ilgesnis t. y. 2000 s, o PFA/Chit/PGE jautris po 600 s kaupimo yra 43,5 mV pH<sup>-1</sup>.

Lyginant su kitais LIG elektrodais, skirtais pH nustatymui, LIG532 ir ypač LIG355 jautrumas yra beveik visais atvejais gerokai mažesnis. Pavyzdžiui, Rahimi ir kt. [91] sukūrė potenciometrinį pH jutiklį, kuriame panaudotas karbonizuotas PI, modifikuotas polianilinu, pasižymi daug geresniu jautriu – 53 mV pH<sup>-1</sup> ir stabiliai veikia fiziologiniame pH 4–10 intervale. Dar geresnis pH jautris (66 mV pH<sup>-1</sup>) pastebėtas, kaip voltamperometrinį jutiklį, naudojant LIG, modifikuotą Au nanodalelėmis, pH intervale nuo 4 iki 7,4 [92]. Panašus LIG pagrindu sukurtas jutiklis, kuriame voltamperometriniams pH nustatymui naudojamas tirpalas su riboflavinu, jo jautris yra 56 mV pH<sup>-1</sup>, kai pH intervalas yra nuo 3 iki 8 [93]. Vis dėlto neseniai paskelbtame Lampinen ir kt. darbe [94] apie LIG taikymą pH aptikimui lauko sąlygomis, pateikiamas mažesnis jautris, t. y. 25 mV pH<sup>-1</sup>, 6,8–9,5 verčių intervale.

Iš gautų rezultatų galima spręsti, kad nors modifikuotų PGE ir GCE jautriai didesni už modifikuotų LIG jautrius, jie skiriasi didinant ir mažinant pH, o modifikuoto LIG532 jautriai išlieka tokie pat abiem kryptimis, t. y.  $30,32 \pm 0,50$  mV pH<sup>-1</sup>. Nors PFA/Chit/LIG532 jautris yra iki dviejų kartų mažesnis nei daugumos mokslinėje literatūroje aprašytų panašių pH jutiklių, LIG532 elektrodai naudojami didesniame pH intervale, turi trumpesnę kaupimo laiką nei mokslinėje literatūroje aprašomi pH jutikliai, taip pat PFA/Chit/LIG532 turi gerą atsikartojamumą ir jo forma leidžia jį naudoti ten kur dėl savo formos stiklo elektrodai negali būti naudojami. Dėl šių savybių PFA/Chit/LIG532 gali būti naudojamas pH aptikimui.

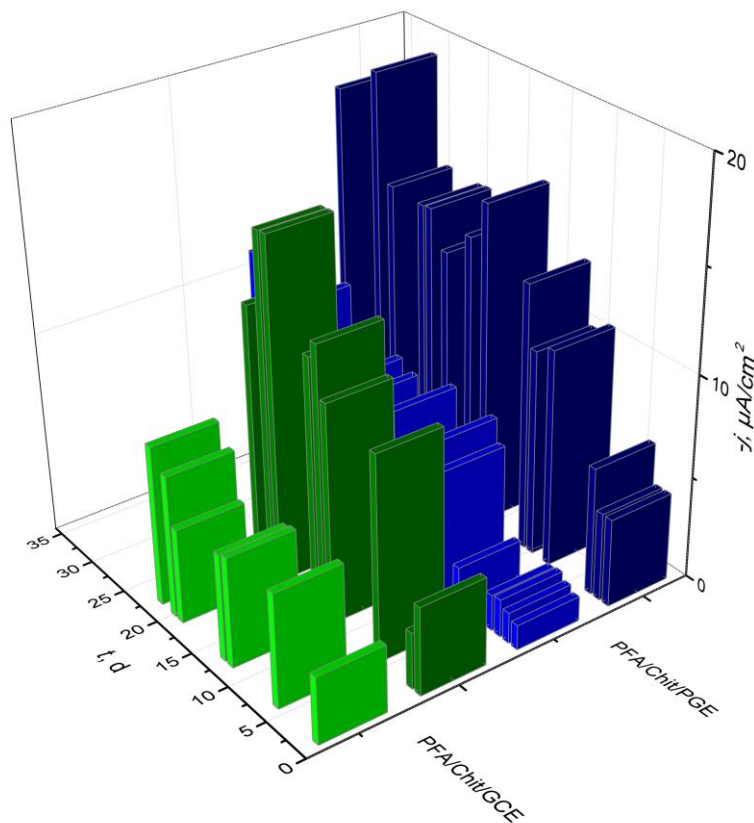
#### 3.6.1.1. pH jutiklių atsikartojamumas, stabilumas ir atrankumas

Naudojant fiksuoto potencialo chronoamperometriją ir potenciometriją tikrinamas pH jutiklių, kurie sudaryti iš PGE, GCE, LIG355 ir LIG532 elektrodų modifikuotų PFA arba PFA/Chit. atsikartojamumas, stabilumas ir atrankumas. 3.3.1 skyrelyje aptarta, kad modifikuoti PFA elektrodai be Chit sluoksnio yra nestabilūs, todėl jie nenaudojami tolimesniuose tyrimuose.

Naudojant ChA kelių polimerizacijų atsikartojamumas PFA/Chit/GCE atveju yra prastas (santykinis standartinis nuokrypis 9,35 ir 44,04 % atitinkamai pH 7,0 ir 8,0 tirpaluose), o PFA/Chit/PGE – puikus (santykinis standartinis nuokrypis abiejų pH tirpaluose yra 3,20 %). O skirtingų polimerizacijų modifikuotų LIG elektrodų atsikartojamumas tiriamas

naudojant potenciometriją. Santykinis standartinis nuokrypis PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 atvejais yra atitinkamai 30,00 % ir 3,25 %, o tai rodo, kad 355 nm lazeris netinkamas patikimiams LIG elektrodams gaminti.

To paties elektrodo atsikartojamumas (angl. repeatability) gaunamas atliekant pH matavimus 3 kartus vienas po kito tą pačią dieną. PFA/Chit/PGE ir PFA/Chit/GCE santykinis standartinis nuokrypis atitinkamai 4,30 ir 11,76 % į pH 7 (n = 3). Pastebėta, kad kiekvieno matavimo metu signalas sumažėja. Įdomu tai, kad kitą dieną signalas atsistato iki didžiausios reikšmės, o toliau po kiekvieno matavimo signalai vėl sumažėja. Tai rodo, kad laikant ore elektrodo struktūra atsistato.

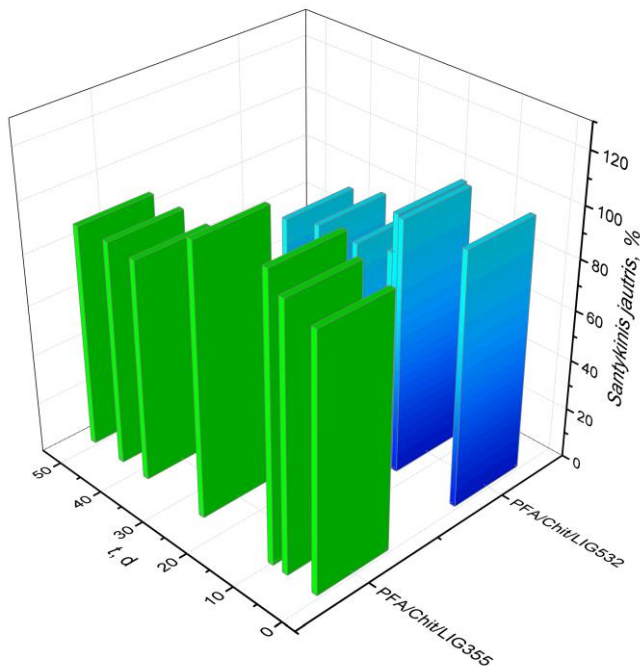


**43 pav.** pH jutiklių stabilumas, gautas iš chronoamperogramų. PFA/Chit/PGE (mėlynos plokštelės) ir PFA/Chit/GCE (žalios plokštelės) 0,1 M PBS tirpaluose, pH 7,0 (tamsiai mėlynos ir žalios plokštelės) ir 8,0 (mėlynos ir šviesiai žalios plokštelės).

PFA/Chit/PGE ir PFA/Chit/GCE veikimo stabilumas tiriamas užregistruojant ChA 3 kartus per dieną, kas kelias dienas. Vidutinės 3

matavimų vertės pavaizduotos 43 pav. Įprastai PFA/Chit/PGE ir PFA/Chit/GCE maksimalus srovės tankis yra atitinkamai  $-19,2$  ir  $-16,7 \mu\text{A cm}^{-2}$  pH 7,0 tirpale, o pH 8,0 –  $-10,9$  ir  $-7,9 \mu\text{A cm}^{-2}$ . PFA/Chit/PGE atveju pH 7,0 tirpale atsakas didėja pirmas 11 dienų, po to išlieka pastovus iki 28 dienos, tačiau vėliau signalas vėl šiek tiek padidėja, pH 8,0 – atsakas sumažėja, bet išlaiko tą pačią tendenciją. PFA/Chit/GCE atveju atsakas panašus į PFA/Chit/PGE, tačiau signalas didėja iki 6 dienos ir daug nesikeičia iki 19 dienos, po to vėl didėja, kaip ir PFA/Chit/PGE atveju pH 7,0 atsakas didesnis nei pH 8,0. Jutiklių stabilumas sandėliuojant yra mažiausiai 70 dienų.

Galima daryti išvadą, kad dėl Chit sluoksnio, elektrodų atsikūriamumas padidėja ir pailgėja jų naudojimo trukmė. Nors, atliekant kelis matavimus iš eilės, atsakas sumažėja, po kelių valandų palaikymo ore jis vėl atsistato. Pastarasis pastebėjimas rodo, kad ilgesnis poveikis pH 7,0 arba 8,0 tirpalais sukelia grįžtamus PFA struktūros pokyčius.

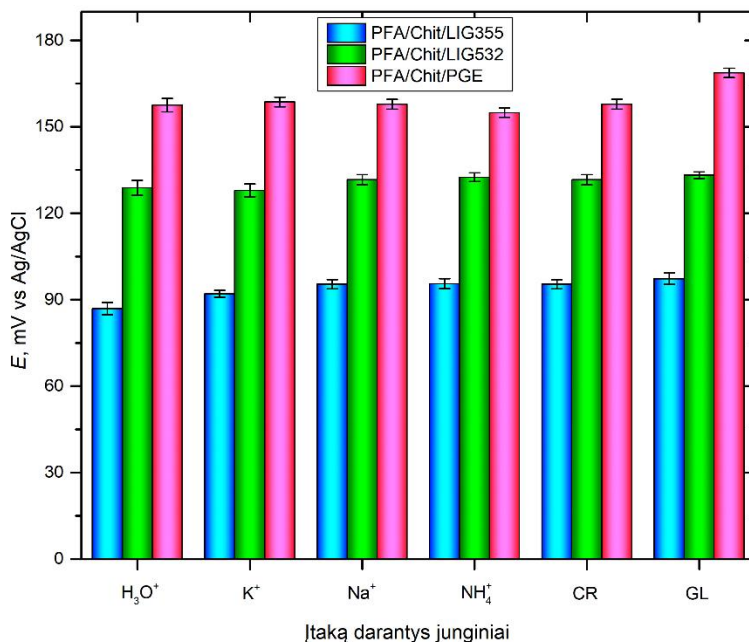


**44 pav.** PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 pH jutiklių stabilumas, pateiktas kaip santykinis jautris. PFA/Chit/LIG355 (žalios plokštelės) ir PFA/Chit/LIG532 (mėlynos plokštelės). Atsakas į pH, gaunamas naudojant potenciometriją 0,1 M PBS tirpaluose pH nuo 6,0 iki 9,0, kaupimo laikas 600 s.

PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 atveju atliekami tik potenciometriniai tyrimai, nes jie jautresni pH matavimams.



PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 jutiklių potencialo jautris stabilus mažiausiai 50 dienų. Stabilumas pateikiamas santykinio jautrio priklausomybe nuo laiko, jį nustatant kas kelias dienas 44 pav. Per 50 dienų PFA/Chit/LIG355 jautris sumažėja nuo  $27,86 \pm 0,97$  iki  $21,86 \pm 0,43$  mV pH<sup>-1</sup>. Toks sumažėjimas mažesnis PFA/Chit/LIG532 atveju, ir per 50 dienų jautris sumažėja nuo  $30,32 \pm 0,06$  iki  $28,14 \pm 0,25$  mV pH<sup>-1</sup>.



**45 pav.** PFA/Chit/PGE, PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 potenciometrinio pH atsako atrankumo tyrimai. Tirtų medžiagų koncentracijos: naudojant PFA/Chit/PGE – 2,95 mM K<sup>+</sup>, 2,93 mM Na<sup>+</sup>, 2,99 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 0,23 mM citrinos rūgščiai ir 1,22 mM D(+)-gliukozei, o PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 atvejais – po 1,0 mM, 0,1 M PBS, pH 7,0 tirpale, kaupimo laikas 600 s. CR – citrinos rūgštis, GL – D(+)-gliukozė.

PFA/Chit/PGE atrankumas tikrinamas naudojant kai kuriuos vienvalenčius jonus ir organinius junginius, tokius kaip Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, citrinos rūgštį ir D(+)-gliukozę. Pasirinkti junginiai dažniausiai randami maisto produktuose. Kaip matoma iš 45 pav. raudonų plokštelių, gliukozė turi didžiausią įtaką potenciometriniam pH atsakui t. y. +7,11 %, o K<sup>+</sup> įtaka – +0,69 %, Na<sup>+</sup> ir citrinos rūgšties po +0,19 %, o NH<sub>4</sub><sup>+</sup> –1,65 %. Šiam jutikliui didžiausią įtaką turi gliukozė. Tai gali būti dėl to, kad nefermentinės glikacijos metu gliukozė virsta dihidroksiacetonu, kuris reaguoja su folio rūgštimi ir sudaro N2-[1-(karboksietil)] folio rūgštį [95]. Tačiau, tikriausiai šis padidėjimas labiau

susijęs su elektrodo paviršiaus ypatumais, nes jei jutikliams paruoštiems naudojant LIG elektrodus, gliukozės įtaka yra visai nežymi.

PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 atrankumas tiriamas naudojant tuos pačius junginius kaip ir PFA/Chit/PGE atveju. Kaip matoma iš 45 pav. mėlinų ir žalių stulpelių,  $K^+$  įtaka PFA/Chit/LIG355 yra +5,96 %, o PFA/Chit/LIG532 – -0.69 %. O visų kitų naudojamų jonų ir organinių junginių įtaka yra  $+10,41 \pm 1,59$  % ir  $+2,62 \pm 0,71$  % atitinkamai PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 elektrodams. Kaip matoma, PFA/Chit/LIG532 atveju naudotų junginių įtaka mažesnė nei PFA/Chit/LIG355.

Iš gautų rezultatų galima spręsti, kad geriausią atsikartojamumą turi PFA/Chit/LIG532, kurio santykinis standartinis nuokrypis, kaip minėta, yra 3,25 %. PFA/Chit/LIG532 yra stabiliausias iš šiame darbe tirtų elektrodų ir išlieka stabilus apie 50 dienų, jo atsakas per šį laiką sumažėja 7,19 %. Matoma, kad PFA/Chit/LIG532 yra atspariausias įtaką darančių junginių poveikiui ir iš tirtų junginių mažiausią įtaką turi  $K^+$  jonai, tik -0.69 %, o didžiausią gliukozė – +3.34 %, kas yra leistinos normos. Iš šių tyrimų matyti, kad PFA/Chit/LIG532 yra tinkamiausias pH jutiklių kūrimui.

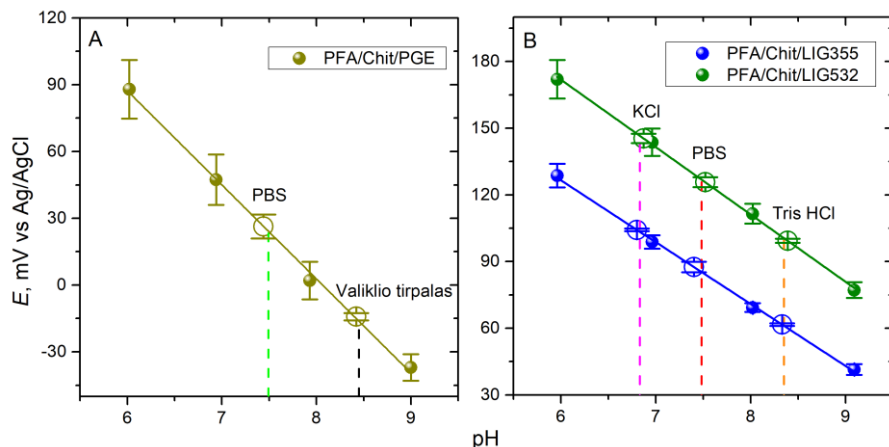
#### 3.6.1.2. pH jutiklio praktiniai taikymai

Praktiniai PFA/Chit/PGE, PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 taikymai atliekami naudojant potenciometrinį tyrimą. Kaip ir 3.6.1 skyrelyje naudojama potenciometrija 0,1 M PBS pH intervale nuo 6,0 iki 9,0 ir nubrėžiamas kalibracinis grafikas (46 pav.), tuomet tiriamuosiuose tirpaluose išmatuojamas potencialas ir pagal kalibracinį grafiką galima spręsti koks tiriamojo tirpalo pH.

Pirmiausiai, nežinomo pH 0,1 M PBS buferio ir klasikinio valiklio tirpalo pH išmatuojami naudojant PFA/Chit/PGE (46A pav.), o gauti duomenys palyginami su stiklinio pH-metro duomenimis. Tiriamasis tirpalas su nežinomu pH paruošiamas atsitiktinai sumaišant 0,1 M PBS pH 7,0 ir 8,0 buferius, o Neodisher FA valiklio skystas koncentratas praskiedžiamas 83333 kartus, kol jis yra neutralizuojamas. Tiriamojo PBS buferio pH-metru išmatuotas pH yra 7,49, o PFA/Chit/PGE  $7,44 \pm 0,13$  ( $n = 3$ ). Valiklio tirpalo pH-metru gaunama pH yra 8,45, o mūsų jutikliu –  $8,42 \pm 0,04$  ( $n = 3$ ). Kaip matoma pH išmatuota naudojant PFA/Chit/PGE nuokrypiausiai nuo pH-metro reikšmės yra nuo -0,03 iki -0,05.

Praktinis taikymas atliekamas ir su PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 (46B pav.). Tam tiriamasis PBS tirpalas paruošiamas tokiu pat būdu kaip ir tiriant PFA/Chit/PGE; naudojami 1 M Tris-HCl ir 0,1 M KCl tirpalai. Po to, šių

tirpalų pH matuojamas naudojant PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 (n = 3). Gauti rezultatai palyginami su pH-metru gautais duomenimis ir pateikti 12 lentelėje. Nuokrypiai nuo pH-metru gautų verčių yra nuo –0,02 iki –0,08 PFA/Chit/LIG355 ir +0,04 PFA/Chit/LIG532 (visais atvejais n = 3). Kaip matoma, abu elektrodai pakankamai patikimi tiriamame pH diapazone.



**46 pav.** PFA/Chit/PGE PFA/Chit/LIG355 ir PFA/Chit/LIG532 jutiklių patvirtinimas skirtingo pH tirpaluose naudojant kalibracinius grafikus (n=3). Tušti apskritimai vaizduoja su atitinkamais jutikliais bandomuosiuose tirpaluose nustatytą pH, o brūkšninės linijos – pH-metru gautos vertės: 7,49 šviesiai žalia (0,1 M PBS), 8,45 juoda (valiklio tirpalas), 6,83 rožinė (0,1 M KCl), 7,48 raudona (0,1 M PBS) ir 8,35 oranžinė (1 M Tris–HCl).

**12 lentelė.** pH atsakas į tiriamus tirpalus naudojant sukurtus jutiklius ir stiklo elektrodą.

Jutiklis	Tiriami tirpalai		
	0,1 M KCl	0,1 M PBS	1 M Tris HCl
pH-metras	6,83	7,48	8,35
PFA/Chit/LIG355	6,80 ± 0,02	7,40 ± 0,08	8,33 ± 0,02
PFA/Chit/LIG532	6,87 ± 0,07	7,52 ± 0,07	8,39 ± 0,03

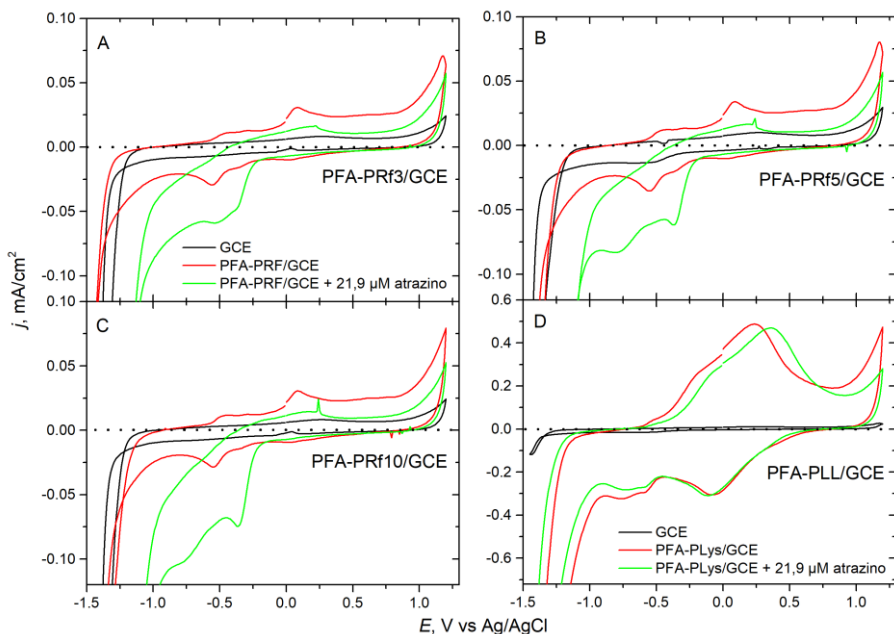
Iš gautų rezultatų galima spręsti, kad geriausiai pH aptinkamas naudojant PFA/Chit/LIG532, jo pH nuokrypis nuo pH-metru gautų verčių yra pastovus su visais tirpalais (+0,04).

### 3.6.2. Modifikuotų elektrodų kaip atrazino jutiklių pritaikomumas

Siekiami patikrinti, ar FA yra jautrus atrazinui, tačiau žinoma, kad jo polimeras yra nestabilus [24], todėl jutikliai atrazino aptikimui kuriami

naudojant kopolimerus PFA-PRf/GCE ir PFA-PLL/GCE (3.2.3. skyrelis). Naudojamų jutiklių atsakas tikrinamas trimis elektrocheminės analizės metodais: CV, SWV ir ChA. Po to geriausio jutiklio atsakas į atraziną testuojamas natūraliuose tiriamuosiuose mėginiuose.

PFA-PRf3/GCE, PFA-PRf5/GCE ir PFA-PRf10/GCE atsakai į atraziną tiriami naudojant CV (47A-C pav.). Kaip matoma atrazinas daro didelę įtaką PFA redukcijos smailės srovės tankiui, be to, smailės pasislenka link mažiau neigiamų potencialo verčių. Pridėjus 21,9 μM atrazino į 0,1 M PBS tirpalą, kurio pH yra 5,0, srovės tankis ties PFA redukcijos smaile padidėja 29,5 μA cm<sup>-2</sup>, 26,0 ir 46,1 μA cm<sup>-2</sup> atitinkamai naudojant PFA-PRf3/GCE, PFA-PRf5/GCE ir PFA-PRf10/GCE.



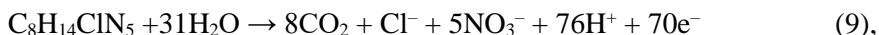
**47 pav.** Atsako į atraziną CV naudojant PFA-PRf/GCE (A-C) ir PFA-PLL/GCE (D) 0,1 M PBS, pH 5,0 tirpale. Potencialų intervalas nuo -1,5 iki +1,3 V, sklaidimo greitis - 50 mV s<sup>-1</sup>.

PFA-PRf/GCE yra nestabilūs ir tyrimai neatsikartoja, todėl išbandomas stabilesnis vitamino bei amino rūgšties (PFA-PLL) kopolimeras. PFA-PLL/GCE atsakas į atraziną (47D pav.) tiriamas tokiu pat metodu kaip ir naudojant PFA-PRf/GCE. PFA-PLL/GCE srovės tankis yra žymiai didesnis už PFA-PRf/GCE, nepaisant to, kad PFA-PLL/GCE polimerizacijos metu naudojama 10 kartų mažesnė FA koncentracija nei PFA-PRf/GCE. Šiuo atveju atrazino priedas sukelia srovės tankio sumažėjimą tiek katodinėje, tiek anodinėje srityse, kur atitinkamai vyksta PFA redukcija arba oksidacija. PFA

katodinis atsakas į 21,9  $\mu\text{M}$  atrazino yra 42,7  $\mu\text{A cm}^{-2}$ , o anodinis – apie 18,4  $\mu\text{A cm}^{-2}$ .

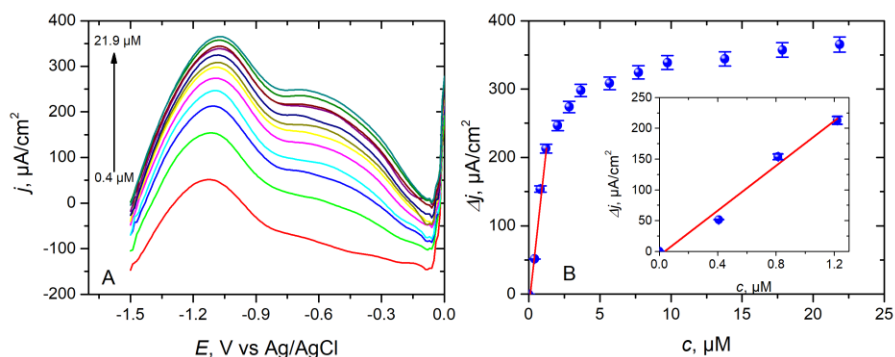
Paprastai CV nėra pats jautriausias elektroanalizės metodas, todėl reakcijai į atraziną tirti taip pat naudojami ir kiti metodai tokie kaip SWV ir ChA. SWV užrašoma naudojant PFA-PLL/GCE pavaizduota 48A pav. Tyrimas atliekamas PBS tirpale pridėdant atrazino nuo 400 nM iki 22  $\mu\text{M}$ , srovės tankis padidėja visoje tiriamoje potencialų srityje, ryškiausiai PFA oksidacijos maksimumo vietoje, t. y. ties  $-1,12\text{ V}$ , be to, atsiranda nauja oksidacijos banga ties  $-0,65\text{ V}$ .

9 lygtyje pavaizduota galutinė atrazino oksidacijos reakcija [96]:



tačiau pirmasis etapas, stebimas SWV, yra jo oksidacija iki ciano rūgšties [96].

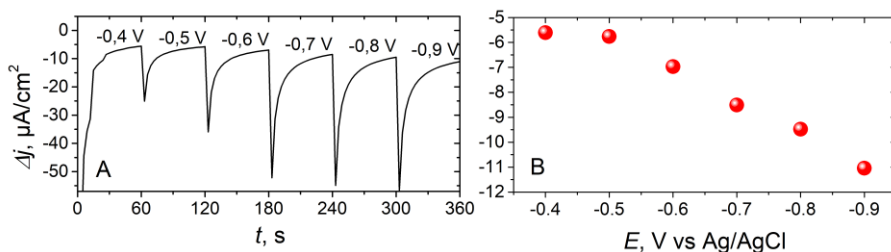
Kaip matoma iš 48B pav. pateikto kalibracinio grafiko, procesas turi 2 tiesinius intervalus, pirmasis yra trumpas, bet pasižymi dideliu jautriu, kuris yra  $198 \pm 1\ \mu\text{A}\ \mu\text{M}^{-1}\ \text{cm}^{-2}$ , o aptikimo LOD, gauta taikant  $3\sigma$  metodą (1.2 skyrelyje), yra 14,8 nM.



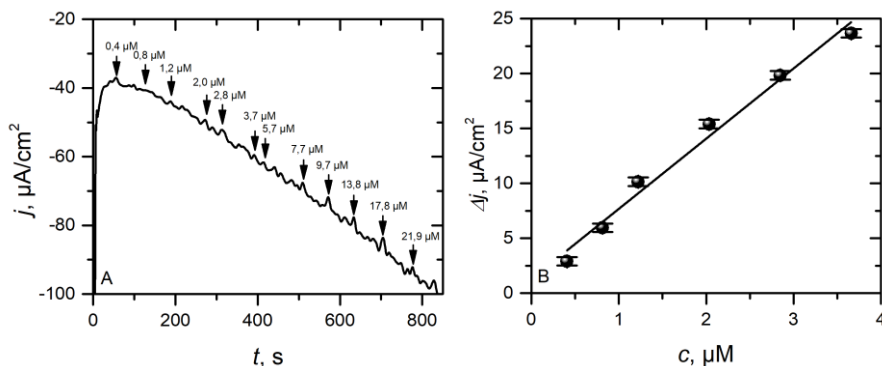
**48 pav.** PFA-PLL/GCE atsako į atraziną SWV (A), 0,1 M PBS, pH 5,0 tirpale. SWV parametrai: potencialo amplitudė 10 mV, dažnis – 50 Hz, potencialų intervalas nuo  $-1,5$  iki 0,0 V. Atrazino priedai: 0,400, 0,800, 1,20, 2,00, 2,90, 3,70, 5,70, 7,70, 9,70, 13,8, 17,8 ir 21,9  $\mu\text{M}$ . Atsako į atraziną kalibracinis grafikas naudojant tą patį elektrodą (B) nustatytas iš SWV (A).

Voltamperometrijos metodai yra mažiau patogūs praktiniam naudojimui, todėl dažnai naudojama fiksuoto potencialo ChA, nes yra lengviau nuskaitoma. Dėl to, atsakui į atraziną įvertinti užrašoma ir ChA. 50 pav. pavaizduota ChA, gaunama naudojant PFA-PLL/GCE 0,1 M PBS, pH 5,0 tirpale, kai didinama atrazino koncentracija taip pat kaip ir SWV atveju. Potencialas, kuriam esant užrašoma ChA, optimizuojamas nuo  $-0,4$  iki  $-0,9\text{ V}$ , (kur gaunamas geriausias CV ir SWV atsakas) keičiant potencialą kas 60 s po 100 mV. Optimizavimas atliekamas 0,1 M PBS pH 5,0 tirpale, po to

pakartojamas pridėjus 21,9  $\mu\text{M}$  atrazino. Iš tirpalo su atrazinu ir be jo rezultatų skirtumas pateikiamas 49A pav. Iš jo gaunama srovės tankio priklausomybė nuo naudoto potencialo (49B pav.). Iš 49 pav. matoma, kad srovės tankio nusistovėjimas yra  $-0,4$  ir  $-0,5$  V potencialų intervale. Tolesniems tyrimams pasirenkamas potencialas yra  $-0,6$  V, kur srovės tankis yra didesnis už  $-0,4$  ir  $-0,5$  V. Pasirenkamas mažiausias potencialas su pakankamai ryškiu atsaku, nes didesniuose potencialuose gali redukuotis tirpale esančios druskos.



**49 pav.** PFA-PLL/GCE srovės tankio pokytis tarp tirpalo su atrazinu ir be jo (A), esantis skirtingiems potencialams, užrašomas naudojant ChA 0,1 M PBS pH 5,0 tirpale kuriame yra 21,9  $\mu\text{M}$  atrazino. Potencialas keičiamas kas 60 s. PFA-PLL/GCE srovės tankio priklausomybė nuo potencialo (B) gauta iš ChA (A).

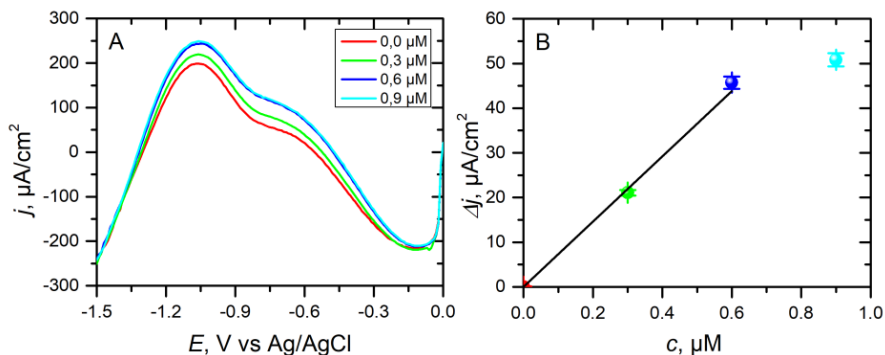


**50 pav.** PFA-PLL/GCE fiksuoto potencialo ChA, 0,1 M PBS pH 5,0, esant  $-0,6$  V potencialui. Rodyklės rodo atrazino pridėjimą. Atsako į atraziną kalibracinis grafikas (B), nustatytas iš ChA (A).

Kaip matoma iš 50 pav., kiekvienas atrazino koncentracijos padidinimas sukelia katodinio srovės tankio padidėjimą, tačiau reakcijos laikas gana lėtas, apie 1 minutę. Šiuo atveju jautris yra  $8,39 \pm 0,39 \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ , t. y. daug mažesnis nei SWV. LOD yra 139 nM, o tai 10 kartų didesnė už gautą SWV metodu. Tai reiškia, kad fiksuoto potencialo ChA netinkamas analizei realiomis sąlygomis.

### 3.6.2.1. Atrazino jutiklio testavimas natūraliame tiriamajame mėginyje

Kadangi PFA-PLL/GCE yra tinkamiausias atrazino analizei, jis toliau testuojamas atrazino aptikimui vandentiekio vandenyje, kurio pastovus pH palaikomas PBS tirpalu. Kadangi vandentiekio vandenyje atrazino nėra, jo pridedama į mėginį. Atsakas į atrazino koncentracijos didėjimą tirpale stebimas naudojant SWV (51A pav.), kuris vandentiekio vandens mėginiuose gerokai didesnis nei gryname buferiniame tirpale, be to, tiesinis intervalas trumpesnis (51B pav.). Todėl atrazino nustatymui gruntiniame arba nuotekų vandenyje kalibravimas turi būti atliekamas tiesiogiai mėginyje, nes mėginio pobūdis (pH išlieka toks pat kaip buferiniame tirpale) turi įtakos foniniam ir atsako signalui. Jautris atrazinui vandentiekio vandenyje yra  $74,6 \pm 4,4 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ , t. y. mažesnis nei naudojant tik PBS, tačiau vis tiek daug geresnis nei naudojant ChA.



**51 pav.** PFA-PLL/GCE atsako į atraziną SWV (A), 0,1 M PBS, pH 5,0 su vandentiekio vandeniu. SWV parametrai tokie pat kaip ir 48 pav. Atrazino priedai: 0,3, 0,6 ir 0,9  $\mu\text{M}$ . Atsako į atraziną kalibracinis grafikas naudojant tą patį elektrodą (B) nustatytas iš SWV (A).

Iš gautų rezultatų galima spręsti, kad PFA-PLL/GCE geriausiai aptinka atraziną naudojant SWV metodą. Nors vandentiekio vandenyje jautris ir aptinkamų koncentracijų intervalas yra mažesni nei PBS tirpale. PFA-PLL/GCE jautris atrazinui yra pakankamai didelis  $198,0 \pm 1,0 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$  ir  $74,6 \pm 4,4 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$  atitinkamai PBS ir PBS tirpale su vandentiekio vandeniu. Todėl PFA-PLL/GCE yra tinkamas atrazino jutiklio kūrimui.

## IŠVADOS

1. Tinkamiausias polimeras pH jutikliui gaunamas naudojant elektrochemiškai susintetintą PFA ant Chit padengto PGE dėl paviršiuje susiformavusios pluoštinės struktūros ir padidėjusio paviršiaus ploto. PFA/Chit/PGE jautris 6,0-9,0 pH intervale yra  $43,5 \text{ mV pH}^{-1}$ . Jutiklis yra stabilus apie 70 dienų.
2. PFA/Chit/LIG532 yra tinkamesnis plokščio pH jutiklio formavimui dėl jo didesnio jautrio, kuris yra  $30,32 \pm 0,50 \text{ mV pH}^{-1}$ , tikslesnis atsakas (nuokrypis  $+0,04$  lyginat su įprastu pH-metru). Be to šis elektrodas yra stabilesnis ir jo stabilumas siekia mažiausiai du mėnesius.
3. Geriausias atrazino jutiklis gaunamas naudojant PFA-PLL/GCE, nes jautrumas elektrolito tirpale yra  $198,0 \pm 1,0 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ . Tačiau jutiklio jautris į geriamą buferuotą vandenį pridėjus atrazino, jo jautris tik  $74,6 \pm 4,4 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ , todėl jam reikalinga papildoma kalibracija tiriamuose tirpaluose.



## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. World Health Organization <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/chemical-safety-pesticides>.
2. K.S. Almberg, M.E. Turyk, R.M. Jones, K. Rankin, S. Freels, L.T. Stayner, Atrazine contamination of drinking water and adverse birth outcomes in community water systems with elevated atrazine in Ohio, 2006-2008, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15 (2018) 1889. <https://doi.org/10.3390/ijerph15091889>.
3. N.K. Guimard, N. Gomez, C.E. Schmidt, Conducting polymers in biomedical engineering, *Prog. Polym. Sci.* 32 (2007) 876–921. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.012>.
4. R. Pauliukaite, Application of natural polymers for electrochemical sensing, in “Biophysics for Biomedical and Environmental Sciences”, ed. M. Florescu, *Transilvania University of Brasov Press, Brasov* (2016) 185-210.
5. V. Guarino, M.A. Alvarez-Perez, A. Borriello, T. Napolitano, L. Ambrosio, Conductive PANi/PEGDA macroporous hydrogels for nerve regeneration, *Adv. Healthc. Mater.* 2 (2013) 218–227. <https://doi.org/10.1002/adhm.201200152>.
6. B.D. Malhotra, A. Chaubey, S.P. Singh, Prospects of conducting polymers in biosensors, *Anal. Chim. Acta* 578 (2006) 59–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.04.055>.
7. G.G. Wallace, G.M. Spinks, L.A.P. Kane-Maguire, P.R. Teasdale, *Conductive Electroactive Polymers—Intelligent Polymer System*, 3rd ed., *CRC Press LLC.: Boca Raton, FL, USA* 2003. <https://doi.org/10.1201/9781420067156>.
8. R. Balint, N.J. Cassidy, S.H. Cartmell, Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering, *Acta Biomater.* 10 (2014) 2341–2353. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.02.015>.
9. D.M. Ivory, G.G. Miller, J.M. Sowa, L.W. Shacklette, R.R. Chance, R.H. Baughman, Highly conducting charge-transfer complexes of poly(p-phenylene), *J. Chem. Phys.* 71 (1979) 1506–1507. <https://doi.org/10.1063/1.438420>.
10. A.J. Heeger, A.G. MacDiarmid, H. Shirakawa, The Nobel Prize in Chemistry, 2000: Conductive Polymers, *The Royal Swedish Academy of Sciences: Stockholm, Sweden* 2000.
11. F. Zouaouia, S. Bourouina-Bachab, M. Bourouinab, N. Jaffrezic-Renault, N. Zinea, A. Errachid, Electrochemical sensors based on molecularly imprinted chitosan: A review, *TrAC* 130 (2020) 15982. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2020.115982>.

12. R. Jayakumar, M. Prabakaran, R.L. Reis, J.F. Mano, Graft copolymerized chi-tosandpresent status and applications, *Carbohydr. Polym.* 62 (2005) 142–158. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.07.017>.
13. R. Pauliukaite, M.E. Ghica, O. Fatibello-Filho, C.M.A. Brett, Comparative study of different cross-linking agents for the immobilization of functionalized carbon nanotubes within a chitosan film supported on a graphite-epoxy composite electrode, *Anal. Chem.* 81 (2009) 5364–5372. <http://doi.org/10.1021/ac900464z>.
14. B. Huang, N. Jia, L. Chen, L. Tan, S. Yao, Electrochemical impedance spectroscopy study on polymerization of L-lysine on electrode surface and its application for immobilization and detection of suspension cells, *Anal. Chem.* 86 (2014) 6940-6947. <https://doi.org/10.1021/ac500753f>.
15. S. Shima, H. Sakai, Polylysine produced by *Streptomyces*, *Agric. Biol. Chem.* 41 (1977) 1807-1809. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.41.1807>.
16. C.H. Ho, E. Odermatt, I. Berndt, J.C. Tiller, Ways of selective polycondensation of L-lysine towards linear  $\alpha$ - and  $\epsilon$ -poly-L-lysine, *Wiley InterScience* 46 (2008) 5053-5063. <https://doi.org/10.1002/pola.22833>.
17. J.L. Koenig, P.L. Sutton, Raman spectra of poly-L-lysines, *Biopolymers* 9 (1970) 1229-1237. <https://doi.org/10.1002/bip.1970.360091003>.
18. F.C. Anson, J.M. Saveant, K. Shigehara, New model for the interior of polyelectrolyte coatings on electrode surfaces. Mechanisms of charge transport through protonated poly(L-lysine) films containing FeIII(edta)- and FeII(edta)2- as counterions, *J. Am. Chem. Soc.* 105 (1983) 1096-1106. <https://doi.org/10.1021/Ja00343A005>.
19. S.C. Shukla, A. Singh, A.K. Pandey, A. Mishra, Review on production and medical applications of  $\epsilon$ -polylysine, *Biochem. Eng. J.* 65 (2012) 70-81. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.04.001>.
20. D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, E. Reimhult, Electrochemical biosensors - sensor principles and architectures, *Sensors* 8 (2008) 1400-1458. <https://doi.org/10.3390/s80314000>.
21. K.C. Watts, O.A.N. Husain, Optimal use of the cationic polyelectrolyte poly-L-lysine in the preparation of cell monolayers for diagnostic cytopathology, *J. Clin. Pathol.* 37 (1984) 829-835. <https://doi.org/10.1136/jcp.37.7.829>.
22. R. Celiešiūtė, T. Venckus, Š. Vaitekoniš, R. Pauliukaite, Electrosynthesis and characterisation of poly(folic acid) films, *Electrochim. Acta* 138 (2014) 62–68. <http://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.06.103>.
23. G. Melinte1, A. Cernat, M.B. Irimes, S.J. Györfi, M. Tertis, M. Suci, L. Anicăi, R. Săndulescu, C. Cristea, Selective detection of folic acid using

3D polymeric structures of 3-carboxylic polypyrrole, *Sensors* 20 (2020) 2315. <https://doi.org/10.3390/s20082315>.

24. T. Venckus, R. Celiešiūtė, A. Radzevič, T. Rakickas, Š. Vaitekonis, Ž. Ruelė, R. Pauliukaite, Application of polyfolates in the development of electrochemical glucose biosensors, *Electroanalysis* 26 (2014) 2273–2282. <http://doi.org/10.1002/elan.201400293>.

25. M. He, X. Zheng, A highly sensitive and selective method for dopamine detection based on poly(folic acid) film modified electrode, *J. Mol. Liq.* 173 (2012) 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2012.05.024>.

26. Z. Wang, C. Zhou, J. Xia, B. Via, Y. Xia, F. Zhang, Y. Li, L. Xia, Fabrication and characterization of a triple functionalization of graphene oxide with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, folic acid and doxorubicin as dual-targeted drug nanocarrier, *Coll. Surf. B* 106 (2013) 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.032>.

27. A. Radzevič, G. Niaura, I. Ignatjev, T. Rakickas, R. Celiešiūtė, R. Pauliukaite, Electropolymerisation of the natural monomer riboflavin and its characterization, *Electrochim. Acta* 222 (2016) 1818–1830. <http://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.11.166>.

28. D. Bennett, Every Vitamin Page: All vitamins and pseudo-vitamins, At: [lifeinyouryears.net/everyvitamin.html](http://lifeinyouryears.net/everyvitamin.html). 2013.

29. C.A. Northrop-Clewes, D.L. Thurnham, The discovery and characterization of riboflavin, *Ann. Nutr. Metab.* 61 (2012) 224–230. <http://doi.org/10.1159/000343111>.

30. E.S. Sá, P.S. da Silva, C.L. Jost, A. Spinelli, Electrochemical sensor based on bismuth-film electrode for voltammetric studies on vitamin B2 (riboflavin), *Sens. Actuat. B* 209 (2015) 423–430. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.136>.

31. W. Chen, J.-J. Chen, R. Lu, C. Qian, W.-W. Li, H.-Q. Yu, Redoxreaction characteristics of riboflavin: A fluorescence spectroelectrochemical analysis and density functional theory calculation, *Bioelectrochemistry* 98 (2014), 103–108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioelechem.2014.03.010>.

32. S. Nellaiappan, A.S. Kumar, Selective flow injection analysis of iodate in iodized table salts by riboflavin immobilized multiwalled carbon nanotubes chemically modified electrode, *Electrochim. Acta* 109 (2013) 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.07.076>.

33. M. Roushani, E. Karami, A. Salimi, R. Sahraei, Amperometric detection of hydrogen peroxide at nano-rutheniumoxide/riboflavin nanocompositemodified glassy carbon electrodes, *Electrochim. Acta* 113 (2013) 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.09.069>.

34. M. Roushani, Z. Abdi, Novel electrochemical sensor based on graphene quantum dots/riboflavin nanocomposite for the detection of persulfate, *Sens. Actuat. B* 201 (2014) 503-510. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.05.054>.
35. Y.N. Ivanova, A.A. Karyakin, Electropolymerization of flavins and the properties of the resulting electroactive films, *Electrochem. Commun.* 6 (2004) 120-125. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2003.10.021>.
36. S.L.J. Tan, R.D. Webster, Electrochemically induced chemically reversible proton-coupled electron transfer reactions of riboflavin (vitamin B2), *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 5954–5964. <https://doi.org/10.1021/ja300191u>.
37. J. Baranwal, B. Barse, G. Gatto, G. Broncova, A. Kumar, Electrochemical sensors and their applications: A review, *Chemosensors* 10 (2022) 363. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10090363>.
38. F.R. Simões, M.G. Xavier, Electrochemical sensors, *Nanosci. Its Appl.* (2017) 155-178. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-49780-0.00006-5>.
39. N.K. Sharma, A. Nain, K. Singh, N. Rani, A. Singal, Impedimetric sensors: principles, applications and recent trends, *IJITEE* 8 (2019) 4015-4020. <https://doi.org/10.35940/ijitee.J9806.0881019>
40. C.N. Chang, H.B. Cheng, A.C. Chao, Applying the Nernst equation to simulate redox potential variations for biological nitrification and denitrification processes, *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 1807–1812. <https://doi.org/10.1021/es021088e>.
41. A. Dhanjai Sinha, X. Lu, L. Wu, D. Tan, Y. Li, J. Chen, R. Jain, Voltammetric sensing of biomolecules at carbon based electrode interfaces: a review, *TrAC Trend. Anal. Chem.* 98 (2018) 174-189. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.11.010>.
42. M.C. Henstridge, E. Laborda, E.J.F. Dickinson, R.G. Compton, Redox systems obeying Marcus–Hush–Chidsey electrode kinetics do not obey the Randles–Ševčík equation for linear sweep voltammetry, *J. Electroanal. Chem.* 664 (2012) 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.10.015>.
43. A. Forootan, R. Sjöback, J. Björkman, B. Sjögren, L. Linz, M. Kubista, Methods to determine limit of detection and limit of quantification in quantitative real-time PCR (qPCR), *Biomol. Detect. Quantif.* 12 (2017) 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2017.04.001>.
44. S. Lee, X. Bi, R.B. Reed, J.F. Ranville, P. Herckes, P. Westerhoff, Nanoparticle size detection limits by single particle ICP-MS for 40 elements, *Environ. Sci. Technol.* 48 (2014) 10291–10300. <https://doi.org/10.1021/es502422v>.

45. G. Cho, S. Azzouzi, G. Zucchi, B. Lebental, Electrical and electrochemical sensors based on carbon nanotubes for the monitoring of chemicals in water—A review, *Sensors* 22 (2021) 218. <https://doi.org/10.3390/s22010218>.
46. J. Hu, G. Sang, N. Zeng, C. Lv, C. Xu, Amperometric sensor for the detection of hydrogen stable isotopes based on Pt nanoparticles confined within single-walled carbon nanotubes (SWNTs), *Sens. Actuators B Chem.* 356 (2022) 131344. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.131344>.
47. N.Y. Stasyuk, G.Z. Gayda, A.E. Zakalskiy, L.R. Fayura, O.M. Zakalska, A.A. Sibirny, M. Nisnevitch, M.V. Gonchar, Amperometric biosensors for L-arginine and creatinine assay based on recombinant deiminases and ammonium-sensitive Cu/Zn(Hg)S nanoparticles, *Talanta* 238 (2022) 122996. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122996>.
48. C.J. Matthews, E.S.V. Andrews, W.M. Patrick, Enzyme-based amperometric biosensors for malic acid—A review, *Anal. Chim. Acta* 1156 (2021) 338218. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338218>.
49. G. Emir, Y. Dilgin, A. Ramanaviciene, A. Ramanavicius, Amperometric nonenzymatic glucose biosensor based on graphite rod electrode modified by Ni-nanoparticle/polypyrrole composite, *Microchem. J.* 161 (2021) 105751. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105751>.
50. D.R. Thevenot, K. Toth, R. Durst, G.S. Wilson, Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification, *Biosens. Bioelectron.* 16 (2001)121–131. <https://doi.org/10.1081/AL-100103209>.
51. M. Rahman, P. Kumar, D.S. Park, Y.B. Shim, Electrochemical sensors based on organic conjugated polymers, *Sensors* 8 (2008) 118–141. <https://doi.org/10.3390/s8010118>.
52. J. Janata, M. Josowicz, P. Vanýsek, D.M. DeVaney, Chemical sensors, *Anal. Chem.* 70 (1998) 179–208. <https://doi.org/10.1021/a1980010w>.
53. J.Y. Choi, K. Seo, S.R. Cho, J.R. Oh, S.H. Kahng, J. Park, Screen-printed anodic stripping voltammetric sensor containing HgO for heavy metal analysis, *Anal. Chim. Acta* 443 (2001) 241–247. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01219-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01219-3).
54. C. Ariño, N. Serrano, J.M. Díaz-Cruz, M. Esteban, Voltammetric determination of metal ions beyond mercury electrodes. A review, *Anal. Chim. Acta* 990 (2017) 11–53. <http://doi.org/10.1016/j.aca.2017.07.069>.
55. A. Economou, Screen-printed electrodes modified with “green” metals for electrochemical stripping analysis of toxic elements, *Sensors* 18 (2018) 1032. <https://doi.org/10.3390/s18041032>
56. Y. Sun, J. Fei, J. Hou, Q. Zhang, Y. Liu, B. Hu, Simultaneous determination of dopamine and serotonin using a carbon nanotubes-ionic

liquid gel modified glassy carbon electrode, *Microchim. Acta* 165 (2009) 373–379. <https://doi.org/10.1007/s00604-009-0147-1>.

57. M. Ates, J. Castillo, A.S. Sarac, W. Schuhmann, Carbon fiber microelectrodes electrocoated with polycarbazole and poly(carbazole-co-p-tolylsulfonyl pyrrole) films for the detection of dopamine in presence of ascorbic acid, *Microchim. Acta* 160 (2008) 247–251. <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0837-5>.

58. L. Manjakkal, D. Szwagierczak, R. Dahiya, Metal oxides based electrochemical pH sensors: Current progress and future perspectives, *Prog. Mater. Sci.* 109 (2020) 100635. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2019.100635>.

59. L. Švorc, M. Rievaj, D. Bustin, Green electrochemical sensor for environmental monitoring of pesticides: Determination of atrazine in river waters using a boron-doped diamond electrode, *Sens. Actuators B Chem.* 181 (2013) 294–300. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.02.036>.

60. X. Li, Y. He, F. Zhao, W. Zhang, Z. Ye, Molecularly imprinted polymer-based sensors for atrazine detection by electropolymerization of o-phenylenediamine, *RSC Adv.* 5 (2015) 56534–56540. <https://doi.org/10.1039/C5RA09556E>.

61. Supraja, V. Singh, S.R.K. Vanjari, S.G. Singh, Electrospun CNT embedded ZnO nanofiber based biosensor for electrochemical detection of Atrazine: a step closure to single molecule detection, *Microsyst. Nanoeng.* 6 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41378-019-0115-9>.

62. N.V. Chuc, N.H. Binh, C.T. Thanh, N.V. Tu, N.L. Huy, N.T. Dzung, P.N. Minh, V.T. Thu, T.D. Lam, Electrochemical immunosensor for detection of atrazine based on polyaniline/graphene, *J. Mater. Sci. Technol.* 32 (2016) 539–544. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2016.04.004>.

63. R. Zumpano, M. Manghisi, F. Polli, C. D’Agostino, F. Ietto, G. Favero, F. Mazzei, Label-free magnetic nanoparticles-based electrochemical immunosensor for atrazine detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 414 (2022) 2055–2064. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03838-y>.

64. M. Pawlyta, J.N. Rouzaud, S. Duber, Raman microspectroscopy characterization of carbon blacks: Spectral analysis and structural information, *Carbon* 84 (2015) 479–490. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.12.030>.

65. S. Hong, J. Kim, S. Jung, J. Lee, B.S. Shin, Surface morphological growth characteristics of laser-induced graphene with UV pulsed laser and sensor applications, *ACS Materials Lett.* 5 (2023) 1261–1270. <https://doi.org/10.1021/acsmaterialslett.2c01222>.

66. N. Elgrishi, K.J. Rountree, B.D. McCarthy, E.S. Rountree, T.T. Eisenhart, J.L. Dempsey, A practical beginner’s guide to cyclic voltammetry,

67. N. Abu-Thabit, Y. Umar, E. Ratemi, A. Ahmad, F.A. Abuilaiwi, A flexible optical pH sensor based on polysulfone membranes coated with pH-responsive polyaniline nanofibers, *Sensors* 16 (2016) 986. <https://doi.org/10.3390/s16070986>.

68. S. Kumar, B.S. Bansod, R. Thakur, M. Jharval, Soil pH sensing techniques and technologies—A review, *Int. J. Adv. Res. Electric. Electron. Instrument. Eng.* 4 (2015) 4452–4456. <https://doi.org/10.15662/ijareeie.2015.0405077>.

69. A. Lasia, Impedance of porous electrodes, *ECS Trans.* 13 (2008) 1–18. <https://doi.org/10.1149/1.3004025>.

70. J. Huang, Y. Gao, J. Luo, S. Wang, C. Li, S. Chen, J. Zhang, Editors' Choice—Review—Impedance response of porous electrodes: Theoretical framework, physical models and applications, *J. Electrochem. Soc.* 167 (2020) 166503. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/abc655>.

71. T.Q. Nguyen, C. Breitkopf, Determination of diffusion coefficients using impedance spectroscopy data, *J. Electrochem. Soc.* 165 (2018) 826–831. <https://doi.org/10.1149/2.1151814jes>.

72. S.L.J. Tan, R.D. Webster, Electrochemically induced chemically reversible proton-coupled electron transfer reactions of riboflavin (vitamin B2), *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 5954–5964. <https://doi.org/10.1021/ja300191u>.

73. A. Niemz, J. Imbriglio, V.M. Rotello, Model systems for flavoenzyme activity: one- and two-electron reduction of flavins in aprotic hydrophobic environments, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 887–892. <https://doi.org/10.1021/ja963704a>.

74. S. Akbar, A. Anwar, Q. Kanwal, Electrochemical determination of folic acid: A short review, *Anal. Biochem.* 510 (2016) 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.07.002>.

75. R.F. Carvalho, R.S. Freire, L.T. Kubota, Polycrystalline gold electrodes: A comparative study of pretreatment procedures used for cleaning and thiol self-assembly monolayer formation, *Electroanalysis* 17 (2005) 1251–1259. <https://doi.org/10.1002/elan.200403224>.

76. Y. Astuti, E. Topoglidis, P.B. Briscoe, A. Fantuzzi, G. Gilardi, J.R. Durrant, Proton-coupled electron transfer of flavodoxin immobilized on nanostructured tin dioxide electrodes: Thermodynamics versus kinetics control of protein redox function, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 8001–8009. <https://doi.org/10.1021/ja0496470>.

77. E. Katinaitė, V. Žutautas, A. Bytautaitė, R. Pauliukaitė, A novel strategy to develop electrochemical atrazine sensor, *Chemija* 33 (2022) 111–119. <https://doi.org/10.6001/chemija.v33i4.4804>.
78. P. Chanphai, V. Konka, H.A. Tajmir-Riahi, Folic acid–chitosan conjugation: A new drug delivery tool, *J. Molec. Liquids* 238 (2017) 155–159. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.04.132>.
79. P. Zhu, Y. Zhao, Effects of electrochemical reaction and surface morphology on electroactive surface area of porous copper manufactured by Lost Carbonate Sintering, *RSC Adv.* 7 (2017) 26392–26400. <http://doi.org/10.1039/C7RA04204C>.
80. M. Gao, X. Wan, S. Lai, H. Cui, Z. Chen, Y. Q. G. Ding, G. Cheng, Electrical properties of composite based on in-situ synthesis of polyaniline and graphite, *Mater. Lett.* 308 (2022) 131133. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.131133>.
81. B. Chen, B. Zhang, C. Chen, J. Hu, J. Qi, T. He, P. Tian, X. Zhang, G. Ni, M. M-C Cheng, Penetrating glassy carbon neural electrode arrays for brain-machine interfaces, *Biomed. Microdevices* 22, 43 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10544-020-00498-0>.
82. N. Elgrishi, K.J. Rountree, B.D. McCarthy, E.S. Rountree, T.T. Eisenhart, J.L. Dempsey, A practical beginner’s guide to cyclic voltammetry, *J. Chem. Educ.* 95 (2018) 197–206. <http://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>.
83. R. Pauliukaite, A. Selskiene, A. Malinauskas, C.M.A. Brett, Electrosynthesis and characterisation of poly(safranin T) electroactive polymer films, *Thin Solid Films* 517 (2009) 5435–5441. <http://doi.org/10.1016/j.tsf.2009.01.092>.
84. F. Scholz, From the Leiden jar to the discovery of the glass electrode by Max Cremer, *J. Solid State Electrochem.* 15 (2011) 5–14. <http://doi.org/10.1007/s10008-009-0962-7>.
85. M. Ates, Review study of electrochemical impedance spectroscopy and equivalent electrical circuits of conducting polymers on carbon surfaces, *Progress Org. Coat.* 71 (2011) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2010.12.011>.
86. A. Žemaitis, A. Mimidis, A. Papadopoulos, P. Gečys, G. Račiukaitis, E. Stratakis, M. Gedvilas, Controlling the wettability of stainless steel from highly-hydrophilic to super-hydrophobic by femtosecond laser-induced ripples and nanopikes. *RSC Adv.* 62 (2020) 37956–37961. <https://doi.org/10.1039/D0RA05665K>.
87. G. Agrawal, Y.S. Negi, S. Pradhan, M. Dash, S.K. Samal, Wettability and contact angle of polymeric biomaterials. In *Characterization of Polymeric*



Biomaterials, *Woodhead Publishing: Sawston, UK* (2017) 57–81. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100737-2.00003-0>.

88. Hubbe, M.A. Why, after all, are chitosan films hydrophobic? *BioResources* 2019, 14, 7630–7631.

89. L. Zhang, L. Wang, J. Li, C. Cui, Z. Zhou, L. Wen, Surface engineering of laser-induced graphene enables long-term monitoring of on-body uric acid and pH simultaneously, *Nano Lett.* 22 (2022) 5451–5458. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.2c01500>.

90. D.M. Kim, S.J. Cho, C.H. Cho, K.B. Kim, M.Y. Kim, Y.B. Shima, Disposable all-solid-state pH and glucose sensors based on conductive polymer covered hierarchical AuZn oxide, *Biosens. Bioelectron.* 79 (2016) 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.12.002>.

91. A. Lampinen, E. See, A. Emelianov, P. Myllyperkiö, A. Johansson, M. Pettersson, Laser-induced tuning of graphene field-effect transistors for pH sensing, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 25 (2023) 10778–10784. <https://doi.org/10.1039/D3CP00359K>.

92. L. Manjakkal, W. Dang, N. Yogeswaran, R. Dahiya, Textile-based potentiometric electrochemical pH sensor for wearable applications, *Biosensors* 9 (2019) 14. <https://doi.org/10.3390/bios9010014>.

93. R. Barber, S. Cameron, A. Devine, A. McCombe, L.K. Pourshahidi, J. Cundell, S. Roy, A. Mathur, C. Casimero, Papa-konstantinou, P.; et al. Laser induced graphene sensors for assessing pH: Application to wound management, *Electrochem. Commun.* 123 (2021) 106914. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2020.106914>.

94. R. Rahimi, M. Ochoa, A. Tamayol, S. Khalili, A. Khademhosseini, B. Ziaie, Highly stretchable potentiometric pH sensor fabricated via laser carbonization and machining of carbon-polyaniline composite, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 9015–9023. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b16228>.

95. M. Schneider, M. Klotzsche, C. Werzinger, J. Hegele, R. Waibel, M. Pischetsrieder, Reaction of folic acid with reducing sugars and sugar degradation products, *J. Agric. Food Chem.* 50 (2002) 1647–1651. <https://doi.org/10.1021/jf011042p>.

96. N. Borràs, R. Oliver, C. Arias, E. Brillas, Degradation of atrazine by electrochemical advanced oxidation processes using a boron-doped diamond anode, *J. Phys. Chem. A* 114 (2010) 6613–6621. <https://doi.org/10.1021/jp1035647>.

## PRIEDAI

# SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION

## 1. INTRODUCTION

Two topics are mainly covered in this dissertation. These topics are: 1) the ability to follow the solution pH with a more convenient and flexible electrode and 2) an applicability of the proposed electrode as a pesticide sensor.

As well known, the majority of chemical and biological processes are pH-dependent. Typically, buffer solutions are used to ensure a stable pH. However, a few step processes with different pH also exist, especially, in synthesis or production, where proton concentration needs to be monitored. A glass pH-electrode is often used for this purpose, but such an electrode is difficult to integrate into minimised, particularly flat or flexible systems, and requires calibration. A new type of pH electrode is therefore needed.

In agriculture, pesticides are used to increase crop yields and disease resistance. However, high concentrations are toxic to the same plants, animals and humans. Many of the previously used and cheaper pesticides contain organochlorine compounds that can persist in soil and water for many years and accumulate in the food chain. Atrazine, or diamino-1,3,5-triazine, is one of the most toxic organochlorine compounds found in groundwater and the food chain. However, atrazine was banned in 2001 under the United Nations Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. However, it may still be present in the ecosystem [1]. Atrazine levels should not exceed 0.02 mg per kilogram of body weight [1] and the maximum concentration of atrazine in drinking water is 3 µg/l [2]. It is therefore very important to monitor their concentrations in drinking water and soil. This requires reliable and sensitive atrazine sensors.

Some sensors are made from toxic or nonbiodegradable components. There is a small number of papers on natural and easily degradable materials applied in electrochemical sensors. Therefore, polymers from natural monomers are of high interest, because they are biocompatible, easily biodegradable and environmentally friendly. It is therefore important that the next generation of sensors are biodegradable and not hazardous to human health.

In this work, pH and atrazine sensors are developed using conductive polymers made from natural monomers such as riboflavin and folate, chitosan and the amino acid L-lysine.

### **The aim of this work**

To develop electrochemical pH and atrazine sensors using conductive polymers from natural monomers.

**The tasks to achieve the aim of this work:**

1. To find a conducting polymer consisting of riboflavin and folate monomers suitable for pH sensing in the range 6 to 9.
2. To develop a flexible pH sensor using laser-induced graphene on polyimide and to test its performance.
3. To develop an atrazine sensor using conductive copolymers consisting of riboflavin, folate and L-lysine monomers.

**Novelty of the work**

1. Polyfolate is used for the first time in the development of a pH sensor because it is a conductive, pH-sensitive, biodegradable, non-hazardous compound.
2. A copolymer of folate and L-lysine is used for the first time in the development of an atrazine sensor due to the electrocatalytic effect of the polyfolate on atrazine and the ability of L-lysine to improve the binding of atrazine to the negatively charged polyfolate.

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1. Methods

The surface topography of the highly oriented pyrolytic graphite (HOPG) is analysed using **atomic force microscopy** (AFM, NanoWizard 3, Bruker) with an MLCT-A probe (Bruker) in quantitative imaging mode. For each scan, an area of 10 x 10  $\mu\text{m}$ , a resolution of 512 x 512 pixels and an initial force of 1 nN is set. Surface analysis is performed on an uncoated HOPG substrate (NTMTD, Ireland), followed by a Chit layer (Chit/HOPG) and finally a polyfolate (PFA/Chit/HOPG). Surface analysis and image processing were carried out using the JPK SMP data processing software (v6.1.120).

**Optical microscopy** is performed using an Olympus BX51 vertical fluorescence microscope (Olympus, Japan) with objectives that can be used in air or water immersion, and a Peltier-cooled CCD camera F-View II. The images were acquired using Stream motion software (Olympus, Germany) and analysed using the publicly available image processing software ImageJ. Bright-field images are acquired in the air.

Scanning electron microscopes Helios NanoLab 650 (FEI) and JSM-6490 LV (JEOL) are used to investigate changes in the surface morphology of the laser-treated polyimide (PI) sample. Samples examined by **scanning electron microscopy** (SEM) are used without any additional preparation. The images are obtained with a Helios NanoLab 650 at a voltage of 3-5 kV magnified by a factor of 1000-200000 and with a JSM-6490 LV at a voltage of 7-10 kV magnified by a factor of 500-1000.

**Raman spectroscopic analyses** are performed using a Via Raman spectrometer/microscope (Renishaw, UK) with a thermoelectrically cooled ( $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) CCD detector. Samples are excited using 632,8 nm HeNe laser irradiation and scattered by a 1200 groove/mm grating. Spectra are acquired using a 50 $\times$ /0,75NA objective. The acquired data were processed with the Voigt function using OriginPro 8.5 software from OriginLab Corporation, USA.

The water drop **contact angle** (CA) tests are used to determine the hydrophobicity of a surface. These tests are performed using an optical contact angle measurement and contour analysis system (OCA 15EC, Data-Physics Instruments GmbH) in combination with a CCD camera which captures lateral images of water droplets deposited on flat modified laser-induced graphene (LIG) electrodes. A syringe with a 1 mm diameter pipette (Fisnar QuantX™, Brand) is used to drop 1  $\mu\text{L}$  of deionised water onto LIG and 3  $\mu\text{L}$  onto Chit and PFA/Chit modified LIG electrodes. Align the light source with the light-

emitting diode, the water droplet and the camera in a single line. The projection of the water droplet is therefore captured by a digital camera. The analysis is carried out using KRÜSS ADVANCE software.

For **electrochemical studies**, a CompactStat potentiostat/galvanostat (Ivium Technologies, The Netherlands) with a three-electrode system is used. A flat and flexible LIG (1,0 x 2,0 cm, LIG355 or LIG532) on PI film, a pyrolytic graphite electrode (PGE), a HOPG (10x10 mm, height 1,7 mm, ZYH orientation), a glassy carbon electrode (GCE), and a gold (Au) electrode are used as working electrodes. The auxiliary electrode is a Pt wire and the reference electrode is an Ag/AgCl electrode (filled with a saturated KCl solution). All potentials reported in the following studies are concerning this electrode.

The methods used for electrochemical studies are cyclic voltammetry (CV), chronoamperometry (ChA), potentiometry (PA), electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and square wave voltammetry (SWV). The resulting data are plotted using OriginPro 9 (OriginLab Corporation, USA).

The PH211 Microprocessor pH Meter from Hanna Instruments (Woonsocket, RI, USA) was used for the comparative **pH measurements**.

## 2.2. Electrode preparation

Different electrodes are used for different studies and comparisons of the performance of the resulting coatings: PGE, GCE, Au and LIG for electrochemical applications and HOPG for atomic force microscopy. LIG is used for optical and scanning electron microscopy, Raman spectroscopy and wetting angle studies.

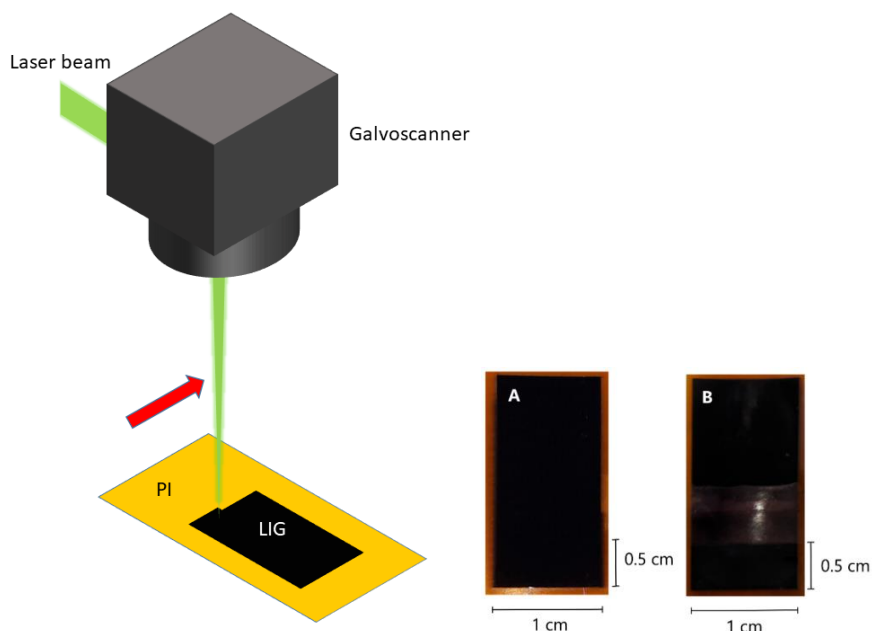
Prior to modification, the **PGE** surface is thoroughly polished with MiliQ water-moistened Sunmigh P800 sandpaper (USA) for 10 seconds, then rinsed with MiliQ water. After mechanical polishing, the electrode is electrochemically polished in 0.1 M KCl solution by repeatedly scanning a potential between  $-1.0$  V and  $+1.0$  V, at a scan rate of  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , repeated for at least 50 cycles until constant voltammograms are obtained. The polished PGE electrode was coated with the required polymers and copolymers such as PFA, PFA/Chit, PRf, PRf-PLL or PFA-PLL. It is done first by washing the PGE with MiliQ water and transferring it to an electropolymerisation solution consisting of 0.1 M PBS of different pH 6.0 and monomer concentrations. The polymers are obtained by repetitively scanning the potential from  $-1.0$  V to  $+1.5$  V for polymers from one monomer and for copolymers from  $-1.1$  V to  $+2.2$  V, with a scan rate of  $50 \text{ mV s}^{-1}$  until the current density stops increasing.

The surface of the **HOPG** electrode is refurbished by peeling off the top layer with adhesive tape, and coating with FA polymer: 50  $\mu\text{L}$  of a 1 % acetic acid solution with 1 % Chit solution is applied first by dropping and air dried for 1 day. Then 150  $\mu\text{L}$  of the FA electropolymerisation solution is dripped onto the surface. A micro-Pt wire support electrode and a micro Ag/AgCl reference electrode are added to the droplet and PFA is synthesised using the same procedure as for polymerisation on PGE, except that potential propagation is carried out for 10 cycles.

Prior to modification, the **GCE** surface was thoroughly polished to a mirror shine using 1.0, 0.3 and 0.05  $\mu\text{m}$   $\text{Al}_2\text{O}_3$  suspensions and rinsed with MiliQ water. After mechanical polishing, the electrode is electrochemically polished under the same conditions as the PGE electrode. The polished GCE electrode was coated with the required polymers and copolymers. They are PFA, PFA/Chit, PRf, PFA-PRf and PFA-PLL. Polymers on GCE are coated the same way as on PGE. Depending on the ratio of the monomers used, PFA-PRf3 (FA to Rf ratio 1:3), PFA-PRf5 (1:5) and PFA-PRf10 (1:10) are obtained. The polished GCE is transferred to an electropolymerisation solution consisting of 0.1 M PBS, pH 6.0, and FA with Rf, the amount of which depends on the ratio of monomers in the final copolymer (in this case, 1 equals 1 mM). The electropolymerisation processes are the same as for the polymerisation of FA on PGE.

The **Au** surface is rinsed with MiliQ water before modification. The electrode was electrochemically polished in a 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  solution by repeatedly emitting a potential from  $-0.3$  V to  $+1.7$  V at a scan rate of  $50$   $\text{mV s}^{-1}$  for at least 100 cycles until constant voltammograms corresponding to a clean electrode are obtained. Coating of the Au electrode with PFA shall be carried out by repeatedly emitting potentials in 0.1 M PBS, pH 6.0, and 1.0 mM FA. A potential from  $-0.64$  V to  $+0.94$  V is used at a potential release rate of  $50$   $\text{mV s}^{-1}$  for at least 100 cycles.

The **LIG** is formed on the surface of a 127  $\mu\text{m}$  thick PI film using an Atlantic picosecond laser (Ekspla, Lithuania). The laser pulse duration is 10 ps, the pulse repetition rate is 100 kHz and the irradiation wavelengths are 355 nm and 532 nm. The beams were monitored using SANLAB (Germany) head scanners SCANcube (355 nm) and hurrySCAN (532 nm). These LIG samples are hereafter referred to as LIG355 and LIG532 respectively. The PI film is placed 4 mm above the focus (355 nm) or in the focal plane (532 nm) and rectangular shapes (1.0 x 2.0 cm) are scanned with a laser beam (Fig. 52). The laser processing parameters are given in Table 13. These laser treatment parameters are set before PI irradiation.



**Fig. 52** LIG formation using picosecond laser configuration. Also, photos of 1.0 x 2.0 cm LIG electrodes. LIG electrode (A) with the selected 1.0 x 0.5 cm experimental part and LIG electrode with the experimental part insulated with a chitosan and nail varnish enamel (B).

**Table 13.** Laser process parameters of LIG formation.

Sample	LIG355	LIG532
Wavelength, nm	355	532
Irradiation power, mW	200	500
Scanning speed, mm/s	10	50
Repeat times	5	5
Hatch, $\mu\text{m}$	10	10
Position regarding beam focus	4 mm above the focus	At the focus

Prior to modification, the LIG surface was rinsed with the Mili-Q water and dried with an  $\text{N}_2$  stream. The experimental area used in electrochemical measurements was 1.0 x 0.5 cm. The remaining part was insulated with the chitosan coating, which was covered on top with Nail Enamel (Fig. 52). Afterwards, the electrode was polished electrochemically in 0.1 M KCl by scanning the applied potential repeatedly between  $-1.0$  V and  $+1.0$  V at a scan rate of  $200 \text{ mV s}^{-1}$  for at least 20 cycles until constant voltammograms were obtained. To modify the electrode directly with PFA, it was successively rinsed with the deionised water and transferred to the electropolymerisation



solution containing 0.1 M PBS, pH 6.0, with 1.0 mM FA. PFA was obtained using CV of the applied potential between  $-1.5$  V and  $+1.7$  V at the potential scan rate of  $50 \text{ mV s}^{-1}$  for 75 (with LIG355) and 72 (with LIG532) cycles.

In other cases, a  $0.5 \text{ cm}^2$  portion that is immersed in the solution, is drop coated with  $70 \text{ }\mu\text{L}$  of a 1 % solution of Chit in 1 % acetic acid and air-dry for 1 day. Electropolymerisation is then carried out as described on the uncoated LIG electrode and dried in air for 1 day to give modified electrodes labelled PFA/Chit/LIG355 or PFA/Chit/LIG532.

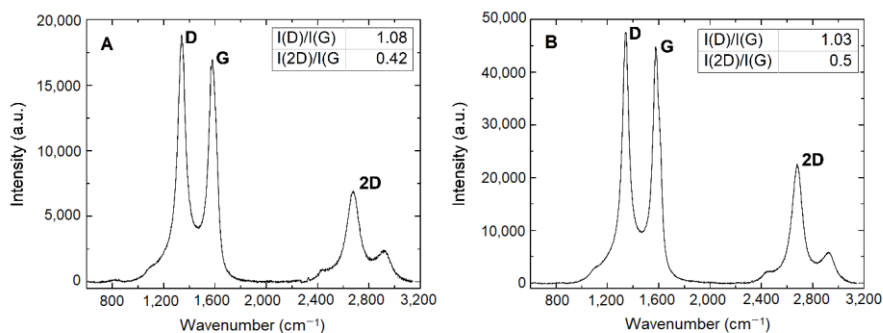
### 3. RESULTS AND DISCUSSIONS

#### 3.1. Characterisation of unmodified electrodes

Depending on the structure of the electrode, different methods are used to analyse them. Raman spectroscopy, optical microscopy, and SEM are used to analyse LIG electrodes. While CV and SEM are used for PGE, GCE, and LIG studies.

##### 3.1.1. Raman spectroscopy

The structure of LIG is studied using Raman spectroscopy. The Raman spectra of LIG355 and LIG532 are shown in Fig. 53. The spectra of both samples show prominent peaks characteristic of multilayer graphene. In addition, both spectra show similar intensities, with an  $I(D)/I(G)$  ratio close to 1, confirming identical point defects in both materials. A more detailed analysis of the spectral properties shows that the peak widths at half height (FWHM) of LIG532 are narrower than those of the LIG355 sample (Table 14), demonstrating that LIG532 has fewer structural defects than LIG355. Also, LIG532 has a significantly higher  $I(2D)/I(G)$  ratio (0.5 compared to 0.42 for LIG355), indicating that the LIG structure formed in this sample is closer to a graphene-like crystalline structure, as the high-intensity 2D band is a prominent feature of multi-layered graphene structures.



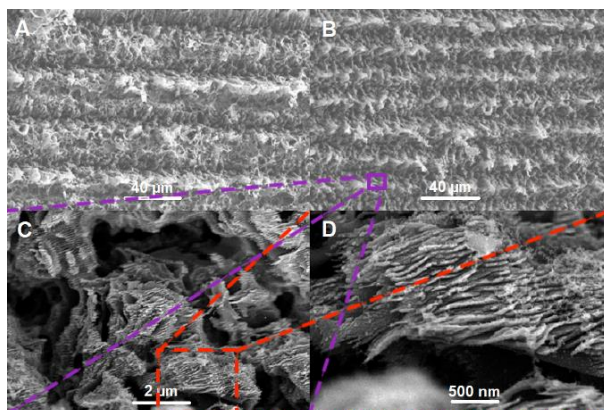
**Fig. 53** Measured Raman spectra of LIG355 (A) and LIG532 (B) samples.

**Table 14.** FWHM of the spectral lines of the LIG355 and LIG532 samples.

Sample	LIG355	LIG532
FWHM (D), $\text{cm}^{-1}$	88.2	79.7
FWHM (G), $\text{cm}^{-1}$	77.6	71.5
FWHM (2D), $\text{cm}^{-1}$	131	106

### 3.1.2. Microscopic analysis

The quality of the LIG electrode surfaces is investigated by observing their topographies using optical and scanning electron microscopy (SEM). First, the surface morphology of both LIG samples is examined using an optical microscope (figures are not included). LIG355 have a rough surface with blurred lines left by the laser beam. This structure could be formed when the material is removed from the PI film by evaporation or further surface carbonisation [65]. A different view was on LIG532, it has crack-like structures visible on the surface. These structures are formed by laser irradiation during the conversion of N, H and O to gas and as a result of further carbonisation and volume growth [65]. In addition, the colour of the structures of LIG355 and LIG532 is observed to be black, with almost no light reflections. Therefore, the observation of the surfaces by optical microscopy is difficult and SEM is used for more accurate studies.



**Fig. 54** SEM images of LIG355 (A) and LIG532 (B) at 1000x magnification. Higher magnification images of the LIG532 electrode: 20000x (C) and 65047x (D).

SEM micrographs are given in Fig. 54. Periodic structures are observed on both electrodes, produced by scanning the PI surface with a focused, pulsed laser beam. The laser radiation forms a rough surface, breaking the chemical bonds of the PI molecules. Flake-like structures are visible in both samples. In the case of LIG355, the laser irradiation is seen to disrupt the surface and the distribution of flakes is not uniform. In addition, changes in flake size are more visible compared to the LIG532 surface. The formation of multi-layer graphene structures on the LIG532 sample can be observed with larger magnifications (Fig. 54C, D).

### 3.1.3. Electrochemical analysis

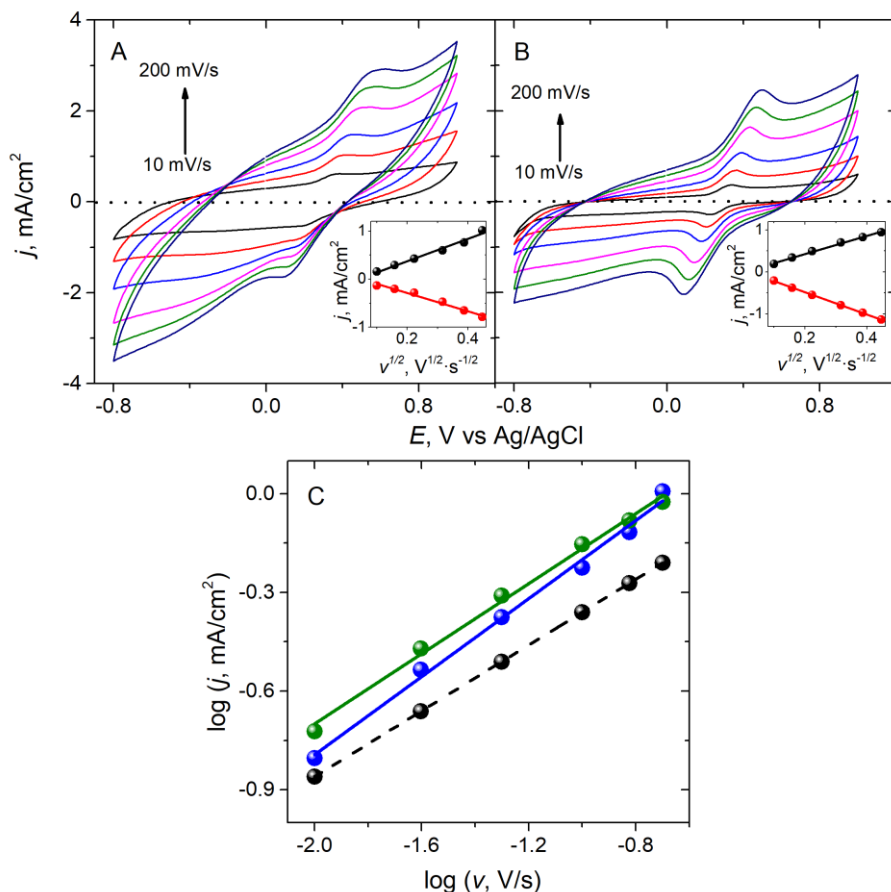
Electrochemical methods such as CV and EIS are used to investigate further the surfaces of the PGE, GCE, and LIG electrodes and to confirm the microscopic results.

In some cases, CV allows the calculation of the electroactive areas ( $A_{EA}$ ) of the conductive surfaces and the determination of the type of redox processes taking place on the electrodes under investigation. EIS data are analysed using equivalent cell circuits, which allow the influence of electroactive particle concentration, charge and mass transfer from the solution to the electrode surface, and electrolyte resistivity on the electrochemical processes to be studied. In addition, these data allow the determination of the surface properties of the electrodes under investigation.

Firstly, the PGE, GCE and LIG electrodes were investigated using CV and  $K_4[Fe(CN)_6]$  in 0.1 M KCl/HCl electrolyte solution, pH 2.0, at different potential scan rates of 10, 25, 50, 100, 150 and 200  $mV s^{-1}$ . According to the Nernst equation (1), it is known that the potential difference between the redox pair peaks (oxidation and reduction) is 59 mV for ideally reversible electrochemical one-electron reactions and up to 140 mV for quasi-reversible ones [66].

The potential difference between the redox peaks of the electrodes investigated in this work for PGE, GCE, LIG355, and LIG532 is shown in Table 15. PGE and GCE difference between redox peaks is close to the one-electron reaction according to the Nernst equation (1). As seen in Fig. 55A and B, the peak-to-peak separation changes from 160 to 414 mV and from 107 to 385 mV at LIG355 and LIG532, respectively, depending on the potential scan rate (Table 15). This large difference between the redox peaks may be due to the morphology of the electrode surface and the lower conductivity of LIG compared to PGE or GCE. PGE, GCE, LIG355 and LIG532 insets in Fig. 55A and B, show the linear dependence of the current density on the square root of the potential scan rate, implying that the processes are diffusion-controlled which is clear for PGE and GCE. At LIG electrodes, whether the reaction is controlled by diffusion or adsorption can be found by plotting the logarithm of the oxidation peak current versus the logarithm of the scan rate and observing the gradient. If a double logarithmic plot of peak current versus the scan rate has a gradient of 0.5 or close to it, the electrochemical response is governed by the Randles-Ševčík equation (3) and is purely diffusional, while the slope is 1.0 when the electrochemical processes are controlled by the adsorption processes [67]. Fig. 55C depicts the double logarithmic plot of

the linear dependence of oxidation peak current density on the scan rate at bare LIG electrodes.



**Fig. 55** CVs plotted for LIG355 (A) and LIG532 (B) electrodes in 0.1 M KCl/HCl, pH 2.0, in a solution containing 2.0 mM  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  at different scan rates (10, 25, 50, 100, 150 and 200  $\text{mV s}^{-1}$ ). Square root dependence of the oxidation and reduction peak current densities on the scanning rate (inset in Fig. A and B) and the logarithm of the current density versus the logarithm of the scanning rate (in C) at the electrodes LIG355 (dark blue) and LIG532 (dark green). The dashed black line shows the predicted current according to the Randles–Ševčík equation and the geometric surface area of the electrode.

The slope of this dependence for LIG355 was 0.572, and for LIG532 was 0.546. The value was similar to that of an ideal semi-infinite diffusion [67, 68]. Based on these facts, it is concluded that the electrochemical processes for the LIG355 and LIG532 electrodes are dependent on semi-infinite diffusion. Since the process for PGE and GCE is diffusion limited and LIG355

and LIG532 are dependent on semi-infinite diffusion, the Randles–Ševčík equation (3) is applied to calculate the  $A_{EA}$  and the results are shown in Table 15. As seen, LIG 355 and LIG532  $A_{EA}$  were larger than the geometric ( $A_G$ ) one ( $0.5 \text{ cm}^2$ ) for both samples due to the rough electrode surface.

**Table 15.** CV results of the PGE, GCE, LIG355, and LIG532.

Electrodes	$\Delta E, \text{ mV}$						$A_{EA}, \text{ cm}^2$	$A_G, \text{ cm}^2$
	$\nu, \text{ mV s}^{-1}$							
	10	25	50	100	150	200		
PGE	81	74	77	90	98	108	0.058	0.071
GCE	85	85	88	90	89	92	0.079	0.071
LIG355	160	198	242	305	367	414	0.773	0.5
LIG532	107	145	200	275	339	385	0.879	0.5

EIS is also used for PGE, GCE, and LIG electrode analysis. EIS spectra are recorded at a constant potential in 0.1 M PBS, pH 7.0 (PGE, GCE and LIG), and pH 8.0 (PGE and GCE), scanning the frequencies from 100 kHz to 100 mHz.

The potential at PGE, GCE, and LIG electrodes was set according to the CV, i.e., in the double layer (DL) range, most negative potential and, most positive potential.

The PGE spectra are analysed using an electrical equivalent circuit (EEC) (Fig. 16A) consisting of a cell resistance  $R_\Omega$  in series with the parallel pair, a charge transfer (CT) resistance  $R_{CT}$ , and a constant phase element (CPE) as a non-ideal DL capacitance. For other electrode analyses, different EECs are used.

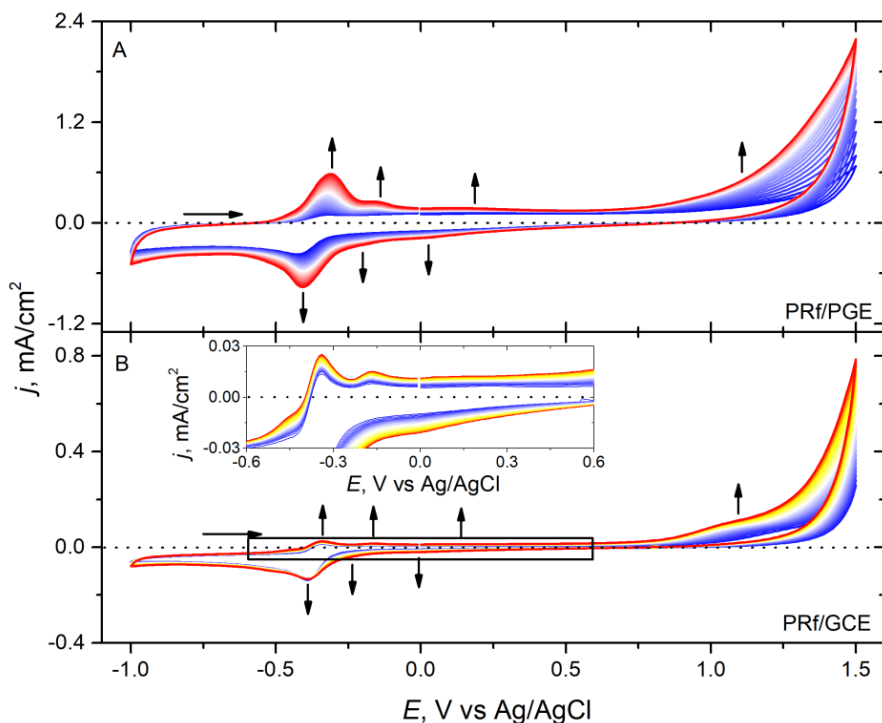
EIS results indicate that LIG355 has a rough surface and LIG532 is microporous, which is similarly observed from Raman spectroscopy and SEM, which find graphene-like structures.

### 3.2. Electrode modification with conductive polymers

To form pH and atrazine sensors, two different polymers, PFA and PRf, and copolymers PFA-PRf, PFA-PLL and PRf-PLL on different electrodes: PGE, GCE, HOPG, Au and LIG are tested. Unmodified and modified electrodes of different natures are used to compare the polymerisation and the properties of the resulting polymers. Selected electrodes are prepared according to the methodology described in the experimental part.

### 3.2.1. Modification with polyriboflavin

Rf is first polymerised on PGE (Fig. 56A). As seen the redox peaks are small during the first few cycles but become more pronounced as the number of cycles increases. Obtained voltammograms show that the reduction and oxidation peaks are at  $-0.41$  V and  $-0.32$  V, respectively, and the potential difference between them is 90 mV, which is typical for quasi-reversible redox reactions. In addition, the current density increases as the potential approaches  $+1.5$  V. As seen, the current density of all the oxidation and reduction peaks increases with the number of cycles of the potential.



**Fig. 56** CV of Rf electropolymerisation on PGE (A) and GCE (B), 1.0 mM Rf, 0.1 M PBS, 7.0 pH buffer. The potential range was from  $-1.0$  V to  $+1.5$  V, the number of cycles 32, a scan rate of  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ . The vertical arrows indicate the direction of change of current with increasing number of cycles, and the horizontal arrows indicate the direction of the potential scan. The inset shows an enlarged portion of the polymerisation CV.

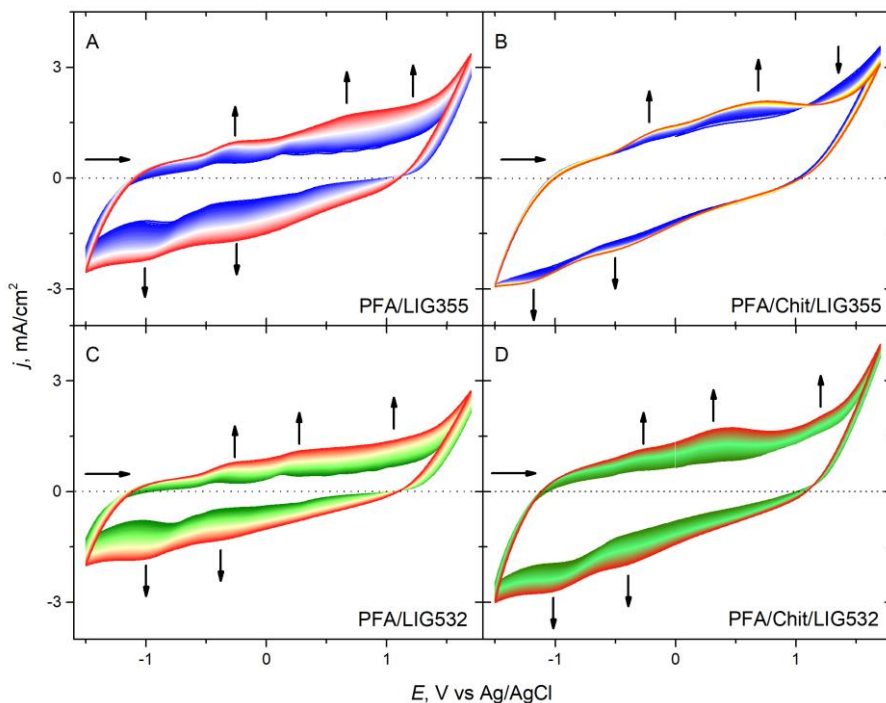
When the GCE electrode is used (Fig. 56B), the reduction and oxidation peaks are at  $-0.38$  and  $-0.34$  V, respectively, with a difference of only 40 mV, indicating a reversible redox reaction. An additional oxidation peak appears at  $-0.16$  V. The redox peaks are already visible after the first polymerisation

cycles, but the change in current density with the increase in the number of cycles is small. A different picture is seen at +1.0 V, the change in this oxidation peak with the increase in the number of cycles is pronounced.

The increase in current density during Rf polymerisation at PGE is higher than at the GCE electrode, and the heights of the redox and reduction peaks are similar. The height of the redox oxidation peak at GCE is lower than that of the reduction peak. However, the peak at +1.0 V is more clearly seen at the GCE electrode.

### 3.2.2. Modification with polyfolate

For the polymerisation of folate, PGE, GCE, Chit/PGE, Chit/GCE, Chit/HOPG, Au, LIG355, LIG532, Chit/LIG355 and Chit/LIG532 are chosen. Depending on the used monomer polymerisation parameters changes.



**Fig. 57** Electropolymerisation CV of FA on LIG355 (A), Chit/LIG355 (B), LIG532 (C) and Chit/LIG532 (D), 1.0 mM FA in 0.1 M PBS, pH 6.0. Potential range  $-1.5$  V to  $+1.7$  V, number of cycles 75 (A, B) and 72 (C, D), scan rate  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ . Vertical arrows indicate the variation of current with the number of cycles, and horizontal arrows indicate the direction of the potential reading.

In the transition to flat electrodes, LIG electrodes are used first. The polymerisation CVs are shown in Fig. 57A, C. As expected, with all



electrodes, an increase in current density with an increasing number of potential cycles is observed. Only small peaks are recorded during the first few cycles, but after a few cycles, they increase. The number and positions of the peaks are similar to the FA polymerisation on PGE and GCE. From the above studies, it is evident that Chit improves the stability of PFA and therefore the LIG electrodes are also coated with a layer of Chit prior to FA polymerisation. During the first polymerisation cycles, almost no peaks are visible on Chit/LIG (Fig. 57B, D), but as the number of cycles increases, peaks appear. The current density increase on Chit/LIG is faster than on LIG. The influence of the Chit layer on the current density increase at the final potential (+1.5 V) is different for the two LIG electrodes: the current density is lower on the Chit/LIG355 electrode than on the LIG355 electrode, and it is higher on the Chit/LIG532 electrode than on the LIG532. These differences are due to the roughness of the surface of the unmodified electrodes and the smoothness of the Chit film. Polymerisation is also carried out until the current density no longer increases, i.e., 75 cycles of potential dissipation for polymerisation on LIG355 and Chit/LIG355, and 72 cycles for polymerisation on LIG532 and Chit/LIG532.

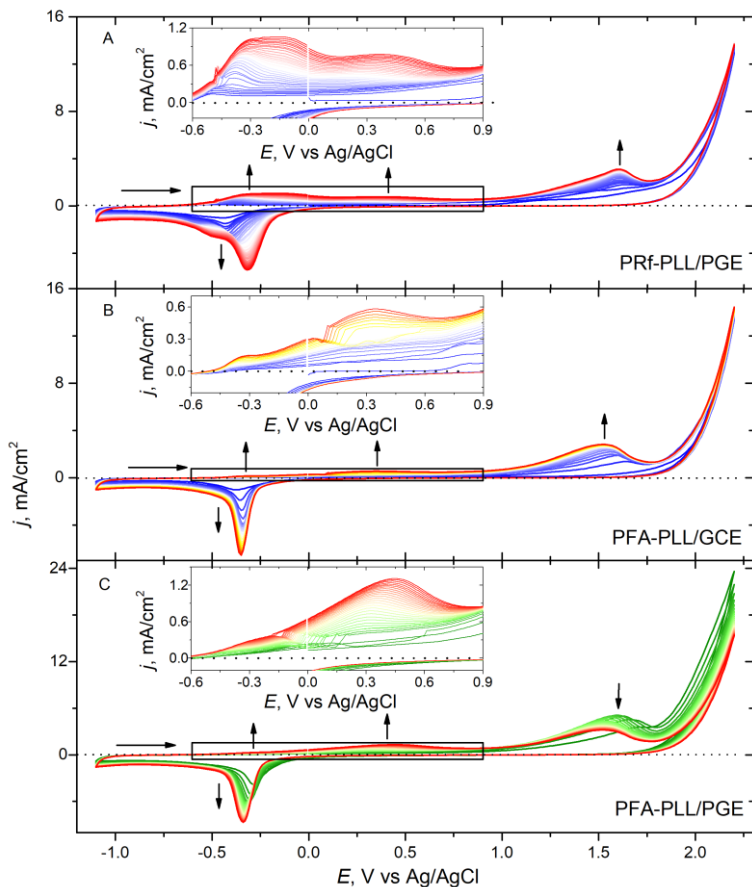
### 3.2.3. Modification with copolymers

Copolymers have also been tested in the hope that combining the properties of different polymers will result in a copolymer more suitable for electrochemical sensors. The PFA-PRf copolymers are synthesised on the GCE surface and the polymerisation CVs are shown in Fig. 22. In order to obtain copolymers with the best electroanalytical properties, the polymerisation conditions are optimised by selecting different ratios of FA to Rf. Not only copolymers of different vitamins but also of vitamin and amino acid copolymers are being tested. It is known that a positively charged PLL is used to improve binding to a negatively charged polymer, in this case PRf or PFA [76]. Therefore, it was decided to use PLL and electrosynthesised copolymers of PRf-PLL and PFA-PLL on PGE and GCE.

The polymerisation of FA-LL on GCE (Fig. 58B) does not show oxidation peaks during the first few cycles, but as the number of cycles increases, an FA oxidation peak appears at  $-0.33$  V, and a wave of reductive cleavage of the 7,8-dihydrofolic acid derivative appears at  $0.0$  V, a peak of incorporation of the quinone groups is seen at  $+0.34$  V, and a peak of peroxidation of the folate at  $+1.53$  V. In the reduction part, only the reduction peak of LL is visible at  $-0.38$  V, with a slight shift towards less negative potentials with the number of cycles, i.e., up to  $-0.35$  V. No reduction peaks of FA are visible.

The obtained CVs show that from used monomers FA is best for forming polymers on the various electrodes. The highest current densities are obtained when FA is polymerised on chitosan-modified LIG electrodes, of which the best is Chit/LIG532. The most difficult polymerisation of FA occurred on the Au electrode because the current density was lower than that of the other electrodes.

The PFA-PRF copolymers were the most difficult to synthesise. The PRF-PLL is the easiest copolymer to synthesise because it is possible to distinguish between the oxidation and reduction peaks of the used monomers.



**Fig. 58** CV of Rf-LL and FA-LL electropolymerisation. Rf and LL on PGE (A), FA and LL on GCE (B) or PGE (C). 1.0 mM Rf and LL (A), or 0.1 mM FA and 1.0 mM LL (B and C), 0.1 M PBS, pH 5.5, and 0.1 M  $\text{K}_2\text{SO}_4$  were used. The potential is emitted between  $-1.1$  V and  $+2.2$  V, the number of cycles is 32 (A and C) and 20 (B), and the scan rate is  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ . The vertical arrows show the variation of the current with the number of cycles, the horizontal arrows show the direction of the potential scan. The insets show the increased polymerisation fraction.

### 3.3. Electrochemical characterisation of modified electrodes

#### 3.3.1. Stability of modified electrodes

Prior to testing the modified electrodes, the stability of the polymers used is investigated. It is done electrochemically using CV.

First, the stability of PFA at the PGE and GCE is monitored by registering the CV in 0.1 M PBS, 7.0 pH buffer, the potential interval between  $-1.0$  V and  $+1.0$  V at the potential scan rate of  $50 \text{ mV s}^{-1}$  for 20 cycles. After 20 cycles current density of redox peaks decreased by 40-87 %. It is seen, that the PFA at PGE and GCE is not stable enough for practical applications. Similar results were obtained with PRf, but the polymer is even more unstable, so PFA is used for further investigations.

To improve the stability of PFA at PGE and GCE, the electrodes are coated with a Chit film prior to FA polymerisation. The stability of PFA on Chit/PGE is monitored using CV under the same conditions as for PFA/GCE. After 20 cycles of potential scans, all peaks of PFA/Chit/PGE are shifted by about 20 mV towards the negative potential, while the current density of the redox pair oxidation peak remains unchanged, and the reduction peak at  $-0.67$  V decreases by 18 %.

Using PFA/Chit/GCE, the peaks are shifted up to 30 mV towards the negative potential. The first oxidation peak at  $-0.54$  V increases the current density by 66 % and at  $-0.42$  V decreases by 17 %. The picture is different in the reduction part, at the GCE the change in the current density is larger: it has a decrease of about 27 %.

It is seen from the studies that Chit improves the stability of the polymers and that at the PGE oxidation peaks, there is no change in the current density, whereas on the GCE oxidation part the peak at  $-0.54$  V increases. The results obtained show that the electrodes coated with PFA/Chit are more stable as the redox polymer stays longer on the electrode surface due to the Chit-PFA interaction via hydrogen bonds [78], and further studies are therefore carried out on PFA/Chit-modified electrodes.

#### 3.3.2. Electroactive area of modified electrodes

It has already been mentioned above that the electroactive area is an important parameter for electrodes as it determines the current response. As in Section 3.1.3, the  $A_{EA}$  of the modified electrodes is calculated using CV to determine, which process controls the electrochemical redox reaction, just at PFA/Chit/PGE, PFA/Chit/GCE redox compound  $K_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  was not used.

$A_{EA}$  was calculated for Chit/PGE, Chit/GCE, PFA/Chit/PGE, PFA/Chit/GCE, Chit/LIG355, Chit/LIG532, PFA/Chit/LIG355, PFA/Chit/LIG532, PFA-PRf3/GCE, PFA-PRf5/GCE, PFA-PRf10/GCE and PFA-PLL/GCE, results shown in Table 16.

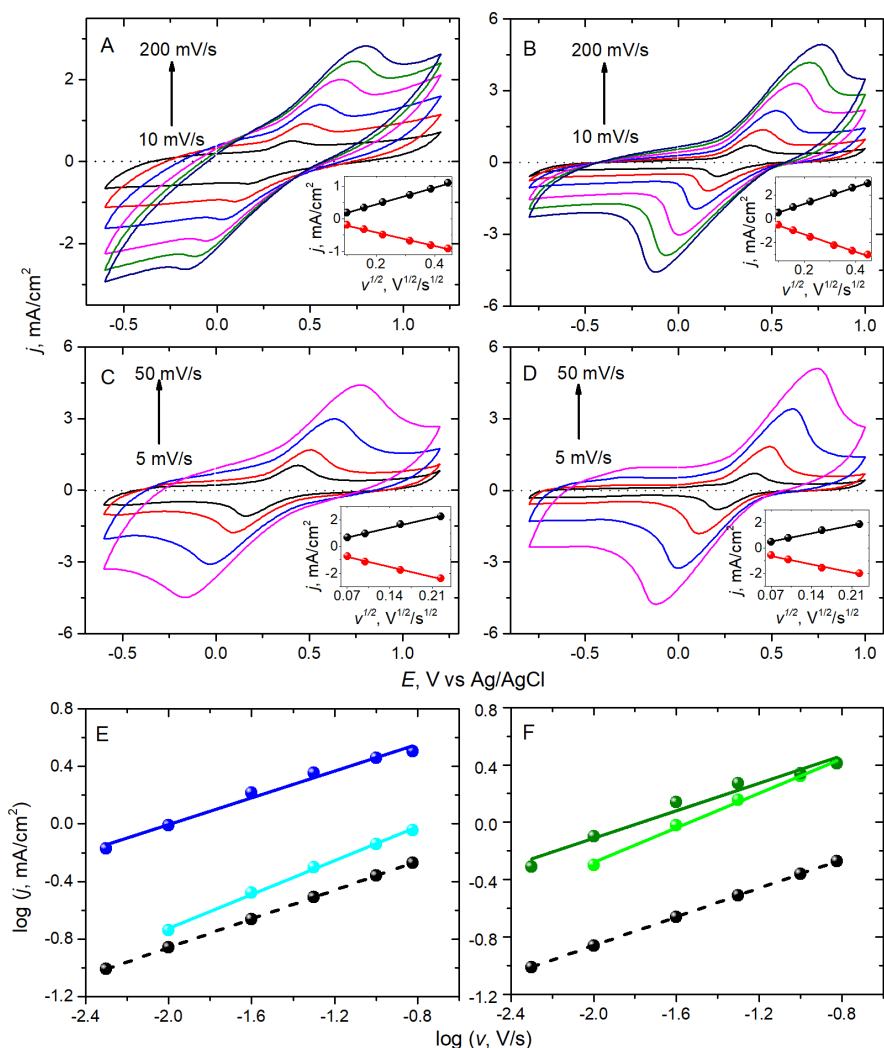
When studies are being carried out with Chit film-coated LIG electrodes, the CV did not change significantly compared to the LIG. The current density at the LIG355 is slightly higher than without Chit (Fig. 55), while the change in current density at the LIG532 is higher than at LIG355 (Fig. 59A, B). The higher current density with Chit-coated electrodes than at unmodified is because of Chit is an electroactive polymer. The polymer-induced diffusion barrier increases the peak-to-peak separation compared to the electrodes without Chit. Depending on the potential scan rate, the peak-to-peak distance varied from 228 to 900 mV and from 177 to 859 mV, respectively, for the Chit/LIG355 and the Chit/LIG532 electrodes, with a ratio of the redox peak height close to 1.0. The peak current densities are linearly related to the square root of the potential scan rate, with slopes of 2.56 and  $-2.07 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  and 7.13 and  $-7.34 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  for Chit/LIG355 and Chit/LIG532, respectively.

A more detailed analysis was carried out to determine whether the process is diffusion-controlled. As seen, the process exhibited a semi-infinite diffusion as determined from the double logarithmic plot of linear dependence of oxidation peak current density from the scan rate (Fig. 59, E, F), as is the case at Chit/LIG electrodes. The slope of this dependence is 0.590 for Chit/LIG355 and 0.602 for Chit/LIG532. Although these values are slightly higher than those of the unmodified electrodes, they are still close to the theoretical value, so the Randles–Ševčík equation can be used to determine the  $A_{EA}$ , which is  $0.933 \text{ cm}^2$  for Chit/LIG355 and  $2.732 \text{ cm}^2$  for Chit/LIG532, which is much higher than those of the unmodified electrodes ( $0.5 \text{ cm}^2$ ). The large electroactive area of the modified electrodes is due to the porous surface of LIG electrodes as described in Section 3.1.2. As the surface porosity is significantly higher for LIG532, the  $A_{EA}$  of this electrode is 5.5 times the geometric  $A_{EA}$ .

**Table 16.** CV results of the modified PGE, GCE, LIG355 and LIG532.

Electrodes	$\Delta E$ , mV								$A_{EA}$ , cm <sup>2</sup>	$A_G$ , cm <sup>2</sup>
	$\nu$ , mV s <sup>-1</sup>									
	5	10	25	50	100	150	200	300		
Chit/PGE		84	90	93	90	90	95		0.099	0.071
Chit/GCE		84	81	86	87	88	92		0.071	0.071
PFA/Chit/PGE		90	91	99	99	101	103		0.00047*	0.071
PFA/Chit/GCE		226	225	225	229	241	244		0.0044*	0.071
Chit/LIG355		228	359	502	676	801	900		0.933	0.5
Chit/LIG532		177	290	423	608	747	859		2.732	0.5
PFA/Chit/LIG355	275	408	663	932					3.808	0.5
PFA/Chit/LIG532	290	415	654	921					3.282	0.5
PFA-PRf3/GCE		90	90	90	100	100	110	120	0.043	0.071
PFA-PRf5/GCE		100	100	100	120	120	140	140	0.043	0.071
PFA-PRf10/GCE		90	100	100	120	130	140	140	0.043	0.071
PFA-PLL/GCE		130	160	210	310	310			0.025	0.071

\* $A_{sc}$



**Fig. 59** CV for Chit/LIG355 (A), PFA/Chit/LIG355 (C), Chit/LIG532 (B) and PFA/Chit/LIG532 (D) electrodes in 0.1 M KCl/HCl, pH 2.0, in a solution containing 2.0 mM  $K_4[Fe(CN)_6]$ , with varying scan rates: 10, 25, 50, 100, 150 and 200  $mV s^{-1}$  (A, B) and 5, 10, 25 and 50  $mV s^{-1}$  (C, D). Dependence of the oxidation and reduction peak current densities on the square root of the scanning rate (inset in Fig. A, B, C and D) and the logarithm of the current density versus the scanning rate, in modified LIG355 ((E), light blue with Chit and dark blue with PFA/Chit) and LIG532 ((F), light green with Chit and dark green with PFA/Chit) respectively. The dashed black line shows the predicted current according to the Randles–Ševčík equation and the geometric area of the electrode surface.

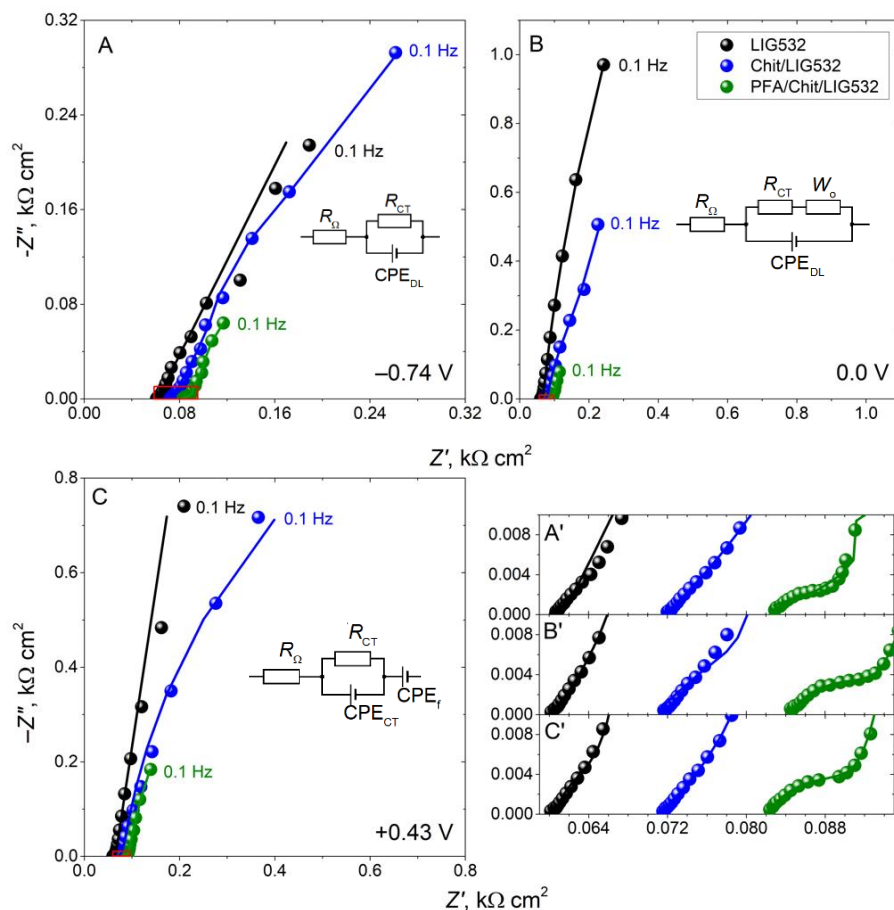
Fig. 59C and D show the electrochemical behaviour at PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532, respectively, at different scan rates under the same conditions as Chit/LIG355. Although PFA is a redox compound, no clear redox peaks were observed as observed in previous work [22], and therefore, an additional redox compound,  $K_4[Fe(CN)_6]$ , was used. Since CV is misshaped at scan rates higher than  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , the modified electrodes were investigated in the range of scan rates from 5 to  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . The CVs are similar to those of the Chit-modified electrode, but the current densities of the PFA/Chit/LIG355 (Fig. 59C) and PFA/Chit/LIG532 (Fig. 59D) are almost twice as high as those of the non-PFA electrode. For the PFA-modified electrode, the difference in potential between redox peaks is larger for the same scan rates (Fig. 59C and D). Depending on the potential scan rate the peak-to-peak separation of PFA/Chit/LIG355 and varies from 275 to 932 mV and of PFA/Chit/LIG532 from 290 to 921 mV. The electrochemical behaviour of these electrodes depends mainly on the nature of the substrate. In addition, PFA acts more like a semiconducting polymer [22].

As seen, the linear dependence of the current density on the square root of the potential scan rate is 10.51 and  $-10.78 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  (inset of Fig. 59C) and 9.06 and  $-9.23 \text{ mA cm}^{-2} \text{ V}^{-1/2} \text{ s}^{1/2}$  (inset of Fig. 59D) for oxidation and reduction, respectively, indicating that the process is dominated by diffusion in contrast to the previous works [22,24]. The ratio of the redox peak current densities is close to 1.0. The slope of the double logarithmic plot of linear dependence of oxidation peak current density from the scan rate (Fig. 59E, F) are slightly smaller than those of the Chit/LIG electrodes: 0.466 and 0.479 for PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532, respectively, indicating a semi-infinite diffusion. The  $A_{EA}$  of PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 are 3.808 and  $3.282 \text{ cm}^2$ . These facts show that each polymer layer increases the  $A_{EA}$ . The porosity of LIG causes the PFA to embed deeper in the electrode, forming electroactive centres, and the increase in  $A_{EA}$  is observed compared to the geometric area ( $0.5 \text{ cm}^2$ ).

### 3.3.3. Electrochemical impedance spectroscopy

It has already been mentioned above that it is important to know the surface properties of the electrodes, as these determine the charge and mass transfer of electroactive particles from the solution to the electrode surface. The influence of the electrolyte resistivity on the electrochemical processes is equally important. As seen in Section 3.1.3, the parameters for these processes are obtained using EIS. Chit and PFA/Chit modified PGE, GCE and LIG

electrode EIS is recorded at a constant potential in 0.1 M PBS, pH 7.0, at a frequency between 100 kHz and 100 mHz.



**Fig. 60** EIS spectra in the complex impedance coordinate system of LIG532 (black symbols), Chit/LIG532 (blue symbols) and PFA/Chit/LIG532 (green symbols) for electrodes in 0,1 M PBS, pH 7.0, at different potentials of  $-0.74\text{ V}$  (A),  $0.0\text{ V}$  (B), and  $+0.43\text{ V}$  (C). A', B' and C' show the origin of the spectra of A, B and C, respectively, indicated by red boxes. The insets show used equivalent circuits.

The EIS spectra of the modified LIG355 are too scattered, so this method is only applicable to the modified LIG532 electrodes. The potentials are also determined from the PFA/Chit/LIG532 CVs: the reduction peak potential is  $-0.74\text{ V}$ ; the oxidation peak potential is  $+0.43\text{ V}$  and the DL region is  $0.0\text{ V}$  (Fig. 60). The small semicircles in the high-frequency region of the resulting spectra (Fig. 60A', B' and C') are characteristic to carbon nanostructures [23].



The EIS spectra of the modified LIG532, depending on the potential and electrode modification, are analysed using various equivalent circuits as shown in Fig. 60. The parameters of the fitting to the EEC of the EIS spectra are given in Table 17.

The Chit/LIG532 spectra are also analysed using EEC models, in this case, the Randles equivalent circuit (Fig. 60B). Although Chit is expected to coat the electrode pores, as in the case of GCE, this film itself acts as a diffusion barrier. At each modification step, from LIG532 to PFA/Chit/LIG532,  $R_{\Omega}$  increases by about  $10 \Omega \text{ cm}^2$ . The Chit film is electroactive but has a low conductivity, due to its electrochemical properties, at all potentials the  $R_{CT}$  is highest for Chit/LIG532. The lowest  $R_{CT}$  is observed for LIG532, while after modification the PFA/Chit is lower than for the Chit/LIG532 electrode (Table 17). A similar trend is observed for  $C_{DL}$ , except in the DL region where the capacitance is lowest for Chit/LIG532 because only charge separation occurs there.

The diffusion effect at PFA/Cit/LIG532 is negligible, since, except for the reduction peaks at  $-0.74 \text{ V}$ , the spectra are not consistent with the Randles EEC. In other cases, the R-C parallel pair is extended with the sequentially connected film CPE ( $CPE_f$ ). This is due to the conductive PFA film modifying the Chit film, as seen in the morphology changes in Fig. 62. It is likely that the PFA also enters or mixes with the Chit film and lowers the diffusion barrier, as observed for PFA/Chit/GCE. However, this depends on the applied potential: diffusion of electroactive polymers is still important at PFA/Chit/LIG532 at  $-0.74 \text{ V}$ . Due to the complicated interpretation of the results of the EEC analysis, the capacitance of the PFA/Chit/LIG532 film from the CPE in the low-frequency region was not investigated.

Analysis of the diffusion parameters from the Warburg cell shows that at a voltage of  $-0.74 \text{ V}$ ,  $R_{dif}$  is similar for Chit/LIG532 and PFA/Chit/LIG532, and the diffusion time constant is longer than  $1 \text{ s}$  (Table 17), indicating a different film structure from the other potentials studied. The diffusion of the Chit/LIG532 electroactive polymers is much faster, about  $60 \text{ ms}$  at  $0.0 \text{ V}$  and about  $130 \text{ ms}$  at  $+0.43 \text{ V}$ . Meanwhile,  $R_{dif}$  is also associated with a faster diffusion and is significantly lower than at  $-0.74 \text{ V}$ , around  $28 \Omega \text{ cm}^2$ . The film is quite heterogeneous, with a homogeneity coefficient of less than  $0.5$ . This value of the coefficient is quite common for film electrodes [23].

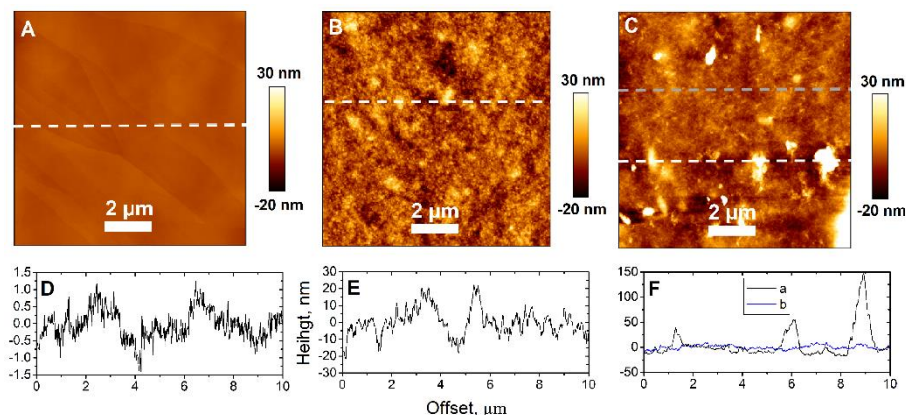
**Table 17.** EEC parameters for the analysis of the EIS spectra of the modified LIG532 electrodes (Fig. 60).  $C_{DL}$  was calculated from CPE using equation 4.

Electrode	$E, V$	$R_{\Omega}, \Omega \text{ cm}^2$	$R_{CT}, \Omega \text{ cm}^2$	$C_{DL}, \text{mF cm}^{-2}$	$\alpha$	$R_{dif}, \Omega \text{ cm}^2$	$\tau, s$	$\alpha_1$
LIG532	-0.74	60.69	0.754	0.221	0.999			
Chit/LIG532		73.3	362	6.61	1.00	490	4.29	0.468
PFA/Chit/LIG532		80.6	10.1	1.27	0.989	509	1.41	0.440
LIG532	0.00	60.6	4.96	3.13	0.916			
Chit/LIG532		70.5	824	1.01	0.999	27.7	0.056	0.460
PFA/Chit/LIG532		84.4	9.95	2.58	0.964			
LIG532	+0.43	60.7	4.59	0.520	0.905		1.38	0.869
Chit/LIG532		70.8	2657	1.45	0.960	27.9	0.134	0.440
PFA/Chit/LIG532		82.0	0.3	1.39	0.901		7.95	0.864

### 3.4. Microscopic analysis of modified surfaces

In order to assess the surface quality of the modified electrodes, the topography of the modified electrodes is investigated by different microscopy techniques: AFM for PGE (HOPG, as it resembles PGE most closely), optical microscopy and SEM for LIG355 and LIG532.

As PGE is not suitable for microscopic studies due to its shape and size, HOPG is used as a reference material as it is similar in structure to PGE. In addition, it is commonly used for AFM calibration [24]. HOPG is coated with Chit and PFA and AFM tests are carried out after each coating.



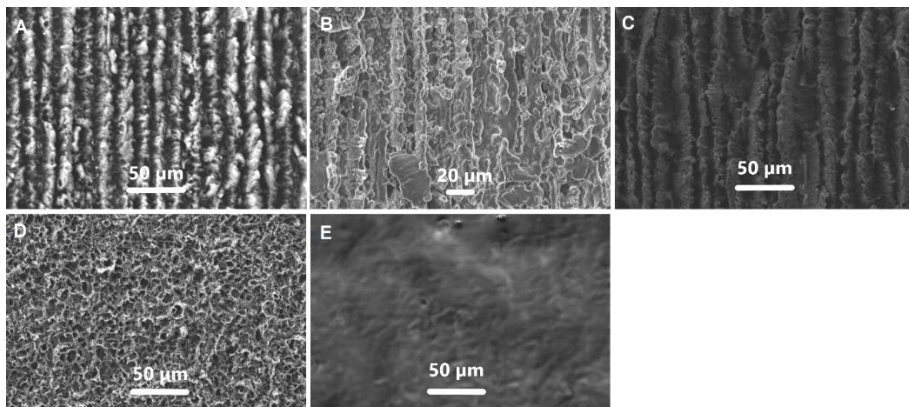
**Fig. 61** AFM images (A-C) showing HOPG (A), Chit/HOPG (B) and PFA/Chit/HOPG (C), and height profiles (D-F) at the points with the highest (Ca) or lowest (Cb) differences, marked by dashed lines.

Surface roughness is determined from Fig. 61 by calculating the root mean square (RMS) height of the surface over the entire image area or a selected area of the image. Using the elevation profile data in Fig. 61D, the minimum RMS is calculated from the HOPG. Although there are relatively flat areas on the HOPG, the roughness, which is 0.4 nm, indicates a different number of graphite layers in the above area. When the HOPG is coated with the Chit layer, the roughness value almost doubles (8.0 nm) over the entire scanned area, indicating that the coating is successful. The highest roughness is observed in the case of PFA/Chit/HOPG, taken over the whole surface, at 16.5 nm. Several PFA clusters (Fig. 61C) were observed, from the height profile (Fig. 61F(a)), which are formed when the FA monomers bind to each other to form polymerisation centres, some of which grow faster than others. This indicates that the PFA is not coated as a smooth film, but in single nanostructures which are subsequently joined together. These clusters have a

predominant height between 40 and 165 nm and a diameter between 0.5 and 1.0  $\mu\text{m}$ . Similar observations have been made in other works [24]. The clear differences in the surface topographies of the electrodes after each coating are an indication of successful surface modification with Chit and PFA polymers.

The surface of PFA/Chit/LIG electrodes was also examined using optical microscopy in a similar procedure as described above. Surface testing of LIGs is described in Section 3.1.2. Chit coating on LIG355 (Fig. 35A) is more expressed along laser-produced lines making them more visible. After FA electropolymerisation on the Chit/LIG355 surface (Fig. 35B), the topography is different from that of bare LIG, and the Chit film is less visible. Moreover, it seems that the gaps between Chit are filled with PFA; however, most probably, the Chit structure is changed during the electropolymerisation of FA. A different picture is observed on modified LIG532, showing that Chit fills pits and irregularities and forms network-like structures (Fig. 35C). After FA electropolymerisation, Chit/LIG532 (Fig. 35D) is no longer visible Chit film structures, but polymer fibre-like structures are observed structures giving the impression of a thick film.

SEM gives for more accurate surface analysis (Fig. 62): the LIG structure lines are clearly visible. Further, after coating LIG355 with Chit (Fig. 62B), the graphene structures are superimposed into a network film-like structure. PFA/Chit/LIG355 exhibits a neat surface with fibre polymer-like structures (Fig. 62C).



**Fig. 62** SEM images of LIG355 (A), Chit/LIG355 (B), PFA/Chit/LIG355 (C), LIG532 (D) and Chit/LIG532 (E) at magnifications 500x (A, C-E) and 600x (B).

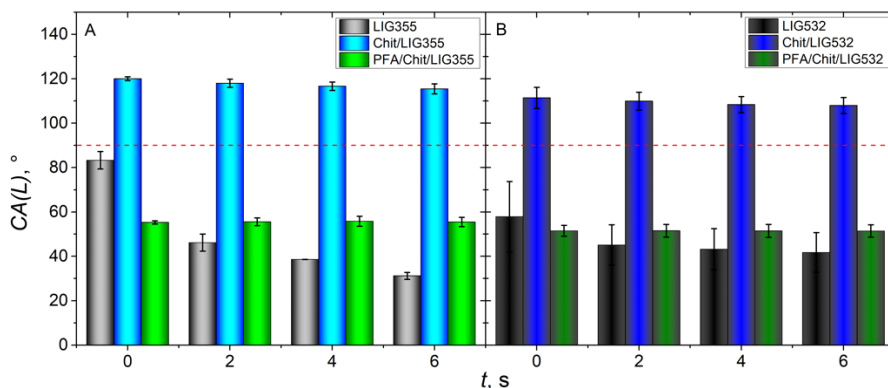
When the LIG532 surface is coated with Chit film (Fig. 62E) it creates a uniform surface with no graphene structures visible. The addition of PFA on top of Chit/LIG532 made the film rigid, which was de-attached in a vacuum

chamber of SEM and was torn apart, which is why this modification of surface topography cannot be investigated by this method.

### 3.5. Electrode surface wettability

It is important to know hydrophilic properties of LIG electrodes to construct successful electrode, where hydrophilic part would be exposed to an electrolyte solution and hydrophobic part would be used for electrical contacts. Hydrophilicity is usually tested by measuring the water drop contact angle [86], which, due to the size of the electrodes, can only be performed on LIG electrodes (Fig. 63). In this case, the contact angle is measured for 6 s using 1 and 3  $\mu\text{L}$  Milli-Q water [86]. It is known that if the contact angle is  $< 90^\circ$ , the surface is hydrophilic, while for contact angle  $> 90^\circ$  it is hydrophobic [87].

First, the contact angle is measured immediately after the drop is dropped onto the electrode. In the case of LIG355 it is  $83.28 \pm 3.93^\circ$ , but within 6 s the contact angle decreases to  $31.21 \pm 1.56^\circ$ . The situation is different for LIG532: the contact angle changes from  $57.85 \pm 15.85^\circ$  (0 s) to  $41.72 \pm 8.93^\circ$  (6 s). This leads to the conclusion that LIGs, due to their surface structural properties, are hydrophilic. The hydrophilicity is most likely due to the high porosity of the LIGs, which is observed by other test methods, such as SEM (Fig. 54) and EIS (Section 3.1.3).



**Fig. 63** Changes in contact angle over time (up to 6 s) on differently modified LIG355 (A) and LIG532 (B) electrodes. Measurement method: deposited drop; drop phase: water; surrounding phase: air; volume used:  $\sim 1.0 \mu\text{L}$  on unmodified electrodes and  $\sim 3.0 \mu\text{L}$  on modified electrodes.

When LIG electrodes are coated with a layer of Chit, their surface becomes hydrophobic; the contact angle on Chit/LIG355 changes from  $120.03 \pm 0.87^\circ$  to  $115.44 \pm 2.26^\circ$  and on Chit/LIG532 from  $111.42 \pm 4.73^\circ$  to  $107.99 \pm 3.59^\circ$ .

While hydrophilic properties are to be expected from Chit films, this is not the first case of hydrophobic Chit film is not the first time that a hydrophobic Chit film has been obtained, and this phenomenon is explained by a thermodynamically more favourable reorientation of the functional groups during drying and the formation of hydrogen bonds [88].

As expected, the further modification of Chit/LIG in the PFA again leads to the hydrophilic nature of the electrode: the contact angle of PFA/Chit/LIG355 changes from  $55.28 \pm 0.75^\circ$  to  $55.45 \pm 2.11^\circ$  (within 6 s), while PFA/Chit/LIG532 changes from  $51.48 \pm 2.49^\circ$  to  $51.39 \pm 2.81^\circ$ .

The evaluation of wettability changes demonstrates that despite the significant increase of the contact angle after LIG355 and LIG532 modification with chitosan, the following modification with polyfolate decreased the contact angle. The obtained results prove that the PFA/Chit/LIG355 or PFA/Chit/LIG532 are suitable for the pH measurements in aqueous solutions.

### 3.6. Applications of modified electrodes

#### 3.6.1. The applicability of modified electrodes as pH sensors

##### 3.6.1.1. The formation of pH sensors

PFA/Chit/PGE and PFA/Chit/GCE are used to determine pH, in aqueous solutions from slightly acidic to slightly alkaline. Firstly, in order to verify the behaviour of these sensors at pH 7.0 and 8.0 solutions, a fixed-potential ChA is used. Control experiments are also carried out using unmodified and Chit-coated PGE and GCE and the results are shown in dissertation Fig. 38.

Despite the small change in current density over 1500 s for modified PGE and 900 s for modified GCE, the results show that the PFA/Chit/PGE and PFA/Chit/GCE distinguish between neutral and slightly alkaline pH. It can be seen that PFA/Chit/PGE is more sensitive to a change in pH than PFA/Chit/GCE.

Finding that PFA/Chit modified PGE and GCE respond to changes in pH, further pH measurements are carried out using potentiometry, which is a more accurate pH method [89]. In this case, the potentiometric method is used for the determination of pH in the range of 5.0 to 10.0. However, the response at pH 5.0 almost did not differ much from the response at pH 6.0, whereas at pH 10.0 the PFA is already unstable in solution. Therefore, further investigations using PFA/Chit/PGE, PFA/Chit/GCE, PFA/Au, PFA/Chit/LIG355 and

PFA/Chit/532 are carried out in the pH range of 6.0 to 9.0. The results are presented in Table 18.

**Table 18.** Average sensitivity of modified electrodes potentiometric response to pH.

Electrodes	Sensitivity, mV pH <sup>-1</sup>
PFA/Chit/PGE	43.5 ± 2.6
PFA/Chit/GCE	36.8 ± 0.9
PFA/Au	40,0 ± 5.3
PFA/Chit/LIG355	27.86 ± 0.81
PFA/Chit/LIG532	30.32 ± 0.50

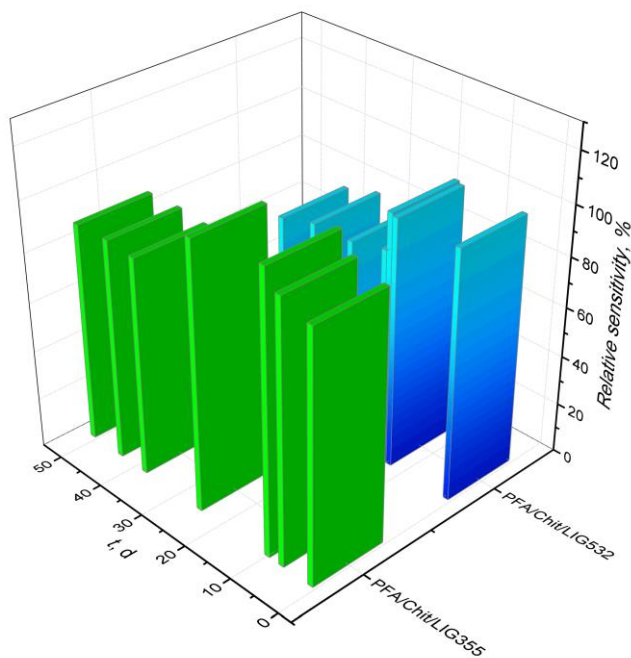
The results suggest that although the sensitivity of modified PGE and GCE are higher than those of modified LIG, they differ with increasing and decreasing pH, and the modified LIG532 sensitivities remain the same in both directions, i.e., 30.32 ± 0.50 mV pH<sup>-1</sup>. Although the sensitivity of PFA/Chit/LIG532 is up to two times lower than most similar pH sensors described in the scientific literature, the LIG532 electrodes are used over a wider pH range and have a shorter accumulation time than pH sensors described in the scientific literature [60], as well as the PFA/Chit/LIG532 has good repeatability and its shape allows it to be used where its shape makes it suitable for glass electrodes cannot be used. These characteristics make the PFA/Chit/LIG532 suitable for pH detection.

### 3.6.1.2. Repeatability, stability and selectivity of pH sensors

Using fixed-potential chronoamperometry and potentiometry, the repeatability, stability and selectivity of pH sensors developed on PGE, GCE, LIG355 and LIG532 electrodes modified with PFA or PFA/Chit, were tested. Section 3.3.1 discusses that PFA modified electrodes without a Chit layer are unstable and are therefore not used in further studies.

PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 potentiometric tests were done, as they are more sensitive to pH measurements. The PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 sensors have stable potential sensitivity for at least 50 days. Stability is given in terms of relative sensitivity as a function of time, with the sensitivity being determined every few days Fig. 64. Over 50 days the sensitivity of the PFA/Chit/LIG355 decreases from 27.86 ± 0.97 to 21.86 ± 0.43 mV pH<sup>-1</sup>. This decrease is smaller for PFA/Chit/LIG532, and within 50 days the sensitivity decreases from 30.32 ± 0.06 to 28.14 ± 0.25 mV pH<sup>-1</sup>.

PFA/Chit/PGE selectivity is tested using potentiometry of some single-valent ions and organic compounds such as  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ , citric acid and D(+)-glucose. Selected compounds are commonly found in foods. As can be seen from the red panels in Fig. 65, glucose has the greatest influence on the potentiometric pH response, i.e., +7,11 %, while  $\text{K}^+$  has an influence of +0.69 %,  $\text{Na}^+$  and citric acid at +0.19 % each and  $\text{NH}_4^+$  -1,65 %. This sensor has the highest influence is glucose. This may be because during non-fermentative glycation glucose is converted to dihydroxyacetone, which reacts with folic acid to form N2-[1-(carboxyethyl)] folic acid [95]. However, this increase is probably more is more likely to be related to the surface properties of the electrode, since in the case of sensors prepared with LIG electrodes, the influence of glucose is negligible.

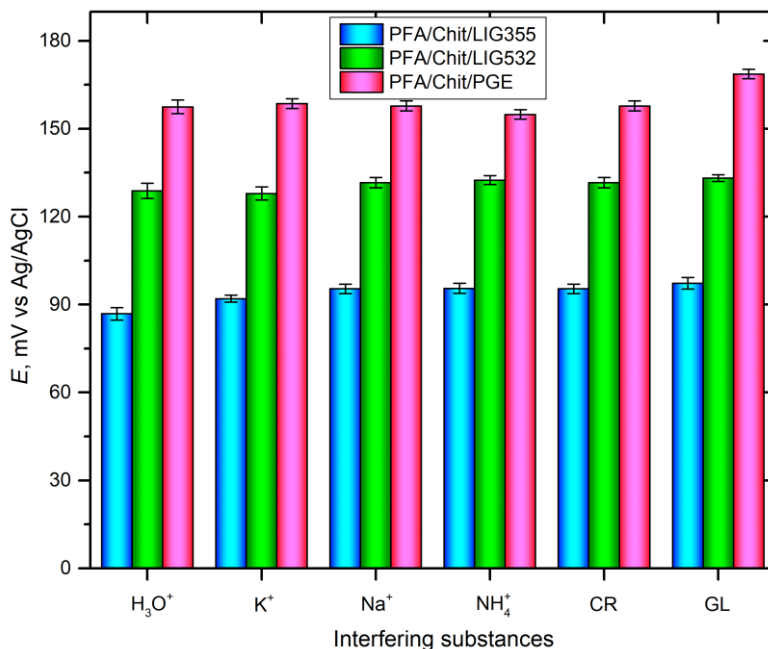


**Fig. 64** Stability of the PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 pH sensors, given as relative sensitivity. PFA/Chit/LIG355 (green plates) and PFA/Chit/LIG532 (blue plates). Response to pH obtained by potentiometry in 0,1 M PBS solutions at pH 6.0 to 9.0, acquisition time 600 s.

The selectivity of PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 was tested using the same compounds as for PFA/Chit/PGE. As seen from Fig. 65 blue and green bars,  $\text{K}^+$  influence on PFA/Chit/LIG355 is +5.96 %, while PFA/Chit/LIG532 is -0.69 %. In contrast, for all other ions and organics used compounds influence are  $+10.41 \pm 1.59$  % and  $+2.62 \pm 0.71$  % respectively



PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532. As seen, at PFA/Chit/LIG532, the influence of the compounds used is lower than at PFA/Chit/LIG355.



**Fig. 65** PFA/Chit/PGE, PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 potentiometric pH response selectivity studies. The concentrations of the substances tested were 2.95 mM K<sup>+</sup>, 2.93 mM Na<sup>+</sup>, 2.99 mM NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 0.23 mM citric acid and 1.22 mM D(+)glucose in PFA/Chit/PGE, 1.0 mM each in PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532, 0.1 M in PBS pH 7.0, and the accumulation time was 600 s. CR, citric acid; GL, D(+)glucose.

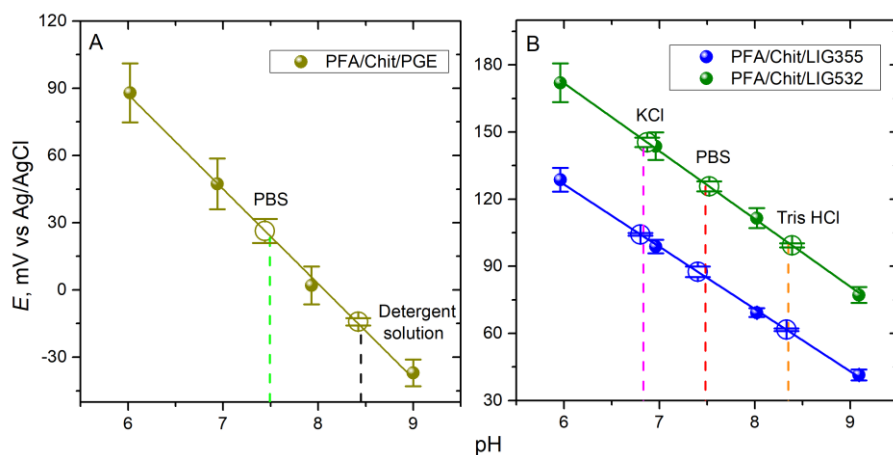
The results show that the best repeatability is at PFA/Chit/LIG532, which, as mentioned above, has a relative standard deviation of 3,25 %. PFA/Chit/LIG532 is the most stable of the electrodes studied in this work and remains stable for about 50 days, with a decrease in response of 7.19% over this period. It is seen that PFA/Chit/LIG532 is the most resistant to the influencing compound effect and of the compounds tested the least affected is by K<sup>+</sup> ions, only -0.69%, and glucose, +3.34 %, which is within acceptable limits. These studies show, that PFA/Chit/LIG532 is the most suitable for the development of pH sensors.

### 3.6.1.3. Practical applications of the pH sensor

Practical PFA/Chit/PGE, PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 applications are carried out using a potentiometric test. As in Section 3.6.1,

potentiometry is used in 0,1 M PBS pH range 6 to 9 and plotted calibration graph (Fig. 66) and then measure the following potential in the test solutions and from the calibration plot it is possible to judge the pH of the test solution.

First, the pH of the unknown pH 0.1 M PBS buffer and the classical detergent solution are measured using PFA/Chit/PGE (Fig. 66A) and the data obtained are compared with the data from the glass pH meter. The test solution with unknown pH is prepared by randomly mixing 0.1 M PBS pH 7.0 and 8.0 buffers and Neodisher FA cleaning fluid concentrate is diluted 83333 times until it is neutralised. The pH of the test buffer in PBS was measured at pH 7.49 with a pH meter and the PFA/Chit/PGE was  $7.44 \pm 0.13$  ( $n = 3$ ). The pH of the detergent solution is 8.45 on the pH meter, while our sensor is  $8.42 \pm 0.04$  ( $n = 3$ ). As can be seen, the pH measured using PFA/Chit/PGE, the deviations from the pH-meter value are between  $-0.03$  and  $-0.05$ .



**Fig. 66** The validation of the PFA/Chit/PGE PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 sensors in different pH solutions using calibration plots ( $n=3$ ). The empty circles represent the pH determined with the respective sensors in the test solutions and the dashed lines represent the values obtained with the pH meter: 7.49 light green (0.1 M PBS), 8.45 black (detergent solution), 6.83 pink (0.1 M KCl), 7.48 red (0.1 M PBS) and 8.35 orange (1 M Tris-HCl).

Practical application with both PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 (Fig. 66B). For this purpose, the PBS test solution is prepared in the same way as for PFA/Chit/PGE; 1 M Tris-HCl and 0.1 KCl. The pH of these solutions is then measured using PFA/Chit/LIG355 and PFA/Chit/LIG532 ( $n = 3$ ). The deviations from the values obtained with the pH meter are between 0.02 and -0.08 for PFA/Chit/LIG355 and +0.04 PFA/Chit/LIG532 (all cases  $n = 3$ ). As

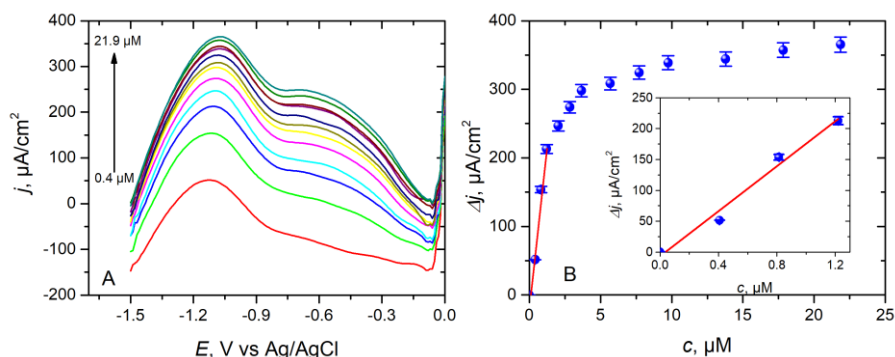
can be seen, both electrodes are sufficiently reliable over the pH range investigated.

The results show that the best pH detection is obtained using PFA/Chit/LIG532, which has a constant pH deviation from the pH meter values with all solutions (+0,04).

### 3.6.2. The applicability of the modified electrodes as atrazine sensors

To test if FA is sensitive to atrazine, but it is known that its polymer is unstable [24], so the sensors for the detection of atrazine are being developed using the copolymers PFA-PRf/GCE and PFAPLL/GCE (Section 3.2.3). The response of the used sensors is tested by three electrochemical analysis methods: CV, SWV, and ChA. The response to atrazine is tested using natural test samples.

Since CV is generally not the most sensitive electroanalytical method, other methods such as SWV and ChA are used to analyse the response to atrazine. Response using PFA-PLL/GCE is shown in Fig. 67A and is carried out in PBS with the addition of atrazine from 400 nM to 22  $\mu$ M at a current of density increases over the entire potential range studied, with the most pronounced PFA oxidation at the PFA maximum, i.e., at  $-1.12$  V, and a new oxidation wave appears at  $-0.65$  V.



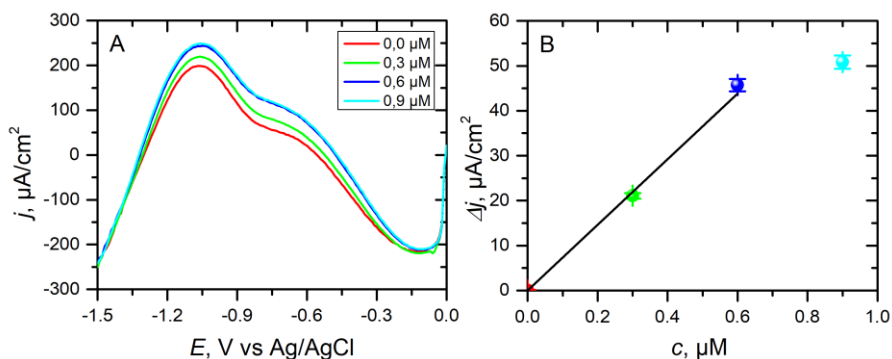
**Fig. 67** PFA-PLL/GCE response to atrazine in SWV (A), 0.1 M PBS, pH 5.0. SWV parameters: potential amplitude 10 mV, frequency 50 Hz, potential range -1,5 to 0,0 V. Atrazine additives: 0.400, 0.800, 1.20, 2.00, 2.90, 3.70, 5.70, 7.70, 9.70, 13.8, 17.8, and 21.9  $\mu\text{M}$ .

As seen from the calibration graph in Fig. 67B, the process has 2 linear intervals, the first is short but has a high sensitivity which is  $198 \pm 1 \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ , and the detection LOD obtained using the  $3\sigma$  method (see Section 2.2) is 14,8 nM.

Voltammetry methods are less convenient for practical use; therefore, fixed-potential ChA is often used because it is easier readable. ChA is also recorded to assess the response to atrazine. As seen from dissertation Fig. 67, each increase in atrazine concentration leads to an increase in the cathodic current density, but the reaction time is rather slow about 1 minute. In this case, the sensitivity is  $8.39 \pm 0.39 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ , i.e., much lower than SWV. The LOD is 139 nM, which is 10 times higher than the SWV obtained method. This means that fixed-potential ChA is not suitable for analysis under realistic conditions.

### 3.6.2.1. Testing the atrazine sensor with a natural sample

As PFA-PLL/GCE is the most suitable for the analysis of atrazine, it will be further tested for the detection of atrazine in tap water at a constant pH maintained in a PBS solution. Since atrazine is not present in tap water, the tap water samples were spiked with atrazine. The response to the increasing concentrations of atrazine in solution is monitored using SWV (Fig. 68A), which in tap water samples is significantly higher than in pure buffer solution and the linear range is shorter (Fig. 68B). Therefore, for the determination of atrazine in groundwater or wastewater, calibration must be carried out directly in the sample, as the nature of the solution (pH remains the same as in the buffer) affects the background and the response signal. The sensitivity to atrazine in tap water is  $74.6 \pm 4.4 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ , i.e., lower than with PBS alone, but still better than using ChA



**Fig. 68** PFA-PLL/GCE response to atrazine in SWV (A), 0.1 M PBS, pH 5.0 with tap water. SWV parameters are the same as in Fig. 68. Atrazine additives: 0.3, 0.6 and 0.9  $\mu\text{M}$ . Calibration plot of the response to atrazine using the same electrode (B) determined from SWV (A).

The results show that PFA-PLL/GCE is the best detector atrazine using the SWV method. However, in tap water, the sensitivity and the range of

detectable concentrations are lower than in PBS solution. The sensitivity of the PFA-PLL/GCE to atrazine is sufficiently high at  $198.0 \pm 1.0 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$  and  $74.6 \pm 4.4 \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-2}$  in PBS and PBS in tap water, respectively water. PFA-PLL/GCE is therefore suitable for the development of an atrazine sensor.

## CONCLUSIONS

1. The most suitable polymer for the pH sensor is obtained using electrochemically synthesised PFA on Chit coated PGE, due to the fibrous structure and the increased surface area. The sensitivity of PFA/Chit/PGE in the pH range 6.0-9.0 is  $43.5 \text{ mV pH}^{-1}$ . The sensor is stable for about 70 days.

2. The PFA/Chit/LIG532 is more suitable for the development of a flat pH sensor because of its higher sensitivity of  $30.32 \pm 0.50 \text{ mV pH}^{-1}$ , and more accurate response (deviation + 0.04 compared to a conventional pH meter). In addition, this electrode is more stable and has stability of at least two months.

3. The best atrazine sensor is obtained with the PFA-PLL/GCE because it is the most sensitive  $198.0 \pm 1.0 \text{ } \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$  in electrolyte solution. However, the sensor sensitivity when atrazine is added to buffered drinking water is only  $74.6 \pm 4.4 \text{ } \mu\text{A } \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-2}$  and therefore requires calibration in the test solutions.

## PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

### Straipsniai žurnaluose

1. V. Žutautas, T. Jelinskas, R. Pauliukaite, A novel sensor for electrochemical pH monitoring based on polyfolate, *J. Electroanal. Chem.* 921 (2022) 116668. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2022.116668> .
2. E. Katinaite, V. Žutautas, A. Bytautaitė, R. Pauliukaite, A novel strategy to develop electrochemical atrazine sensor, *Chemija* 33 (2022) 111-119. <https://doi.org/10.6001/chemija.v33i4.4804> .
3. V. Žutautas, R. Trusovas, A. Sartanavičius, K. Ratautas, A. Selskis, R. Pauliukaite, A Sensor for electrochemical pH monitoring based on laser-induced graphene modified with polyfolate, *Chemosensors* 11 (2023) 329. <https://doi.org/10.3390/chemosensors11060329> .

### Pranešimai mokslinėse konferencijose

1. V. Žutautas, R. Pauliukaite, E. Katinaite, Kopolimero sudaryto iš folio rūgšties ir riboflavino panaudojimas herbicido atrazino nustatymui, FizTech2020, Tezių rinkinys 10, spalio 22, 2020, Vilnius, Lithuania.
2. V. Žutautas, R. Pauliukaite, pH Detection Using poly(folic acid) and chitosan modified electrode, 72nd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, s03-014, 2 September 2021, Jeju Island, Korea.
3. V. Žutautas, R. Pauliukaite, Application of poly(folic acid) for pH detection, Chemistry and Chemical Technology 2021, Book of abstracts 71, 24 September 2021, Vilnius, Lithuania.
4. V. Žutautas, R. Pauliukaite, Laidaus vitamino B9 polimero taikymas nustatant pH, FizTech2021, Tezių rinkinys 31, spalio 20, 2021, Vilnius, Lithuania.
5. V. Žutautas, T. Jelinskas, R. Pauliukaite, Application of poly(folic acid) modified electrodes for pH monitoring, Open readings 2022, abstract book 113, 15 March 2022, Vilnius, Lithuania.
6. V. Žutautas, R. Pauliukaite, Development of novel pH sensor based on polyfolate modified electrodes, 18th International Conference on Electroanalysis, abstract book 123, June 5-9, 2022, Vilnius, Lithuania.
7. V. Žutautas, R. Pauliukaite, Characterisation and application of laser induced graphene modified with polyfolate films, FizTech2022, Tezių rinkinys 44, spalio 20, 2022, Vilnius, Lithuania.
8. V. Žutautas, R. Trusovas, A. Sartanavičius, K. Ratautas, T. Rakickas, R. Pauliukaite, Conducting polymer modified laser-induced graphene usage

for pH sensing, Chemistry and Chemical Technology 2023, Conference book 93, 10 March 2023, Vilnius, Lithuania.

9. R. Pauliukaite, J. Gaidukevic, R. Aukstakojyte, J. Barkauskas, V. Zutautas, R. Trusovas, A. Sartanavicius, Differently functionalized graphene oxide for sensing applications, 74th Annual Meeting of ISE, E-Book of Programm, September 3-8, 2023, Lyon, France.



## TRUMPAS GYVENIMO APRAŠYMAS

**Gimimo data, vieta** 1992 12 03, Telšiai, Lietuva

**Telefonas** +37069636770

**El. paštas** vytautas.zutautas@ftmc.lt

### Išsilavinimas

2019-2023	Gamtos mokslų srities, chemijos krypties Doktorantūros studijos VMTI Fizinių ir technologijos mokslų centras
2017-2019	Vilniaus Gedimino Technikos Universitetas, nanobiotechnologijos magistro laipsnis
2012-2016	Vilniaus Gedimino Technikos universitetas, bioinžinerijos bakalauro laipsnis

### Darbo patirtis

2019-2020	Inžinierius, Cheminės inžinerijos ir technologijų skyrius, VMTI Fizinių ir technologijos mokslų centras, Saulėtekio al. 3, LT-10257 Vilnius.
2017-2017	Laborantas, UAB „Plungės kooperatinė prekyba“, Birutės g. 50, 90112 Plungė

## PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju vadovei dr. Rasai Pauliukaitei už kantrybę, pagalbą ir patarimus atliekant šioje disertacijoje aprašytą darbą. Dėkoju už pagalbą rengiant tyrimų rezultatus konferencijoms ir publikacijoms.

Už pagalbą atliekant optinę mikroskopiją ir AFM dėkoju FTMC nanoinžinerijos skyriaus darbuotojams Tadui Jelinskui ir Tomui Rakickui.

Už pagalbą dirbant su OriginPro 9 programine įranga dėkoju FTMC nanoinžinerijos skyriaus darbuotojai Justinai Gaidukevič.

Dėkoju dr. Romualdai Trusovai už LIG elektrodų sukūrimą ir Ramano spektroskopijos bei SEM tyrimus.

Dėkoju tuo metu Vilniaus Gedimino technikos universiteto studentei Emilijai Katinaitei už pagalbą kuriant atrazino jutiklį.

Šį tyrimą finansavo Lietuvos mokslo taryba pagal projektą BEGAMA, dotacijos Nr. 01.2.2-LMT-K-718-03-0038.

UŽRAŠAMS

Vilniaus universiteto leidykla  
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius  
El. p. [info@leidykla.vu.lt](mailto:info@leidykla.vu.lt), [www.leidykla.vu.lt](http://www.leidykla.vu.lt)  
[bookshop.vu.lt](http://bookshop.vu.lt), [journals.vu.lt](http://journals.vu.lt)  
Tiražas 15 egz.