

VILNIAUS UNIVERSITETAS
FIZINIŲ IR TECHNOLOGIJOS MOKSLŲ CENTRO
CHEMIJOS INSTITUTAS

Svetlana Kozlovskaja

MODIFIKUOTŲ ELEKTRODŲ ELEKTROCHEMINIO
ATSAKO Į BIOLOGIŠKAI SVARBIŲ ANALIČIŲ
PALYGINAMASIS TYRIMAS

Daktaro disertacija

Fiziniai mokslai, chemija (03P)

VILNIUS, 2015

Disertacija rengta 2007-2015 metais VU Chemijos fakultete ir Chemijos institute.

Mokslinis vadovas:

Prof. habil. dr. Albertas Malinauskas, (FTMC institutas, fiziniai mokslai, chemija - 03 P)

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju:

*darbo vadovui prof. habil. dr. Albertui Malinauskui, už suteiktą
galimybę atlikti mokslinį darbą bei visapusišką pagalbą ruošiant disertaciją,
už geranoriškumą, kantrybę ir supratimą visais gyvenimo klausimais;
savo mylimai šeimai už paramą, kantrybę ir supratimą.*

TURINYS

| | |
|--|----|
| Turinys | 4 |
| Naudotų sutrumpinimų sąrašas | 6 |
| Įvadas | 7 |
| Darbo tikslas ir uždaviniai | 9 |
| Darbo mokslinis naujumas ir ginamieji disertacijos teiginiai | 9 |
| 1. Literatūros apžvalga | 10 |
| 1.1. Modifikuoti elektrodai | 10 |
| 1.2. Elektrodų modifikavimas polimerais (elektropolimerizacija): | 17 |
| 1.2.1. Polianilinas | 17 |
| 1.2.2. Polipirolas. Esant aukštam potencialui oksiduotas polipirolas. | 23 |
| 1.2.3. Ortofenilendiaminas | 32 |
| 1.2.4. Nafionas | 35 |
| 1.3. Biojutikliai | 39 |
| 1.4. Bioanalizėje svarbių medžiagų elektrocheminė elgsena ant modifikuotų elektrodų | 45 |
| 1.4.1. Paracetamolis | 45 |
| 1.4.2. Askorbo rūgštis | 46 |
| 1.4.3. Vandenilio peroksidas | 49 |
| 2. Eksperimentų metodika | 50 |
| 2.1. Reagentai ir elektrodai | 50 |
| 2.2. Aparatūra | 50 |
| 2.3. Elektrodo paruošimas | 51 |
| 3. Rezultatai ir jų aptarimas | 52 |
| 3.1. Anilino elektrocheminė polimerizacija: Ciklinės voltamperometrijos metodas, pastovaus potencialo metodas. Askorbo rūgšties, paracetamolio ir H ₂ O ₂ atsako tyrimas. | 52 |
| 3.2. Pirolo elektrocheminė polimerizacija: Ciklinės voltamperometrijos metodas, pastovaus potencialo metodas. Askorbo rūgšties, paracetamolio ir H ₂ O ₂ atsako tyrimas. | 64 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3. Ortofenilendiamino elektrocheminė polimerizacija: Ciklinės voltamperometrijos metodas, pastovaus potencialo metodas. Askorbo rūgštis, paracetamolio, H ₂ O ₂ atsako tyrimas. | 75 |
| 3.4. Nafionu padengto Pt elektrodo sluoksnio gavimas. Askorbo rūgštis, paracetamolio, H ₂ O ₂ atsako tyrimas. | 84 |
| 4. Išvados | 89 |
| Publikuotų darbų disertacijos tema ir konferencijų sąrašas | 92 |
| Literatūros sąrašas | 93 |

NAUDOTŲ SUTRUMPINIMŲ SĄRAŠAS

DNR – Deoksiribonukleorūgštis

PANI – Polianilinas

PPy – Polipirolas

OPPy – oksiduotas polipirolas

ANI – anilinas

OPD – ortofenilendiaminas

POPD – Poli (o-fenilendiaminas)

UV – ultravioletiniai spinduliai

NADH – Nikotinamidadenindinukleotidas

SANS – mažų kampų išbarstymas neutronais

SAXS – X-ray spinduliuotė

$E = \text{const}$ – Pastovus potencialas

Pt – Platinos elektrodas

ĮVADAS

Jutikliai yra esminiai visų matavimo ir kontrolės sistemų komponentai. Elektroninį signalą generuojančių jutiklių poreikis atsirado žymiai anksčiau nei mikroprocesoriai ir kompiuteriai. Šalia didelio jutiklių poreikio medicinoje bei moksle, sparčiai auga jutiklių paklausa automatizuotos gamybos ir aplinkos monitoringo srityse. Be to, maži, nebrangūs jutikliai plačiai naudojami visose vartotojų prekių rūšyse: nuo vaikų žaislų, indaplovių iki automobilių.

Jutikliai klasifikuojami pagal matuojamą parametą: jie yra fiziniai, cheminiai, biologiniai. Tai daug paprastesnis klasifikavimo būdas nei pagal perdavimo mechanizmą arba atsako signalą (pvz., skaitmeninis arba analoginis).

Yra daug veiksnių į kuriuos reikia atsižvelgti pasirenkant tam tikrą jutiklį konkrečioje taikomojoje sistemoje. Šie veiksniai ar specifikacijos gali būti suskirstyti į tris pagrindines kategorijas: aplinkos veiksniai, ekonominiai veiksniai, ir jutiklio charakteristikas.

Jutikliai skirstomi į fizinius, kur matuojamasis dydis yra temperatūra, įtampa, jėga, slėgis, poslinkis, padėtis, greitis, pagreitis, optinės spinduliuotės srautas, klampumas ir elektromagnetiniai laukai. Temperatūriniai jutikliai (pagrindinis matavimo parametras yra temperatūra) yra labai svarbūs daugelyje kontrolės, aplinkos valdymo sistemose. Temperatūros nustatymui dažniausiai reikalingi keli keitimo mechanizmai. Dažniausiai naudojami elektrinį signalą generuojantys temperatūros jutikliai yra termoporos, termistoriai ir varžos matavimo termometrai. Daugelis jėgos rūšių gali būti nustatytos iš jų sukuriama poslinkio. Pavyzdžiui, spyruoklė įsitemps ir masė pasikeis dėl masės pagreičio jėgos ant spyruoklės galo. Kitas pavyzdys yra deformuojamos membranos centro poslinkis dėl skirtingo spaudimo skersai ja. Abu šie pavyzdžiai reikalauja kelių perdavimo mechanizmų, gaminant elektrinį signalą: pirminis mechanizmas, kuris konvertuoja jėga į poslinkį (mechaninis į mechaninį) ir tarpinis mechanizmas, kuris konvertuoja poslinkį į elektrinį signalą (mechaninį į elektrinį). Poslinkis gali būti išmatuotas jungtine talpa. Dažniausiai naudojamas jėgos jutiklis yra elektromechaninis spaudimo matuoklis. Jį sudaro

metalo laidai, kurie įsitempia panaudojant jėgą. Optinės spinduliuotės intensyvumas ir dažnis kelia didelį susidomėjimą ir yra labai naudingi vartotojų produktuose, tokiose kaip vaizdo kameros, namų apsaugos ir optinio ryšio sistemos. Optinės energijos konvertavimas į elektroninį signalą gali būti atliekamas keliais mechanizmais, tačiau dažniausiai naudojamas yra fotogeneracijos nešėjas puslaidininkiuose. p-n sandūros fotodiodas yra dažniausiai naudojamas prietaisas konvertuojantis fotogeneraciją į elektros energiją.

Cheminiuose jutikliuose matuojamasis dydis yra jonų koncentracija, atominė masė, reakcijų greitis, oksidacijos potencialas ir dujų koncentracija. Cheminių jutiklių pavyzdžiai yra jonų selektyvūs elektrodai ir dujų chromatografai. Jonų selektyvūs elektrodai naudojami konkretaus jono koncentracijos nustatymui jonų tirpale. Membranos medžiaga naudojama, kad selektyviai generuotų potencialą, kuris priklauso nuo nustatomų jonų koncentracijos. Sugeneruotas potencialas yra pusiausvyrinis potencialas, vadinamas Nernsto potencialu, ir jis pasiskirsto per membranos sąsają su tirpalu. Tipinis jonų selektyvus elektrodas susideda iš stiklo ar plastiko vamzdelio su jonų selektyvine membrana, kuri yra šio vamzdelio gale, kuris pamerktas į matuojamą tirpalą. Molekulės dujose turi šilumos laidumą, kuris priklauso nuo jų masės; todėl, grynos dujos gali būti identifikuojamos pagal jų šilumos laidumą. Vienas iš būdų nustatyti dujų sudėtį yra pirma atskirti jas į sudedamąsias dalis ir tada matuoti kiekvieno jų šilumos laidumą. Dujų chromatografai daro būtent tai.

Biojutikliuose matuojamasis dydis yra biologiškai pagamintos medžiagos kiekis, tokios kaip antikūnai, metabolitai, hormonai ir fermentai. Biosensoriai yra ypač svarbūs, dėl labai didelio biologinių reakcijų selektyvumo. Didžiausia biojutiklių klasė yra fermentiniai biojutikliai. Kuriant šiuos biojutiklius gali būti panaudojami keli signalų vertikliai. Pagal tai biojutiklius galima suskirstyti į optinius, gravimetrinius, elektrocheminius. Elektrocheminius jutiklius galima suskirstyti į dvi plačias kategorijas: potenciometriniai jutikliai, matuojantys įtampą, ir amperometriniai jutikliai, kurie matuoja elektros srovę. Abu tipų

jutikliai, sudaryti bent iš dviejų elektrodų, atskirtų tarpine iš jonams laidžio tirpalo ar kieto elektrolito.

Dažniausiai, dirbant su elektrocheminiais jutikliais, naudojami elektrolitų tirpalai yra vandeniniai druskų, rūgščių, ir bazių tirpalai. Su jais dirbama kambario temperatūroje [1].

DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas

Atlikti biologiškai svarbių analičių palyginamąjį tyrimą ant polimerų sluoksniais modifikuotų elektrodų.

Darbo uždaviniai:

1. Parinkti panašias elektrolaidžių polimerų tyrimo sąlygas.
2. Ištirti ir palyginti tarpusavyje biologiškai svarbių analičių pralaidumą pro nusodintus ant elektrodo sluoksnius amperometrinėse sistemose.
3. Palyginti analičių pralaidumą pro elektrochemiškai polimerizuotus ir nusodintus iš tirpalo sluoksnius.

DARBO MOKSLINIS NAUJUMAS IR GINAMIEJI TEIGINIAI

Darbo mokslinis naujumas:

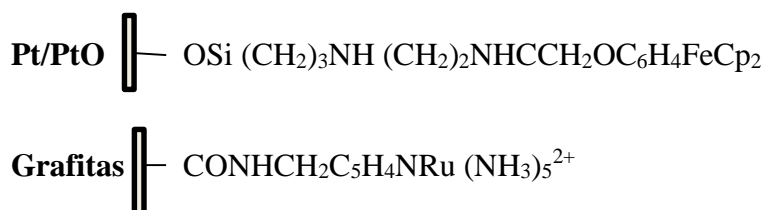
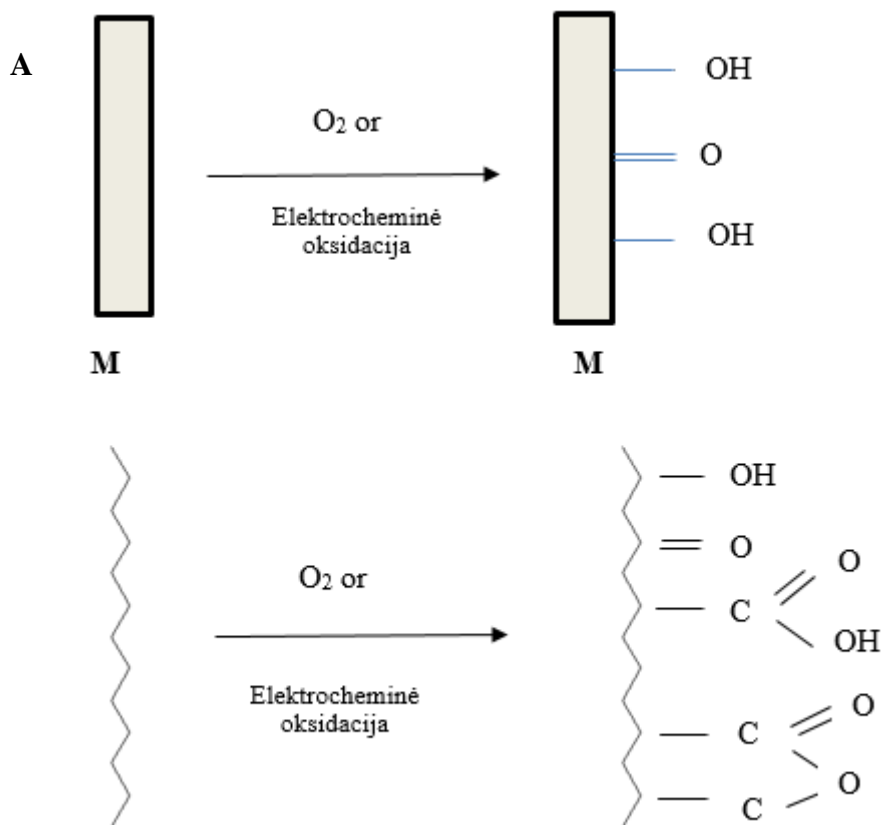
Moksliniuose straipsniuose ir tyrimuose dažniausiai aprašomas vienos medžiagos elektrocheminis arba cheminis nusodinimas, atlikti tolimesni tyrimai skirtingose sistemose, tirpaluose, sąlygose. Savo darbui aš pasirinkau kelias medžiagas, kurių tyrimui sudariau panašias sąlygas, esant tam pačiam darbiniam potencialui. Mano pagrindinis uždavinys buvo: parinkus vienodas elektrocheminio nusodinimo sąlygas, ištirti ir atlikti palyginamąjį pasirinktų medžiagų tyrimą.

Darbo ginamieji teiginiai:

1. PANI, polipirolo sluoksnio storis priklauso nuo elektropolimerizacijos trukmės.
2. Askorbo rūgšties elektrooksidacija ant PANI elektrodo neutraliame tirpale yra autokatalitinio pobūdžio: jos metu atsipalaidavę protonai padidina PANI elektrinį laidumą ir tolesnę askorbo rūgšties anodinę oksidaciją jau katalizuoja pats PANI.
3. Askorbo rūgšties molekulių difuzija vyksta niekieno netrukdoma.
4. Nafiono sluoksniu danga pasižymi aukštu efektyvumu.
5. POPD sluoksnis pasižymi santykinai mažu laidumu.

1. LITERATŪROS APŽVALGA**1. 1. Modifikuoti elektrodai**

Labai įdomi sritis elektrochemijoje yra elektrodai, kuriuos galima gauti chemiškai modifikuojant įvairius laidžius substratus. Tokie elektrodai gali būti pritaikyti įvairioms funkcijoms atlikti. Modifikavimas apima negrįžtamai su norima funkcionalia grupe absorbuojančią medžiagą, kovalentiniu ryšiu su paviršiumi sujungtą medžiagą ir polimerine plėvele ar kita medžiaga dengtą elektrodą. Kovalentinis ryšys yra pavaizduotas 1 pav.. Jungiančios medžiagos, tokios kaip, pvz., organosilanai ar aminai, pirmiausia jungiasi su paviršiumi ne su funkcionalia grupe. Polimerinės plėvelės gali būti pagamintos iš ištirpusių polimerų juos merkiant į tirpalą, sukant dangą, elektrolitinio nusodinimo metu arba kovalentiškai susijungus. Jos taip pat gali būti pagamintos iš monomero, panaudojant šiluminės, plazmos, fotocheminės arba elektrocheminės polimerizacijos metodus. Imobilizuoti fermentiniai biojutikliai, pvz., amperometriniai jutikliai, yra modifikuotų elektrodų tipas. Jie gali būti pagaminti kovalentiškai susijungus ar absorbcijos pagalba. [2]



Pav. 1 Funkcinės grupės, oksidacijos metu suformuotos ant metalo ar grafito paviršiaus (A). Elektrodai modifikuoti, kovalentiškai jungiantis įvairiems komponentams (B).

Labai svarbi problema, išskylanti kuriant visų tipų biojutiklius, yra tinkama fermento, o, kartais ir redokso tarpininkų arba kitų medžiagų imobilizavimo būdo pasirinkimas. Taip šie junginiai yra atskiriami nuo reaguojančios aplinkos ir gali būti panaudojami daug kartų. Pasirenkamas toks imobilizacijos būdas, kuris leistų išlaikyti didžiausią biojutiklio aktyvumą ir stabilumą. Be to reikia sukurti tokią imobilizacijos metodiką, kad fermentas išliktų pakankamai stabilus, ir nebūtų išplaunamas iš matricos, į kurią yra imobilizuotas.

Vienas iš paprasčiausių fermentų ir tarpininkų imobilizavimo būdų yra fizikinė absorbcija. Ji pagrįsta Van der Vals'o orientacinių ir kitų sąveikų

veikimu tarp kieto nešiklio, ant kurio vykdoma imobilizacija, paviršiaus ir fermento. Tai galima atlikti, užlašinant fermento tirpalą ant elektrodo paviršiaus ir leidžiant išgaruoti tirpikliui. Šio metodo pagrindinis trūkumas yra palyginus silpna fermento ar kitų medžiagų fiksacija ant paviršiaus. Todėl, esant tam tikroms sąlygoms (pH, temperatūrai, joninei jėgai), fermentas gali desorbuotis.

Taip pat vienas iš imobilizacijos būdų yra fermentinio sluoksnio uždengimas kokia nors iš dalies pralaidžia membrana, kuri neišleistų fermento iš prielektrodinės ertmės. Pirmame Clark'o ir Lyons'o sukurtame gliukozės biojutiklyje buvo panaudotos dvi membranos. Fermentas buvo imobilizuotas tarp dviejų membranų: viena membrana apsaugo elektrodo paviršių nuo užteršimo fermentu, kita sulaiko fermentą ant elektrodo paviršiaus, o į sluoksnį, kuriame yra fermentas, praleidžia tik mažos molekulinės masės medžiagas.

Labai plačiai taikomi fermentais modifikuoti pastinai elektrodai. Tai tokie elektrodai, kuriuose fermentai, tarpininkai ir kofaktoriai yra įmaišyti į anglines pastas, kurios paprastai susideda iš anglies miltelių, sumaišytų su klampia rišančia medžiaga.

Kovalentiniai imobilizacijos metodai yra grindžiami aminorūgščių, iš kurių sudaryti baltymai, funkcinių grupių panaudojimu kovalentiniam fermento pririšimui arba surišimui. Dauguma kovalentinės imobilizacijos metodų yra tinkami biojutiklių konstravimui.

Kovalentinės imobilizacijos metodu pasiekiamas bene stabiliausias fermento „prijungimas“ prie elektrodo paviršiaus. Kovalentiškai fermentą galima prijungti prie metalų, grafito ar laidžių polimerų paviršiaus. Iš pradžių nešiklio paviršius aktyvuojamas, pvz., metalinis paviršius iki tam tikro laipsnio oksiduojamas, o tik po to prijungiamas fermentas. Kovalentiškai imobilizuota baltymo globulė kartais praranda savo pradinę konformaciją, be to kovalentiniam pririšimui naudojami reagentai gali modifikuoti ir fermento aktyviame centre esančias funkcines grupes. Todėl šio imobilizacijos metodo trūkumas yra žymiai sumažėjęs fermento aktyvumas [3].

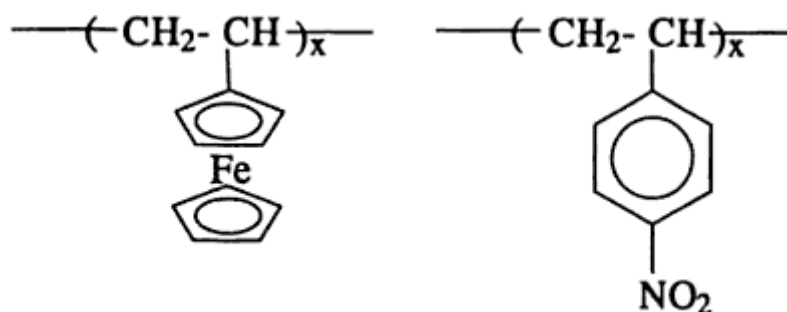
1978 Millerio ir Bardo grupės atskirai parodė, kad chemiškai modifikuoti elektrodai, galėtų būti pagaminti padengus elektrodų paviršių polimerinėmis

plėvelėmis [4,5]. Tai labiausiai universalus požiūris, gaminant chemiškai modifikuotus elektrodus. Iš tiesų, iki chemisorbcijos ir kovalentinio-prisijungimo schemų, polimerinės plėvelės metodas išstūmė visus kitus metodus gaminant chemiškai modifikuotus elektrodus.

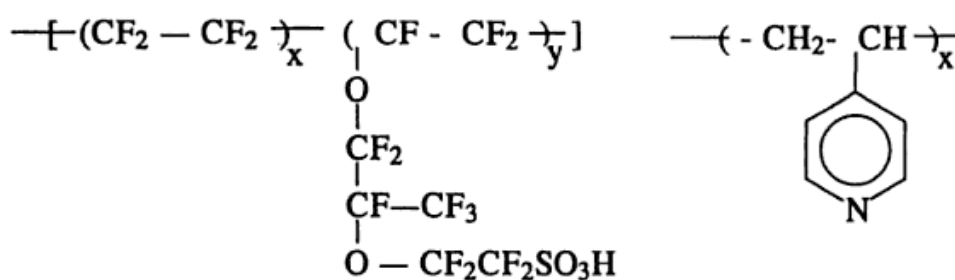
Yra daug priežasčių kodėl polimerinės plėvelės kaip elektrodų modifikatoriai yra populiarūs. Pirma, panaudojant polimeru grandines yra lengva paruošti daugiasluoksnes plėveles. Iš tiesų, nusodintas polimero kiekis (t.y. plėvelės storis) gali būti įvertintas ir atkuriamas įvairiai. Polimero plėvelės gali būti visiškai netirpios kontaktuojant su tirpalo fazę - taigi, medžiagos netekimas iš elektrodo nėra problema. Daugelis organinių polimerų turi didelį cheminį stabilumą - taigi, plėvelės yrimas, paprastai, nėra problema. Galima pagaminti daug skirtingų polimerų - taigi, galima susintetinti polimerus, kuriuose yra bet kuri norima elektroaktyvi cheminė grupė. Galiausiai, kito tipo funkcinės grupės gali būti lengvai pridėtos prie polimero; pvz., siekiant padidinti plėvelės laidumą gali būti pridėtos joninės grupės.

Didelis skaičius polimerų buvo naudojami gaminant chemiškai modifikuotus elektrodus. Kai kurie pavyzdžiai yra pateikti pav. 2. Šios polimerus galima suskirstyti į tris pagrindines kategorijas - redokso polimerai, jonų mainų ir koordinavimo polimerai, ir elektrolaidūs polimerai. Redokso polimerai yra tokie polimerai, kuriuose elektroaktyvios grupės jungiasi arba prie pagrindinio polimero grandinės, arba prie išorinių grupių šioje grandinėje. Pvz. poli (vinilferocenas). Feroceno grupės yra elektroaktyvios ir jungiasi prie polimero grandinės [6].

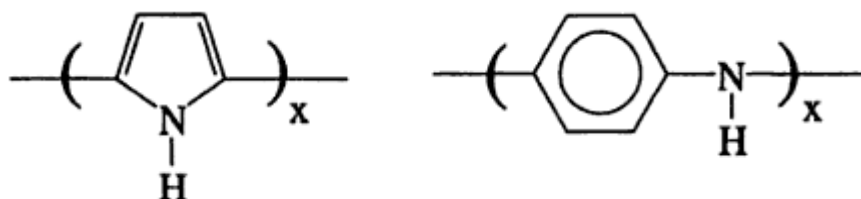
Redokso polimerai



Jonų – mainų ir koordinavimo polimerai



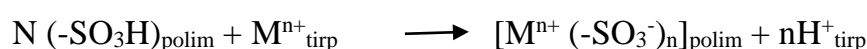
Elektrai laidūs polimerai



Pav. 2 Polimerų molekulės, naudojamos elektrodams modifikuoti.

Modifikuoti elektrodai yra plačiai taikomi, ypač elektrokatalizėje. Čia elektrodai, galintys sumažinti deguonies kiekį vandenyje buvo naudojami kuro elementų ir baterijų sudėtyje. Kitas potencialus taikymas yra elektrochrominių prietaisų, galinčių keisti spalvą oksidacijos ir redukcijos metu, gamyba. Tokie įrenginiai gali būti naudojami monitorių ar smart stiklų ir veidrodžių gamyboje. Elektrocheminiai prietaisai, kurie gali tarnauti kaip molekuliniai elektroniniai prietaisai, pavyzdžiui, diodai ir tranzistoriai, taip pat yra intensyviai tiriama. Galiausiai, svarbiausias šių elektrodų panaudojimas yra analitiniai jutikliai, kurie yra selektyvūs tam tikros rūšies dalelėms ar funkcinei grupei [7].

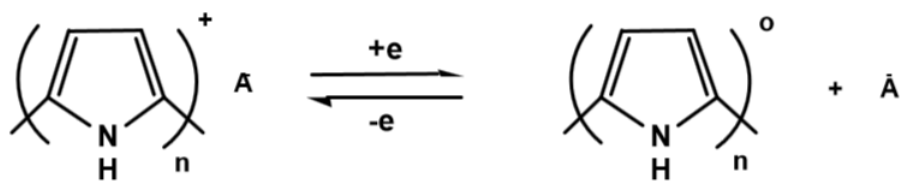
Jonų mainų ir koordinavimo polimerai nėra elektroaktyvūs savaime, bet gali prijungti elektroaktyves molekules. Pavyzdžiui, Anson grupė parodė, kad plėvelė poli (vinilpiridino) gali prijungti elektroaktyvius koordinacinius nesočiųjų metalų kompleksus per metalą prie polimero piridino [8]. Be to, jonų mainų polimerai prijungia elektroaktyvius priešjonus per jonų mainų reakcija. Plačiausiai šio tipo ištirtas polimeras yra Du Pont perfluorosulfonato jonomeras, Nafion. Nafion yra stipri rūgštis, jonų mainų polimeras. Protonas gali būti pakeistas elektroaktyviu katijonu (M^{n+})



kur indeksas "polim" reiškia polimerą ir indeksas "tirp" reiškia kontaktuojančio tirpalo fazę, kurioje yra keičiantis katijonas. Daug elektroaktyvių katijonų gali būti sujungta su Nafion plėvele ant elektrodo paviršiaus [9].

Nafion plėvele dengti elektrodai turi įdomią istoriją. Tokie elektrodai gaminami užlašinant polimero tirpalo ant elektrodo paviršiaus. Tačiau iki 1982, tik du Pont žinojo, kaip tirpinti polimerą, ir jis davė šio polimero tirpalus tik dviem JAV laboratorijoms. Šios laboratorijos parodė, kad šis polimeras yra labai įdomi ir universali medžiaga chemiškai modifikuotų elektrodų gamyboje. Deja, jokia kita laboratorija negalėjo gauti į savo rankas šio polimero tirpalo. Ši situacija smarkiai pasikeitė, kai Martino grupė parengė Nafiono formos tirpinimo tvarką [10]. Netrukus po to, šio polimero tirpalai atsirado prekyboje. Nuo tada Nafion plėvele dengti elektrodai tapo plačiausiai chemiškai tiriami modifikuoti elektrodai.

Trečia klasė polimerų, naudojamų gaminant chemiškai modifikuotus elektrodus yra elektrolaidūs polimerai [11]. Polimero grandinės šių medžiagų šeimoje yra elektroaktyvus savaime. Pavyzdžiui, polimero polipirolo redokso reakciją galima užrašyti taip:



[Krūvio balanso anijonai ateina iš kontaktuojančio elektrolito.] Dėl to kad polimeras yra konjuguotas, katijoninė grupė, sukurta oksidacijos metu yra delokalizuota išilgai polimero grandinės. Tai galima palyginti su redokso polimeru, pavyzdžiui, poli (vinilferocenu), kur teigiamas krūvis, atsiradęs oksidacijos metu, yra lokalizuotas feroceno fragmente. Laidžių polimerų delokalizacija padaro šios polimerus elektroniniais laidininkais (t.y. panašius į metalus) [11]. Per pastarąjį dešimtmetį ši unikali medžiagų klasė sukėlė didelį susidomėjimą, o elektrochemikai padarė svarbų įnašą į mūsų supratimą apie šias medžiagas. Arturo F. Diaz IBM padėjo kuriant sintetinius metodus ir tyrinėjo, kaip polimerų struktūra įtakoja šių medžiagų laidumą [12].

Įvairūs metodai gali būti naudojami polimerų plėvele dengtus elektrodų ruošimui. Paprasčiausias būdas yra įmerkti norimą padengti paviršių į polimero tirpalą, ištraukti elektrodą iš tirpalo ir leisti tirpikliui išgaruoti. Nors šis metodas yra labai paprastas, bet yra sunku kontroliuoti medžiagos kiekį, kuris nusėda ant elektrodo paviršiaus. Matuojamas tirpalo, kuriame bus dengiamas paviršius, tūris. Tai leidžia tiksliai kontroliuoti nusodinto polimero kiekį. Polimero plėvelė taip pat gali būti dengta sukant elektrodo paviršių. Spin-danga plačiai naudojama puslaidininkių pramonėje ir duoda vienoda plėvelės storį.

Polimerinės plėvelės, taip pat gali būti elektropolimerizuotos tiesiai ant elektrodo paviršiaus. Pavyzdys, Abruna kt. parodė, kad vinilpiridino ir vinilbipiridino polimerinių plėvelių įvairių metalo jonų kompleksus galima elektropolimerizuoti ant elektrodo paviršiaus, sudėtyje bus elektroaktyviojo metalo kompleksas [13]. Elektrolaidūs polimerai gali būti elektrosintezuoti iš atitinkamo monomero. Taip ant elektrodo paviršiaus gaunama polimero plėvelė [11]. Elektropolimerizuotos plėvelės taip pat buvo gautos iš styreno, fenolio ir vinilo monomerų [6].

Elektrai laidžių polimerų stabilumas yra ypač svarbus praktiniam šių medžiagų pritaikymui. Todėl daug dėmesio skiriama elektrolaidžių polimerų stabilumo ir įrimo nustatymui. Dauguma skelbiamų darbų yra susiję su elektrocheminiu stabilumo tyrimu. [14]

Nanotechnologijos yra sparčiai besivystanti sritis, ieškanti naujų medžiagų, sprendžiant sudėtingas bioanalitinės problemas, įskaitant, konkrečiai, stabilumą ir jautrumą. Čia laidūs polimerai gali būti naudojami kaip puiki priemonė siekiant pagaminti nanokompleksus su biomolekulėmis, baltymais ir viengrandinės DNR oligomerais. Kai laidūs polimerai su priedais ir / arba kovalentiškai arba ne kovalentiškai pakeičia minėtus bionanomaterialus, atsiranda unikalios katalizinės [15] ar giminingumo [16] savybės, kurios gali būti lengvai taikomos bioanalitinių jutiklių gamyboje [17].

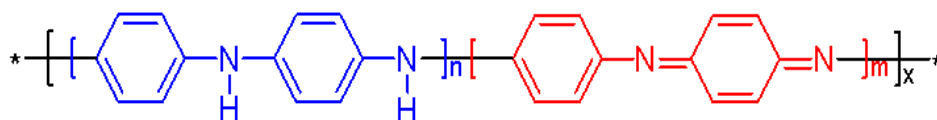
Dažniausiai naudojami polimerai – polipirolas, polianilinas, politiofenas. Šių polimerų sintezės metodika paprasta, o švelnios jos sąlygos leidžia polimerizacijos metu imobilizuoti fermentus, tarpininkus.

Polianilinas kaip ir polipirolas gali būti formuojamas elektrocheminės sintezės būdu, tačiau elektriškai laidžios formos gaunamos tik iš rūgščių tirpalų [3].

1.2. Elektrodo modifikavimas polimerais (elektropolimerizacija):

1.2.1. Polianilinas

Polianilinas (PANI) yra vienas iš labiausiai paplitusių laidžių polimerų, kuris yra gaminamas oksiduojant aniliną rūgščioje terpėje ir aptinkamas nuosėdų pavidale (pav. 3) [18]. Tipiškas plėvelės storis yra apie 40–500 nm, priklausomai nuo polimerizacijos sąlygų. Plėvelės gali būti gaunamos ne tik ant stiklo paviršiaus, bet ir beveik ant visų medžiagų, kurios yra stabilios reakcijos terpėje. Laidžios ir spalvotos PANI plėvelės naudojamos kaip amoniako jutikliai ir taikomos įvairių substratų paviršiaus modifikavimui.



Pav.3 Polianilino struktūra.

Manoma, kad anilino molekulės ar mažos molekulinės masės tarpiniai junginiai absorbuojasi ant paviršių ir inicijuoja PANI grandžių augimą. Tai leidžia manyti, kad grandinės auga daugiausiai statmenai paviršiui ir suformuoja persipynusių polimerinių grandinių aibę.

Anilino polimerizacija prasideda ant paviršiaus (skatinant PANI plėvelės augimą) arba vandeninėje terpėje (dalyvaujant PANI tarpinėms dalelėms). Eksperimentiškai buvo pastebėta, kad įvairios medžiagos įvestos į mišinį – tokios kaip skaidulos, audiniai, neorganinės medžiagos ir polimerinės dalelės – pagreitina PANI formavimąsi. Tuo pačiu metu jos pasidengia PANI sluoksniu [19]. Manoma, kad fazių sąlyčio ribos dalyvavimas turi didelę įtaką polimerizacijos procesams. Bet buvo pastebėta, kad polimerizacija paprastai prasideda medžiagos tūryje. Plėvelė susiformuoja ant medžiagos paviršiaus net neprasidėjus polimerizacijai visame reakcijos tūryje. To reiškimo priežastis gali būti tai, kad vyksta heterogeninė katalizė. Yra manoma, kad anilinas ar mažos molekulinės masės oksiduotos tarpinės dalelės, tai yra anilino katijono – radikalas, absorbuojasi ant visų prieinamų paviršių. Absorbuotos molekulės tokiu būdu turi padidinti polimerinių grandinių augimą [20].

Yra nustatyta, kad polianilinas turi tris oksidacinius būvius: a) pilnai redukuotas leukoemeraldinas, b) pusiau – oksiduotas emeraldinas, c) pilnai oksiduotas pernigranilinas [21]. Vienintelė laidži forma yra emeraldino druska, kuri yra emeraldino bazės protonizuota forma. Emeraldino bazė susidaranti iš polianilino, panaudojus stiprias rūgštis ir dalyvaujant bazinėms dalelėms (amino ir imino grupės) ant polimerinio pagrindo gali būti protonizuota iki emeraldino druskos.

Savaime pasidengiančio polianilino dariniai sudaro svarbią laidžių polimerų klasę, kuri parodo oksidacijos - redukcijos aktyvumą daug platesniame pH intervale negu grynas polianilinas. To priežastimi yra rūgštinių grupių,

kurios pakeičia teigiamo krūvio anijonus ant polimerinio pagrindo buvimas. Savaiminis pasidengimas vyksta tada, kai konjuguotas pagrindas pasižymi baziškumu, o rūgšties veikimas yra stiprus. Tai rodo, kad vyksta protonizavimas. Toks intramolekulinis praskiedimas sąlygoja daug savaime pasidengiančio polianilino savitųjų bruožų, kurie skiriasi nuo būdingų grynam polianilinui. Pavyzdžiui, polianilinas praranda oksidacinį - redukcinį aktyvumą esant pH reikšmei didesnei nei 3 ar 4, tuo tarpu savaime pasidengiantys dariniai, kai kuriais atvejais, yra aktyvūs net iki pH 14. Dėl to polianilino panaudojimas elektrokatalitiniuose virsmuose, jutikliuose ir biojutikliuose yra gana platus. Šalia oksidacinio - redukcinio aktyvumo savaime pasidengiantis polianilinas pasižymi ir tirpumu vandenyje. Įprastinis polianilinas nėra tirpus nei vandeniniuose tirpikliuose, nei daugumoje organinių tirpiklių, nors jo tirpumas yra svarbus paviršiaus apdorojimui. Tokių funkcinių grupių kaip sulfonilinės buvimas ant savaime pasidengiančio polianilino pagrindo žymiai padidina polianilino tirpumą. Pavyzdžiui, savaime pasidengiantis polianilinas tirpsta baziniuose vandeniniuose tirpaluose, lyginant su grynu polianilinu, kuris baziniuose vandeniniuose tirpaluose egzistuoja netirpioje izoliuotoje formoje.

Polianilino ciklinėse voltamperogramuose stebimos 2 redokso smailių poros, kurios atitinka nelaidžios (redukuotos) formos virsmą į laidžią tarpinę oksiduotą formą (leucoemeraldinas iki emeraldino); $E_{1/2} = \sim 0,2 \text{ V Ag/AgCl}$ atžvilgiu ir pilnai oksiduotos tarpinės formos (emeraldinas iki pernigranilino); $E_{1/2} = \sim 0,65 \text{ V Ag/AgCl}$ atžvilgiu. Esant pH reikšmei didesnei kaip 4, tik viena smailių pora yra stebima iki tol, kol bus pasiektas neutralus pH. Tai reiškia, kad emeraldino forma yra nestabili šiame pH intervale [22].

Remiantis Goodson [23] tyrimais, pirma smailė (0,29 V) atitinka vieno elektrono atidavimą nuo kaimyninės p-fenileno dalies. Nepaprastai smaili pirma oksidacijos smailė yra susijusi su kompaktinės polimerinės struktūros persigrupavimu. Plati dviejų elektronų smailė (0,79 V), yra viso azoto iki iminų oksidacijos rezultatas [23].

Anilinas ir jo dariniai yra naudojami įvairių organinių junginių (pvz., dažai, agrochemikalai, vaistinės medžiagos ir sintetinės dervos) gamyboje.

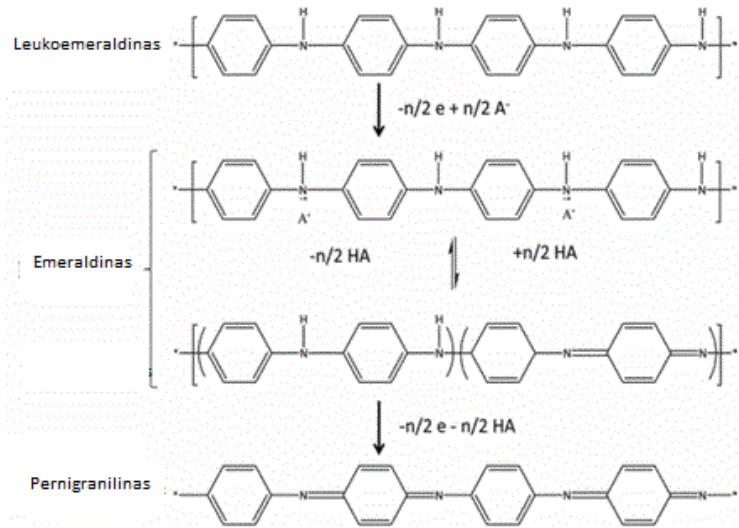
Anilinas, paplitęs vandenyje sukelia vandens augalų augimo kitimą. Anilinas yra kancerogeninė medžiaga [24], kuri lengvai reaguoja kraujyje, paverčia hemoglobina metahemoglobinu, tuo sumažina deguonies kiekį kraujyje. Net nedidelės anilino koncentracijos ilgai su juo kontaktuojant sukelia rimtas sveikatos problemas. Cheminė bei elektrocheminė anilino oksidacija, kurios metu pasigamina laidus polimeras (polianilinas), labai sudomino mokslininkus dėl jo pritaikymo įvairiose srityse galimybės. Jis naudojamas pvz. electrochrominiuose prietaisuose, cheminiuose jutikliuose, krūvį kaupiančiose sistemose bei apsaugai nuo korozijos. Esant rūgštinei terpei ir didelei anilino koncentracijai elektrocheminių metodų ant elektrodo paviršiaus susiformuoja polianilino plėvelė. Elektrocheminės polimerizacijos metu pradinėje stadijoje anilinas oksiduojamas ir virsta radikaliniu katijonu, kuris vėliau dimerizuojasi. Anilino dimerai, p – aminodifenilaminas (pagrindinis produktas) kartu su bebzidinu ir hidrazobenzenu (šalutinis produktas), oksiduojasi ir jungiasi su anilino monomeru. Kartojant šiuos procesus ant elektrodo paviršiaus plėvelės pavidalu susiformuoja polianilinas. Bendras reakcijos mechanizmas yra gan sudėtingas, nes pasigaminančio polianilino savybės gali keistis priklausomai nuo reakcijos sąlygų: nuo potencialo, anilino koncentracijos, pH ir elektrodo medžiagos ir kt. [25].

Polianilinas yra vienas iš seniausiai susintetintų polimerų; pirma elektrocheminė polianilino sintezė buvo atlikta 1862 m. [26]. Polianilinas ir jo dariniai politoluidai ir polietilanilina gali būti pagaminti cheminės ar elektrocheminės polimerizacijos metu iš anilino monomeru [27-31]. Cheminės polianilino sintezės metu anilinas yra oksiduojamas stipriu oksidatoriumi (pvz., amonio persulfatas) 0-5°C temperatūroje vandeniniame druskos rūgšties tirpale, dažniausiai, 1M HCl. Elektrocheminė polianilino sintezė vykdoma vandeniniame elektrolitų tirpale, turinčiame anilino ir rūgšties, naudojant potenciostatą ar ciklinės voltamperometrijos metodus [29,30]. Siekiant gauti pakankamai greitą elektrocheminę polimerizaciją, abu metodai reikalauja aukšto potencialo – 0,8 – 1,0V. Vienas iš trūkumų naudojant aukštą potencialą elektrocheminės polimerizacijos metu ir stipraus oksidatoriaus cheminės

polimerizacijos metu yra tai, kad vyksta pašalinės reakcijos, tokios kaip kryžminės ir polimero skilimo reakcijos [32]. Anilino polimerizacija yra autokatalitinis procesas [33,34]. Kinetiniai tyrimai rodo, kad pradinė anilino oksidacijos stadija, kurios metu gaminasi tokios dimerinės dalelės kaip p-aminodifenilnaminas, N, N – difenilhidrazinas, ir benzidinas, yra limituojanti polimerizacijos stadija [33,35,36].

Elektrochemiškai polimerizuojant polianiliną ciklinėse voltamperogramose yra stebimos kelios smailės. Po pirmojo ciklo potencialų intervale [-0, 2; 0,8] yra stebimas anodinis pikas ties 0,67 V. Šita smailė priklauso benzidino oksidacijai. Šis procesas yra negrįžtamas, nes redukcijos procese mažėja katodinė srovė. Po antrojo ciklo atsiranda dvi naujos smailės prie 0,17 ir 0,46 V ir pradinė anodinė srovė mažėja ties mažesniu potencialu. Oksidacijos procesai ties šiomis smailėmis yra kvazigrįžtami ir atitinkamos jiems katodinės smailės ties 0,05 ir 0,43 V irgi. Anodinė smailė ties 0,17 V atitinka polianilino oksidaciją, jau nusodinto ant elektrodo iš redukuotos formos iki radikalo (semihinono forma) polianilino kiekio [30,37]. Anodinės srovės didėjimas prie 0,17 V rodo padidėjusį nusodinto polianilino kiekį ant elektrodo. Redokso procesas prie 0,46 V yra sukeltas pašalinių reakcijų, tokių kaip polimero skilimas, produktų. Šitie du redokso procesai $E_{1/2}$ vertėmis 0,13 ir 0,75 V priskiriami dviem kvazigrįžtamoms polianilino redokso reakcijoms: tarpusavio virsmo tarp visiškai redukuotos ir semihinono PANI formų; ir tarp semihinono ir visiškai oksiduotos polianilino formų atitinkamai (1 Schema).

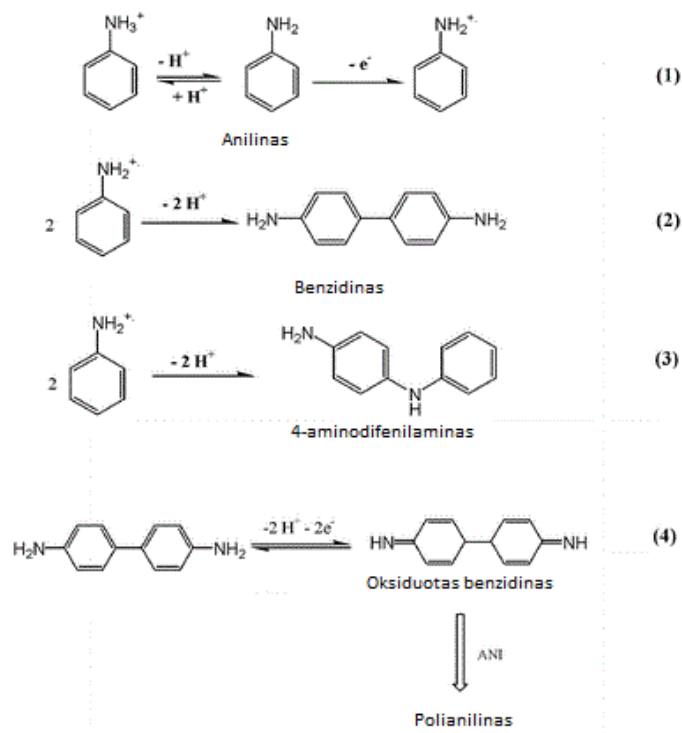
Schema 1. Polianilino formos.



Yra nustatyta, kad bendras ant elektrodo polianilino nusodintas kiekis yra proporcingas anodinės smailės srovei esant 0,17 V.

Cheminės polimerizacijos mechanizmas yra pavaizduotas 2 Schemoje.

Schema 2. Cheminės polimerizacijos mechanizmas.



Pirma stadija (anilino monomero oksidacija iki radikal katijono) yra limituojanti polimerizacijos stadija [33,35,36]. Cheminės oksidacijos metu anilinas gaminasi PANI miltelių pavidale, o elektrocheminės oksidacijos metu

taikant (galvanostatinį, potenciostatinį ar potenciodinaminį metodus) pasigamina absorbuota prie elektrodo paviršiaus polianilino plėvelė. Keli rūgščių tirpalų elektrolitai (HCl, HClO₄ ir H₂SO₄) ir kelios organinių rūgščių elektrolitai (oksalo rūgštis) kaip protoniniai tirpikliai puikiai tinka anilino elektropolimerizacijai. Polimerizacijai dažniausiai naudojami tik keli pagrindiniai elektrodai, tokie kaip Pt, Au ir grafitas. Šie elektrodai yra pasirinkami dėl savo atsparumo korozijai, esant rūgščių elektrolitui ir anodinei polimerizacijai. PANI elektrocheminio nusodinimo metu naudojant ne platinos metalą elektrodas gali būti paveiktas korozijos. Pats elektrodas gali oksiduotis anilino polimerizacijos metu dėl aukšto teigiamo potencialo [38].

1.2.2. Polipirolas. Esant aukštam potencialui oksiduotas polipirolas.

Pats stabiliausias ir lengvai gaunamas laidus polimeras yra polipirolas. Elektrochemiškai formuojant šį laidų polimerą, keičiant polimerizaciją inicijuojančią įtampą, srovę, elektros impulsų trukmę arba potencialo skleidimo greitį, galima tiksliai kontroliuoti susidariusio polipirolo sluoksnio storį, laidį, pralaidumą kai kuriems jonams ir kai kuriuos kitus jo fizikinius bei cheminius parametrus. PPy gali būti kelių rūšių: 1. Neutralus – elektriškai nelaidus, tankios struktūros; 2. Oksiduotas – elektriškai laidus ir porėtas; 3. Peroksiduotas – elektriškai nelaidus, tačiau stabilios struktūros. Oksiduoto polipirolo sluoksnis yra laidus elektrai ir turi bendrą teigiamą krūvį. Apytiksliai vienas teigiamas krūvis tenka keturiems monomero žiedams. Jei elektrocheminės pirolo polimerizacijos metu tirpale yra ir fermento, tai fermento molekulės yra įterpiamos į polimerinį sluoksnį.

Polipirolinių sluoksnių pagrindiniai privalumai:

1. Biologiškai aktyvios medžiagos imobilizacija yra vienos pakopos procesas;
2. Sluoksnio storis yra lengvai kontroliuojamas, nes proporcingas praėjusios srovės kiekiui;
3. Tuo pačiu metu gali būti įterpiami ir elektronus pernešantys tarpininkai;
4. Galima konstruoti daugiasluoksnes sistemas su skirtingais fermentais atskiriame sluoksnyje ir tai leidžia padidinti analizuojamų substratų skaičių;

5. Buvo pastebėtas ir tiesioginis elektronų pernešimas tarp kai kurių fermentų aktyvių centrų ir polipirolo. Todėl elektrocheminės PPy sintezės metu fermentus įterpus į polipirolo sluoksnį galima sukurti biojutiklius kuriuose nereikia naudoti papildomų redokso tarpininkų.

6. Fermentus galima kovalentiškai imobilizuoti ant elektrochemiškai susintetinto polipirolo sluoksnio paviršiaus.

Fermentus galima kovalentiškai imobilizuoti ant laidaus polimero. Polipirolo su įterptu fermento sluoksniu buvo gautas, kopolimerinant gliukozės oksidazę su kovalentiškai prijungtu pirolu. Elektroda, ant kurio yra absorbuotas plonas fermento sluoksnis, galima elektrochemiškai padengti polipirolo sluoksniu. Kartu su fermentu į laidaus polimero formuojamą matricą gali būti įterpiamos redokso tarpininkų molekulės arba jos gali būti kovalentiškai prijungtos prie polipirolo.

Fermentų įterpimas į laidų polipirolo sluoksnį yra labai patogus, kai jais norima modifikuoti elektrodus neišimant iš sudėtingos konfigūracijos elektrocheminės celės arba labai mažus mikrobiojutiklius, kadangi polipirolas formuojasi tik ant to laidaus paviršiaus, kuris tiesiogiai kontaktuoja su polimerizacijai naudojamu tirpalu ir kuriuo teka elektros srovė [3].

Polipirolas (Ppy) yra vienas iš plačiausiai naudojamų laidžių polimerų gaminant bioanalitinius jutiklius [39], taip pat kitiems tikslams. Nuo 1990 iki birželio 2005 metų tik žurnale *Electrochimica Acta* daugiau nei 300 straipsnių buvo skirta įvairių polipirolo savybių tyrimams ir polipirolo pritaikymui. Šio polimero universalumas yra nustatomas pagal keletą savybių: redokso aktyvumą [40], sugebėjimas sudaryti nanolaidus su kambario temperatūros laidumu svyruojančių nuo 10^{-4} iki 10^{-2} cm^{-1} [41], jonų - mainų ir jonų atrankumas [42,43], elektrochrominis poveikis priklausomai nuo elektrocheminės polimerizacijos sąlygų ir įkrovimo / iškrovimo procesų [44], stipri dujų absorbcija [45], baltymų [46], DNR [47], katalizinio aktyvumo [48-50], apsauga nuo korozijos [51] ir t.t. Dauguma šių savybių priklauso nuo sintezės metodo ir nuo difuzanto pobūdžio [16]. Polipirolas gali būti elektrochemiškai sukurtas ir nusodintas ant laidaus paviršiaus. Šis metodas yra sėkmingai naudojamas

kuriant įvairius elektrocheminių sensorių ir biojutiklių tipus. Štai keletas pagrindinių krypčių: (i) kataliziniai jutikliai remiantis imobilizuotais fermentais [15,52,53]; (ii) imunosensoriai remiantis imobilizuotais baltymais [54]; (iii) DNR jutikliai remiantis kovalentiškai surištais ir / ar uždarytais ssDNR [55-57]; (iv) jutikliai remiantis molekuleriai įspaustais polimerais [58]. Šio polimero universalumas nustatomas taip: jo biologinio suderinamumo; gebėjimas paversti energiją, atsipalaiduojančią dėl sąveikos analizės ir nustatomosios analizės į elektrinį signalą, kuris yra lengvai išmatuojamas; gebėjimas apsaugoti elektrodus nuo pašalinių medžiagų; paprasti elektrocheminio nusodinimo būdai ant įvairių elektrodų paviršių. Šiandien šis polimeras tampa vienas iš pagrindinių priemonių nanobiotechnologijose [59].

Pirma kartą polipirolas buvo susintetintas 1912 metais [60]. Polipirolas susintetintas tradiciniais cheminiais metodais netirpsta dažniausiai naudojamuose tirpikliuose, dėl stiprios tarpusavio sąveikos [61]. Yra taikomi du pagrindiniai polipirolo sintezės būdai, kurie grindžiami polimerizacijos sužadinimu pagal įvairius veiksnius: (i) oksiduojančių reagentų cheminis inicijavimas [60,62]; (ii) foto - sukelta sintezė [63]; (iii) anodinės srovės elektrocheminė aktyvacija [64]. Visi minėti polimerizacijos inicijavimo metodai turi tam tikrą pritaikymą, pvz., oksiduojančių reagentų cheminis inicijavimas gali būti sėkmingai taikomas chromatografijos kolonėlių konstravime, kai reikalingas didelis kiekis polipirolo [65]. Naudojant cheminį [62] ar net biocheminį [66] metodus yra lengva paruošti Ppy daleles skirtingo ir / arba kontroliuojamo dydžio, kuris svyruoja nuo kelių nanometrų iki kelių mikronų, ir / ar turinčius įvairius intarpus. Be to, naudojant cheminius metodus galima vienodai atlikti šio polimero oksidaciją esant aukštam potencialui, kas yra ypatingai svarbu chromatografijoje, kur molekuleriai įspaustas Ppy gali būti gaminamas, molekulių selektyvumas - nuo mažų organinių [67-69] iki didelės molekulinės masės biomolekulių [58]. Foto sukelta Ppy sintezė yra patraukli fotolitografijoje, nes ji leidžia keisti susintetinto Ppy morfologiją, keičiant sužadinimo šviesos bangos ilgį [70], ir teoriškai tai gali būti taikoma konstruojant elektroninius čipus. Tačiau dėl lėtos šviesos sukeltos

polimerizacijos šis polimerizacijos tipas yra vis dar labai mažai taikomas, palyginti su chemine arba elektrochemine polimerizacija.

Naudojant chemiškai sukeltą polimerizaciją, Ppy daugiausiai gaminamas tirpale, ir tik dalis susintetinto polipirolo dengia pateiktą medžiagos paviršių. Tai reiškia, kad chemiškai sukelta polimerizacija, atsižvelgiant į Ppy nusodinimą ant kai kurių paviršių, nėra labai veiksminga. Be to, Ppy beveik netirpsta įprastuose tirpikliuose, išskyrus kai kuriuos atvejus, kai jis yra legiruotas medžiaga, didinančią jo tirpumą [71]. Tai reiškia, kad šio polimero nusodinimas (pvz., tirpiklio išgaravimas) iš tirpalo, kurio sudėtyje yra ištirpinto polimero yra įmanomas tuomet, kai polimeras yra dar koloidų dalelių pavidalu [66]. Tačiau didžiausia kliūtis naudojant šį nusodinimo metodą yra prastas šio polimero sukibimas su paviršiumi, priešingai nei naudojant elektrocheminę polimerizaciją. Tačiau visų šių trūkumų galima išvengti, taikant elektrocheminę polimerizaciją. Tai leidžia atlikti polimero nusodinimą elektrocheminėje celėje. Tai priežastis, kodėl, kai reikalingas plonas polipirolo sluoksnis, elektrocheminė polimerizacija yra pagrindinis nusodinimo metodas. Naudojant šį metodą, sluoksnio storis ir morfologija gali būti kontroliuojami taikant tiksliai apibrėžtą potencialą ir žinomą srovę, tekančią per elektrocheminę celę [72]. Elektrocheminis Ppy nusodinimas gali būti atliktas iš įvairių tirpiklių (pvz., acetonitrilo, vandens).

Atsižvelgiant į polipirolo struktūrą yra labai svarbu, kad Ppy sintezė būtų atliekama vandeniniame tirpale esant neutraliam pH, nes tada polipirolą galima naudoti įvairių biologinių, pavyzdžiui, mažų organinių molekulių, baltymų, DNR ir net gyvų ląstelių tyrimams. Ypatingais atvejais esant aukštam potencialui oksiduotas Ppy gali būti sintetinamas, ir uždaryta molekulė ir/ ar difuzantas gali būti pašalinti iš Ppy struktūros. Tokiais atvejais taip vadinamos molekulės įspausti polimerai gali būti sukurti. Be to, elektrocheminė polimerizacija leidžia atlikti polipirolo sluoksnio nusodinimą geometriškai sudėtingos elektrocheminės celės viduje [73], ir tai nekelia abejonių, kad šis polimerizacijos metodas gali būti labai sėkmingai naudojamas Ppy nusodinimui mikro skysčių prietaisuose. Be to, elektrocheminiu būdu susintetintas Ppy turi

keletą patrauklių savybių, pavyzdžiui, gerą laidumą ir labai gerą šios plėvelės adheziją, net ir neutralaus pH srityse. Kita vertus, elektrocheminės Ppy savybės labai priklauso nuo šio polimero redokso būsenos. Prie teigiamų potencialų vyksta oksidacija esant aukštam potencialui, kas veda link Ppy laidumo mažėjimo ir leidžia lengviau nutekėti anijoninėms molekulėms, jei jos buvo įtrauktos į polimerinį pagrindą. Ppy oksidacija esant žemam teigiamam potencialui vandenyje ir / arba deguonį turinčioje aplinkoje veda link dalinio polimerinio pagrindo irimo ir deguonies turinčių (karboksilo, karbonilo ir hidroksilo) grupių susidarymo. Esant aukštam potencialui oksiduotas Ppy turi elektroanalitinį pritaikymą, kur reikalingas selektyvumas ir yra dažnai naudojamas kaip selektyvi membrana, kuri žymiai padidina elektrocheminių biojutiklių selektyvumą [74,75]. Elektrocheminis polipirolo sintezės pajėgumas žymiai išplėstas, kadangi nusodinant Ppy ant elektrodų gali būti taikomi keletas skirtingų elektrocheminių metodų: elektronusodinimas esant pastoviam potencialui, galvanostatinis nusodinimas, ciklinė voltamperometrija ir impulsinio potencialo metodai [76].

Impulsinio potencialo metodas labiausiai tinka Ppy nanostruktūrai, įvedant biologiškai aktyvius komponentus šio polimero viduje. Impulsiniai potencialo metodai leidžia padidinti biologiškai aktyvios medžiagos koncentraciją nano - ploname polipirolo sluoksnyje viduje [76], nes galima užduoti įvairius potencialus. Aukštojo potencialo laipteliai yra taikomi Ppy polimerizacijos inicijavimui. Polimerizacijos ir mažesnio arba neigiamo potencialo laipteliai yra naudojami įtraukiant didelius kiekius biomedžiagos, kuri yra uždaryta į polimerinį pagrindą polimerizacijos metu. Potencialo laiptelių skaičių, potencialo dydį ir trukmę kiekvieno laiptelio galima nustatyti individualiai, priklausomai nuo tam tikrų taikymo reikalavimų. Visi minėti veiksniai leidžia pagaminti įvairius nanostruktūrinius polimerinius sluoksnius su skirtingomis analitinėmis charakteristikomis, net tame pačiame polimerizacijos tirpale. Apskritai, pagal galimus variantus ir polimerizacijos kontrolės sąlygas, elektrocheminė polimerizacija yra labiau universalus, negu cheminė polimerizacija, metodas. Be to, elektrocheminių metodų derinimas su kai kuriais

cheminio paviršiaus modifikavimo metodais atveria šio polimero pagrindu naujas galimybes kuriant naujus nanostruktūrinius mazgus. Buvo parodyta, kad elektrochemiškai nusodinto Ppy polimero paviršius po keletu papildomų elektrocheminių/cheminių funkcionalizavimų gali būti kovalentiškai modifikuotas fermentais [77]. Šios struktūros taikomos biologinės katalizės biosensorių gamyboje ir yra įrodyta, kad Ppy sluoksnis, modifikuotas tuo pačiu fermentu, pasižymi skirtingu selektyvumu įvairiems substratams, jei yra taikomi skirtingi Ppy modifikavimo metodai.

Tačiau, yra keletas konkrečių atvejų, kai cheminiai polimerizacijos metodai turi tam tikrų pranašumų, palyginti su elektrocheminiais metodais. Cheminiai metodai vis dar naudojami, kai reikalingas didelis kiekis Ppy arba tinkamos Ppy struktūros pvz., nanodalelės arba Ppy padengtos nanodalelės iš kitų medžiagų. Chemiškai susintetinti polipirolo nanokompleksai yra daugiausia naudojami chromatografijos tikslams [69], kartu elektrocheminiai metodai dažniausiai naudojami gaminant cheminius jutiklius, biojutiklius ir detektorius. Taigi, apskritai, abu Ppy sintezės metodai taikomi konkrečiose srityse įvairiems technologiniams tikslams pasiekti.

Svarbiausi argumentai, kuriant bet kurio tipo elektrocheminius biojutiklius yra: (i) bio – katalizatoriaus imobilizavimas; (ii) atitinkamo elektrocheminio metodo taikymas (pvz. potenciometrinis, amperometrinis ir impedanso metodai dažniausiai taikomi analitinio signalo registravimui gaminant elektrocheminius sensorius ir biojutiklius); (iii) sukurti veiksmingą elektronų perdavimą jei taikomas amperometrinis aptikimo metodas. Todėl biologiškai aktyvios medžiagos imobilizavimas turi lemiamą reikšmę kuriant biojutiklius [78], nes jis leidžia taikyti tas pačias biologiškai aktyvias medžiagas keliems analizės ciklams. Sėkmingos biomedžiagos imobilizacijos reikalavimai: (i) biologinio atpažinimo savybės ir / arba biomedžiagos katalitinės savybės turėtų išlikti po imobilizacijos; (ii) biomedžiaga turi gerai sukibti su substratu, kitaip biojutiklis praras savo aktyvumą; (iii) pagerinti ar bent minimaliai sumažinti sukonstruoto biojutiklio ar bioanalitinės sistemos selektyvumą; (iv) pagerinti elektronų perdavimą, jei kaip signalo perdavimo sistema taikomi

amperometriniai matavimai. Norėdami išspręsti daugumą, o kartais ir visas šias užduotis, laidūs polimerai gali būti taikomi kaip labai veiksmingas biomedžiagos imobilizavimui substratas. Tarp kitų laidžių polimerų, polianilinas yra dažnai naudojamas kaip imobilizuojantis substratas biomolekulėms [75], o kartais kaip efektyvus katalizatorius. Tačiau, būtinybė aptikti biologines analites neutralioje pH srityje sukelia nusodintos plėvelės elektrinį inertiškumą, ir sumažina polianilino ir polithiopheno kaip biosensorinių medžiagų panaudojimą. Priešingai negu polianilinas, polipirolas gali būti lengvai nusodintas iš neutralaus pH vandeninio tirpalo, kurio sudėtyje yra pirolo monomero. Tai daro šį polimerą labai patraukliu ir šiuo metu jis yra vienas iš plačiausiai naudojamų įvairių biomolekulių ir net gyvų ląstelių imobilizacijai. Kita vertus, Ppy dažnai naudojamas katalitiniuose ir giminingose biojutikliuose, nes pasižymi geru biologiniu suderinamumu ir lengvu biomolekulių imobilizavimu [79]. Biomedžiagos gali būti imobilizuotos įvairiais metodais: (i) absorbcija ant elektrochemiškai arba chemiškai suformuoto Ppy paviršiaus [80]; (ii) įstrigimas elektrocheminio polipirolo nusodinimo metu [53,64,72,73,76]; (iii) savarankiškas įstrigimas, jei biomedžiaga gali inicijuoti polipirolo sintezę [66]. Kaip buvo minėta ankstesnėje pastraipoje, cheminio inicijavimo metu yra lengva pagaminti didelį kiekį modifikuoto polipirolo biomedžiagos, tačiau šis metodas netinka tiksliai apibrėžtos kelių sluoksnių struktūros formavimui, pavyzdžiui, kas paprastai reikalinga kuriant jutiklį. Priešingai, elektrocheminė Ppy polimerizacija leidžia suformuoti vienodas plėveles, kurių storis ir morfologija gali būti kontroliuojami, reguliuojant tekančią srovę ir / arba potencialą. Impulsinio potencialo metodai leidžia sukcentruoti biologiškai aktyvias molekules (pvz., DNR, fermentus, ir tt), taikant tinkamą potencialą tarp impulsų inicijuojant polipirolo polimerizaciją [81]. Dauguma atvejų impulsų metodas leidžia bent jau išvengti stipraus biologiškai aktyvių junginių koncentracijos prie elektrodo paviršiaus mažėjimo, kuris vyksta pastovios difuzijos režime ir tai lyginant su nusistovėjusia polimerizacija labai padidina biologiškai aktyvių junginių kiekį plėvelės viduje, . Be to, buvo įrodyta, kad Ppy gali labai efektyviai atskirti katijonus ir anijonus, nes Ppy pralaidumas ir

selektyvumas priklauso nuo polimerizacijos metu įtrauktų priešjonių taip pat ir nuo jonų, esančių mėginyje [43]. Ypatingais atvejais anijonais (pvz. fosfatas) legiruotas elektrochemiškai nusodintas Ppy, gali būti nelaidus anijonams, kas yra labai naudinga, kuriant elektrocheminius biojutiklius, nes dauguma trukdančių medžiagų, esančių biologiniuose mėginiuose, yra anijonai [74,75]. Taip pat buvo įrodyta, kad Ppy apsaugo elektrodus nuo užteršimo baltymais ir kitomis biologinėmis medžiagomis, esančiomis natūraliuose mėginiuose, tokiuose kaip kraujo serumas ir šlapimas [82].

Ppy stabilumas yra pakankamas ir daugiausia nustatomas skylant Ppy vandenyje, jei atliekami nuolatiniai matavimai. Taigi, Ppy turi labai įdomių savybių: (i) jis gali būti susintetintas elektrochemiškai ir modifikuotas fermentais kelias skirtingais būdais, kas suteikia skirtingas analitines savybes sukonstruotiems biosensoriams; (ii) saugo elektrodus nuo užteršimo ir sulaiko medžiagas, tokias kaip elektroaktyvūs anijonai; (iii) yra biologiškai suderinamas ir, vadinasi, sukelia minimalią ir grįžtamą trikdymą darbo aplinkai; (iv) kai kuriais ypatingais atvejais gali būti naudojamas kaip redokso tarpininkas, perduodant elektronus iš redukuojamo fermento link elektrodų [83].

Elektrolaidžių polimerų adhezija su metaliniu pagrindu, yra labai svarbi daugelyje pritaikymo sričių, kur reikalingas geras elektrinis kontaktas ir sistemos patvarumas. Vienas iš pavyzdžių, gali būti polipirolo kaip veikliosios sudedamosios dvisluoksnės arba daugiasluoksnės juostelės dirbtinių raumenų ir mikromontuojamų struktūrų panaudojimas [84-86].

Kai kuriuose darbuose buvo tiriama elektrocheminė polipirolo sintezė ant įvairių metalo paviršių. Pramoninio paruošimo požiūriu, taip pat kitam taikymui pagrindinė sąlyga yra atlikti Ppy sintezę iš vandeninio tirpalo. Inertinių metalo konstrukcijų (Pt, Au) atveju nėra jokių elektrocheminio Ppy nusodinimo problemų. Oksiduojant metalų (Fe, Al, Ti) atveju visada yra konkurencija tarp dviejų vienašalių oksidacijos procesų: Ppy formavimo ir metalo oksido. Pastarasis procesas, pasyvuodamas metalo paviršių, gali slopinti Ppy elektropolimerizaciją. Ppy plėvelės elektronusodimas ant plono (2000 -3000 Å) išgarinto metalo paviršiaus buvo tiriamas Prejza ir kt. Jie negalėjo užauginti

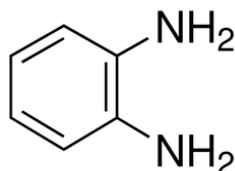
Ppy sluoksnį ant Al ir kitų metalų iš organinių tirpiklių, nes metalo plėvele tiesiog ištirpdavo iki elektropolimerizacinio proceso pradžios. Ppy plėveles gali būti elektrochemiškai susintetintos ant Al ir Ti metalinių plokštelių iš organinių tirpiklių (acetonitrilo, propileno karbonato). Elektrolitinio nusodinimo procesas ant Ti, Al ir kitų metalų iš vandeninių ir nevandeninių elektrolitų buvo tiriamas Beck ir kt.. Gera adhezija pasižymintys Ppy sluoksniai gali būti elektronusodinti ant Al iš vandeninių rūgščių tirpalų ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, HNO_3 , H_2SO_4) [18]. Lacaze kt. tirdamas geležies išankstinį apdorojimą praskiesta azoto rūgštimi, gavo gera adhezija pasižymintį Ppy sluoksnį. Ta pati mokslininkų grupė susintetino Ppy plėveles, pasižyminčias gera adhezija oksiduojamam metalui (geležies, cinko, vario, nikelio arba aliuminio), taip pat be pagrindo apdorojimo vandeniniu arba vandeniniu - alkoholio elektrolizės tirpalu, turinčiu salicilato jonų [87]. Šios Ppy plėvelės pasižymi geromis nuo korozijos apsaugančiomis savybėmis [88].

Laidžių polimerų plėvelių, tokių kaip polipirolas, taikymas buvo plačiai tiriamas analizinėje chemijoje ir cheminiuose jutikliuose arba biosensoriuose. Pavyzdžiui, Ppy pridėjimas gali būti naudojamas amperometriniams elektriškai neaktyvių anijonų aptikimui [89,90] ir savito laidumo Ppy plėvelių, legiruotų skirtingomis dalelėmis, nustatymui garuose ir dujose [91].

Ppy overoksidacija yra destruktivus procesas, kurio metu Ppy oksiduojamas iki aukštos oksidacijos būsenos, kurioje jis yra jautrus nukleofilinei atakai [92]. Šis procesas paprastai sukelia papildomų karbonilo grupių prisijungimą prie pirola žiedų [92,93] prarandant jungtis ir elektroninį laidumą. Oksidacija esant aukštam potencialui peroksiduotam Ppy (OPPy) ir peroksiduotu polipirolu dengtoms plėvelėms suteikia elektroneigiamas savybes [94,95], dėl to plėvelė tampa pusiau laidu katijonams. Nedidelio anijonų kiekio pridėjimas iš esant aukštam potencialui oksiduotam polipirolui buvo tiriamas Beck ir kt. [96]. Pavyzdžiui ClO_4^- arba EtSO_4^- anijonai gali būti lengvai aptikti elementinės analizės būdu. ClO_4^- atveju maždaug 25-33% anijonų gali būti pašalinti oksiduojant esant aukštam potencialui būdu iš 0,1 M arba 1 M NaOH tirpalo. EtSO_4^- atveju oksidacija esant aukštam potencialui 1 M NaOH sukėlė

visišką anijonų pašalinimą iš plėvelės, bet oksidacija esant aukštam potencialui 0,1 M NaOH sukėlė tik dalinį anijonų pašalinimą [97].

1.2.3. Ortofenilendiaminas



Polimerai susintetinti iš aromatinių diaminų paprastai laikomi labiau patraukliais, nes jie demonstruoja daugiau neįprasto funkcionalumo, palyginti su polianilinu (PANI) ir jo analoginiais dariniais. Aromatiniai diaminai buvo panaudoti naujų polimerų sintezėje, siekiant gauti medžiagas, kurios pasižymi geresniu cheminiu funkcionalumu, turi geras mechanines ir šilumines savybes [98]. Fenilendiaminas priklauso anilino klasės (ANI) dariniams, turintiems papildomą NH_2 grupę o-, m-ir p-padėtyse. Nors daug straipsnių pateikiama apie m-ir p-izomerų polimerizaciją [99], o-fenilendiaminas (OPD) yra dažniausiai aprašomas polimeras. Poli (o-fenilendiaminas) (POPD) rodo skirtingas molekulinės struktūras ir savybes, lyginant su PANI [98]. Jis yra naudojamas daugybėje sričių: jutiklių ir biojutiklių, kuro elementų, akumuliatorių gamyboje, ir apsaugai nuo korozijos [100]. Dažniausiai yra skelbiama kad POPD yra aromatinis polimeras, turintis 2,3-diaminofenazino arba hinonoksalino pasikartojančių grandžių struktūrą ir pasižymi neįprastai dideliu termostabilumu ar panašią į PANI struktūrą [101]. Remiantis infraraudonųjų spindulių, Ramano ir UV-VIS spektroskopijos rezultatais, kvarco kristalo mikrosvarstyklių tyrimais, radiometrija ir elektrocheminiais metodais paaiškėjo kad POPD turi fenazino tipo struktūrą. Elektriškai aktyvūs polimerai, paprastai, yra skirstomi į elektriškai laidžius ir redokso polimerus. Abi klasės pasižymi skirtingu laidumo mechanizmu. Paprastai krūvininkų ir artimos struktūros sąveikos buvimas yra laikomas labai svarbiu geram elektriniam laidumui. Elektrolaidžių polimerų atveju, pvz PANI laidumas yra susijęs su krūvininkų padėtimi polimero grandinėje. Redokso polimerų laidumas yra pasiekiamas šuoliniu mechanizmu,

todėl redokso polimerų laidumas yra daug mažesnis nei elektrolaidžių polimerų [98,102]. POPD yra priskiriamas redokso polimerų klasei. Taip pat yra siūlomas dviejų etapų elektrooksidacijos procesas fenazino tipo POPD struktūrai [103]. Todėl oksidacija visiškai redukuotos iki visiškai oksiduotos formos POPD vyksta per tarpinę būseną - pusiau oksiduotos formos polimerą. Tačiau literatūroje nėra įtikinamų įrodymų apie neutralios būsenos, vadinamos redukuota būsena, buvimą. Tai yra akivaizdžiai klaidinga, ypač atsižvelgiant į tuos polimerus, kuriuos galima redukuoti (n – legiruotas) vietoje oksidavimo (p - legiruotas) [104].

Poli (o-fenilendiaminas) yra įdomus elektrolaidus polimeras dėl savo laidumo [105], elektrochrominių [106] ir fotoelektroninių [107] savybių, o ypač dėl selektyvinio pralaidumo. Dėl šių savybių POPD plačiai naudojamas elektrokatalizėje, elektrochrominiuose ekranuose [106], jutiklių ir biojutiklių gamyboje, apsaugai nuo korozijos, fotoelektrochemijoje ir molekule įspaustuose polimeruose. Daug tyrimų apie POPD sintezę ir taikymą buvo paskelbta ir plačiai persvarstoma. POPD, naudojamas kaip fermento uždara membrana amperometriiniuose biojutikliuose, vaidina svarbų vaidmenį slopinant elektrocheminę atsaką dažnai atsirandančių elektrinių trukdžių. Au / poli (o-fenilendiaminas) elektrodas buvo pasirinktas žemo dažnio talpos elektrolaidžių polimerų tyrimui kaip pavyzdinis sistemos modelis. Neseniai o-fenilendiamino kopolimerai gavo daugiau dėmesio, nes jie gali pagerinti fizines ir chemines savybes, jų vienaarūšių polimerų. Elektrocheminė o-PD polimerizacija buvo plačiai naudojama POPD gavimui, kadangi šis metodas yra patogus dėl savo tiesioginio elektrocheminio pritaikymo, elektrinių savybių tyrimo ir elektrocheminių POPD savybių. Tačiau POPD plėvelė gauta naudojant elektrocheminę sintezę, yra plona, dėl jos mažo laidumo, esant aukštam potencialui, kas mažina plėvelės augimą.

Poli (o-fenilendiaminas) gali būti susintetintas ciklinės voltamperometrijos metodu elektrocheminės polimerizacijos metu. Dažniausiai polimerizacijai yra naudojamas OPD tirpalas sieros rūgšties tirpale. Ciklinėje voltamperogramoje po pirmojo ciklo yra stebima didelė oksidacijos smailė ties

0,98 dėl OPD oksidacijos. Polimero susidarymo įrodymas yra oksidacijos smailė ties 0,074 V ir jo atitinkama redukcijos smailė ties 0,058 V. Oksidacinio piko srovė 0,98 V mažėja palaipsniui ir piko potencialas su kiekvienu ciklu pasistumia teigiamo potencialo kryptimi. Tai rodo, kad polimero plėvelės laidumas yra gana mažas. Ryškiai mažėjant smailės srovei su vis didesniu ciklų skaičiumi, polimerinės plėvelės augimo tempas žymiai sulėtėja, ir susiformuoja tik plona POPD plėvelė [105]. Elektrolizei prasidėjus, bespalvis tirpalas palaipsniui tampa giliai geltonos spalvos, tai rodo, kad oligomeras, susidaręs ant elektrodo, ištirpo tirpale [108].

Tarp daugelio laidžiųjų ir elektroaktyvių polimerų, POPD yra labai svarbūs dėl savo potencialaus naudojimo įvairiose technologijų srityse. POPD gali būti lengvai gaunamas kaip plonas savaime reguliuojamo storio sluoksnis ant skirtingų laidžiųjų substratų anodinės elektropolimerizacijos metu [109-111]. POPD sluoksniai gali būti gerai ištirti elektrochemiškai, kvarco kristalo mikrosvarstyklėmis, radioaktyviųjų, SPM ir įvairiais spektroskopijos metodais.

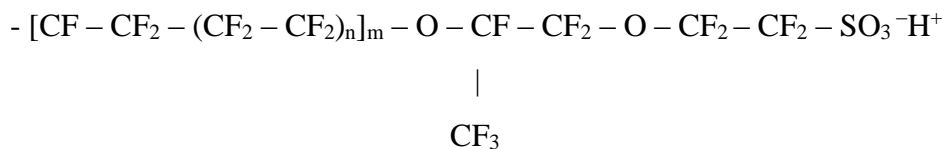
POPD turi dvi išskirtines savybes, skirtingas nuo tų charakteristikų būdingų laidiesiems polimerai, pavyzdžiui, polianilinui ar polipirului. Viena iš šių savybių yra susijusi su neįprasta priklausomybe nuo šio polimero elektrinio laidumo redukuotos formos. Skirtingai nei PANI arba PPy, POPD redukuota forma pasižymi laidumu, o jo oksiduota forma pasižymi izoliacinėmis savybėmis. Tai lemia elektrocheminės POPD savybės, nes daugelio elektrodų turi siaurą redokso potencialų langą [112,113]. Šiame potencialų lange prasideda kai kurių dalelių elektrokatalizinė oksidacija, dėl to POPD naudojimas išsiplėčia – ji galima naudoti kaip jutiklių ir biojutiklių dangą [114], pvz., kofermento NADH elektrooksidacijai.

Dar viena naudinga POPD savybė yra jo selektyvumas. Patekęs ant elektrodo, POPD praleidžia mažas redokso aktyvias medžiagas, pavyzdžiui, vandenilio peroksida, o daugelis kitų dalelių, didesnio dydžio, yra sulaikomos polimeras / tirpalo sąsajoje. Ši naudinga POPD savybė yra plačiai naudojama jutiklių ir biojutiklių tobulinimui.

Daugelyje pritaikymo sričių yra ypač svarbus POPD stabilumas. Yra gerai žinoma, kad, kai yra naudojamos elektrocheminės sistemos, daugelis žinomų laidžių polimerų elektrochemiškai skyla į mažos molekulinės masės skilimo produktus [115]. Be to, buvo įrodyta, kad elektrocheminio polimero skilimas priklauso nuo elektrodo potencialo, pvz., elektrodo potencialo padidėjimas 0,7-1,0 V sukelia skilimo greičio konstantos padidėjimą maždaug iki dviejų kartų, tai buvo pastebėta PANI [116,117] ir poli (N-benzylanilino) [118] atvejais [119].

1.2.4. Nafionas

Nafionas, kurio cheminė formulė



yra labiausiai tiriama jonimerinė membrana dėl savo gero pritaikymo elektrochemijoje. Jo struktūra, charakterizuota mikrofazių atskyrimo, buvo tyrinėta naudojant mažų kampų išbarstymą neutronais (SANS) ir X-ray (SAXS). Dėl jonimerinio piko, kuris yra ryškiausia jo spektro savybė, buvimo prie 0,11 Å⁻¹ buvo tyrinėtas transformacijos momento kitimas (q) nuo 0,01 iki 0,4 Å⁻¹. Yra dar 2 pagrindinės nafiono savybės: esant mažoms q reikšmėms (q ≈ 0,02 Å⁻¹); bei briauna, kuri, kuri yra asocijuota į aukščiausio kristalizacijos laipsnio polimerą iki šiol iki galo nėra ištirta. O prie didesnių q reikšmių (q > 0, 2 Å⁻¹) sumažėja intensyvumo išsibarstymas, charakterizuojamas pagal Parodo dėsnį. Nepaisant atliktų tyrimų, nafiono struktūra dar sukelia daug ginčijų ir yra siūlomi keli jos modeliai. Labiausiai paplitęs yra Gierke's modelis [120]: polimeras linkęs suformuoti atvirkščias micles (spindulys apie 20 Å), sujungtas į mažas cilindro formos poras (ilgis - 10 Å, spindulys 5 Å). Dreyfuso modelis [121] yra išvestas iš Gierkes modelio, kur micelės sudaro deimanto pavidalo tinklelį, tik su trumpesniais atstumais tarp atomų. Mokslininkas Litt [122], analizuodamas jonimerinių smailių poslinkį su vandeninėmis frakcijomis, apibūdino nafiono

struktūrą kaip plonasluoksnių klasterių sistemą. Manoma, kad nafiono struktūra yra tarp “atvirkštinės micelės” ir “tiesioginės micelės”. Taip pat buvo nustatyta, kad nafiono membrana turi griežtai atskirtus nanodomenus. Fiksuotos sulfanilinės grupės yra išsidėsčiusios tų domenų viršuje, o $N(CH_3)_4^+$ priešjonai sukonzentruoti ant įkrauto paviršiaus. Sferinės ar ištįsusios tuštumos yra užpildytos elektrolito tirpalu ir sferiniai ar strypelio pavidalo polimerų agregatai yra apsupti elektrolitų [123].

Polimeras nafionas dažnai apibūdinamas kaip matrica skirta elektrodo modifikavimui, plėvelė teikianti stiprų anijonų išsiskyrimą ir jautrumą katijonams. Nafiono savybės yra susietos su jo mikrostruktūra ir jos modifikavimu šildant.

Nafiono struktūra susideda iš trijų dalių: hidrofobinis fluoranglies pagrindas, hidrofilinis joninis klasteris iš sulfanilinių rūgštinių grupių ir tarpfazinės dalies [124]. Didelis nafiono selektyvumas ir cheminis bei terminis stabilumas aiškinami jo struktūra. Yra trys pagrindiniai plėvelių tipai: a) pramoninės membranos, b) plėvelės, išskirtos iš tirpalų kambario temperatūroje ir c) perdirbtos plėvelės, kaitinant nafioną aukštą virimo temperatūrą turinčiose tirpikliuose. Išskirtos iš tirpalų plėvelės yra geriau tirpios ir laidžios, negu pramoninės membranos ar iškaitintos plėvelės. Pramoninėse ir atkaitintose plėvelėse, kai jos yra kaitinamos arti stiklėjimo temperatūros ($T_g = 109\text{ }^\circ\text{C}$ protonizuotam nafionui), vyksta morfologiniai pakeitimai. Atšaldytos plėvelės turi micelių konfigūraciją su sulfoninėmis grupėmis šonuose; kaitinama struktūra persitvarko į invertuotą micelę su sulfoninėmis grupėmis viduje [125].

Nafiono pralaidumas yra svarbus jutikliuose, elektrodų modifikavime, ir kaip tarpiklis elektrocheminėse celėse. Skvarba ir laidumas priklauso nuo plėvelės storio esant šlapiam pavidalui. Šlapios plėvelės storį daugiausiai lemia nafiono masė ir tankis. Daugumos šlapių plėvelių tankiai yra apie $1,58\text{ g/cm}^3$. Ši reikšmė buvo nustatyta Mauritz bendradarbiais [126] pramoniniam nafionui 1100. Moore ir Martin [127] nustatė, kad plėvelės tirtos aukšto virimo tirpikliuose virsdavo netirpiomis, ir trapiomis. Michael ir Wightman [128]

nustatė, kad stabilios ir lanksčios plėvelės susiformuoja kaitinant plėvelės iki 80°C.

Nafionu padengtos plėvelės plačiai naudojamos mikroelektrodų paviršiaus modifikavimui, jautriam ir selektyviam biologinių medžiagų nustatymui, esant, pvz., askorbo rūgščiai. Padengus mikroelektrodą nafiono sluoksniu labai padidėja elektrodo atsako laikas. Paprastai nafiono sluoksnis formuojamas tiesiog užlašinant 5 % nafiono tirpalą alifatiniam alkoholyje ant elektrodo paviršiaus ir duodant šiam sluoksniui išdžiūti kambario arba pečiujė esant 170°C temperatūrai [129].

Protonams laidžios katijoninės membranos plačiai naudojamos įvairiose sistemose, tokiose kaip kuro celės, baterijose, elektrocheminiuose prietaisuose ir sensoriuose. Iš nafiono sudarytas sluoksnis dažniausiai naudojamas protonams laidžiai membranai gaminti. Tačiau didelė nafiono membranų kaina yra viena iš priežasčių, kodėl technologijose nafionas nėra plačiai naudojamas. Be to Nafiono membranos gyvavimo laikas yra trumpas.

Protonų laidžios membranos yra vienas iš pagrindinių polimerinių elektrolitų kuro elementų komponentų. Svarbiausia šio tipo membrana yra Nafion®. Tai yra dėl unikalios Nafiono molekulinės struktūros - perfluorinto jonometro su neigiamą krūvį turinčiomis sulfoninėmis grupėmis šono grandinėse. Panašus į tefloną pagrindas suteikia molekulei puikų stabilumą, atsižvelgiant į cheminę aplinką ir elektrochemines sąlygas kuro elementuose. Molekulė turi šukų formos struktūrą, tarpusavyje susijungiančią kristalizacijos proceso metu, susiduriant su pavienių hidrofobinių ir hidrofilių galų fazių atskyrimu morfologija. Hidrofilinė fazė suteikia joniniam laidžiam vandeniui užpildytam tinkleliui protonų laidumą. Šita mikrostruktūra stipriai įtakoja membranos hidrataciją ir laidumą.

Gerai žinoma Nafiono® mikrostruktūra stipriai priklauso nuo hidratacijos būklės, temperatūros ir srovės. Šitie morfologiniai pokyčiai gali būti greiti, pvz., liečiantis su vandeniu paviršiaus restruktūrizavimas per kelias sekundes, arba lėti, pavyzdžiui, stabilios būsenos pasiekimas gali užtrukti dienas ar net mėnesius [130].

Dauguma Nafiono[®] struktūrinių modelių pirmiausia remiasi Eisenbergo aprašymu, kuris mano, jog tai yra disperguotų joninių klasterių hidrofobinė polimerinė matrica, skirta sumažinti bendrą laisvą sistemos energiją [131]. Šie modeliai buvo naudojami siekiant apibūdinti stiprų Nafiono pabrinkimą vandenyje ir stiprią laidumo priklausomybę nuo vandens kiekio. Tačiau polimero svarba dėl jo savybių buvo pripažinta visai neseniai. Atlikus kelis tyrimus paaiškėjo, kad lėčiausia stadija yra vandens transportas tarpfazinėje sandūroje [132,133]. Laidaus tinklelio viduje yra ribinis slėgis, ir hidratacijos būseną yra balansas tarp skirtingų jėgų. Viena jėga yra osmosinis slėgis, atsiradęs dėl sulfoninių grupių, antra - tamprumo slėgis, atsiradęs dėl visco - elastinės matricos deformacijos. Mikro fazės atskyrimas stabilizuojamas vidinio paviršiaus įtempimo, kuris sukelia papildomą Laplaso slėgį [134,135].

Nafiono mikrostruktūra buvo intensyvių tyrimų objektas. Vienas iš pirmųjų išsamius tyrimus, orientuotus į morfologinę struktūrą, atliko Gierke [136-138]. Gierke pasiūlė klasterio modelį, sudarytą iš prijungtų kamuolinių joninių klasterių ir bando paaiškinti kodėl vandens tūrio dalis yra didesnė nei 20 %. Neseniai (2008) iš mažo kampo rentgeno spindulių sklaidos (Saxs) eksperimentu, kurie galėtų paaiškinti kaip vandens tūris didėja buvo nustatyti lygiagrečios cilindro formos vandens nano- kanalai. Taip pat buvo atsižvelgta į kristalinių egzistavimą. Gebelis, atlikęs eksperimentus su nedidelio kampo neutronų sklaida, pasiūlė kitą struktūrinį Nafiono modelis, kuris apibūdina membraną kaip polimerinių grandinių sistemą, kuri formuoja pailgus daiktus (supaprastinta kaip cilindrai) jonų terpėje. Toliau šie junginiai sudaro ryšius, kurie orientuojasi tarp molekulių. Pagal šį modelį, vandens terpė apibūdinama kaip 3D nuolatinė terpė (kaip vandens sorbcijos funkcija), o ne uždaras vandens molekulių kanalas (1D) ir apverstas micelių tinklelis [139]. Schmidt-Rohr ir Gebel modeliai yra priešaringi paprastu aspektu: pirmasis autorius prognozuoja polimero kanalus, kuriuose vanduo yra struktūros viduje, o antrasis autorius prognozuoja kad polimeras yra apsuptas vandens.

Nafiono[®] nano-struktūra buvo intensyviai tirama kaip temperatūros ir vandens kiekio funkcija, nes struktūrinių aspektų tyrimai pagal srovę yra labai

reti. Iš kompleksinio Nafion[®] elgesio yra žinoma, kad esant pusiausvyrai ir netekant srovei, stiprią įtaką struktūrai gali daryti su vandens srautu susijęs protonų laidumas.

Tarpfazinė struktūra yra labai svarbi kuro elementų laidumui, nes ji jungia membraną prie elektrodų. Tarpfazinė struktūra priklauso nuo membranos ir kontaktinės medžiagos paviršiaus energijos. Tarpfazinis Nafiono[®] plotas, hidrofiliinio paviršiaus dalis ir, tokiu būdu, visa tarpfazinė energija yra glaudžiai susijusi su jo nano struktūra [134]. Nafiono[®] sąsajos struktūra sąlytyje su vandeniu ir vandens garais išsamiau buvo ištirta Bass ir kt, atsižvelgiant į polimerinių hidrofiliinių skaidulų pripildytų vandens orientaciją. Polimerų kryptis išlieka lygiagrečiai sąsajos metu su kietų / dujų arba linkusi būti statmena skysto vandens sąsajoje. Lygiagrečiai sujungtų hidrofiliinių kanalų plokštelių struktūra neleidžia lengvai vandeniui skverbtis į membraną. Priešingai, membranos sąlytyje su tirpalu ar vandeniu polimeras persiorientuoja statmena membranos paviršiui kryptimi, tada vanduo gali patekti gyliai ir atidaryti laidžius hidrofiliinius kanalus. Remiantis skirtingų sąsajų matavimais, buvo apskaičiuota, kad hidrofiliinio ploto dalis gali pasikeisti nuo 0,05 sausam polimerui iki didesnio nei 0,11 vandens garuose ir iki 0,95 tirpale [134,135].

Celėje situacija yra dar sudėtingesnė, nes membranos būseną labai priklauso nuo srovės stiprumo ir tyrimo sąlygų. Įjungus srovę, vanduo transportuojamas elektro – osmosiniu slėgiu per membraną nuo anodo prie katodo, dėl to gerokai pasikeičia vandens kiekis membranos viduje ir paviršiuje. Katodo paviršiuje vanduo gaminamas elektrocheminės reakcijos metu. Vietoj pusiausvyros, yra pasiekama stabili būseną, kuri su laiku keičiasi dinaminės reakcijos metu. Tarpfazinė riba, kurioje vyksta reakcija, apima ne tik vandenį, bet ir platinos paviršių, ir tai palyginus su gryno vandens paviršiaus sąsaja, gali pakeisti Nafion[®] ryšulių paviršiaus struktūrą [140].

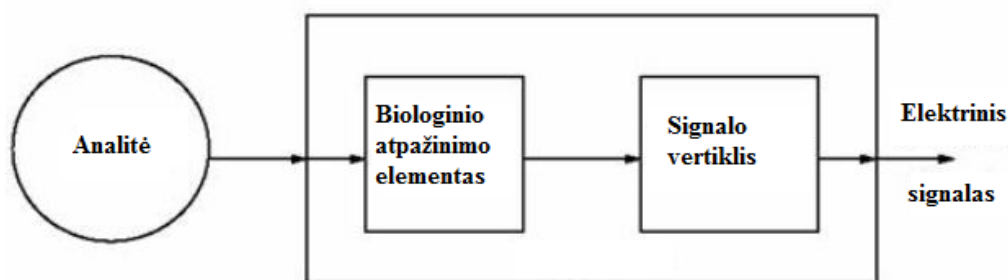
1.3. Biojutikliai

Šiuo metu nustatant biologiškai aktyvių medžiagų koncentracijas vis dar taikoma daug metodų, kur reikia tiriamąsias medžiagas išskirti iš natūralios

aplinkos, todėl naujų analitinių sistemų, kuriomis būtų galima nustatyti įvairių analičių koncentracijas tiesiog tiriamoje aplinkoje neatliekant papildomų išskyrimo ir/arba gryninimo veiksmų, kūrimas darosi vis aktualesnis. Šiems tikslams vis dažniau naudojami biologiniai jutikliai (biojutikliai) [141].

Biojutiklis – tai daugiakomponentė sistema, susidedanti bent iš trijų pagrindinių dalių: biologinio atpažinimo dalies, signalo vertiklio ir signalą registruojančio įrenginio (Schema 3). Biojutiklių konstravimas tapo aktuali šiuolaikinės analitinės chemijos uždaviniu ir biojutikliai šiuo metu vis plačiau taikomi medicinoje, žemės ūkyje, aplinkosaugoje ir biologinių procesų tyrimams.

Schema 3. Biojutiklio schema.



Kuriant biojutiklius, kaip biologinio atpažinimo sistemas, yra naudojami daugialąsčiai gyvi organizmai, jų organai arba ląstelės, bakterijos, receptoriai, antikūnai, antigenai ir fermentai. Panaudojant skirtingas biologines atpažinimo sistemas, galima sukurti biojutiklius, labai jautrius ir selektyvius tik vienai medžiagų klasei, vienam konkrečiam junginiui, o dažnai tik vienam jo izomerui.

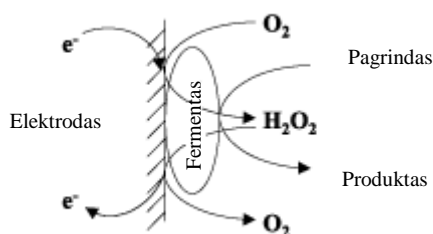
Didžiausia biojutiklių klasė yra fermentiniai biojutikliai. Kuriant šiuos biojutiklius gali būti panaudojami įvairių tipų signalų vertikliai. Pagal tai biojutikliai skirstomi į optinius, gravimetrinius, elektrocheminius.

Elektrocheminių jutiklių naudojimas praktiniams tikslams, paprastai, yra žymiai pigesnis ir paprastesnis, negu optinių arba gravimetrinių, kadangi pakankamai gera optinė arba tiksli gravimetrinė įranga yra žymiai brangesnė už elektrocheminių signalų vertiklius. Tobulėjant mikroelektronikai, ši tendencija

dar labiau ryškėja – mikroschemos ir kiti elektroniniai įrenginiai pinga žymiai greičiau nei, optinė įranga. Be to, panaudojant fermentų įterpimo į elektrochemiškai sintetinus laidžius polimerus technologijas šiuo metu atsiveria naujos elektrocheminių biojutiklių kūrimo ir pritaikymo galimybės. Tai leidžia labai sumažinti biojutiklių matmenis ir daugybę skirtingų biojutiklių integruoti tiesiog mikroschemose. Kas sudaro realias sąlygas mikrosistemų, skirtų lygiagrečiai daugiakomponentei analizei, sukūrimui. Tokiomis sistemomis vienu metu galima registruoti daugelio tiriamų komponentų koncentracijų kitimą. Biojutiklių gamybos procesas, panaudojant laidžius polimerus, gali būti visiškai automatizuotas. Vadinasi sumažina jų gamybos kaštus ir padidina biojutiklių atsikartojamumą.

Elektrocheminiuose biojutikliuose dažniausiai naudojami oksireduktazių klasės fermentai: oksidazės arba dehidrogenazės. Daugelis iš jų pakankamai stabilūs ir lengvai įsigijami, o esant pastoviam potencialui tarp darbinio (fermentu padengto) ir palyginamojo (pvz. Ag/AgCl) elektrodo jų reakcijų substratus ir produktus galima lengvai registruoti. Tokie biojutikliai vadinami amperometriniiais biojutikliais.

Daugiausiai amperometrinių biologinių jutiklių buvo sukurta naudojant oksireduktazės klasės fermentus oksidazes. Šių fermentų naudojimas biologiniuose jutikliuose yra patogus tuo, kad galima registruoti deguonies, vandenilio peroksido arba redokso tarpininko koncentracijų pokyčius prie elektrodo paviršiaus esančiame sluoksnyje (pav.4) [3].



Pav. 4. Fermento veikimas biojutiklyje.

Šiuo metu amperimetriniai biojutikliai dažniausiai naudojami įvairių metabolitų koncentracijoms matuoti. Jų veikimas paremtas elektroaktyvus

junginio oksidacija arba redukcija ant darbinio elektrodo paviršiaus, esant pastoviam jo potencialui. Šiuo elektrodu tekanti srovė matuojama naudojant dvielektrodines arba trielektrodines elektrochemines schemas. Trielektrodė elektrodų jungimo schema kompensuoja potencialo kritimą, atsirandantį srovei praeinant pro tirpalą, bei neleidžia suirti palyginamajam elektrodui, todėl matavimo rezultatai gaunami tikslesni negu matuojant dvielektrodine schema. Palyginamaisiais elektrodais dažniausiai naudojami sidabro chloridinis arba kalomelio elektrodai. Darbinis ir pagalbinis elektrodai turi būti chemiškai inertiški ir gebėti priimti elektronus iš elektroaktyvaus junginio. Tam naudojami taurieji metalai, tokie kaip Au, Pt, taip pat įvairios struktūros anglis, t.y. amorfinis grafitas ar stiklo anglis. Taip pat kaip elektrodo medžiaga naudojami laidūs polimerai, laidžios organinės druskos.

Esant tam tikram elektrodo potencialui, galima amperometriškai registruoti reakcijos substratų, produktų, oksiduotų arba redukuotų redokso tarpininkų formų koncentracijas. Amperometrinio matavimo metu vyksta heterogeninės prigimties procesai, todėl reakcijos greitis priklauso nuo elektronų pernešimo ant elektrodo paviršiaus greičio ir analizės pernašos prie paviršiaus masės. Jei bendrą proceso greitį riboja reaguojančios medžiagos difuzinio pernešimo prie elektrodo greitis, elektrocheminė reakcija yra pakankamai greita, o elektrodo poliarizacija didelė, t.y. darbinis elektrodas dirba ribinės difuzinės srovės režime, tai matuojamoji srovė tam tikrame koncentracijų diapazone yra tiesiogiai proporcinga elektrochemiškai aktyvaus junginio koncentracijai.

Pagalbinio elektrodo plotas turi būti mažiausiai dešimt kartų didesnis negu darbinio elektrodo, kad difuzijos reiškiniai šio elektrodo paviršiuje neįtakotų amperometrinio signalo dydžio [141].

Konstruojant pirmuosius amperometrinius biosensorius, buvo naudojami deguonies koncentracijoms jautrūs amperometriniai davikliai, kadangi juos yra lengva panaudoti biojutikliuose oksidazių pagrindu. Jei biojutikliai susideda iš atitinkamo oksidaziniu aktyvumu pasižyminčio fermento, imobilizuoto ant jon-atrankaus elektrodo paviršiaus, tokio kaip Clark'o tipo deguonies elektrodo, tai fermentinės reakcijos metu susinaudoja arba pasigamina elektrochemiškai

aktyvi medžiaga arba jonas, kuris amperometriškai registruojamas kaip analitės koncentracijos funkcija.

Šiek tiek vėliau pradėti taikyti vandenilio peroksido koncentracijai jautrūs davikliai. Jų veikimas pagrįstas vandenilio peroksido oksidacijos ant anodo procesu. Iš platinos arba grafito pagamintam anodui, optimalios oksidacijos proceso sąlygos yra +600 mV pagal Ag/AgCl potencialas, kai pH yra 8,1. Didėjant analitės koncentracijai tiriamame tirpale didėja ir prielektrodiniame sluoksnyje susidarančio vandenilio peroksido koncentracija, todėl didėja ir biojutikliumi registruojama anodinė srovė.

Biokatalizatoriai – fermentai, efektyviai ir selektyviai dalyvaujantys biocheminėse reakcijose, vis plačiau taikomi analitinėje chemijoje.

Visi fermentai yra baltymai. Jie sumažina cheminės reakcijos aktyvacijos energiją ir didina tam tikros cheminės reakcijos greitį, patys proceso eigoje nesusinaudodami. Jie yra labai specifiški substratų atžvilgiu ir veikia švelniose sąlygose. Fermentinės reakcijos metu susidaro fermento – substrato kompleksas. Cheminė reakcija vyksta tik tuomet, jei fermentas ir substratas turi tokią geometrinę formą, kad abi molekulės gali viena su kita suartėti. Ta fermento vieta, kuri specifiskai sąveikauja su substratu, vadinama fermento aktyviu centru. Substratas prie fermento aktyvaus centro prisijungia kovalentinėmis jungtimis. Taip pat gali susidaryti hidrofobinės ir elektrostatinės sąveikos bei vandenilinės jungtys. Substratas, sąveikaudamas su fermento aktyviu centru, priartėja prie fermento specifinių grupių, kurių veikimas performuoja atitinkamas substrato jungtis, paversdamas jį kitu junginiu.

Kuriant amperometrinius biojutiklius dažniausiai naudojami oksireduktazių klasės fermentai. Oksireduktazių klasės fermentų aktyvumas priklauso nuo baltymo struktūros. Jo aktyvumui reikalinga nebaltiminė prostetinė grupė – kofaktorius. Jį gali sudaryti metalų jonai (Fe, Zn ir kt.) arba sudetingi organiniai junginiai, vadinami kofermentais. Gamtinis fermento kompleksas su kofaktoriumi vadinamas holofermentu, o neaktyvus baltymas – apofermentu.

Daugiausiai amperometrinių biojutiklių buvo sukurta naudojant oksidazes. Šių fermentų taikymas biojutikliuose yra patogus, kadangi galima registruoti deguonies koncentracijos pokytį prielektrodiniame sluoksnyje. Tačiau biojutikliai, kuriuose panaudotos oksidazės, turi esminį trūkumą: jie yra jautrūs tiriamoje terpėje ištirpusio deguonies koncentracijai, o vienas iš substratų visų oksidazių katalizuojamose reakcijose yra deguonis.

Taip pat galima registruoti ir susidarančio produkto – vandenilio peroksido – koncentracijos kitimą. O, siekiant išvengti nepastovios ištirpusio deguonies koncentracijos įtakos, biojutikliuose buvo pritaikyti redokso tarpininkai, sugebantys pakankamai efektyviai konkuruoti su deguonimi dėl fermento aktyvaus centro [3].

Kuriant biologinius jutiklius, labai svarbu, kad sąveika tarp biologiškai aktyvios medžiagos ir signalo vertiklio būtų kuo veiksmingesnė. Todėl ieškoma vis naujų biologiškai aktyvių medžiagų imobilizavimo metodų ir naujų medžiagų, kurios galėtų būti naudojamos biologiškai aktyvioms medžiagoms imobilizuoti. Elektrai laidūs polimerai – kaip tik tokios medžiagos, kurios gali būti naudojamos biologiniuose jutikliuose imobilizuojant biologiškai aktyvias medžiagas ir gerinant šių analitinių sistemų charakteristikas. Šių polimerų pagrindas yra iššėstinė – p konjuguota grandinė. Elektrai laidūs polimerai – tai nauja medžiagų, kurių elektroninės savybės artimos metalams ir/arba puslaidininkiams, klasė. Tačiau skirtingai nuo metalų ir puslaidininkių, kurie natūraliai egzistuoja gamtoje, elektrai laidūs polimerai yra chemiškai sintetiniai. Kadangi elektrai laidžių polimerų savybės priklauso nuo jų sandaros ir cheminės struktūros, tai jų sintezė leidžia kurti unikaliomis savybėmis pasižyminčias elektronines medžiagas. Elektrai laidūs polimerai puikiai tinka elektrai laidies paviršiams modifikuoti ir biologiškai aktyvioms medžiagoms imobilizuoti [141].

1.4. Bioanalizėje svarbių medžiagų elektrocheminė elgsena ant modifikuotų elektrodų

1.4.1. Paracetamolis

Paracetamolis (N-acetil-p-aminofenolis) yra dažniausiai naudojamas skausmą ir karščiavimą mažinantis vaistas [142]. 1893 von Meringo paracetamolis (PC) pirmą kartą buvo pristatytas medicinoje kaip karščiavimą mažinantis analgetikas. Jis buvo naudojamas namuose daugiau kaip 30 metų ir buvo pripažintas kaip labai veiksminga gydymo priemonė nuo skausmo ir karščiavimo suaugusiems ir vaikams. Daugelyje šalių tai dažniausiai naudojamas vaistas po acetilsalicilo rūgšties, aspirino ir fenacetino alternatyva [143]. Paracetamolis kaip molekulės modelis buvo pasirinktas dėl savo populiarumo ir elektroaktyvumo. Paracetamolio poveikis pirolu elektropolimerizacijai sukelia oksidacijos piko potencialo pasistūmimą į daugiau anodinę pusę, 0,1-0,30 V. Elektropolimerizacijos metu paracetamolio molekulės difunduoja elektrodo paviršiaus link ir įstringa polimero matricoje. Molekulių įspaudimas yra skatinamas elektroaktyvaus pagrindo difuzijos, sukuriant daug didesnę jautrių vietų skaičių. Jei pagrindas yra neelektroaktyvus, molekulinė difuzija link elektrodo yra sustabdoma jau po pirmojo ciklo dėl nelaidaus polimerinio sluoksnio, kuris apsaugo pagrindą ir taip sumažina skaičių aktyvių vietų formavimąsi, susiformavimo. Laidaus polimero elektronusodinio metu paracetamolio pagrindo molekulės įstringa polimero matricoje. Deguonies atomas paracetamolio molekulės CO grupėje sudaro vandenilinius ryšius su vandenilio atomu N-H grupėje iš pirolu vienetų. Vandenilinis ryšys gali turėti poveikį molekuliškai įspausto polimero pH. Čia gali būti ir vandenilio ryšys tarp azoto atomo N-H grupės paracetamolio molekulėje ir vandenilio atomo N-H grupės pirolu molekulėje. Pirolu molekulių grandinės šakojasi ir susisiuva [144], sukurdamos trimatę matricą su paracetamolio molekulėms tinkamomis vietomis. Neutralioje aplinkoje paracetamolis oksiduojasi iki N- acetil- p- chinonemino [145]. Didelės srovės smailės ir oksidacijos potencialo pasistūmimas 80 mV anodine kryptimi aiškiai

įrodo katalitinį molekuliškai įspausto polimero poveikį paracetamolio oksidacijai [146].

Šis vaistas pasižymi švelnių šalutinių poveikių. Kepenų mitochondrijos, kaip laisvųjų radikalų formavimo centras yra labai pažeidžiamos perdozavus paracetamolio [147]. Alergija ir anomalijos kraujo kūneliuose yra kelios neigiamos paracetamolio savybės [148]. Didelėmis dozėmis paracetamolis sukuria N-acetil-p-benzochinon imino ir peroksidų susidarymo padidėjimą [149].

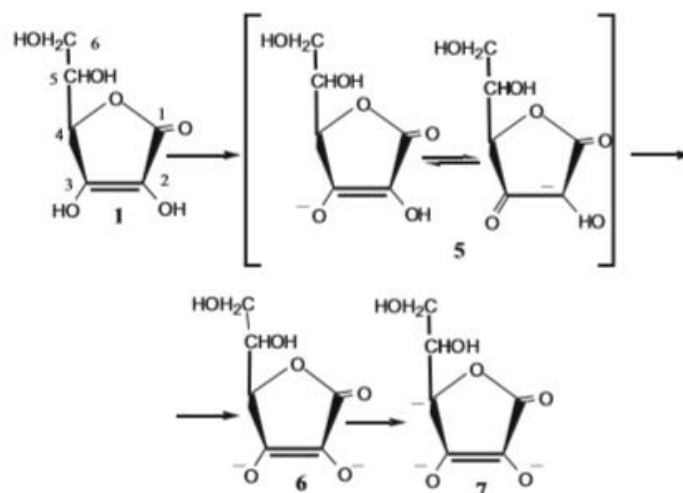
1.4.2. Askorbo rūgštis

L -askorbo rūgštis (ASR) arba 2,3- dehidro L gulono rūgšties laktonas 1, taip pat žinoma kaip vitaminas C, priklauso svarbiausioms medžiagoms, dalyvaujančioms gyvųjų organizmų medžiagų apykaitoje. Šis junginys yra plačiai paplitęs gyvūnų ir augalų ląstelėse, kur jis atlieka įvairias funkcijas. Visų pirma, dalyvauja oksidacijos-redukcijos reakcijose, tarnauja kaip toksinių laisvųjų radikalų gaudyklė ir sudaro kompleksus su metalais ir baltymais [150]. Bestuburiuose askorbo rūgštis vaidina fermentinio hidroksilinimo kofaktorių, dėl kurio prolino liekanos ir jungiamojo audinio kolagenas pavirsta 4 hidroksiprolino likučiais, kurie yra pagrindinis šių gyvūnų audinių komponentas. Be to, askorbo rūgštis dalyvauja fenilalanino ir tirozino apykaitoje, taip pat kai kuriose kitose procesuose. Įvairūs gyvūnai ir augalai sugeba sintetinti reikalingą vitamino C kiekį iš D -gliukozės. Tačiau jūrų kiaulytės, primatai ir žmonės neturi šios galimybės dėl to, kad nėra reikalingo baltymo - gulonolakton oksidazės - ir, vadinasi, turi gauti askorbo rūgšties iš maisto. Šio vitamino trūkumas veda prie skorbutus plėtros - sunkios avitaminozės formos. Mikroorganizmams nereikia askorbo rūgšties ir jie jos nesintetina [151].

Askorbo rūgštis priklauso silpnųjų rūgščių klasei, ji pasižymi hidroksi grupės prie 3-C atomo jonizacija ($pK_a = 4,25$). Silpnai šarminėje terpėje askorbo rūgštis elgiasi kaip divandenilio rūgštis ir sudaro bidentatinį askorbato

anijoną 5 (Schema 4). Labiau šarminėje terpėje askorbo rūgštis gali jonizuoti hidroksi grupę prie 2-C atomo ($pK_a = 11,79$), suformuodama dianijoną 6 [152]. Labai stiprių bazių aplinkoje (pvz., virinant su KOH), askorbo rūgštis sudaro trianijoną 7 su vandenilio jonų trukumu padėtyje 4 (4 Schema). Tai patvirtina askorbo rūgšties ir D-askorbo rūgšties epimerizaciją esant dideliame pH [153].

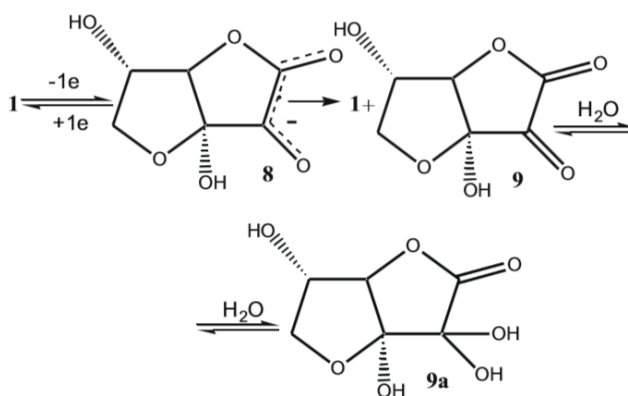
Schema 4



Hidroksi grupės prie 5-C-OH ir 6-C-OH atomų pasižymi savybėmis, būdingomis antrinėms ir pirminėms hidroksi-grupėms, atitinkamai. Jei hidroksi grupė prie 5-C-OH yra pakeičiama nueinančia grupe (pvz., tozilo grupė), tada toliau veikiami bazių (pvz. kalio hidrido) lengvai virsta 4,5-nesočiąja askorbo rūgštimi [154].

Svarbiausia askorbo rūgšties savybė, nustatant jos biologinį reikšmingumą, yra galimybė patekti į oksidacijos-redukcijos reakcijas. Būdamas natūraliu reduktoriumi, askorbo rūgštis dalyvauja oksidacijoje ir atiduoda vieną arba du elektronus. Atiduodama vieną elektroną, askorbo rūgštis virsta radikalais (pagal fiziologinį pH) anijon-radikalų formoje (semidehidroaskorbat radikalas). Yra nustatyta, kad šis radikalas turi biciklinę struktūrą 8 (5 Schema) [155].

Schema 5



Gebantis veikti kaip reduktorius, ir kaip oksidatorius, radikalas 8 yra gana stabilus junginys ir paprastai reaguoja su kita molekule 8, suformuodamas rūgščių mišinį 1:1 ir dehidroaskorbo rūgštį 9 (pasižymi disproporcionavimu [156]). Dėl šios priežasties laisvos 8 koncentracija paprastai yra labai maža [155]. Formavimas ir disproporcionavimas 8 sustabdo įvairias radikalias lipidų inicijavimo ir kitų biologiškai aktyvių junginių oksidacijos reakcijas, tokiu būdu natūraliai gaudydama radikalus [157]. Atiduodama du elektronus, askorbo rūgštis virsta dehidroaskorbo rūgštimi 9, kuri yra stabili vandeniniuose tirpaluose esant pH 2 - 4. Už šio pH ribų, dehidroaskorbo rūgštis lengvai atidaro laktono ciklą (priešingai nuo askorbo rūgšties, kurios laktono ciklas yra stabilus rūgščioje ir šarminėje aplinkose) ir virsta į 2,3- Diketogulono rūgštimi, kuri toliau persitvarko. Pagal BMR duomenis dehidroaskorbo rūgštis egzistuoja daugiausia biciklinio hidrato 9a forma (schema 2) [152]. Dehidroaskorbo rūgštį galima gauti iš askorbo rūgšties, oksiduojant ją su įvairiais junginiais, tokiais kaip halogenai (Cl_2 , Br_2 , I_2), hininai, jodatai ir t.t. [152]. Vienas iš patogiausių būdų yra peroksidinimas su deguonimi ant aktyvintosios anglies etanolyje, metanolyje, vandenyje ar jų mišinyje [158]. Dehidroaskorbo rūgštis atrodo kaip sirupas ir kaip amorfinė medžiaga, kuri yra stabili, saugojant ją $-10\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje [159].

1.4.3. Vandenilio peroksidas

Vandenilio peroksidas (H_2O_2) yra cheminis mišinys, kuris su vandeniu gali pereiti į ląstelių membranas. Plačiai naudojamas daugelyje pramonės procesų, įskaitant tekstilės ir popieriaus balinimą, sterilizaciją, maisto ir farmacijos pramonėje. Todėl greitas ir patikimas vandenilio peroksido koncentracijos aptikimas (svyruoja nuo mikromolio iki dešimčių milimolių) ir yra labai svarbus, nes yra įrodyta, kad kontaktas su H_2O_2 lygiu ≥ 50 mkm yra citotoksinis įvairioms gyvūnų, augalų ir bakterijų ląstelių kultūrai. Be to, H_2O_2 kiekybinis nustatymas, randa vis daugiau panaudojimo - vandenilio peroksidas yra šalutinis daugelio fermentinių reakcijų produktas. Analitiniai metodai, dažniausiai naudojami vandenilio peroksido nustatymui, yra spektrofotometrija [160], chromatografija [161], chemiliuminescencinis [162], fluorescencija [163], titrimetrija [164] ir elektrochemija [165]. Palyginus su kitais metodais, elektrocheminis nustatymas, grindžiamas analitės elektro-redukcijos/oksidacijos, leidžia greitai ir jautriai nustatyti H_2O_2 , su paprastesne eksperimentine aparatūra ir be brangių prietaisų. Tiesioginis elektro-redukcijos/oksidacijos H_2O_2 nustatymas atliekamas ant aukso arba anglies elektrodų ir reikalauja aukšto viršįtampio. Naudojant tokio tipo elektrodus elektrocheminiame vandenilio peroksido jutiklyje, reikia kad jie būtų valdomi tame potencialų intervale, kur negalima išvengti trukdžių problemos, kylančios dėl bendrų elektroaktyvių dalelių. Todėl dauguma elektrocheminių vandenilio peroksido jutiklių mokslinių tyrimų, šiuo metu skirta kurti ir apibūdinanti modifikuotus elektrodus, kur vandenilio peroksido redukcija / oksidacija pasiekama veikiant mažesnei įtampai, tokiu būdu gerinant jutiklio selektyvumą. Pagal tai, kaip elektrodas yra modifikuotas, H_2O_2 elektrocheminiai jutikliai yra skirstomi į fermentinius ir nefermentinius. Fermentiniai jutikliai pasižymi dideliu jautrumu, selektyvumu ir greitai reaguoja į redokso aktyvių fermentų imobilizuotų ant elektrodo paviršiaus viršuje buvimą [166]. Jų trūkumas yra blogas stabilumas, nes susidarantys imobilizuoti fermentai, stipriai veikiami temperatūros, pH, drėgmės ir chemikalų poveikio, gali neatlaikyti jutiklių

gamybos, naudojimo ir saugojimo reikalavimų. Siekiant išspręsti šias problemas, elektrocheminiam vandenilio peroksido nustatymui yra naudojami nefermentiniai elektrodai, modifikuoti nanostruktūrinių metalų oksidų, anglies nanovamzdelių, ir konjuguotais polimerais [167,168]. Kai fermentiniai arba nefermentiniai elektrodai yra pagaminti, jų atsakas į vandenilio peroksidą yra testuojamas elektrolitų tirpale, ir jų stebėjimo charakteristikos paprastai priklauso nuo atraminio elektrolito koncentracijos ir tirpalo pH [169].

2. EKSPERIMENTŲ METODIKA

2.1. Reagentai ir elektrodai

Tirpalų ruošimui naudojamas pirolas 0,1M tirpalas, poli (o fenilendiminas), anilinas, pirolas, 3% vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis (buvo perkamas vaistinėje), ypač šviri H_2SO_4 , KCl, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, Na_2HPO_4 , 5 % nafiono tirpalas alifatinių alkoholių tirpale, distiliuotas vanduo. Iš KCl, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, Na_2HPO_4 buvo gaminamas 0,1M pH=7 fosfatinis buferis.

2.2. Aparatūra

Šiame darbe buvo naudojamas BAS-Epsilon modelio potenciostatas su C3 elektrodų cele (Bioanalytical Systems Inc., West Lafayette, USA). Eksperimentams buvo naudojama 15ml elektrocheminė celė, į kurią talpinami 3 elektrodai. Darbinis Pt vielos elektrodas įmontuotas į plastikinį korpusą (1,6 mm skersmuo (2 mm² paviršiaus plotas)), pagalbinis – stiklo grafitinis elektrodas, palyginamasis – Ag/AgCl/sotus KCl. Visi darbe pateikiami potencialai yra išmatuoti Ag/AgCl/sotus KCl elektrodo atžvilgiu, kurio potencialas vandenilio elektrodo atžvilgiu yra +0,20 V. Prieš eksperimentus darbinis Pt elektrodas buvo poliruojamas su aliuminio oksido milteliais ir nuplaunamas distiliuotu vandeniu. Eksperimentų metu elektrolitų tirpalas buvo nuolat maišomas magnetine maišykle.

2.3. Elektrodo paruošimas

Polianilinu modifikuotas Pt elektrodas buvo ruošiamas darbui dviem būdais. Elektropolimerizacija buvo atliekama 0,5 M sieros rūgšties tirpale, turinčiame 0,05 M anilino. Pirmu atveju, elektrodo potencialas buvo palaikomas pastoviu 0,8 V, keičiamas buvo elektropolimerizacijos laikas nuo 3 iki 20 min. Atlikus polimerizaciją per nustatytą laiką, elektrodas buvo nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir perkeliamas į sieros rūgšties tirpalą. Sieros rūgšties tirpale buvo užrašoma ciklinė voltamperograma intervale [-0,1;+0,5] V skleidimo greičiu 50 mV/s. Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeliamas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu mikrošvirkštu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis). Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švariu Pt elektrodu.

Polipirolo ir o-fenilendiaminų modifikuoti elektrodai buvo ruošiami analogiškai.

Ruošiant darbui nafionu padengtą elektrodą, nafiono tirpalas alifatinių alkoholių tirpale buvo užlašinamas ant aukštyn kojomis apversto švaraus paruošto darbui Pt elektrodo (100 μ l) ir paliekamas džiūti kambario temperatūroje. Kai kuriuose eksperimentuose, buvo užlašinami du lašeliai nafiono tirpalo iš eilės, leidžiant kiekvienam iš jų išdžiūti atskirai. Taip paruoštas elektrodas nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir perkeliamas į H₂SO₄ 0,5M tirpalą, ir užrašoma ciklinė voltamperograma. Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeliamas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu mikrošvirkštu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis). Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švariu Pt elektrodu. Ciklinė Pt elektrodo voltamperograma buvo užrašoma [0; 1,5 V] intervale 50 mV/s skleidimo greičiu.

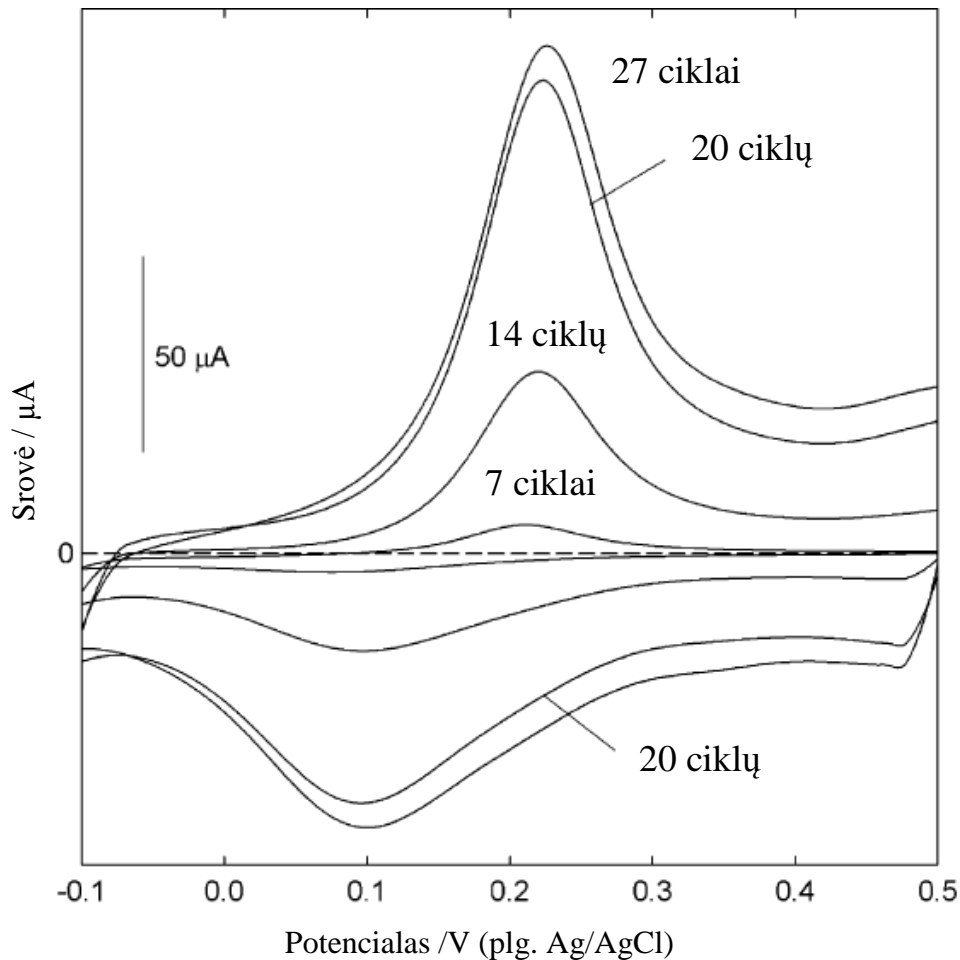
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Anilino elektrocheminė polimerizacija: Ciklinės voltamperometrijos metodas, pastovaus potencialo metodas. Askorbo rūgšties, paracetamolio ir H₂O₂ atsako tyrimas.

Polianilinu modifikuotas Pt elektrodas buvo ruošiamas dviem būdais. Elektropolimerizacija buvo atliekama 0,5 M sieros rūgšties tirpale, turinčiame 0,05 M anilino.

Pirmu atveju, elektrodo potencialas buvo palaikomas pastoviu 0,8 V, o buvo keičiamas elektropolimerizacijos laikas nuo 3 iki 30 min. Atlikus polimerizaciją per nustatytą laiką, elektrodas buvo nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir perkeliamas į sieros rūgšties tirpalą. Sieros rūgšties tirpale buvo užrašoma ciklinė voltamperograma intervale [-0,1;+0,5] V skleidimo greičiu 50 mV/s.

Tokiu būdu gauto PANI sluoksnio storis labai priklauso nuo elektropolimerizacijos trukmės. Yra žinoma, kad anilino polimerizacija yra autokatalizinio pobūdžio, todėl tarp nusodinamo PANI kiekio ir nusodinimo laiko trukmės nėra tiesinės priklausomybės [167-170]. 5 pav. yra pavaizduota Pt elektrodo modifikuoto PANI ciklinės voltamperogramos prie skirtingo elektropolimerizacijos laiko. Ciklinėse voltamperogramose stebima viena anodinė ir viena katodinė smailių pora. Smailių potencialų suma yra ($E_{pa} + E_{pc}$)=0.16 ir smailės pasislinkusios viena kitos atžvilgiu 0,11 V. Didėjant elektropolimerizacijos laikui, smailių dydis sparčiai auga. Ypač spartus smailių padidėjimas yra stebimas, padidinus elektropolimerizacijos ciklų skaičių nuo 7 iki 20 ciklų. Kartu lėtesnis smailių augimas pastebimas, elektropolimerizuojant Pt elektrodą ilgesnį laiką (iki 27 arba 41 ciklo).



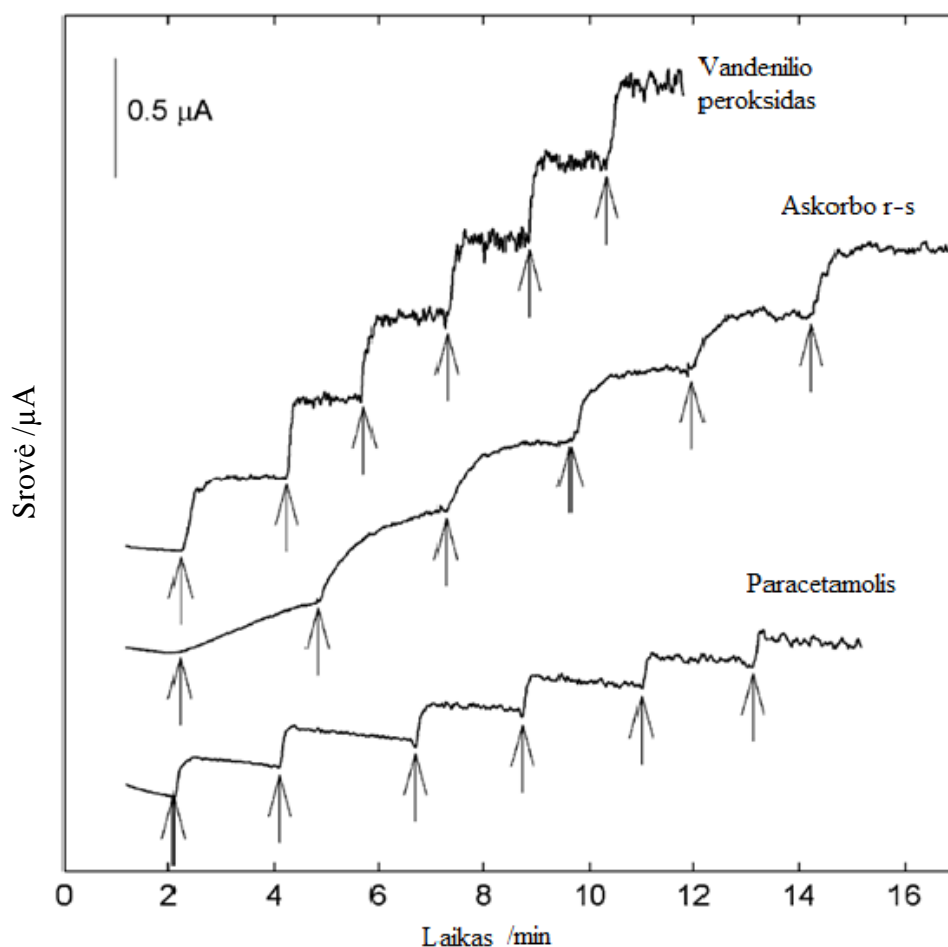
Pav. 5 Ciklinės voltamperogramos gautos ant Pt elektrodo modifikuoto PANI 0,5 M sieros rūgšties tirpale turinčiame 0,05 M anilino. Potencialo skleidimo ribos [-0,1; 0,5] V. Potencialo skleidimo greitis 50 mV s⁻¹. Elektrodo potencialas buvo laikomas pastoviu 0,8 V. Modifikavimo laikas nuo 4 iki 41 ciklo.

Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeliamas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu mikrošvirktu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis). Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švarių Pt elektrodu.

Įvedant mažas porcijas vandenilio peroksido į buferinį tirpalą, anodinė srovė pradžioje auga ir pasiekia pastovią reikšmę. Nemodifikuotam elektrodui pastovi srovė nusistovi maždaug po 10 sek., kuomet modifikuotam elektrodui tai užima daugiau laiko. Pavyzdžiui, vandenilio peroksidui, bei paracetamoliui

tas laikas yra nuo 10 iki 20 sek, priklausomai nuo PANI plėvelės storio. Kuo plėvelė storesnė, tuo nusistovėjimo laikas ilgesnis.

Visai kitas reiškinys yra stebimas, pridėjus į buferinį tirpalą askorbo rūgštį. Įlašinus į buferinį tirpalą pirmą askorbo rūgšties dozę, yra stebimas lėtas anodinės srovės augimas. Anodinė srovė pasiekia savo pastovią reikšmę tik po 3 ir daugiau minučių. Įvedant antrą, bei sekančias analitės porcijas, srovės augimas yra greitesnis ir maksimali vertė pasiekama greičiau (Pav. 6).

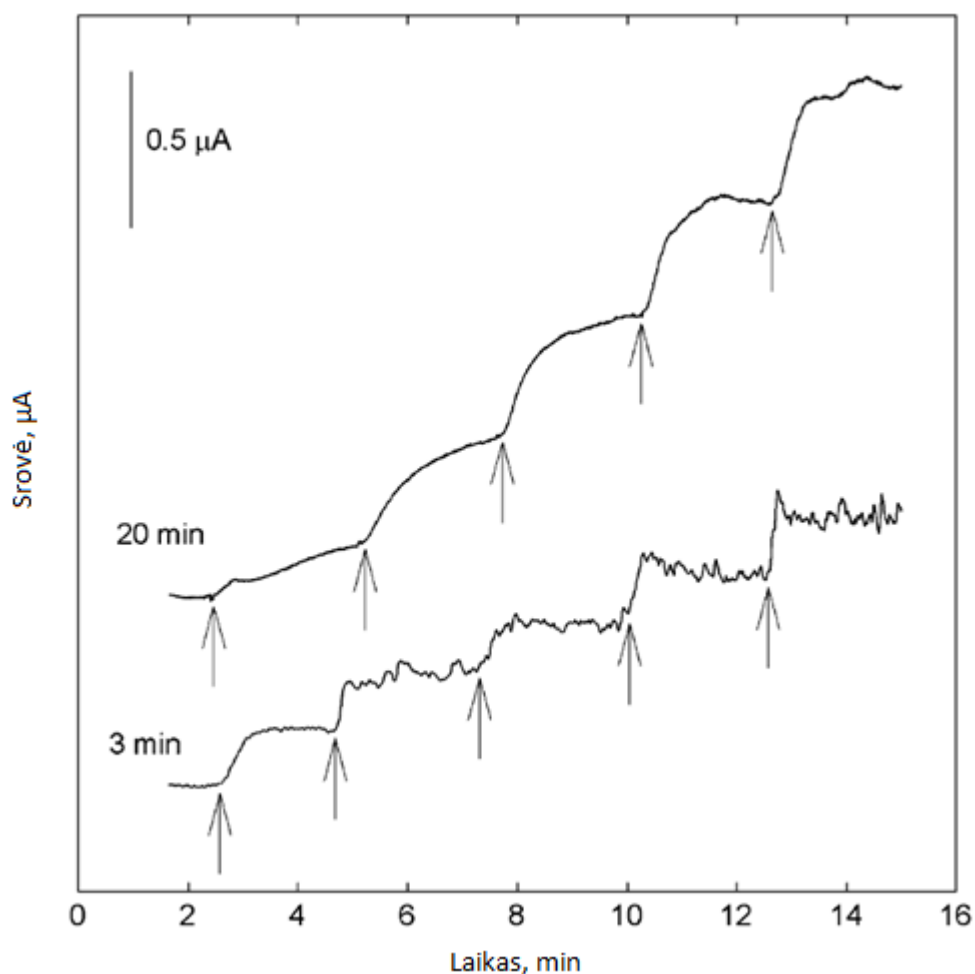


Pav.6 Anodinės srovės atsakas vandenilio peroksidui, askorbo rūgščiai, paracetamoliui ant polianilinu modifikuoto Pt elektrodo (sąlygos vienodos). Elektropolimerizacija buvo atlikta esant pastoviam 0,8 V potencialui ir modifikavimo laiko 10 min 0,5 mol L⁻¹ sieros rūgšties tirpale turinčiame 0,1 mol L⁻¹ anilino. Tolesnis tyrimas atliktas buferiniame tirpale pH7, turinčiame 0,1 mol L⁻¹ KCl esant pastoviam 0,6 V potencialui. Atitinkamos analitės buvo įvedamos į tirpalą mažomis porcijomis 0,1 mmol L⁻¹. (įvedimo laikas parodytas strėlytėmis).

Anksčiau, šis elgesys buvo aiškinamas autokatalitine askorbo rūgšties prigimtimi [171,172]. Esant neutraliam tirpalo pH, polianilinas egzistuoja savo

nelaidžios deprotonizuotos formos pavidale, todėl jokios elektrokatalitinės reakcijos vykti negali. Kadangi elektriškai nusodintas PANI turi porėtą struktūrą, askorbo rūgštis difunduoja pro poras prie Pt elektrodo paviršiaus, kur ir prasideda elektrooksidacijos procesas. Dėl šios elektrodinės reakcijos, protonai išsiskiria ekvimoliniais oksiduotai askorbo rūgščiai kiekiais, ir tai sukelia pH sumažėjimą PANI sluoksnio viduje. pH mažėjimas sukelia nelaidžios deprotonizuotos PANI formos virsmą į protonizuotą laidžią PANI formą (emeraldinas). Tolesnę askorbo rūgšties anodinę oksidaciją jau katalizuoja pats PANI. Gauti rezultatai netiesiogiai patvirtina mūsų teoriją. Duomenys pateikti pav.6 vandenilio peroksidui, askorbo rūgščiai, paracetamoliui, gauti tai pačiai polianilino plėvelei.

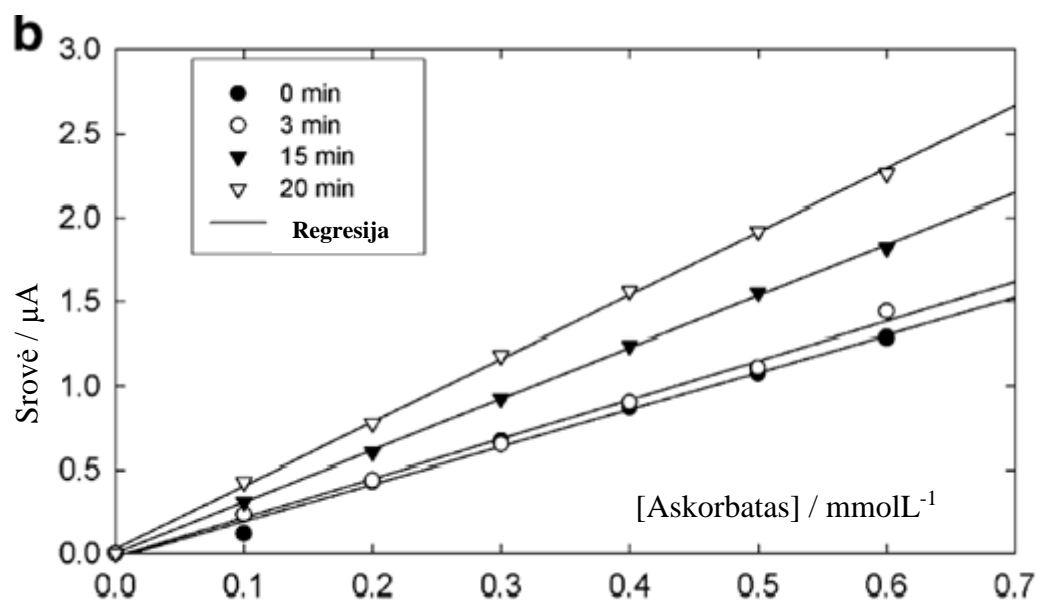
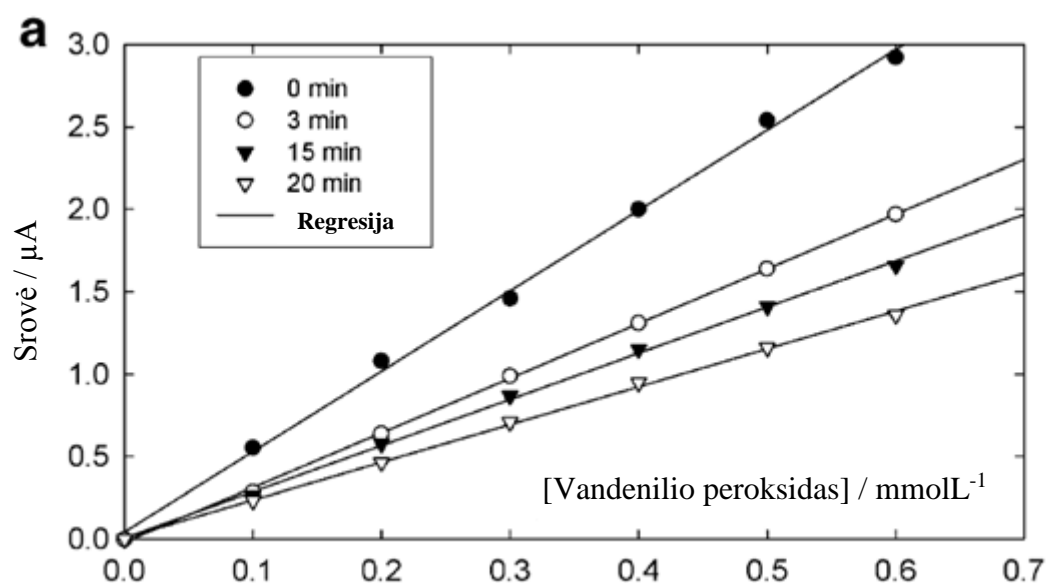
Taigi, tokiomis sąlygomis gauta porėta polianilino plėvelė, leidžia difunduoti ne tik vandenilio peroksido molekulėms, bet ir kur kas didesnėms paracetamolio molekulėms. Kadangi askorbo rūgšties ir paracetamolio molekulės yra panašaus dydžio, askorbo rūgšties molekulių difuzija vyksta niekieno netrukdoma. Šios prielaidos patikrinimui, buvo atlikti tyrimai su skirtingo storio PANI plėvelėmis.

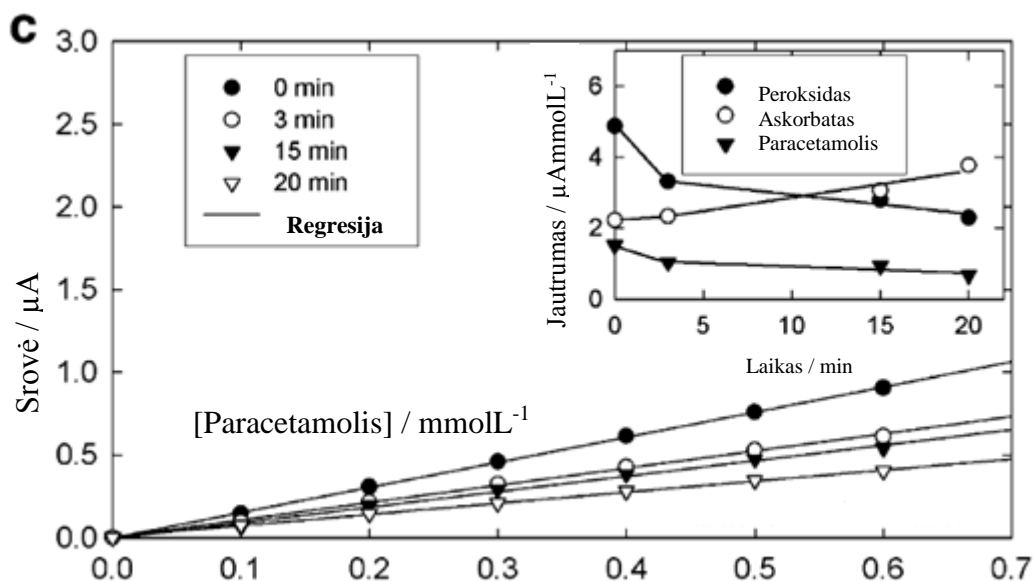


Pav. 7 Anodinės srovės priklausomybė nuo askorbo rūgšties koncentracijos ant polianilinu modifikuoto Pt elektrodo. Elektropolimerizacija buvo atlikta esant pastoviam 0,8 V potencialui prie 3 ir 20 min. Strelitėmis parodytas naujos analizės porcijos įvedimo laikas.

7 pav. yra pavaizduotos 2 priklausomybės gautos naudojant ploniausią ir storiausią PANI dangas. Iš šių priklausomybių gerai matyti, kad greitesnio atsako sulaukiama prie plono polianilino sluoksnio. Polianilino plėvelė gauta elektropolimerizuojant Pt elektrodą 3 min (redokso talpa $5 \mu\text{Ccm}^{-2}$), greičio konstanta nuo pradinės srovės padidėja iki $6,38 \times 10^{-1}\text{min}^{-1}$. Tuo tarpu storiausios PANI plėvelės atveju (redokso talpa $400 \mu\text{C cm}^{-2}$) greičio konstanta padidėja iki $4.35 \times 10^{-4}\text{min}^{-1}$. Lyginant šiuos duomenis, galima daryti išvadą, kad PANI sluoksnio storio didėjimas 2 eilėmis, sukuria greičio konstantos mažėjimą apytiksliai 3 eilėmis. Taip pat, pasinaudojus 7 pav. duomenimis galima nustatyti elektrokatalizinį PANI plėvelės elgesį askorbo rūgšties elektrooksidacijos atveju. Plonos PANI dangos atveju (talpa $5 \mu\text{C cm}^{-2}$),

anodinės srovės stulpelių aukščiai praktiškai nesiskiria vienas nuo kito lyginant su gautais ant švaraus Pt elektrodo. Tuo tarpu storos plėvės atveju (talpa $400 \mu\text{C cm}^{-2}$) stulpelių aukščiai 1,5 didesni. Tai rodo, kad šalia įprastos askorbo rūgšties oksidacijos dėl difuzijos per elektriškai nusodintą PANI sluoksnį vyksta oksidacijos proceso elektrokatalizė.

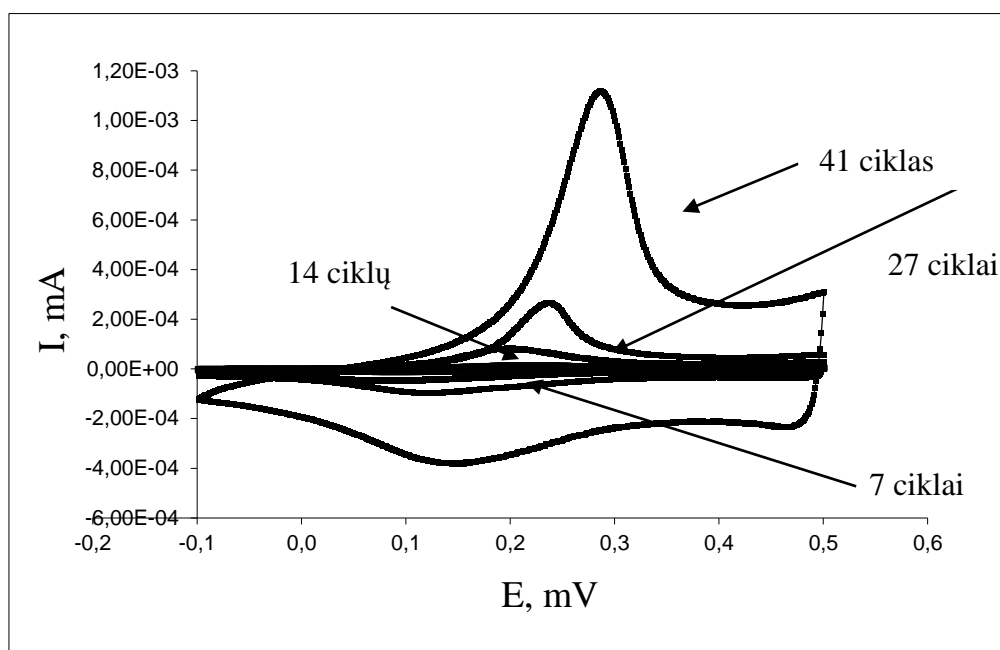




Pav.8 Anodinės srovės priklausomybė nuo koncentracijos vandenilio peroksido (A, viršuje), askorbo rūgšties (B, viduryje), paracetamolio (C, apačia) ant polianilinu modifikuoto Pt elektrodo. Pt elektrodo polimerizacija atlikta 0,5 mol L⁻¹ sieros rūgšties tirpale turinčiame 0,05 mol L⁻¹ anilino esant pastoviam 0,8 V potencialui, esant skirtingam modifikavimo laikui (3,15, 20 min). Švarus Pt elektrodas – 0 min. C dalyje parodytas Pt elektrodo jautrumas skirtingoms analitėms, kurios buvo naudojamos elektropolimerizacijos metu.

Visoms trimis analitėms yra nustatyta tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analitės koncentracijos (pav. 8). Remiantis šiomis priklausomybėmis galima padaryti kelias išvadas. Vandenilio peroksidui didžiausias kalibravimo kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas yra užfiksuotas ant nemonifikuoto platinos elektrodo. Padidinus anilino elektropolimerizacijos laiką nuo 4 iki 27 ciklų, platinos elektrodo jautrumas sumažėja 1,5 ir 2,1 karto atitinkamai. Kaip ir tikėtasi, askorbo rūgščiai šis rodiklis atvirkščiai padidėja. Net ir plonesnio PANI sluoksnio ($5 \mu\text{C cm}^2$) nusodinimas ant platinos elektrodo padidina elektrodo jautrumą 1,1 kartą. Storiausiai PANI dangai ($400 \mu\text{C cm}^2$) jautrumas padidėja 1,7 karto. Paracetamolio atveju, kaip ir vandenilio peroksido atveju, yra stebimas jautrumo sumažėjimas, atlikus elektrodo modifikavimą PANI sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai PANI dangai jautrumas paracetamoliui sumažėja 1,46 ir 2,27 karto atitinkamai.

Antru atveju, 0,5 M H₂SO₄ tirpale, turinčiame 0,05M anilino, buvo registruojamos ciklinės voltamperogramos, skleidžiant potencialą 50 mV/s greičiu intervale nuo -0,1 iki +1,0 V. Buvo keičiamas potencialo skleidimo laikas nuo 4 iki 41 ciklo. Atlikus polimerizaciją per nustatytą laiką, elektrodas buvo nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir perkeliamas į sieros rūgšties tirpalą. Sieros rūgšties tirpale buvo užrašoma ciklinė voltamperograma intervale [-0,1; +0,5] V skleidimo greičiu 50 mV/s.

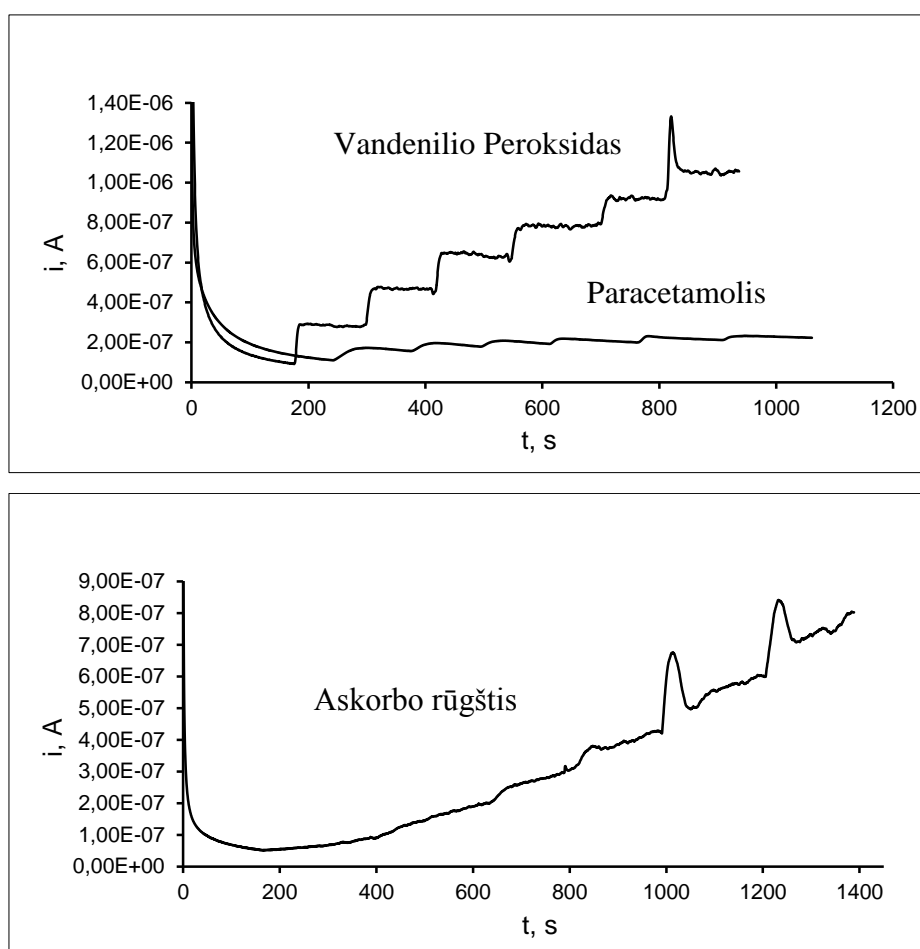


Pav.9 Ciklinės voltamperogramos gautos ant Pt elektrodo modifikuoto PANI 0,5 M sieros rūgšties tirpale turinčiame 0,05 M anilino. Potencialo skleidimo ribos [-0,1; 0,5] V. Potencialo skleidimo greitis 50 mV s⁻¹. Modifikavimo laikas nuo 4 iki 41 ciklo.

Tokiu būdu gauto PANI sluoksnio storis irgi priklauso nuo elektropolimerizacijos trukmės. 9 pav. yra pavaizduota Pt elektrodo modifikuoto PANI ciklinės voltamperogramos prie skirtingo elektropolimerizacijos laiko. Ciklinėse voltamperogramose stebima viena anodinė ir viena katodinė smailių pora. Smailių potencialų suma yra $(E_{pa} + E_{pc}) = 0.2$ ir smailės pasislinkusios viena kitos atžvilgiu 0,15 V. Didėjant elektropolimerizacijos laikui, smailių dydis sparčiai auga. Ypač spartus smailių padidėjimas yra stebimas, užrašant didesnę ciklų skaičių – nuo 27 iki 41 ciklo. Tuo metu lėtesnis smailių augimas pastebimas elektropolimerizuojant Pt elektrodą trumpesnę laiką (iki 14 ciklų).

Tai galima paaiškinti tuo, kad per tokį trumpą laiką anilinas nespėja oksiduotis – redukuotis ant Pt elektrodo paviršiaus.

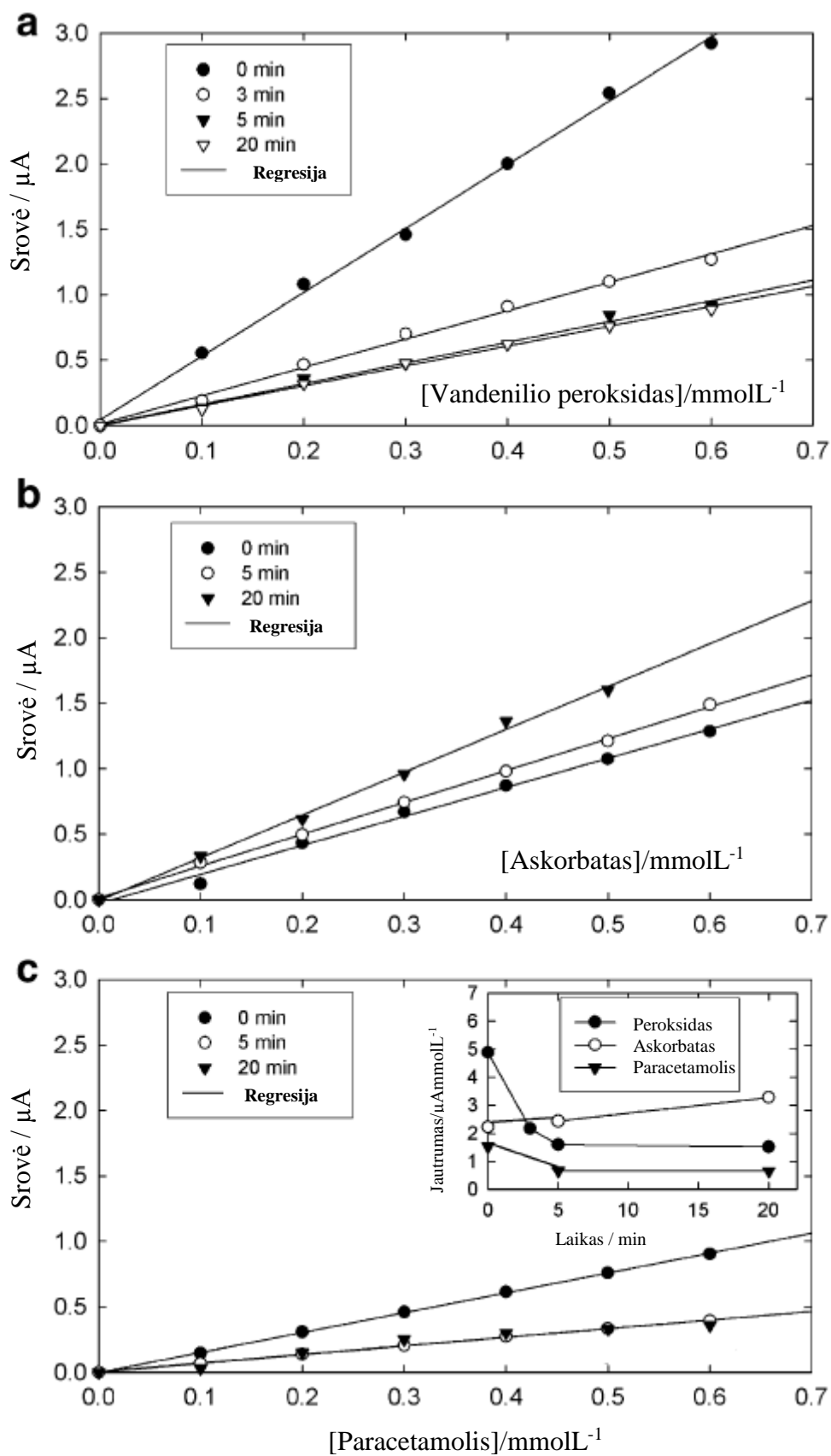
Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeltas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu mikrošvirkštu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis) (pav. 10). Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švariu Pt elektrodu.



Pav 10. Anodinės srovės priklausomybė nuo vandenilio peroksido, paracetamolio ir askorbo rūgšties koncentracijų ant polianilinu modifikuoto Pt elektrodo. Ciklinės voltamperogramos buvo užrašytos 0,5 M sieros r-s tirpale turinčiame 0,05M anilino intervale [-0,1; +1,0] V. Modifikavimo laikas 10 min. Tolesnis tyrimas atliktas buferiniame tirpale pH7, turinčiame 0,1 mol L⁻¹ KCl esant pastoviam 0,6 V potencialui. Atitinkamos analitės buvo įvedamos į tirpalą mažomis porcijomis 0,1 mmol L⁻¹.

Įvedant mažas porcijas vandenilio peroksido į buferinį tirpalą, anodinė srovė pradžioje auga ir pasiekia pastovią reikšmę. Nemodifikuotam elektrodui pastovi srovė nusistovi maždaug po 10 s, kuomet modifikuotam elektrodui tai užima daugiau laiko. Pavyzdžiui vandenilio peroksidui bei paracetamoliui tas laikas yra nuo 10 iki 15 s, priklausomai nuo PANI plėvelės storio: kuo plėvelė storesnė, tuo nusistovėjimo laikas ilgesnis. Askorbo rūgšties atveju anodinė srovė pasiekia savo pastovią reikšmę tik po 3 ir daugiau minučių. Įvedant antrą bei sekančias analitės porcijas, srovės augimas tampa greitesnis, ir maksimali vertė pasiekama greičiau. Šio atveju irgi pasitvirtina autokatalitinė askorbo rūgšties prigimtis [19, 20].

Visoms trimis analitėms yra nustatyta tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analitės koncentracijos (pav. 11). Remiantis šiomis priklausomybėmis galima padaryti kelias išvadas. Vandenilio peroksidui didžiausias kalibravimo kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas yra užfiksuotas ant nemodifikuoto platinos elektrodo. Padidinus anilino elektropolimerizacijos laiką nuo 4 iki 27 ciklų, platinos elektrodo jautrumas sumažėja 2, 2 ir 3, 2 karto atitinkamai. Kaip ir tikėtasi, askorbo rūgščiai šis rodiklis atvirkščiai padidėja. Net ir plonesnio PANI sluoksnio ($5 \mu\text{C cm}^2$) nusodinimas ant platinos elektrodo padidina elektrodo jautrumą 5 ar 6% atitinkamai. Storiausiai PANI dangai ($400 \mu\text{C cm}^2$) jautrumas padidėja 1,5 karto. Paracetamolio atveju, kaip ir vandenilio peroksido atveju, yra stebimas jautrumo sumažėjimas, atlikus elektrodo modifikavimą PANI sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai PANI dangai jautrumas paracetamoliui sumažėja 2,3 karto atitinkamai.



Pav.11 Anodinės srovės priklausomybė nuo koncentracijos vandenilio peroksido (A, viršuje), askorbo rūgšties (B, viduryje), paracetamolio (C, apačia) ant polianilinu modifikuoto Pt elektrodo. Pt elektrodo polimerizacija atlikta 0,5 mol L⁻¹ sieros rūgšties

tirpale turinčiame 0.05 mol L⁻¹ anilino. Ciklinės voltamperogramos buvo užrašomos [-0,1: +1,0 V] potencialu intervale skirtingą laiką (nuo 3 iki 30 min). Švarus Pt elektrodas – 0 min. C dalyje parodytas Pt elektrodo jautrumas skirtingoms analitėms, kurios buvo naudojamos elektropolimerizacijos metu.

Iš dviejų atliktų eksperimentų galima padaryti kelias išvadas. Visoms trimis analitėms yra būdinga tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analičių koncentracijų. Vandenilio peroksido didžiausias kalibracinės kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas buvo gautas ant nemodifikuoto platinos elektrodo (1 lentelė). Padidinus anilino elektropolimerizacijos laiką nuo 3 iki 20 min, platinos elektrodo jautrumas sumažėja 1,5 ir 2,1 karto atitinkamai palaikant platinos elektrodo potencialą pastovu. Dar didesnis elektrodo jautrumo sumažėjimas yra stebimas atliekant potencialo skleidimą – 2, 2 ir 3, 2 karto atitinkamai, padidinus elektropolimerizacijos laiką nuo 4 iki 27 ciklų. Iš to seka, kad potencialo skleidimas yra labiau kompaktiškas ir PANI plėvelė mažiau praleidžia vandenilio peroksidą. Visai priešingas reiškinys yra stebimas, atlikus bandymus su askorbo rūgštimi (pav.4 ir 7). Net ir ploniausias PANI plėvelės sluoksnis (5 μC sm⁻²) 5 ar 6% padidina platinos elektrodo jautrumą, priklausomai nuo taikomo polimerizacijos metodo. Storiausiai PANI dangai (400 μC sm⁻²) elektrodo jautrumas padidėjo 1,7 karto (1 lentelė). Paracetamoliui elektrodo jautrumo sumažėjimas yra stebimas, modifikavus platinos elektrodą polianilino sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai PANI dangai jautrumas sumažėja 1,46 ir 2, 27 karto atitinkamai. Iš to seka, kad polianilinu modifikuotas platinos elektrodas praktiškai nerodo jokio skirtumo tarp nustatomos analitės (vandenilio peroksido) ir trukdančios analitės (paracetamolio).

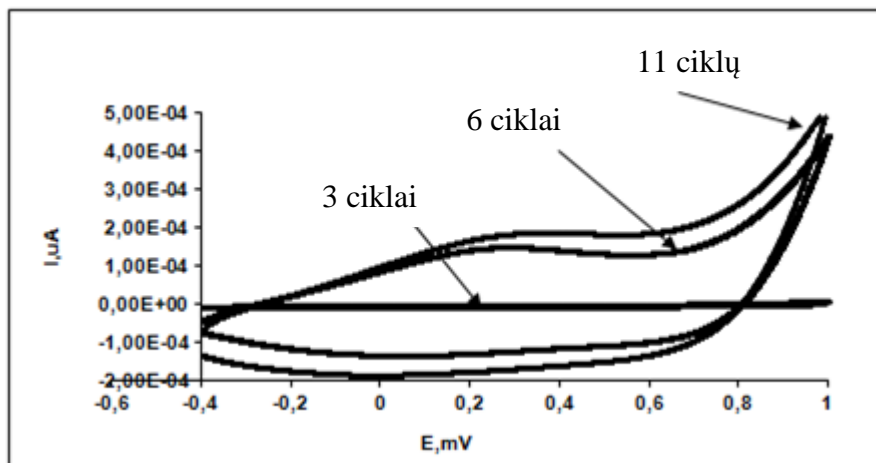
1 lentelė. Pasirinktų analičių jautrumo palyginimas ant skirtingais metodais polianilinu modifikuoto Pt elektrodo.

| Elektrodo modifikavimas | Trukmė, min | Jautrumas, μA mmol-1L | | |
|-------------------------|-------------|-----------------------|------------------|----------------|
| | | Vandenilio peroksidui | Askorbo rūgščiai | Paracetamoliui |
| Nemodifikuotas | 0 | 4,88 | 2, 22 | 1,52 |
| Pastovus potencialas | 3 | 3,32 | 2,33 | 1,04 |
| | 20 | 2,03 | 3,77 | 0,67 |
| Potencialo skleidimas | 3 | 2,17 | 2,35 | 0,66 |
| | 20 | 1,52 | 3, 27 | 0,65 |

3.2. Pirolo elektrocheminė polimerizacija: Ciklinės voltamperometrijos metodas, pastovaus potencialo metodas. Askorbo rūgšties, paracetamolio ir H₂O₂ atsako tyrimas.

Polipirolu modifikuotas Pt elektrodas buvo ruošiamas dviem būdais. Elektropolimerizacija buvo atliekama 0,1M KCl tirpale turinčiame 0,1M pirolo.

Pirmu atveju 0,1M KCl tirpale turinčiame 0,1M pirolo buvo registruojamos ciklinės voltamperogramos, skleidžiant potencialą 50 mV/s greičiu intervale nuo -0,4 iki +1,0 V skirtingą laiką nuo 3 iki 10 min. Atlikus polimerizaciją per nustatytą laiką, elektrodas buvo nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir perkeliamas į KCl tirpalą. KCl tirpale buvo užrašoma ciklinė voltamperograma intervale [-0,4;+1,0] V skleidimo greičiu 50 mV/s (pav.12).



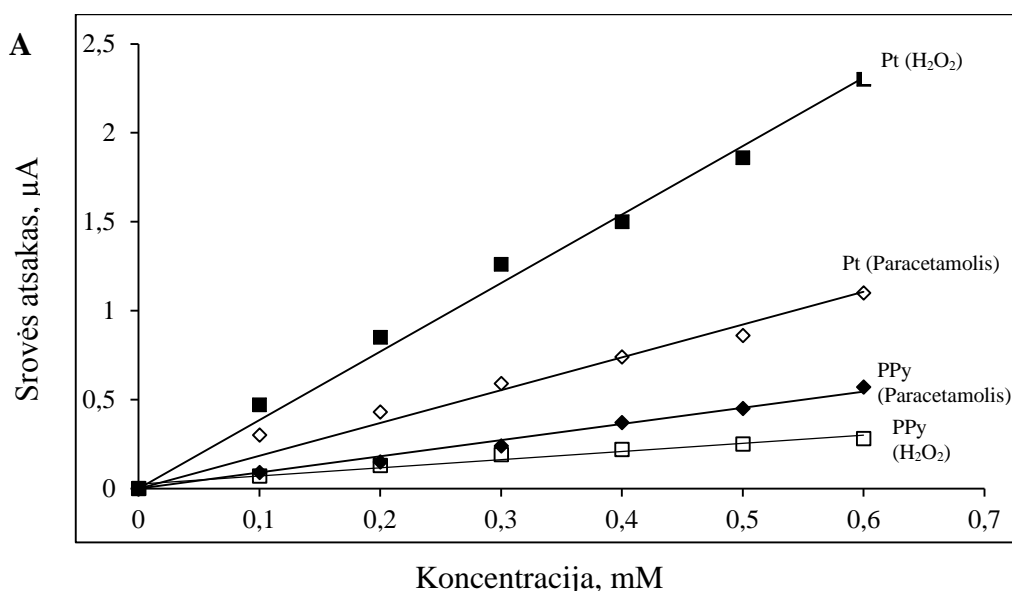
Pav.12 Ciklinės voltamperogramos gautos ant Pt elektrodo modifikuoto polipirolu 0,1 M KCl tirpale turinčiame 0,1 M pirolo. Potencialo skleidimo ribos [-0,4; 1,0] V. Potencialo skleidimo greitis 50 mV s⁻¹. Modifikavimo laikas nuo 3 iki 10 min.

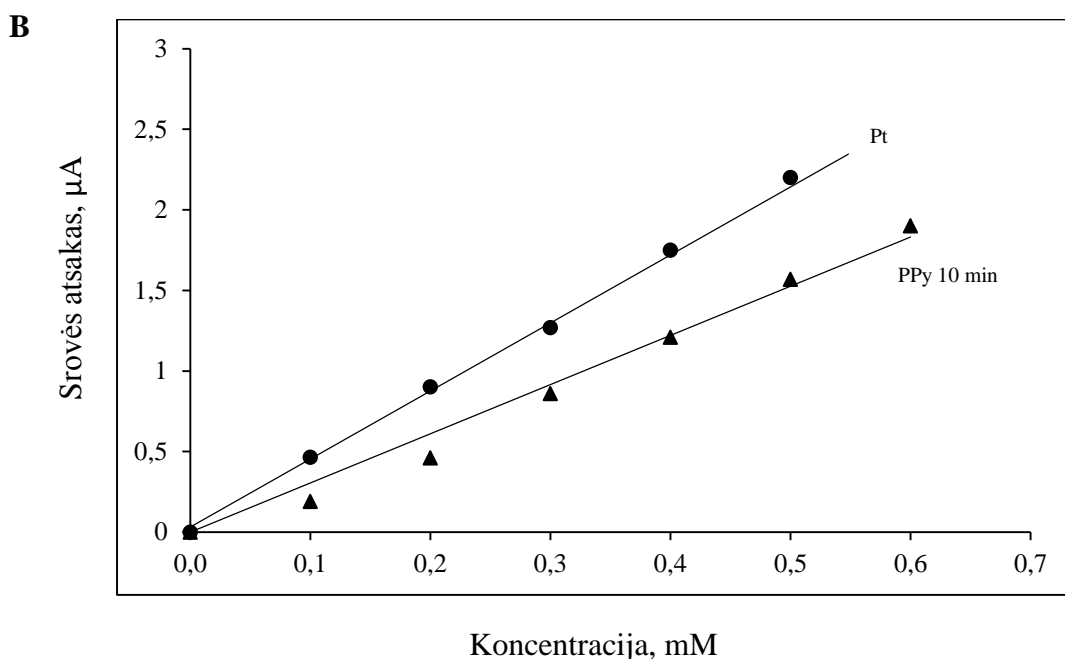
Tokiu būdu gauto polipirolu sluoksnio storis priklauso nuo elektropolimerizacijos trukmės. Pav. 12 yra pavaizduota Pt elektrodo modifikuoto PANI ciklinės voltamperogramos prie skirtingo elektropolimerizacijos laiko. Didėjant elektropolimerizacijos laikui, ciklinių voltamperogramų plotas sparčiai auga. Ypač spartus ploto padidėjimas yra stebimas, padidinus užrašomų ciklinių voltamperogramų ciklų skaičių nuo 3 iki 6 ciklų. Kuomet mažesnis ploto padidėjimas stebimas, elektropolimerizuojant Pt

elektrodą ilgesnį laiką (iki 11 ciklų). Tai galima paaiškinti tuo, kad per tą laiką, didelis kiekis pirolo praktiškai susipolimerino.

Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeliamas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu mikrošvirkštu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis). Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švairiu Pt elektrodu.

Įvedant mažas porcijas vandenilio peroksido į buferinį tirpalą, anodinė srovė pradžioje auga ir pasiekia pastovią reikšmę. Nemodifikuotam elektrodai pastovi srovė nusistovi maždaug po 10 s, kuomet modifikuotam elektrodai tai užima daugiau laiko. Pavyzdžiui vandenilio peroksidui, bei paracetamoliui tas laikas yra nuo 10 iki 100 s, priklausomai nuo polipirolo plėvelės storio. Kuo plėvelė storesnė, tuo nusistovėjimo laikas ilgesnis. Askorbo rūgšties atveju anodinė srovė pasiekia savo pastovią reikšmę sąlyginai greitai. Kuo plėvelė storesnė, tuo nusistovėjimo laikas ilgėja. Polipirolo plėvelės jautrumas paracetamoliui yra mažesnis, negu vandenilio peroksidui ar askorbo rūgščiai. Didžiausias jautrumo sumažėjimas yra stebimas vandenilio peroksidui.



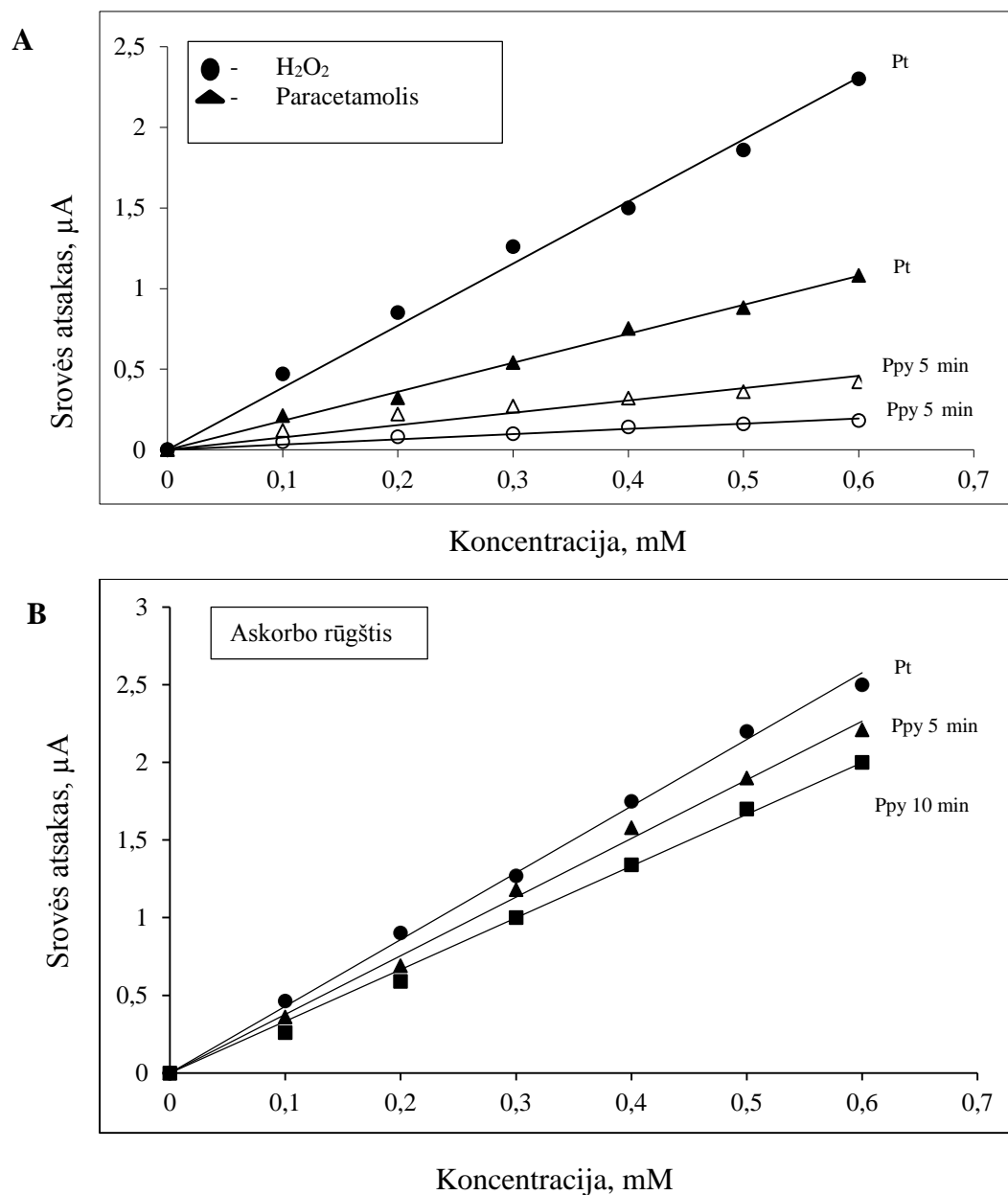


Pav.13 Anodinės srovės priklausomybė nuo koncentracijos vandenilio peroksido ir paracetamolio (A, viršuje) elektropolimerizacijos laikas 3 min, askorbo rūgšties (B), ant polipirolu modifikuoto Pt. Ciklinės voltamperogramos buvo užrašomos [-0.4: +1.0 V] potencialu intervale skirtingą laiką (nuo 3 iki 10 min).

Visoms trimis analitėms yra nustatyta tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analitės koncentracijos (pav. 13). Remiantis šiomis priklausomybėmis, galima padaryti kelias išvadas. Vandenilio peroksidui didžiausias kalibravimo kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas yra užfiksuotas ant nemodifikuoto platinos elektrodo. Padidinus polipirolu elektropolimerizacijos laiką nuo 3 iki 10 min., platinos elektrodo jautrumas sumažėja 8,3 ir 11,6 karto atitinkamai. Askorbo rūgščiai šis rodiklis irgi sumažėja. Net ir plonesnio polipirolu sluoksnio ($14\mu\text{C cm}^2$) nusodinimas ant platinos elektrodo sumažina elektrodo jautrumą 1,11 karto. Storiausiai polipirolu dangai ($84\mu\text{C cm}^2$) jautrumas sumažėja 1,13 karto. Paracetamolio atveju, kaip ir vandenilio peroksido atveju, yra stebimas jautrumo sumažėjimas, atlikus elektrodo modifikavimą polipirolu sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai polipirolu dangai jautrumas paracetamoliui sumažėja 1,9 ir 2,9 karto atitinkamai.

Antru atveju, elektrodo potencialas buvo palaikomas pastoviu 0,8 V ir buvo keičiamas elektropolimerizacijos laikas nuo 3 iki 10 min. Atlikus

polimerizaciją per nustatytą laiką, elektrodas buvo nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir perkeliamas į sieros rūgšties tirpalą. Sieros rūgšties tirpale buvo užrašoma ciklinė voltamperograma intervale [-0,4;+0,5] V skleidimo greičiu 50 mV/s.



Pav. 14 Anodinės srovės priklausomybė nuo koncentracijos vandenilio peroksido ir paracetamolio (A, viršuje), askorbo rūgšties, ant polipirolu modifikuoto Pt elektrodo. Pt elektrodo polimerizacija atlikta, 1M KCl tirpale turinčiame 0,1M pirolu prie 0,8 V potencialo, esant skirtingam modifikavimo laikui (nuo 3 iki 10 min).

Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeliamas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu

mikrošvirkštu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis). Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švariu Pt elektrodu (pav. 14).

Visoms trimis analitėms yra nustatyta tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analitės koncentracijos. Remiantis šiomis priklausomybėmis, galima padaryti kelias išvadas. Vandenilio peroksidui didžiausias kalibravimo kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas yra užfiksuotas ant nemodifikuoto platinos elektrodo. Padengus platinos elektrodą polipirolo sluoksniu, platinos elektrodo jautrumas sumažėjo 10,9 karto. Askorbo rūgščiai šis rodiklis irgi sumažėja. Net ir plonesnio polipirolo sluoksnio ($5,64\mu\text{C cm}^2$) nusodinimas ant platinos elektrodo sumažina elektrodo jautrumą 1,15 karto. Storiausiai polipirolo dangai ($38,5\mu\text{C cm}^2$) jautrumas sumažėja 1,3 karto. Paracetamolio atveju, kaip ir vandenilio peroksido atveju, yra stebimas jautrumo sumažėjimas atlikus elektrodo modifikavimą polipirolo sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai polipirolo dangai jautrumas paracetamoliui sumažėja 2,6 ir 2,9 karto atitinkamai (2 lentelė).

Iš dviejų atliktų eksperimentų galima padaryti kelias išvadas. Visoms trimis analitėms yra būdinga tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analičių koncentracijų. Vandenilio peroksido didžiausias kalibracinės kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas buvo gautas ant nemodifikuoto platinos elektrodo (2 lentelė). Padidinus polipirolo elektropolimerizacijos laiką nuo 3 iki 10 min, platinos elektrodo jautrumas sumažėja 10,9 ir 11,6 karto atitinkamai registruojant ciklines voltamperogramas. Mažesnis Pt elektrodo jautrumo sumažėjimas yra stebimas atliekant polimerizaciją esant pastoviam potencialui – 8,3 ir 11,6 karto atitinkamai, padidinus elektropolimerizacijos laiką nuo 3 iki 10 min. Iš to seka, kad pastovaus potencialo metodas yra labiau kompaktiškas, ir polipirolo plėvelė blogai praleidžia vandenilio peroksidą. Atlikus bandymus su askorbo rūgštimi (pav. 14 ir 15) irgi yra stebimas jautrumo sumažėjimas. Net ir ploniausias polipirolo plėvelės sluoksnis ($5,64\mu\text{C cm}^2$) 93 ar 114% sumažina platinos elektrodo jautrumą, priklausomai nuo taikomo polimerizacijos metodo.

Storiausiai polipirolo dangai ($38,5\mu\text{C cm}^2$) elektrodo jautrumas sumažėja 1,11 – 1,13 karto atitinkamai (2 lentelė). Polipirolo plėvelė sumažina askorbo rūgšties difuziją. Paracetamoliui Pt elektrodo jautrumo sumažėjimas yra stebimas modifikavus platinos elektrodą polipirolo sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai polipirolo dangai jautrumas sumažėja apie 2,9 karto atitinkamai priklausomai nuo taikomo modifikavimo metodo. Polipirolo plėvelė blogai praleidžia paracetamolio molekules. Iš to seka, kad polipirolas nerodo jokio skirtumo tarp nustatomos analitės (vandenilio peroksido) ir trukdančių analizių (paracetamolio) bei askorbo rūgšties. Vandenilio peroksido atveju, sumažėja aktyvo pagrindo plotas, ir vandenilio peroksidui nėra kur išsikrauti. Paracetamolio ir askorbo rūgšties molekulės dėl savo dydžio įstringa polimero matricoje, susidarant vandeniliniams ryšiams.

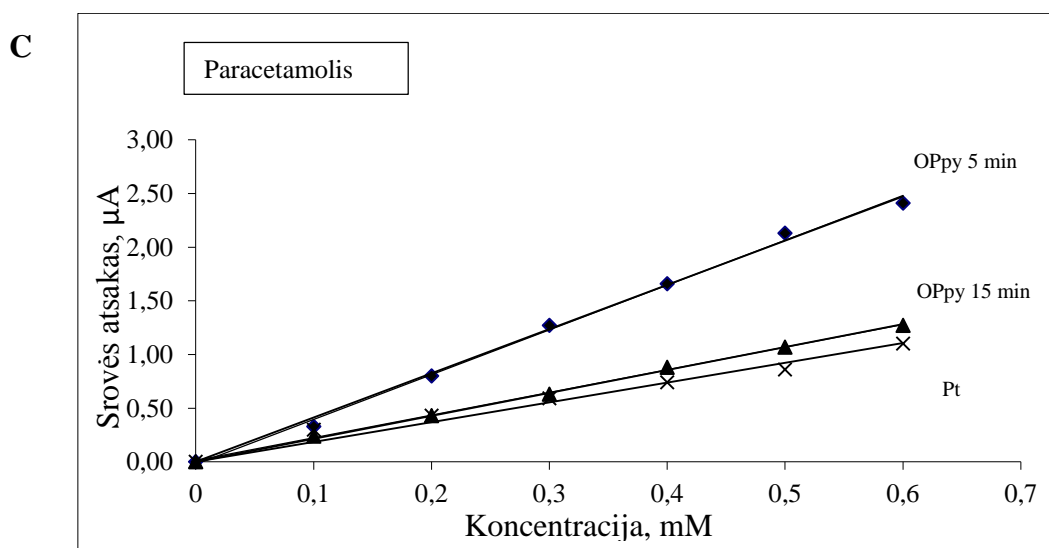
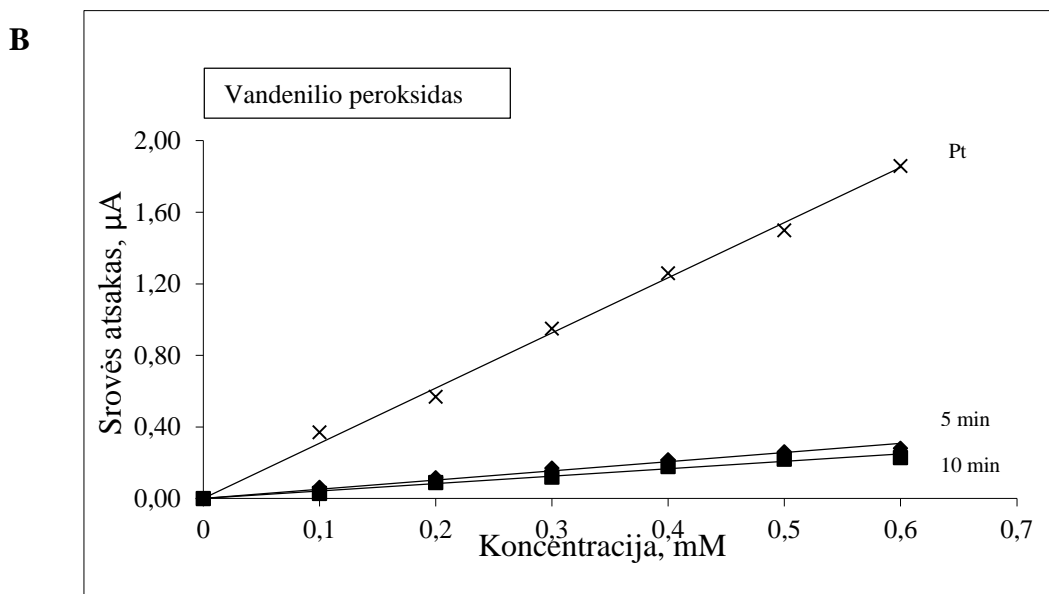
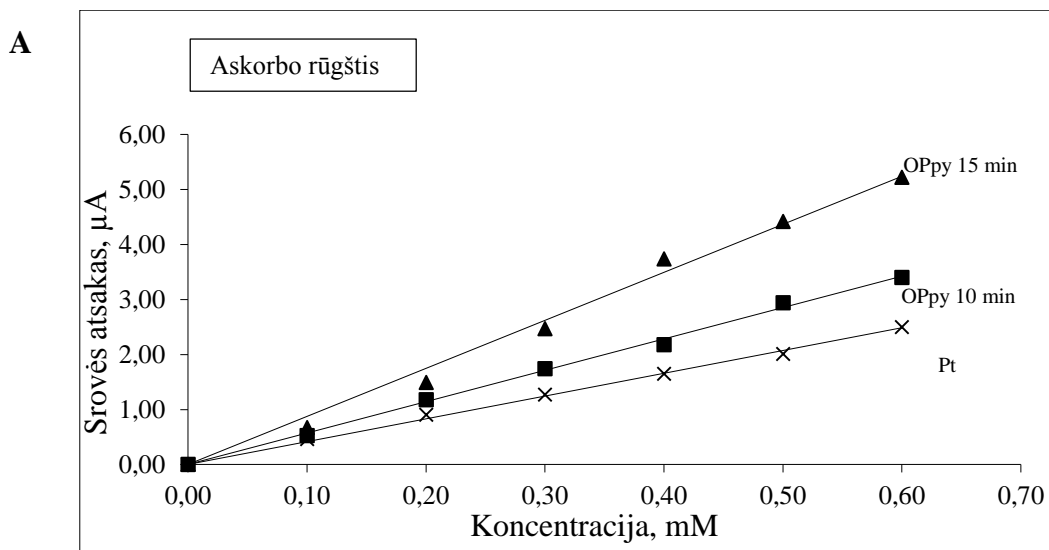
2 lentelė. Pasirinktų analizių jautrumo palyginimas ant skirtingais metodais polipirolo modifikuoto Pt elektrodo.

| Elektrodo modifikavimas | Trukmė, min | Jautrumas, $\mu\text{A mmol}^{-1}\text{L}$ | | |
|-------------------------|-------------|--|------------------|----------------|
| | | Vandenilio peroksidui | Askorbo rūgščiai | Paracetamoliui |
| Nemodifikuotas | 0 | 3,83 | 4,22 | 1,80 |
| Pastovus potencialas | 5 | 0,35 | 3,68 | 0,70 |
| | 10 | 0,25 | 3,33 | 0,63 |
| Potencialo skleidimas | 3 | 0,47 | 3,81 | 0,95 |
| | 10 | 0,33 | 3,75 | 0,61 |

Pasinaudojus šių dviejų eksperimentu rezultatais, kitam eksperimentui buvo pasirinktos optimaliausios polimerizacijos sąlygos. Pirolo polimerizacija buvo atliekama esant pastoviam 0,8 V potencialui 5 min. Atlikus polimerizaciją esant pasirinktoms sąlygoms, polipirolo plėvelė buvo oksiduojama esant aukštam potencialui foniniame elektrolite (KCl tirpalas) skirtingą laiką nuo 5 iki 15 min. Polipirolo plėvelė buvo oksiduojama prie 0,8 ir 1,0 V potencialu.

Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeliamas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu mikrošvirkštu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis).

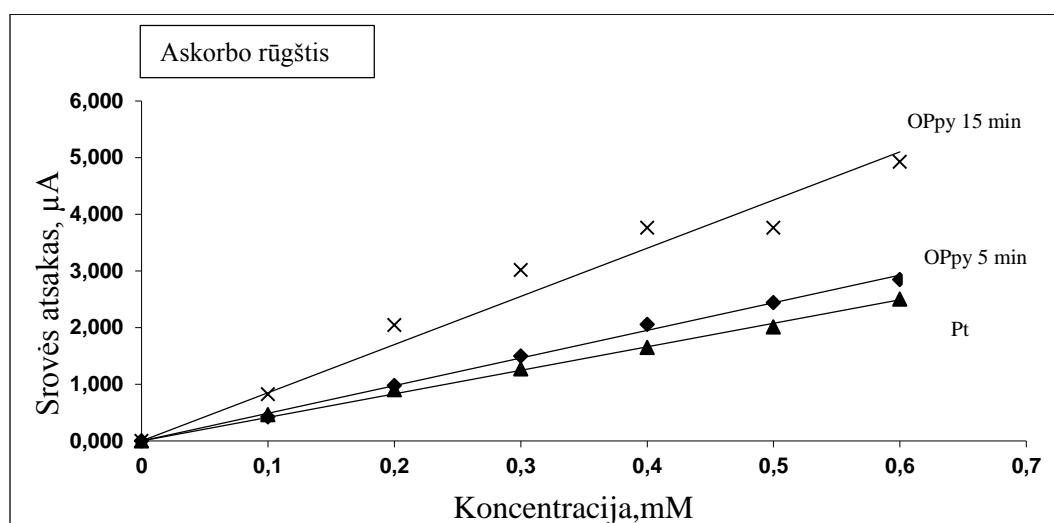
Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švairiu Pt elektrodu (pav. 15).

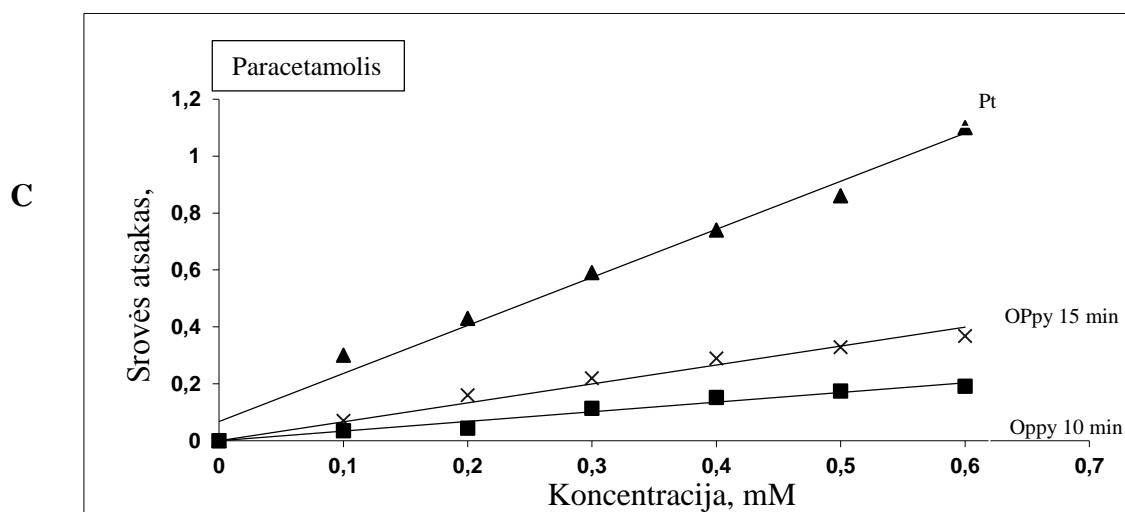
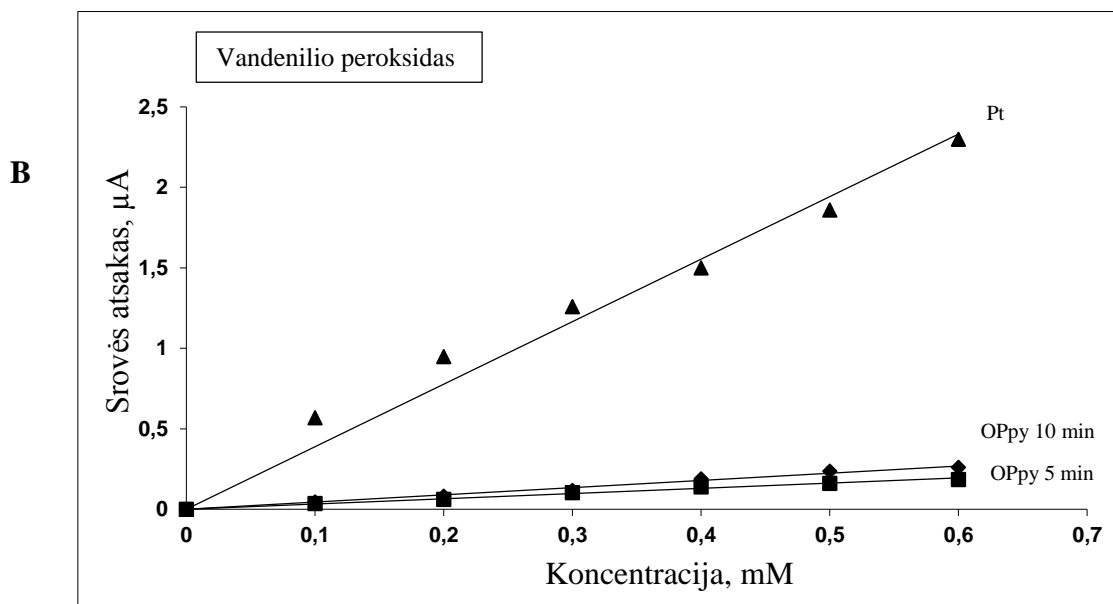


Pav. 15 Anodinės srovės priklausomybė nuo koncentracijos askorbo rūgšties (A, viršuje), vandenilio peroksido (B, viduryje), paracetamolio (C, apačia) ant polipirolu modifikuoto Pt elektrodo. Pt elektrodo polimerizacija atlikta, 1M KCl tirpale turinčiame 0,1M pirolu prie 0,8 V potencialo 5 min. Polipirolu plėvelės oksidacija atlikta prie 0,8 V potencialo skirtingą laiką nuo 5 iki 15 min.

Visoms trimis analitėms yra nustatyta tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analitės koncentracijos (pav. 15). Remiantis šiomis priklausomybėmis, galima padaryti kelias išvadas. Vandenilio peroksidui didžiausias kalibravimo kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas yra užfiksuotas ant nmodifikuoto platinos elektrodo. Padidinus polipirolu plėvelės oksidacijos laiką nuo 5 iki 15 min, platinos elektrodo jautrumas žymiai sumažėja: 6,6 ir 8, 2 karto atitinkamai. Iš to seka, kad modifikavimas oksiduotu polipirolu neturi įtakos vandenilio peroksido atsakui. Askorbo rūgščiai šis rodiklis turi kitokį poveikį. Oksiduojant polipirolu plėvelę trumpesnę laiką, platinos elektrodo jautrumas nežymiai sumažėja 1,4 karto. Oksiduojant polipirolu dangą ilgesnį laiką, jautrumas padidėja 1,4 karto. Paracetamolio atveju yra stebimas jautrumo padidėjimas, atlikus polipirolu plėvelės oksidavimą esant aukštam potencialui. Jautrumas paracetamoliui padidėja 2, 2 ir 1,8 karto atitinkamai. Tačiau kuo ilgesnį laiką oksiduojama, tuo mažesnis yra jautrumo augimas. Tai reiškia, kad oksiduoto polipirolu įtaka askorbo rūgščiai ir paracetamoliui nėra iki galo aiški. Tam įtakos turi pasikeitusi polipirolu struktūra, plėvelės laidumas ir t.t.

A





Pav. 16 Anodinės srovės priklausomybė nuo koncentracijos askorbo rūgšties (A, viršuje), vandenilio peroksido (B, viduryje), paracetamolio (C, apačia) ant polipirolu modifikuoto Pt elektrodo. Polipirolu modifikuoto Pt elektrodo polimerizacija atlikta 1M KCl tirpale turinčiame 0,1M pirolu prie 0,8 V potencialo 5 min. Polipirolu plėvelės oksidacija atlikta prie 1,0 V potencialo skirtingą laiką nuo 5 iki 15 min.

Visoms trimis analitėms yra nustatyta tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analitės koncentracijos (pav. 16). Remiantis šiomis priklausomybėmis galima padaryti kelias išvadas. Vandenilio peroksidui didžiausias kalibravimo kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas yra užfiksuotas ant nemonifikuoto platinos elektrodo. Oksiduojant polipirolu plėvelę trumpesnį laiką, Pt elektrodo jautrumas sumažėja 10 kartų. Askorbo rūgščiai šis rodiklis žymiai padidėja. Oksiduojant polipirolu plėvelę trumpesnį

laiką platinos elektrodo jautrumas padidėja 1,1 karto. Oksiduojant polipirolo dangą ilgesnį laiką jautrumas padidėja 2,1 karto. Paracetamolio atveju irgi yra stebimas jautrumo sumažėjimas oksiduojant polipirolo plėvelę trumpą laiką. Jautrumas sumažėja 11 kartų. Atlikus polipirolo plėvelės oksidavimą esant aukštam potencialui ilgesnį laiką, Pt elektrodo jautrumas sumažėja 5,7 karto (3 lentelė).

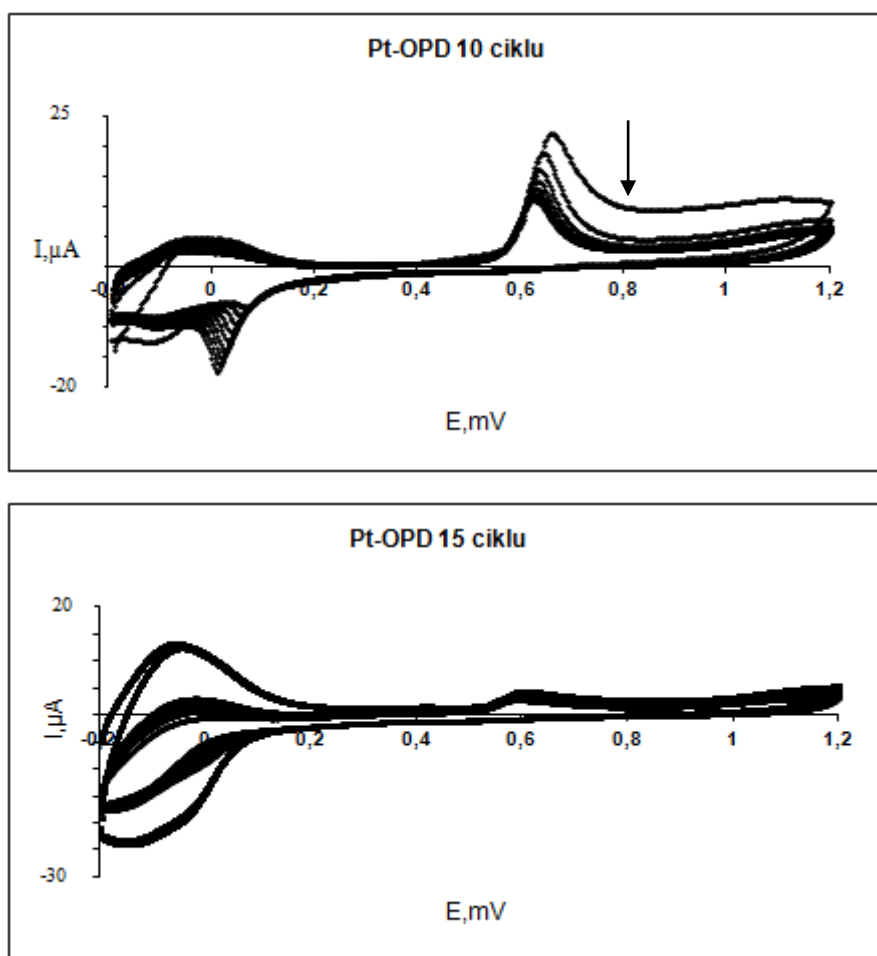
Iš trijų atliktų eksperimentų galima padaryti kelias išvadas. Visoms trimis analitėms yra būdinga tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analičių koncentracijų. Vandenilio peroksido didžiausias kalibracinės kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas buvo gautas ant nemodifikuoto platinos elektrodo (3 lentelė). Atliekant polimerizaciją esant pastoviam potencialui ir oksiduojant polipirolo plėvelę esant aukštam potencialui, yra stebimas didelis Pt elektrodo jautrumo sumažėjimas. Iš to seka, kad polipirolo plėvelė ir vienu ir kitu atveju stabdo vandenilio peroksido difuziją. Visai kitas reiškinys yra stebimas, atlikus bandymus su askorbo rūgštimi. Atliekant polimerizaciją esant pastoviam potencialui, ar užrašant ciklinės voltamperogramas, yra stebimas platinos jautrumo sumažėjimas. Oksiduojant polipirolo plėvelę esant aukštam potencialui, yra stebimas platinos elektrodo padidėjimas. Paracetamoliui Pt elektrodo jautrumo didžiausias padidėjimas yra stebimas, oksiduojant polipirolo plėvelę prie 0.8 V. Oksiduojant prie aukštesnio potencialo (1.0 V), yra stebimas jautrumo sumažėjimas. Tuo tarpu polimerizuojat pirolą esant pastoviam potencialui, jautrumas sumažėja 2,6 ir 2.9 karto atitinkamai – polipirolo plėvelė stabdo paracetamolio difuziją.

3 lentelė. Pasirinktų analičių jautrumo palyginimas ant skirtingais metodais polianilinu modifikuoto Pt elektrodo.

| Elektrodo modifikavimas | Trukmė, min | Jautrumas, $\mu\text{A mmol}^{-1}\text{L}$ | | |
|-------------------------|-------------|--|------------------|----------------|
| | | Vandenilio peroksidui | Askorbo rūgščiai | Paracetamoliui |
| Nemodifikuotas | 0 | 3,10 | 4,17 | 1,83 |
| 0,8 V OPpy | 5 | 0,47 | 3,05 | 4,02 |
| | 10 | 0,38 | 5,67 | 3, 23 |
| 1,0 V OPpy | 5 | 0,30 | 4,73 | 0,16 |
| | 10 | 0,43 | 8,37 | 0,32 |
| 0,8 V Ppy | 5 | 0.35 | 3,68 | 0,70 |
| | 10 | 0.25 | 3,33 | 0,63 |

3.3. Ortofenilendiamino elektrocheminė polimerizacija: Ciklinės voltamperometrijos metodas, pastovaus potencialo metodas. Askorbo rūgšties, paracetamolio, H₂O₂ atsako tyrimas.

Ortofenilendiaminu modifikuotas Pt elektrodas buvo ruošiamas dviem būdais. Elektropolimerizacija buvo atliekama 0,5 M sieros rūgšties tirpale turinčiame 0,05 M ortofenilendiamino.



Pav. 17 Ciklinės voltamperogramos gautos ant Pt elektrodo modifikuoto ortofenilendiaminu 0,5 M sieros rūgšties tirpale turinčiame 0,05 M ortofenilendiamino. Potencialo sklaidymo ribos [-0, 2; 1,2] V. Potencialo sklaidymo greitis 50 mV s⁻¹.

Pirmu atveju 0,5 M H₂SO₄ tirpale, turinčiame 0,05M ortofenilendiamino, buvo registruojamos ciklinės voltamperogramos, sklaidžiant potencialą 50 mV/s greičiu intervale nuo -0, 2 iki +1, 2 V. Buvo užrašomi 5,10 ir 15 ciklai. Atlikus polimerizaciją prie fikso ciklo, elektrodas buvo nuplaunamas distiliuotu

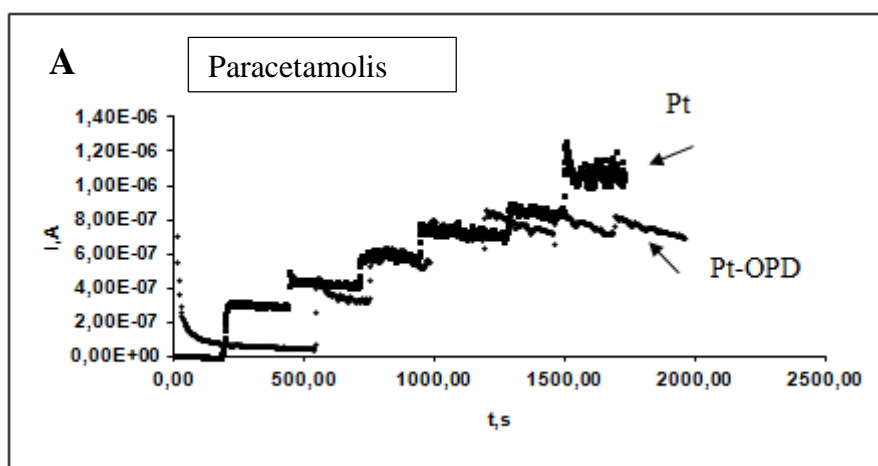
vandeniui ir perkeliama į sieros rūgšties tirpalą. Sieros rūgšties tirpale buvo užrašoma ciklinė voltamperograma intervale $[-0,1; +0,5]$ V skleidimo greičiu 50 mV/s.

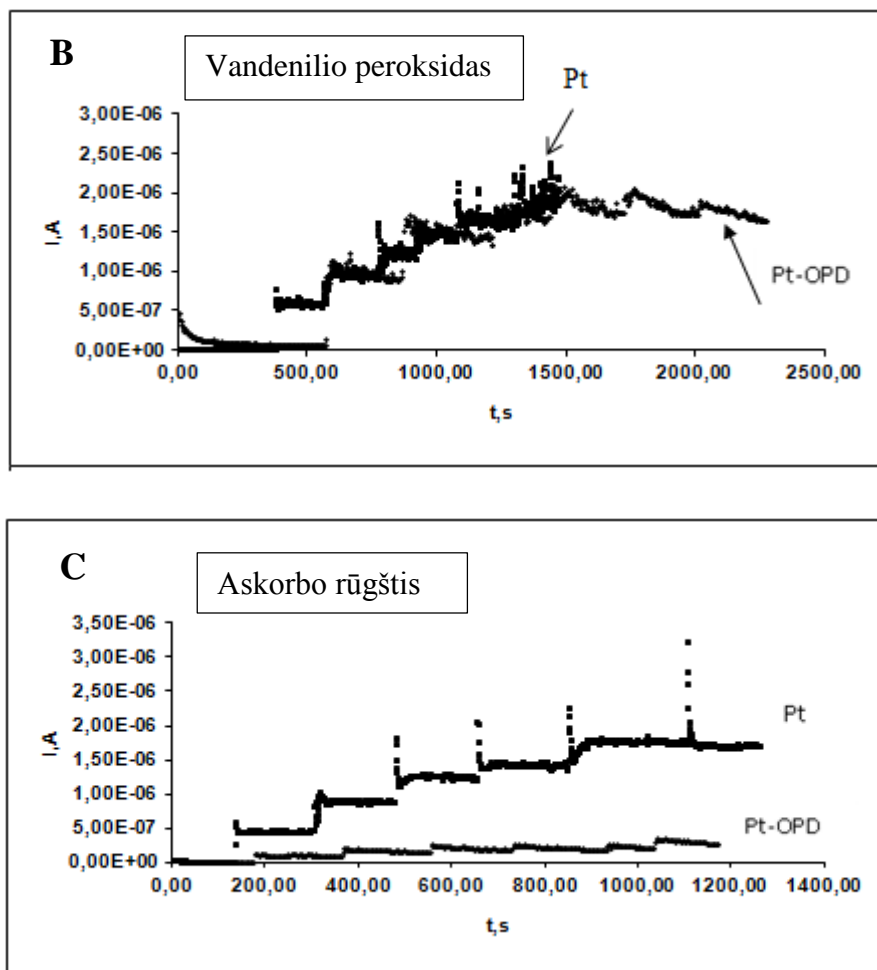
Ciklinėje voltamperogramoje yra stebimas vienas oksidacijos pikas prie 1.1 V, kuris atsiranda dėl ortofenilendiamino polimerizacijos. Ir redukcijos pikas prie 0,05 V. Oksidacijos pikas aiškiai mažėja ir piko potencialas pasislenka teigiamo potencialo link su kiekvienų ciklų. Tai rodo santykinai mažą polimerinės plėvelės laidumą (pav. 17). Po 15 ciklų kreivė pasikeičia.

Po pirmo anodinio potencialo skleidimo yra stebima aukšta anodinės srovės smailė esant potencialui $E > 0,75$ V (Pav. 17), kuri atitinka OPD oksidaciją. Katodinė ir anodinė bangų pora, esanti maždaug $E = 0,5$ ir $0,7$ V, atsiranda fiksuojant sekančius ciklus. Jų vertės neatitinka standartinės vertės chinono/hidrochinono. Taigi, manoma kad susiformuoja kitos dalelės, pavyzdžiui, radikal katijonas, kurios sukelia katodinio piko atsiradimą. Atliekant toliau potencialo ciklinimą, šios smailės sumažėja ir pasistumia katodine ir anodine kryptimis, atitinkamai. Šios smailės atitinka kai kurių mažos molekulinės masės oksidacijos produktų, susidariusių per anodinę oksidaciją, redukcijos ir oksidacijos procesus. Po ilgo potencialų ciklinimo, stebimos anodinė smailė ties $E = 0,21$ V ir jos katodinė pora prie $E = 0,13$ V su mažesnėmis smailėmis ties $0,26$ ir $0,38$ V. Tuo pačiu metu, elektrodas padengtas plonu sluoksniu POPD, kuris keičia savo spalvą nuo šviesiai geltonos spalvos, kai vyksta redukcija iki rudai raudonos kai vyksta oksidacija. Šių smailių aukštis nedidėja pakartotinio potencialo ciklinimo metu. Tai rodo, kad tam tikro storio POPD sluoksnis ant elektrodo paviršiaus trukdo tolesniam polimero sluoksnio augimui. Labiausiai tikėtina, kad tai yra dėl jo mažo elektrinio laidumo. Be to, anodinė srovė atitinkanti monomero oksidaciją mažėja drastiškai, paliekant tik nedidelę anodinę smailę, esančią maždaug $E = 0,90-0,95$ V (17 pav.) Tai rodo mažą, lyginant su švairiu platinos elektrodo paviršiumi, OPD oksidacijos ant POPD plėvelės efektyvumą. Perkėlus elektrodą į elektrolito tirpalą sudėtyje neturinčio OPD, yra stebimos anodinė ir katodinė smailės esančios ties $E = 0,21-0,24$ V ir mažos smailės maždaug $E = 0,45$ V. Šios smailės nekeičia aukščio

ir piko potencialo net po daugybės ciklų elektrolito tirpale. POPD plėvelės anodinės smailės aukštis neturi labai pasikeisti, padidinus viršutinę potencialų ribą nuo $E = 1,05$ iki $1,25$ V. Smailės aukštis priklauso nuo OPD tirpalo, naudojamo elektropolimerizacijai, koncentracijos. Gauto polimero piko srovė nedidėja sparčiai su ciklo skaičiais virš 10 ar 15. Tokia koncentracijos priklausomybė rodo, kad esant žemai monomero koncentracijai, susiformuoja tankesnės ir labiau kompaktiškos POPD plėvelės su mažesne redokso talpa, kurios izoluoja elektrodo paviršių nuo tolesnės elektropolimerizacijos.

Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeliamas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu mikrošvirkštu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis). Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švairiu Pt elektrodu (pav.18). Kadangi ortofenilendiaminas nepasižymi pakankamai geru stabilumu, tai prieš kiekvieną eksperimentą su naują analitę buvo atliekamas platinos elektrodo modifikavimas šviežiai nusodintu ortofenilendiaminu.

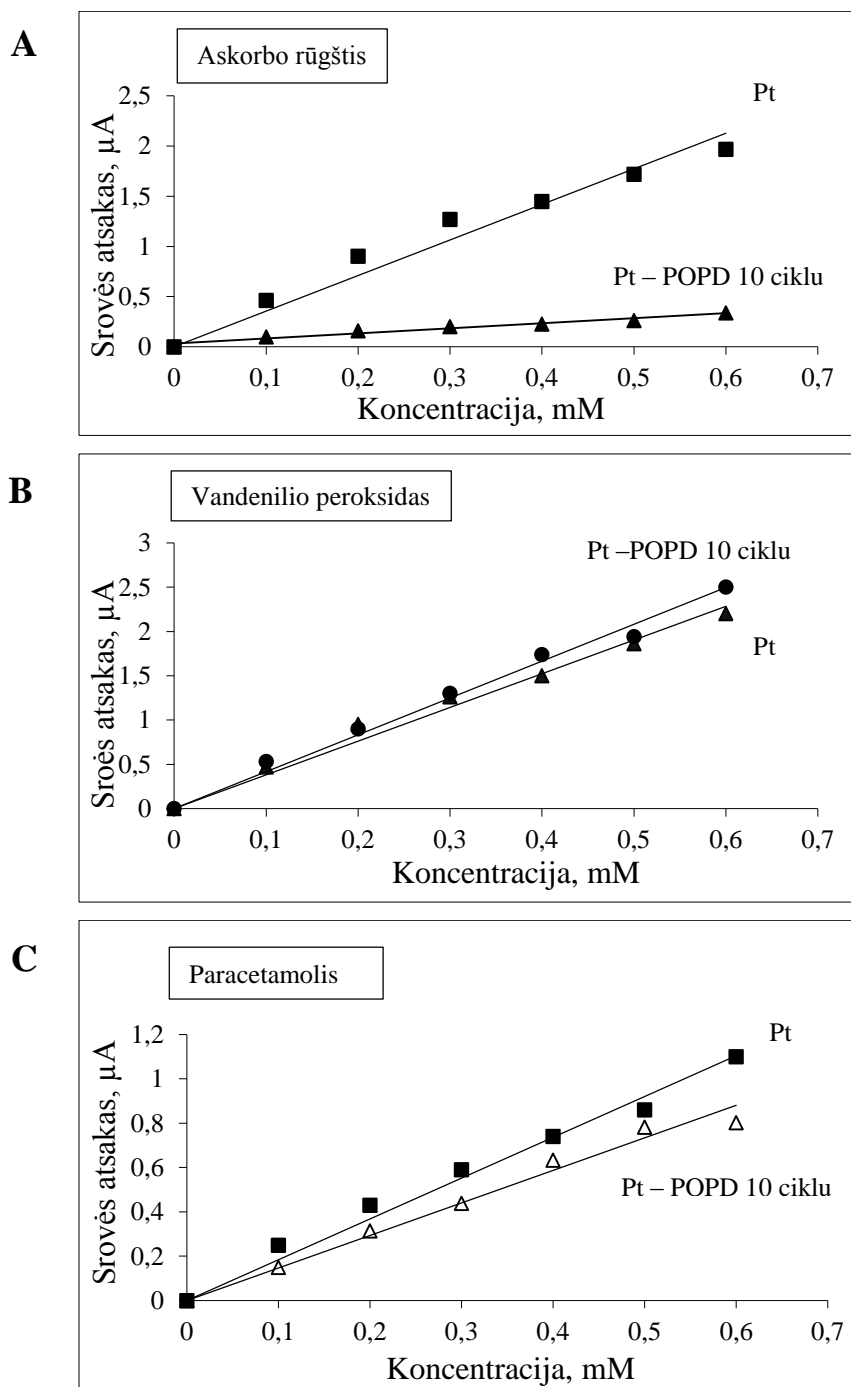




Pav. 18 Anodinės srovės priklausomybė nuo paracetamolio (A), vandenilio peroksido (B) ir askorbo rūgšties (C) koncentracijos ant ortofenilendiaminu modifikuoto Pt elektrodo. Ciklinės voltamperogramos buvo užrašytos 0,5 M sieros r-s tirpale turinčiame 0,05M ortofenilendiamino intervale [-0, 2; +1, 2] V. Tolesnis tyrimas atliktas buferiniame tirpale pH7, turinčiame 0,1 mol L⁻¹ KCl esant pastoviam 0,6 V potencialui. Atitinkamos analitės buvo įvedamos į tirpalą mažomis porcijomis 0,1 mmol L⁻¹.

Įvedant mažas porcijas vandenilio peroksido į buferinį tirpalą, anodinė srovė pradžioje auga ir pasiekia pastovią reikšmę. Nemodifikuotam elektrodui pastovi srovė nusistovi maždaug po 10 s, kuomet modifikuotam elektrodui tai užima daugiau laiko. Pavyzdžiui, vandenilio peroksidui, bei paracetamoliui tas laikas yra nuo 10 iki 100 s, priklausomai nuo poliortofenilendiamino plėvelės storio. Kuo plėvelė storesnė, tuo nusistovėjimo laikas ilgesnis. Askorbo rūgšties atveju anodinė srovė pasiekia savo pastovią reikšmę sąlyginai greitai. Kuo plėvelė storesnė, tuo nusistovėjimo laikas ilgėja. Poliortofenilendiamino plėvelės jautrumas askorbo rūgščiai yra mažesnis, negu vandenilio peroksidui ar

paracetamoliui. Nors askorbo rūgšties ir paracetamolio molekulių dydžiai praktiškai vienodi.

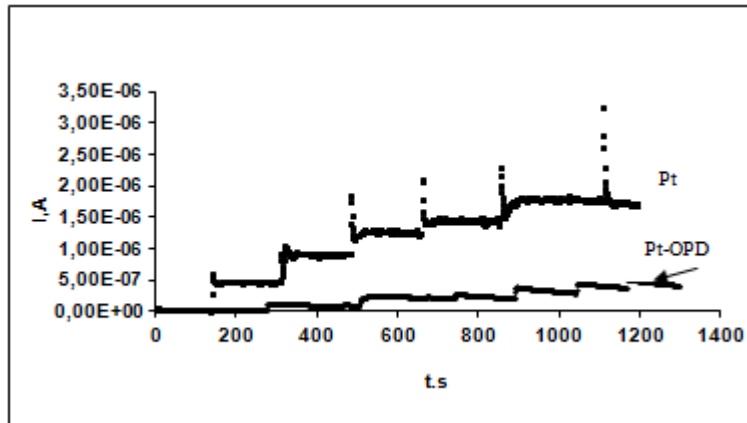
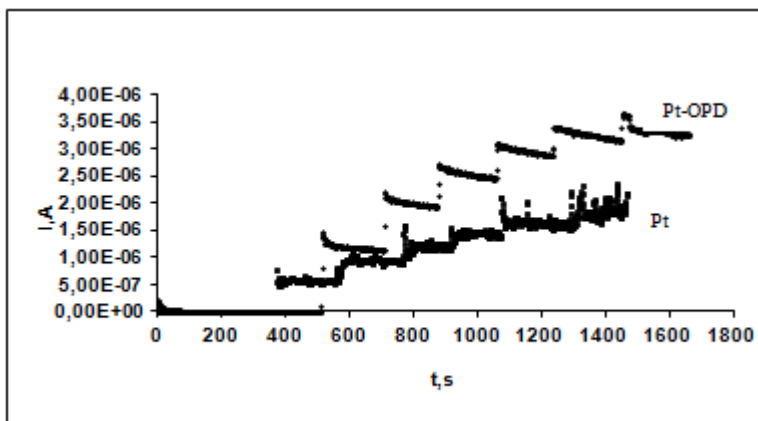
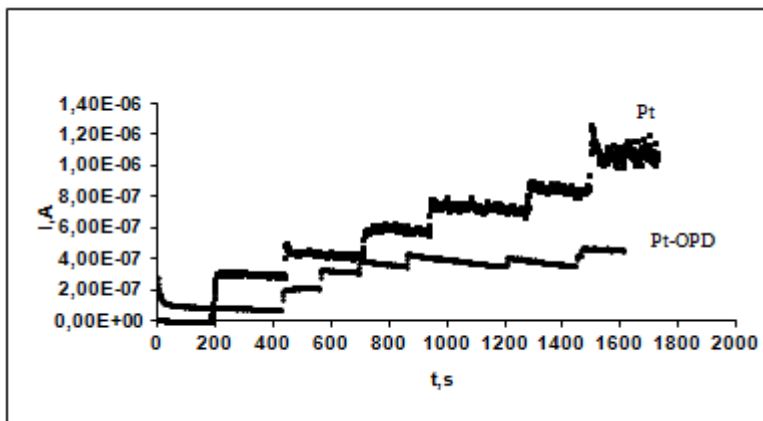


Pav.19 Anodinės srovės priklausomybė nuo koncentracijos askorbo rūgšties (A, viršuje), vandenilio peroksido (B, viduryje), paracetamolio (C, apačia) ant ortofenilendiamino modifikuoto Pt elektrodo. Pt elektrodo polimerizacija atlikta 0,5 mol L⁻¹ sieros rūgšties tirpale turinčiame 0,05 mol L⁻¹ ortofenilendiamino. Ciklinės voltamperogramos buvo užrašomos [-1,2: +0,2 V] potencialu intervale skirtingą laiką (nuo 5 iki 15 ciklų). Švarus Pt elektrodas – 0 min.

Visoms trimis analitėms yra nustatyta tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analitės koncentracijos (pav. 19). Remiantis šiomis priklausomybėmis, galima padaryti kelias išvadas. Vandensilio peroksidui mažiausias kalibravimo kreivės nuolydis ir mažiausias elektrodo jautrumas yra užfiksuotas ant nemodifikuoto platinos elektrodo. Atlikus elektropolimerizaciją ortofenilendiaminu, platinos elektrodo jautrumas padidėja 1,1 kartą. Askorbo rūgščiai šis rodiklis atvirkščiai žymiai sumažėja. Net ir plonesnio ortofenilendiamino sluoksnio ($0,04 \mu\text{C cm}^2$) nusodinimas ant platinos elektrodo sumažina elektrodo jautrumą 92 %. Storiausiai ortofenilendiamino dangai ($2,5 \mu\text{C cm}^2$) jautrumas sumažėja 8,6 karto. Paracetamolio atveju, kaip ir askorbo rūgšties atveju, yra stebimas jautrumo sumažėjimas, atlikus elektrodo modifikavimą ortofenilendiamino sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai ortofenilendiamino dangai jautrumas paracetamoliumi sumažėja 1,4 karto.

Antru atveju elektrodo potencialas buvo palaikomas pastoviu 0,8 V ir buvo keičiamas elektropolimerizacijos laikas nuo 5 iki 15 min. Atlikus polimerizaciją per nustatytą laiką, elektrodas buvo nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir perkeliamas į sieros rūgšties tirpalą. Sieros rūgšties tirpale buvo užrašoma ciklinė voltamperograma intervale $[-0,1; +0,5]$ V skleidimo greičiu 50 mV/s.

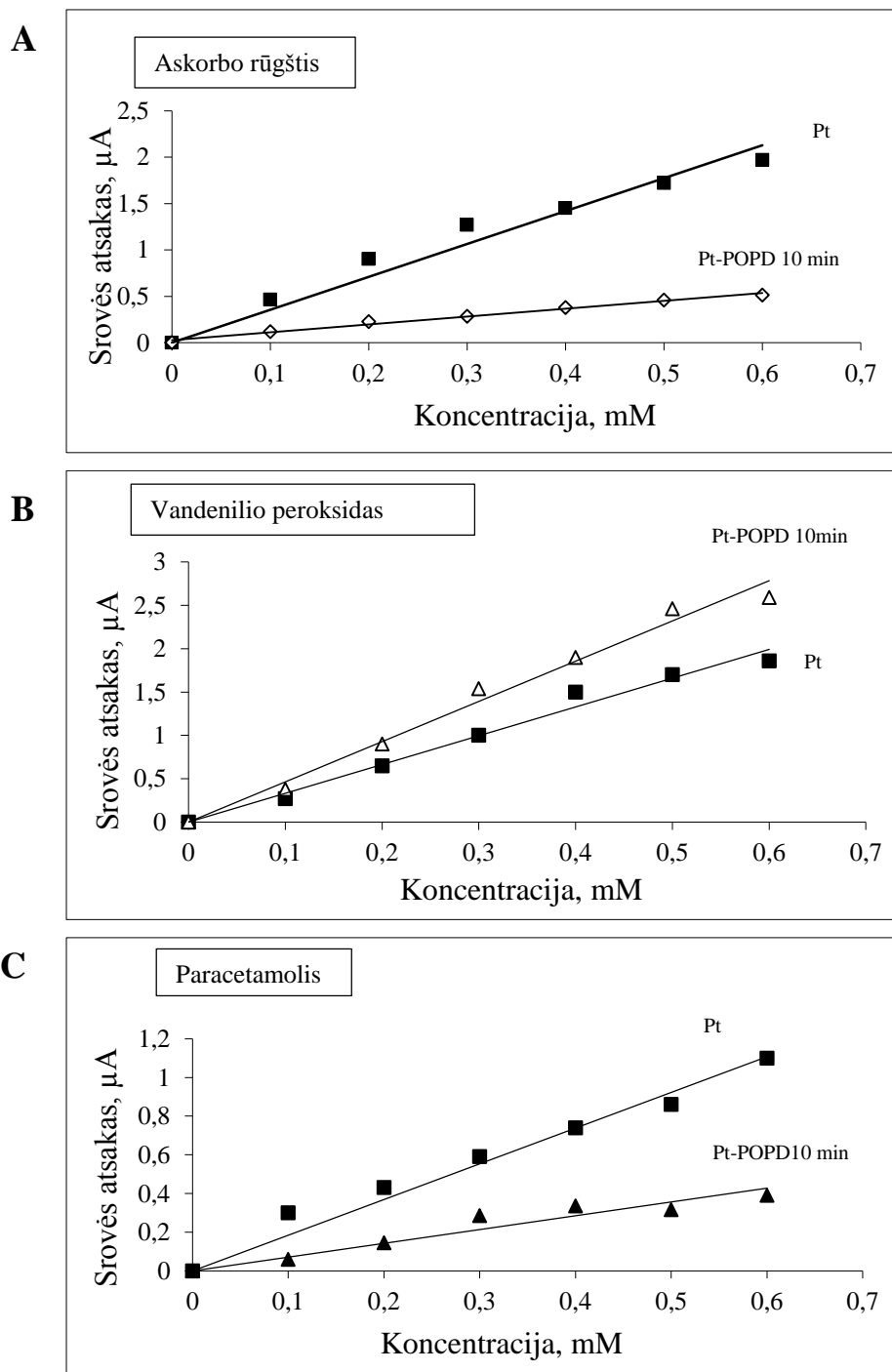
Toliau modifikuotas elektrodas buvo nuplaunamas vandeniu ir perkeliamas į 0,1 M fosfatinį buferinį tirpalą (pH 7,0). Eksperimentų metu mikrošvirkštu mažomis porcijomis į buferinį tirpalą buvo įlašinama atitinkamos analitės porcija (vandenilio peroksidas, askorbo rūgštis, paracetamolis). Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam 0,6 V potencialui. Prieš kiekvieną eksperimentą buvo atliekami tyrimai su švairiu Pt elektrodu (pav 20)

A**B****C**

Pav.20 Anodinės srovės priklausomybė nuo askorbo rūgšties (A), vandenilio peroksido (B) ir paracetamolio (C) koncentracijos ant ortofenilendiaminu modifikuoto Pt elektrodo. Elektropolimerizacija buvo atlikta esant pastoviam 0,8 V potencialui prie 5 min. Tolesnis tyrimas atliktas buferiniame tirpale pH7, turinčiame 0,1 mol L⁻¹ KCl esant pastoviam 0,6 V potencialui. Atitinkamos analitės buvo įvedamos į tirpalą mažomis porcijomis 0,1 mmol L⁻¹.

Įvedant mažas porcijas vandenilio peroksido į buferinį tirpalą, anodinė srovė pradžioje auga ir pasiekia pastovią reikšmę. Nemodifikuotam elektrodui

pastovi srovė nusistovi maždaug po 10 s, kuomet modifikuotam elektrodui tai užima daugiau laiko. Pavyzdžiui vandenilio peroksidui bei paracetamoliui tas laikas yra nuo 50 iki 100 s, priklausomai nuo ortofenilendiamino plėvelės storio. Kuo plėvelė storesnė, tuo nusistovėjimo laikas ilgesnis.



Pav.21 Anodinės srovės priklausomybė nuo koncentracijos askorbo rūgšties (A, viršuje), vandenilio peroksido (B, viduryje), paracetamolio (C, apačia) ant ortofenilendiamino modifikuoto Pt elektrodo. Pt elektrodo polimerizacija atlikta 0,5 mol L⁻¹ sieros rūgšties tirpale turinčiame 0,05 mol L⁻¹ ortofenilendiamino. Elektropolimerizacija buvo atlikta esant pastoviam 0,8 V potencialui prie 5 ir 10 min.

Visoms trimis analitėms yra nustatyta tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analitės koncentracijos (pav. 21). Remiantis šiomis priklausomybėmis, galima padaryti kelias išvadas. Vandenilio peroksidui mažiausias kalibravimo kreivės nuolydis ir mažiausias elektrodo jautrumas yra užfiksuotas ant nemodifikuoto platinos elektrodo. Modifikavus platinos elektrodą ortofenilendiamino sluoksniu, platinos elektrodo jautrumas padidėja 1,4 karto po 10 min elektropolimerizacijos. Askorbo rūgščiai šis rodiklis atvirkščiai žymiai sumažėja. Net ir plonesnio ortofenilendiamino sluoksnio ($2.1\mu\text{C cm}^2$) nusodinimas ant platinos elektrodo sumažina elektrodo jautrumą 79 %. Storiausiai ortofenilendiamino dangai ($6.2\mu\text{C cm}^2$) jautrumas sumažėja 3.3 karto. Paracetamolio atveju, kaip ir askorbo rūgšties atveju, yra stebimas jautrumo sumažėjimas atlikus elektrodo modifikavimą ortofenilendiamino sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai ortofenilendiamino dangai jautrumas paracetamoliui sumažėja 1.5 ir 2.8 karto atitinkamai (4 lentelė).

Iš dviejų atliktų eksperimentų galima padaryti kelias išvadas. Visoms trimis analitėms yra būdinga tiesinė anodinės srovės priklausomybė nuo analičių koncentracijų. Vandenilio peroksido didžiausias kalibracinės kreivės nuolydis ir didžiausias elektrodo jautrumas buvo gautas ant nemodifikuoto platinos elektrodo (4 lentelė). Modifikavus platinos elektrodą ortofenilendiamino sluoksniu, platinos elektrodo jautrumas padidėja 1,1 ir 1,4 priklausomai nuo taikomo elektropolimerizacijos metodo. Tai reiškia, kad ortofenilendiamino plėvelė netrukdo laisvai vandenilio peroksido difuzijai. Visai priešingas reiškinys yra stebimas, atlikus bandymus su askorbo rūgštimi (pav.20 ir 22). Net ir ploniausias ortofenilendiamino plėvelės sluoksnis ($2.1\mu\text{C cm}^2$) 92 ar 79% sumažina platinos elektrodo jautrumą, priklausomai nuo taikomo polimerizacijos metodo. Storiausiai ortofenilendiamino dangai ($6.2\mu\text{C cm}^2$) elektrodo jautrumas sumažėjo 3.3 karto (4 lentelė). Ortofenilendiamino plėvelė nepraleidžia askorbo rūgšties. Paracetamoliui Pt elektrodo jautrumo sumažėjimas yra stebimas modifikavus platinos elektrodą ortofenilendiamino sluoksniu. Ploniausiai ir storiausiai ortofenilendiamino dangai jautrumas

sumažėja 1.4 ir 2.8 karto atitinkamai priklausomai nuo taikomo modifikavimo metodo. Ortofenilendiamino plėvelė praktiškai nepraleidžia paracetamolio molekulių.

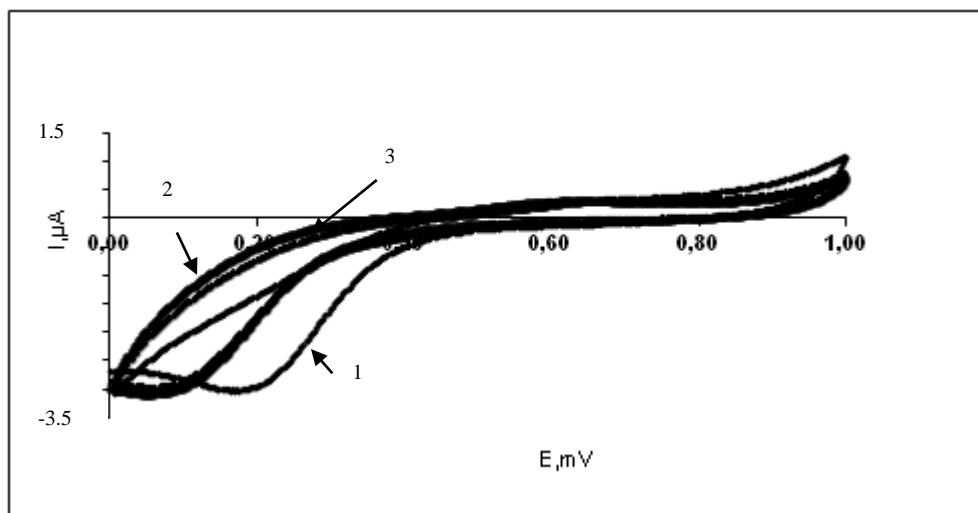
4 lentelė. Pasirinktų analičių jautrumo palyginimas ant skirtingais metodais ortofenilendiaminu modifikuoto Pt elektrodo.

| Elektrodo modifikavimas | Trukmė | Jautrumas, $\mu\text{A mmol}^{-1}\text{L}$ | | |
|-------------------------|----------|--|------------------|----------------|
| | | Vandenilio peroksidui | Askorbo rūgščiai | Paracetamoliui |
| Nemodifikuotas | 0 | 3.70 | 2.80 | 1.83 |
| Pastovus potencialas | 10 min | 4,32 | 0.86 | 0.65 |
| Potencialo skleidimas | 10 ciklų | 4,16 | 0.56 | 1.34 |

3.4. Nafionu padengto Pt elektrodo sluoksnio gavimas. Askorbo rūgšties, paracetamolio, H_2O_2 atsako tyrimas.

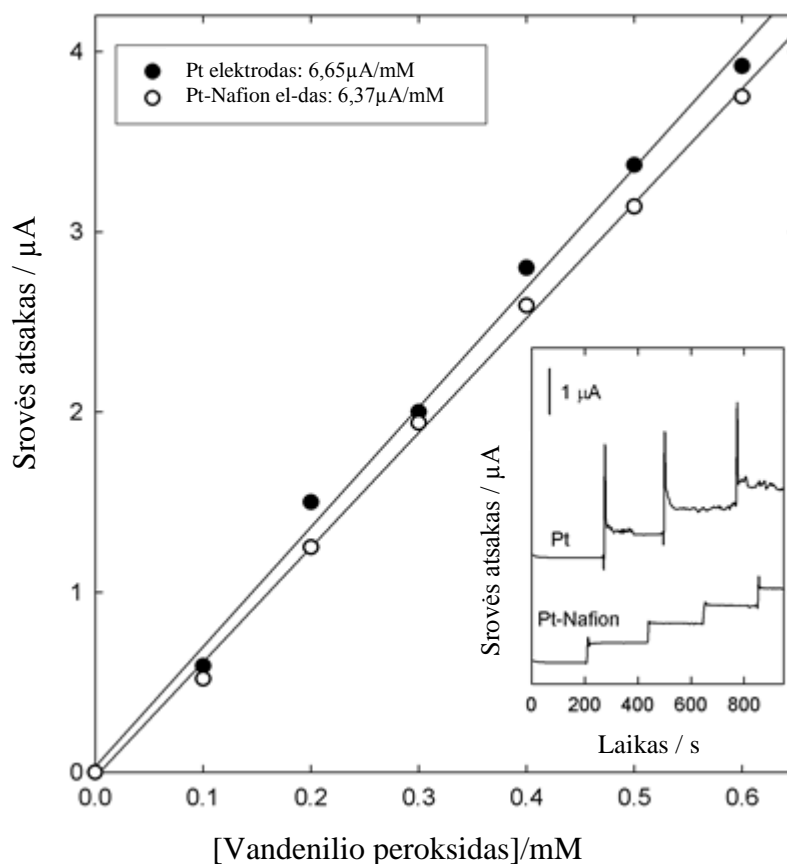
Pt vielos elektrodas buvo įtvirtinamas laikiklyje apverčiant jį aukštyn kojomis. Ant Pt paviršiaus mikrošvirkštu buvo užlašinamas vienas lašas (ca. 100 μl) nafiono tirpalo alifatinių alkoholių tirpale. Elektrodas paliekamas džiūti kambario temperatūroje. Kituose eksperimentuose buvo užlašinami 2 ir 3 lašai nafiono tirpalo, leidžiant kiekvienam iš jų išdžiūti atskirai. Lašui išdžiuvus, modifikuotas Pt elektrodas buvo perkeliamas į H_2SO_4 0,5 M tirpalą, kur intervale [0:1V] 50 mV/s skleidimo greičiu buvo užrašoma ciklinė voltamperograma (23 pav).

Vėliau modifikuotas Pt elektrodas nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir perkeliamas į fosfatinį buferį pH 7,0, turintį 0,1M KCl. Elektrodas buvo laikomas esant pastoviam potencialui 0,6 V. Į buferinį tirpalą mikrošvirkštu mažomis porcijomis (ca. 100 μl) buvo lašinamas analizės tirpalas.



Pav.23 Ciklinės voltamperogramos gautos ant Pt elektrodo modifikuoto nafiono tirpalo alifatinių alkoholių tirpale. Potencialo skleidimo ribos [0; 1.] V. Potencialo skleidimo greitis 50 mV s⁻¹. Skaičiais parodytas lašų skaičius.

Vandenilio peroksidas yra viena svarbiausių analičių biojutikliuose. Oksidazės biosensoriai yra naudojami vandenilio peroksido nustatymui fermentinės (katalizinės) reakcijos metu. Vandenilio peroksidas nustatomas amperometriškai palaikant pastovų 0,6 V potencialą palyginamojo elektrodo atžvilgiu. 24 pav. yra pavaizduota vandenilio peroksido koncentracijos priklausomybė nuo srovės ant švaraus ir nafionu modifikuoto Pt elektrodo. Linijinė priklausomybė yra stebima iki koncentracijos ribos 0.6 mM. Šios priklausomybės praktiškai nesiskiria tiek švariam tiek modifikuotam elektrodui. Pt ir nafionu modifikuoto elektrodo jautrumai yra 6,65 μ / mm (arba 332 μ / mM cm²) ir 6,37 μ / mm (arba 318 μ / mM cm²), atitinkamai. Iš to seka, kad nafiono polimerinis sluoksnis nežymiai sulėtina vandenilio peroksido pralaidumą. Polimerinis nafiono sluoksnis tik nežymiai sumažina Pt elektrodo jautrumą vandenilio peroksidui vos 4-5%. Be to modifikavus Pt elektrodą nafionu, žymiai sumažėjo srovės triukšmai, palyginus su švariu Pt elektrodu (pav 24. įterpė).

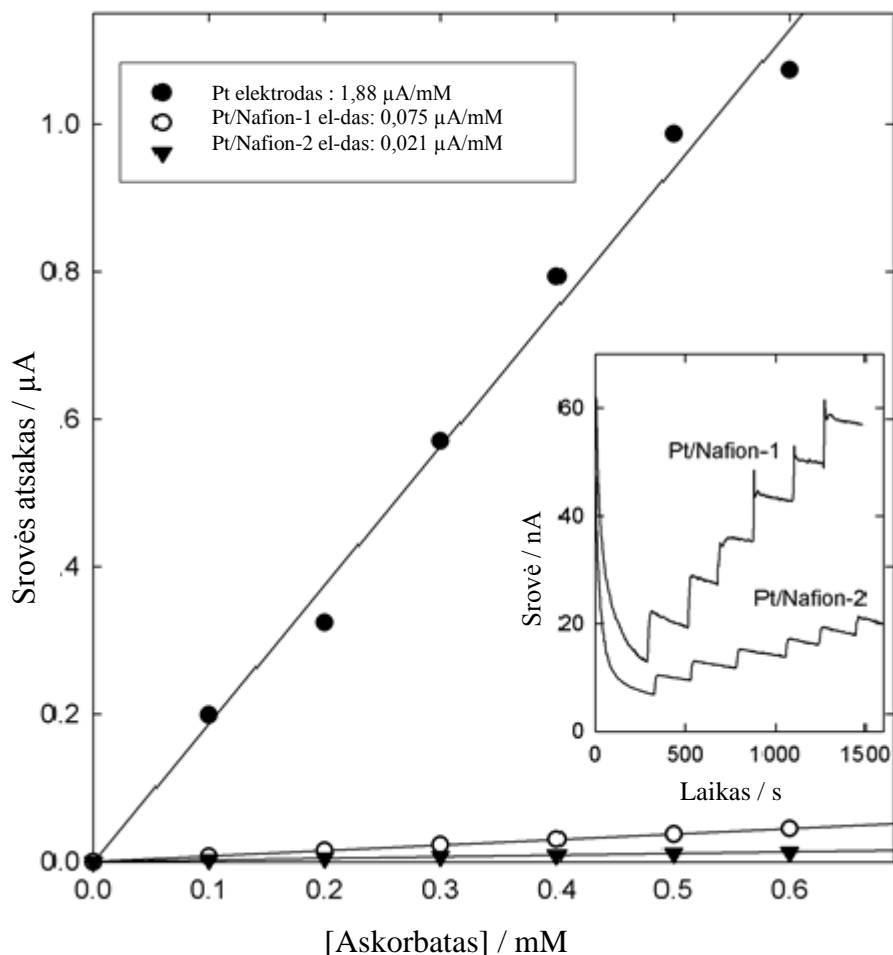


Pav.24 Vandenilio peroksido koncentracijos priklausomybė nuo srovės ant nafionu modifikuoto Pt elektrodo (2 kreivė) ir ant nemodifikuoto Pt elektrodo (1 kreivė) palyginimas.

Atliekant eksperimentus su askorbo rūgštimi, taip pat yra stebima tiesinė koncentracijos priklausomybė visame matavimų intervale (iki 0,6 mM), palaikant Pt elektrodo potencialą pastoviu 0,6 V. Užlašinus 2 lašus nafiono Pt ir nafionu modifikuoto elektrodo jautrumai sumažėjo iki 0.075 $\mu\text{A}/\text{mM}$ ($3.75 \mu\text{A}/\text{mM cm}^2$) plonesnei dangai, ir 0.021 $\mu\text{A}/\text{mM}$ ($1.05 \mu\text{A}/\text{mM cm}^2$) storesnei dangai (Pav. 25). Nafiono sluoksnis žymiai sumažina askorbo rūgšties difuziją maždaug nuo 4 iki 1,1% dviejų nafiono lašų atveju. Askorbo rūgšties jautrumas ant švaraus Pt elektrodo 3,3 karto mažesnis negu vandenilio peroksido atveju, tai yra 1.88 $\mu\text{A}/\text{mM}$ ($94 \mu\text{A}/\text{mM cm}^2$).

Kaip ir vandenilio peroksido atveju išėjimo srovės augimas yra staigus, įlašinus askorbo rūgšties porciją. Taip pat yra stebimi maži srovės triukšmai. Jie mažėja didėjant nafiono sluoksnio storiui.

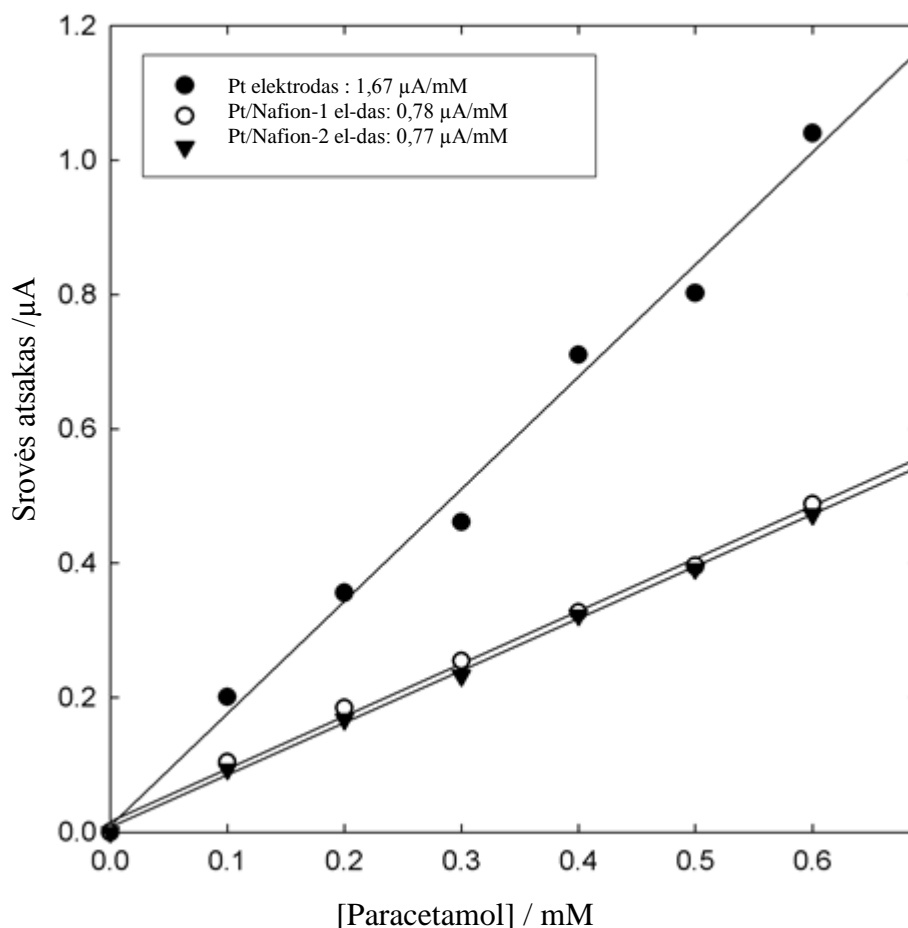
Gauti rezultatai rodo kad nafiono sluoksnio danga pasižymi aukštu efektyvumu. Taip yra dėl neigiamų sulfatinių grupių esančių nafiono polimero sudėtyje. Šios grupės savo elektrostatiškieji krūviai atremia neigiamą krūvį tūrinčius askorbo rūgšties anijonus.



Pav. 25. Askorbo rūgšties koncentracijos priklausomybė ant nemodifikuoto Pt elektrodo ir ant 1 ir 2 lašais nafionu modifikuoto Pt elektrodo. Intarpas: Srovės priklausomybė nuo laiko esant 1 ir 2 nafiono lašams (kiekvienas žingsnis atspindi askorbo rūgšties koncentracijos padidėjimą 0,1 mM).

Kaip ir askorbo rūgšties bei vandenilio peroksido, paracetamolio (acetaminofeno) atveju irgi yra stebima tiesinė koncentracijos priklausomybė nuo išėjimo srovės. Nes jis irgi buvo tiriamas tomis pačiomis sąlygomis. Pt elektrodo jautrumas paracetamoliui 1.67 $\mu\text{A}/\text{mM}$ ($83.5 \mu\text{A}/\text{mM cm}^2$). Modifikavus Pt elektrodą nafiono sluoksniais, jautrumas sumažėjo iki 0.77-0.78 $\mu\text{A}/\text{mM}$ ($38\text{-}39 \mu\text{A}/\text{mM cm}^2$), tai yra iki 46% nuo pradinės vertės (pav.26).

Kadangi paracetamolis neturi savo sudėtyje neigiamos jonizuojančios grupės, tai atskyrimas pagal molekulės dydį gali būti viena pagrindinių srovės atsako mažėjimo priežasčių.



Pav.26 Paracetamolio koncentracijos priklausomybe nuo srovės ant nemodifikuoto ir nafiono sluoksniais modifikuoto Pt elektrodo.

Darbo metu buvo atlikti bandymai užlašinti tris nafiono tirpalo lašus, tačiau pavyko užrašyti tik ciklinę voltamperogramą sieros rūgšties tirpale. Praplovus distiliuotu vandeniu, buvo aiškiai matyti kad sluoksnis sutrupėjo. Be to, kiekvienas eksperimentas su nafionu, buvo atliktas tik su šviežiai užlašintais nafiono 1 ar 2 lašais. Taip buvo daroma, nes nafiono sluoksnio gyvavimo trukmė nėra didelė. Atlikus bandymus su vandenilio peroksidu, sluoksnis pradėdavo irti, todėl bandymai su askorbo rūgštimi ar paracetamoliu buvo atlikti su šviežiai modifikuotu Pt elektrodo.

4. IŠVADOS

1. Buvo ištirtos ir nustatytos optimalios elektrolaidžių polimerų nusodinimo sąlygos. Polianilinu modifikuotas Pt elektrodas buvo ruošiamas dviem būdais. Elektropolimerizacija buvo atliekama 0,5 M sieros rūgšties tirpale, turinčiame 0,05 M anilino. Pirmu atveju, elektrodo potencialas buvo palaikomas pastoviu 0,8 V ir buvo keičiamas elektropolimerizacijos laikas nuo 3 iki 20 min. Didėjant elektropolimerizacijos laikui, smailių dydis sparčiai auga. Ypač spartus smailių padidėjimas yra stebimas, pailginus elektropolimerizacijos laiką nuo 5 iki 15 min. Tuo pat metu lėtesnis smailių augimas pastebimas, elektropolimerizuojant Pt elektrodą ilgesnį laiką (iki 20 arba 30 min). Antru atveju 0,5 M H₂SO₄ tirpale, turinčiame 0,05M anilino, buvo registruojamos ciklinės voltamperogramos, skleidžiant potencialą 50 mV/s greičių intervale nuo -0,1 iki +1,0 V. Buvo keičiamas potencialo skleidimo laikas nuo 3 iki 30 min. Didėjant elektropolimerizacijos laikui, smailių dydis sparčiai didėja. Ypač spartus smailių padidėjimas yra stebimas, pailginus elektropolimerizacijos laiką nuo 20 iki 30 min. Kuomet lėtesnis smailių augimas pastebimas, elektropolimerizuojant Pt elektrodą trumpesnį laiką (iki 10 min).

Nafiono atveju Pt vielos elektrodas buvo įtvirtinamas laikiklyje, apverčiant jį aukštyn kojom. Ant Pt paviršiaus mikrošvirkštu buvo užlašinamas vienas lašas (ca. 100 μl) nafiono tirpalo alifatinių alkoholių tirpale. Elektrodas paliekamas džiūti kambario temperatūroje. Kituose eksperimentuose buvo užlašinami 2 ir 3 lašai nafiono tirpalo, leidžiant kiekvienam iš jų išdžiūti atskirai. Buvo bandoma užlašinti 3 Nafiono lašus. Bet jau po pirmojo ciklo sluoksnis sutrupėdavo.

Ortofenilendiaminu modifikuotas Pt elektrodas buvo ruošiamas dviem būdais. Elektropolimerizacija buvo atliekama 0,5 M sieros rūgšties tirpale, turinčiame 0,05 M ortofenilendiamino. Pirmu atveju 0,5 M H₂SO₄ tirpale, turinčiame 0,05M ortofenilendiamino, buvo registruojamos ciklinės voltamperogramos, skleidžiant potencialą 50 mV/s greičiu intervale nuo -0, 2 iki +1, 2 V. Buvo užrašomi 5,10 ir 15 ciklai. Ciklinėje voltamperogramoje yra

stebimas vienas oksidacijos pikas prie 1.1 V, kuris atsiranda dėl ortofenilendiamino polimerizacijos, ir redukcijos pikas prie 0,05 V. Oksidacijos pikas su kiekvienu ciklu aiškiai mažėja, ir piko potencialas pasislenka teigiamo potencialo link. Tai rodo santykinai mažą polimerinės plėvelės laidumą. Antru atveju elektrodo potencialas buvo palaikomas pastoviu 0,8 V ir buvo keičiamas elektropolimerizacijos laikas nuo 5 iki 15 min. Palyginus šios du eksperimentus, galima padaryti išvadą, kad atliekant polimerizaciją esant pastoviam potencialui, kreivės gaunasi gražesnės, aiškiai atskirtos viena nuo kitos. Naudojant potencialo ciklinimą, kreivės susilieja.

Polipirolo modifikuotas Pt elektrodas buvo ruošiamas dviem būdais. Elektropolimerizacija buvo atliekama 0,1M KCl tirpale, turinčiame 0,1M pirolo. Pirmu atveju 0,1M KCl tirpale, turinčiame 0,1M pirolo, buvo registruojamos ciklinės voltamperogramos, skleidžiant potencialą 50 mV/s greičiu intervale nuo -0,4 iki +1,0 V skirtingą laiką nuo 3 iki 10 min. Antru atveju elektrodo potencialas buvo palaikomas pastoviu 0,8 V ir buvo keičiamas elektropolimerizacijos laikas nuo 3 iki 10 min.

2. Buvo ištirtas pasirinktų analičių atsakas ant modifikuotų elektrodų.

Anodinės srovės atsakas tiek vandenilio peroksido tiek paracetamolio atveju yra atsilikęs beveik tuo pačiu laipsniu ant PANI modifikuoto platinos elektrodo. Nors PANI yra dažnai laikomas geriausia matrica fermentų imobilizavimui, jis beveik nerodo jokio skirtumo tarp vandenilio peroksido, kaip fermentų katalizės reakcijos produkto, ir paracetamolio. Askorbato atveju, priešingai, padengiant Pt elektrodą PANI sluoksniu, yra stebimas srovės augimas. Kaip rezultatas PANI modifikuotas elektrodas rodo didelį jautrumą askorbatui, palyginti su švairiu platinos elektrodu. Tai leidžia naudoti šį modifikuotą elektrodą kaip amperometrinių askorbato jutiklį.

Nafiono lašu dengtas Pt elektrodas turi labai aukštą pralaidumą peroksidui ir yra beveik visiškai nepralaidus askorbatui.

Ortofenilendiamino plėvelė netrukdo laisvai vandenilio peroksido difuzijai ir beveik nepralaidžia paracetamolio ir askorbo rūgšties molekulių.

Polipirolo plėvelė sulaiko vandenilio peroksidą. Polipirolo plėvelė stabdo askorbo rūgšties difuziją ir nepraleidžia paracetamolio molekulių. Esant aukštam potencialui oksiduotas polipirolas (OPpy) geriau sulaiko vandenilio peroksidą. OPpy plėvelės įtaka askorbo rūgščiai ir paracetamoliui nėra iki galo aiški. Tai yra dėl pasikeitusio plėvelės laidumo, plėvelės struktūros.

3. Elektropolimerizuotas poli (o-fenilendiamino) sluoksnis turi gerą pralaidumą peroksidui ir gerai sulaiko askorbatą, o elektropolimerizuotas polipirolo sluoksnis beveik nerodo jokio skirtumo tarp nustatomosios analitės (vandenilio peroksido) ir trukdančių analizių (askorbo rūgštis, paracetamolis). Polianilinu modifikuotam elektrodui anodinės srovės atsakas vandenilio peroksidui ir paracetamoliui yra praktiškai vienodas. Siekiant panaudoti PANI plėvelę biojutiklių gamyboje, reikėtų pažymėti, kad, nors PANI yra dažnai laikomas tinkama matrica fermento imobilizavimui, jis nerodo jokio skirtumo tarp vandenilio peroksido, kaip fermentų katalizės reakcijos produkto, ir paracetamolio. Askorbatui, priešingai, padengiant elektrodą PANI sluoksniu, yra stebimas srovės atsako padidėjimas. Kaip rezultatas, PANI modifikuotas elektrodas rodo didelį jautrumą askorbatui, palyginti su švairiu platinos elektrodu. Tai leidžia naudoti šį modifikuotą elektrodą kaip amperometrinių askorbato jutiklių. Gaminant biosensorius vandenilio peroksido nustatymui, geriausiai tinka Nafiono danga.

**Moksliniai straipsniai žurnaluose, įrašytuose į Mokslinės
informacijos instituto (ISI) sąrašą:**

1. S. Kozlovskaja, R. Garjonytė and A.Malinauskas Response of hydrogen peroxide, ascorbic acid, and paracetamol at a platinum electrode coated with microfilms of polyaniline. *Microchim Acta*, 2009,166:229-234
2. S. Kozlovskaja, R. Garjonytė, and A.Malinauskas Amperometric responses of some biosensor –related analites at electrodes, coated with semipermeable polimer layers: a comparative study. *CHEMIJA*, 2012, Vol. 23,7-11

Konferencijų medžiaga:

1. Svetlana Kozlovskaja. Dodekavolframokobaltato (III) imobilizavimas stikliškosios anglies elektrodo paviršiuje. *Neorganinių junginių chemija ir technologija*, KTU, Kaunas, 2009 m.
2. Svetlana Kozlovskaja · Gintaras Baltrūnas · Albertas Malinauskas. Amperometric responses of some biosensor – related analites at electrodes, coated with semipermeable polimer layers: a comparative study. *Chf*, VU, 2011

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Richard, C. *Dorf Sensors, nanoscience, biomedical engineering and instruments* **2006**
2. Allen, J. Bard, Larry, R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications* **2001**
3. Ramanavičius, A. *Amperometriniai biosensoriai*, **2001**
4. Miller, L., Van de Mark, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, vol 100,3223.
5. Merz, A., Bard, A., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, vol 100,3222.
6. Peter T. Kissinger, William R. Heineman, *Laboratory techniques in electrochemical chemistry.* **1996.**
7. Peter, R. and Seiler, H., Oehme Heidelberg, F., *Polarography and voltammetry in trace analysis.* Hüthig, **1987.**
8. Oyama, N., Anson, F., *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, vol 101,739.
9. Szentirmay, M., Martin, C., *Anal. Chem.* **1984**, vol 56,1898.
10. Martin, C., Rhodes, T., Ferguson, J., *Anal. Chem.* **1982**, vol 54,1639.
11. Martin, C., Van Dyke, L., *Molekular Design of Electrode Surfaces* **1992**, New York.
12. Diaz, A., Bargon, J., *Handbook of Conducting Polimers* **1986**, vol 1,81.
13. Abruna, H., Denisevich P., Umana, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, vol 103,1.
14. Mažeikienė, R., Malinauskas, A., *Kinetic study of the electrochemical degradation of polyaniline, Synthetic metals* **2001**, vol 123,349.
15. A. Malinauskas, *Synth. Met.* 107 (**1999**) 75.
16. A. Ramanavičienė, A. Ramanavičius, in: D. W. Thomas (Ed.), *Advanced Biomaterials for Medical Applications*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, **2004**, p. 111.
17. A. Ramanavičius, A. Ramanavičienė, A. Malinauskas, *Electrochemical sensors based on conducting polimer – polypyrrole, Electrochimica Acta* **2006**, vol 51,6025
18. MacDiarmid, A. G.; Epstein, A. J. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1989**,88,317.

19. Malinauskas, A., *Polimer* **2001**, vol 42,3957.
20. Fedorova S., *Langmiur* **2002**, vol 18,5630.
21. Paul E. W.; Ricco, A, A. J.; Wrighton, M. S. *J. Phys. Chem.* **1985**, vol 89,1441.
22. Deore, B. A.; Hachey, S.; Freund, M. S. *Chem. Mater.* **2004**, vol 16,1427.
23. Kulszewicz-Bajer, I., Zagorska, M., Wielgus, I.; Pawlowski, M., Gosk, J., Twardowski, A. *J. Phys. Chem. B* **2007**, vol 111,34.
24. Walpole, A. L.; Williams, M. H. C. Aromatic amines as carcinogens in industry. *Brit. Med. Bull.* **1958**, vol 14,141.
25. Matsushita, M.; Kuramitz, H.; Tanaka, S. *Environ. Sci. Technol.*, **2005**, vol 39,3805.
26. Letheby, H.J. *Chem. Soc.* **1862**, vol 15,161.
27. MacDiarmid, A. G., Chiang, J. C., *Electrochem. Soc.* **1989**, vol 136,427.
28. MacDiarmid, A. G., Chiang, J. C., *Conducting polimers*,**1987**.
29. Diaz, A. F., Logan, J. A., *J. Electroanal. Chem.* **1980**, vol 111,111.
30. Huang, W. S., Humphrey, B. D., *J. Chem. Soc.*,**1986**, vol 1,82.
31. Wei, Y., Focke, W., *J. Phys. Chem.*,**1989**, vol 93,495.
32. Kobayashi, T., Yoneyama, H., *J. Electroanal. Chem.*,**1984**, vol. 177, 293.
33. Wei, Y., Sun, Y., *J. Phys. Chem.* **1989**, vol 93,4878.
34. Sasaki, K., Yaka, M., *J. Electroanal. Chem.* **1986**, vol 215,401.
35. Mohilner, D., Adams, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, vol 84,3618.
36. Stilwell, D., Park, S., *J. Electrochem. Soc.* **1988**, vol 135, 2254.
37. Focke, W., Wnek, G., *J. Phys. Chem.* **1987**, vol 91,5813.
38. Yen, W., Guang – Way, J., *J. Phys. Chem.* **1990**, vol 94,7716.
39. Adeloju, S. B., Wallance, G. G., *Analyst* **2000**, vol 121,699.
40. D.H. Han, H.J. Lee, S.M. Park, *Electrochim. Acta* **2005**, vol. 50,3085.
41. V. Khomenko, E. Frackowiak, F. Beguin, *Electrochim. Acta* **2005**, vol 50, 2499.
- 42 U. Johanson, A. Marandi, T. Tamm, J. Tamm, *Electrochim. Acta* **2005**, vol 50,1523.
- 43 C. Weidlich, K.M. Mangold, K. Juttner, *Electrochim. Acta* **2005**, vol 50,1547.

- 44 E. Krivan, G. Peintler, C. Visy, *Electrochim. Acta* **2005**, vol 50,1529.
- 45 M.M. Chehimi, M.L. Abel, C. Perruchot, M. Delamar, S.F. Lascelles, S.P. Armes, *Synth. Met.* **1999**, vol 104,51.
46. A. Azioune, F. Siroti, J. Tanguy, M. Jouini, M.M. Chehimi, B. Miksa, S. Slomkowski, *Electrochim. Acta* **2005**, vol 50,1661.
47. B. Saoudi, C. Despas, M.M. Chehimi, N. Jammul, M. Delamar, J. Bessiere, A. Walcarius, *Sens. Actuators B* **2000**, vol 62,35.
48. J.B. Raoof, R. Ojani, S. Rashid-Nadimi, *Electrochim. Acta* **2004**, vol 49, 271.
- 49 V.G. Khomenko, V.Z. Barsukov, A.S. Katashinskii, *Electrochim. Acta* **2005**, vol 50,1675.
50. A. Ramanavičius, A. Malinauskas, A. Ramanavičienė, in: D.W. Thomas (Ed.), *Advanced Biomaterials for Medical Applications*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, **2004**,93.
51. N.T.L. Hien, B. Garcia, A. Pailleret, C. Deslouis, *Electrochim. Acta* **2005**, vol 50,1747.
52. A. Malinauskas, J. Kuzmarskytė, R. Meškys, A. Ramanavičius, *Sens. Actuators B* **2004**, vol 100,387.
53. A. Ramanavičius, K. Habermuler, V. Laurinavičius, E. Csoregi, W. Shuhmann, *Anal. Chem.* **1999**, vol 71,3581.
54. A. Ramanavičienė, A. Ramanavičius, *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2002**, vol 32, 245.
55. J. Wang, *Chem. Eur. J.* **1999**, vol 5,1681.
56. J. Wang, M. Jiang, *Langmuir* **2000**, vol 16, 2269.
57. A. Ramanavičienė, A. Ramanavičius, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, vol 379, 287.
58. A. Ramanavičienė, A. Ramanavičius, *Biosens. Bioelectron.* **2004**, vol 20,1076.
59. A. Malinauskas, J. Malinauskienė, A. Ramanavičius, *Nanotechnology* **2005**, vol 16,51.
60. A. Angeli, *Gazz. Chim. Ital.* **1916**, vol 46, 279.
61. E.J. Oh, K.S. Jang, A.G. MacDiarmid, *Synth. Met.* **2002**, vol 125, 297.

62. M.C. Henry, C.C. Hsueh, B.P. Timko, M.S. Freunda, J. *Electrochem. Soc.* **2001**, vol 148,155.
63. Q. Fang, D.G. Chetwynd, J.W. Gardner, *Sens. Actuators* **2002**, vol 99,74.
64. W. Schuhmann, R. Lammert, B. Uhe, H.L. Schmidt, *Sens. Actuators* **1990**, vol 1,537.
65. B. Deore, Z.D. Chen, T. Nagaoka, *Anal. Sci.* **1999**, vol 15,827.
66. A. Ramanavičius, A. Kausaitė, A. Ramanavičienė, *Sens. Actuators* **2005**, vol 111–112,532.
67. H.J. Liang, T.R. Ling, J.F. Rick, T.C. Chou, *Anal. Chim. Acta* **2005**, vol 542,83.
68. B.S. Ebarvia, S. Cabanilla, F. Sevilla, *Talanta* **2005**, vol 66,145.
69. M. Trojanowicz, M. Wcislo, *Anal. Lett.* **2005**, vol 38,523.
70. A. de Barros, W.M. de Azevedo, F.M. de Aguiar, *Mater. Charact.* **2003**, vol 50,131.
71. R. Pokrop, M. Zagorska, M. Kulik, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **2004**, vol 415,93.
72. H.L. Schmidt, F. Gutberlet, W. Schuhmann, *Sens. Actuators B* **1993**, vol 13,366.
73. K. Habermuller, W. Schuhmann, *Electroanalysis* **1998**, vol 10,1281.
74. A. Ramanavičius, *Biologija* **2000**, vol 2,64.
75. R.J. Geise, J.M. Adams, N.J. Barone, A.M. Yacynych, *Biosens. Bioelectron.* **1991**, vol 6,151.
76. W. Schuhmann, C. Kranz, H. Wohlschlager, J. Strohmeier, *Biosens. Bioelectron.* **1997**, vol 12,1157.
77. A. Ramanavičius, K. Uller, Razumienė, R. Meškys, Haberm. J. L. Marcinkevičienė, I. Bachmatova, E. Cs.oregi, V. Laurinavičius, W. Schuhmann, *Prog. Coll. Polim. Sci.* **2000**, vol 116,143.
78. A. Sargent, O.A. Sadik, *Electrochim. Acta* **1999**, vol 44,4667.
- 79 I.C. Kwon, Y.H. Bae, S.W. Kim, *Nature* **1991**, vol 28, 291.
- 80 N. Gajovic, K. Habermuller, A. Warsinke, W. Schuhmann, F.W. Scheller, *Electroanalysis* **1999**, vol 11,1377.

81. W. Schuhmann, R. Lammert, M. Hammerle, H.L. Schmidt, *Biosens. Bioelectron.* **1991**, vol 6,689.
82. C. Kranz, H. Wohlschlager, H.L. Schmidt, W. Schuhmann, *Electroanalysis* **1998**, vol 10,546.
83. A. Ramanavičius, A. Ramanavičienė, A. Malinauskas, *Electrochimica Acta* **2006**, vol 51,6025.
84. Q. Pei, O. Ingnas, *Adv. Mater* **1992**, vol 4, 277.
85. R. Baughman, *Synth. Met* **1996**, vol 78,339.
86. E. Smela, O. Ingnas, *Science* **1995**, vol 268,1735.
87. P. Lacaze, J. Petitjean, *US Patent* **1996**.
88. K. Idla, O. Ingnas, M. Strandberg, *Electrochimica Acta* **2000**, vol 45, 2121.
89. W.R. Heinemann, Y. Ikariyama, *Anal. Chem.* **1986**, vol 58,1803.
90. Y. Ikariyama, C. Galiatsatos, W.R. Heineman, *Sens. Actuat.* **1987**, vol 12,455.
91. T.C. Pearce, J.W. Gardner, S. Friel, P.N. Bartlett, N. Blair, *Analyst* **1993**, vol 118,371.
92. F. Beck, P. Braun, M. Oberst, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1987**, vol 91,967.
93. P.A. Christensen, A. Hamnett, *Electrochim. Acta* **1991**, vol 36,1263.
94. D.W.M. Arrigan, *Anal. Commun.* **1997**, vol 34, 241.
95. J. Wang, V.A.P. Prasad, G. Cepria, S. Basak, K. Rajeshwar, *Analyst* **1997**, vol 122,981.
96. F. Beck, P. Braun, F. Schloten, *J. Electroanal. Chem.* **1989**, vol 267,141.
97. D. Arrigan, D. Gray, *Analytica Chimica Acta* **1999**, vol 157,157.
98. X.G. Li, M.R. Huang, W. Duan, Y.L. Yang, *Chem. Rev.* **2002**, vol 102, 2925.
99. F. Cataldo, *Eur. Polim. J.* **1996**, vol 32,43.
100. L.F. D'Elia, R.L. Ortiz, O.P. Marquez, J. Marquez, Y. Martinez, *J. Electrochem.Soc.* **2001**, vol 148, C297.
101. J. Yano, *J. Polim. Sci. Part A: Polim. Chem.* **1995**, vol 33, 2435.
102. A.A. Shah, R. Holze, *J. Solid State Electrochem.* **2006**, vol 11,38.
103. K. Martinusz, E. Czirok, G. Inzelt, *J. Electroanal. Chem.* **1994**, vol 379,104.

104. S. Bilal, A. Shah, R. Holze, *Electrochimica Acta* **2011**, vol 56,3353.
105. K. Ogura, M. Kokura, *Electrochim. Acta* **1995**, vol 40, 2707.
106. T. Ohsaka, S. Kunimula, *Electrochim. Acta* **1988**, vol 33,639.
107. X. Zhang, S. Wang, *Photochem. Photobiol. A.* **2008**, vol 198, 288.
108. S. Mu, *Electrochimica Acta* **2011**,1.
109. K. Chiba, T. Ohsaka, *J. Electroanal. Chem.* **1987**, vol 217, 239.
110. K. Chiba, T. Ohsaka, *J. Electroanal. Chem.* **1987**, vol 219,117.
111. E. Pisarevskaya, M. Levi, *Elektrokhimiya* **1994**, vol 30,50.
112. M. Levi, E. Pisarevskaya, *Electrochim. Acta* **1992**, vol 37,635.
113. M. Levi, E. Pisarevskaya, *Synth. Met.* **1993**, vol 55,1377.
114. A. Malinauskas, *Synth. Met.* **1999**, vol 107,75.
115. A. Pud. *Synth. Met.* **1994**, vol 66,1.
116. A. Malinauskas, R. Holze, *J. Appl. Polim. Sci.* **1999**, vol 73, 287.
117. R. Mazeikiene, A. Malinauskas, *Synth. Met* **2001**, vol 123,349.
118. A. Malinauskas, R. Holze, *J. Solid State Electrochem.* **1999**, vol 3,429.
119. R. Mazeikiene, A. Malinauskas, *Synthetic Metals* **2002**, vol 128,121.
120. Hsu, W. Y.; Gierke, T. D. J. *Membrane Sci.*,**1983**,13,307.
121. Dreifus, B.; Gebel, G.; Aldebert, P.; Pineri, M.; Escoubes, M.; Thomas, M. *J. Phys. France* **1990**,51,1341.
122. Litt, M. H. *Polim. Prep.* **1997**,38,80.
123. Rollet, A. L.; Diat, O.; Gebel, G. *J. Phys. Chem. B.* **2002**,106,3033.
124. Yeo, S. C.; Eisenberg, A. J. *Appl. Polim. Sci.* **1977**, 21,875.
125. Zook, L.A.; Leddy, J. *Anal.Chem.* **1996**,68,3793.
126. Mauritz, K. A.; Hora, C.J.; Hoptinger, A. *Polim. Prep., Am. Chem. Soc. Div. Polim. Chem.* **1978**,19 (2),324.
127. Moore, R. B., III; Martin, C. R. *Anal. Chem.* **1988**,58, 2569.
128. Michael, A.C.; Wightman, R. M. *Anal. Chem.*,**1989**,61, 2193.
129. Budai D., *Carbon Fiber-based Microelectrodes and Microbiosensors* **2010**,14.
130. Alberti, G., Narducci, R., Sganappa, M., *J. Power Sources* **2008**, vol 178,575.

131. Eisenberg, A. *Macromolecules* **1970**, vol 3,147.
132. Zhao, Q., Majsztrik, P., Benziger, J., *J. Phys. Chem.* **2011**, vol 115, 2717.
133. Satterfield, M., Benziger, J., *J. Phys. Chem.* **2008**, vol 112,3693.
134. Bass, M., Berman, A., Singh, A., *J. Phys. Chem.* **2010**, vol 114,3784.
135. Bass, M., Berman, A., Singh, A., *Macromolecules* **2011**, vol 44, 2893.
136. Gierke, T., Munn, G., Wilson, F., *J. Polim. Sci. Polim. Phys.* **1981**, vol 19,1687.
137. Hsu, W., Gierke, T., *Macromolecules* 1982, vol 15,101.
138. Hsu, W., Gierke, T., *J. Membr. Sci.* **1983**, vol 13,307.
139. Rollet, A.L.; Gebel, G.; Diat, O., *J. Phys. Chem. B* **2002**, vol 106,3033
140. Hiegen, R., Helmly, S., Galm, I., *Membranes* **2012**, vol 2,783.
141. Ramanavicius, A., Elektrai laidūs polimerai elektrocheminiuose jutikliuose, VU, **2006**.
142. Goyal, R.N., Singh, S.P., Voltammetric determination of paracetamol at C60modified glassy carbon electrode, *Electrochim. Acta* **2006**, vol 51,3008.
143. Bosch, M.E., Sanchez, A.J.R., Rojas, F.S., Ojeda, C.B., Determination of paracetamol: Historical evolution, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, vol 42, 291.
144. Wallace, G.G., Spinks, G.M., Kane-Maguire, L.A.P., Teasdale, P.R., *Conductive Electroactive Polimers Intelligent Materials Systems*, 2nd ed., *CRC Press, Boca Raton, FL, USA*, **2003**.
145. Gomez-Cabellero, A., Goicolea, M.A., Barrio, R.J., Paracetamol voltammetric microsensors based on electropolymerized-molecularly imprinted film modified carbon fiber microelectrodes, *Analyst* **2005**, vol 130,1012.
146. Levent O., *Sensors and Actuators B* **2007**, vol 127,362.
147. Pablos, M.I., Reiter, R.J., Chuang, J.I., Ortiz, G.G., Acutely administered melatonin reduces oxidative damage in lung and brain induced by hyperbaric oxygen, *Journal of Applied Physiology* **1997**, vol 83,354.
148. Halmes, N.C., Hinson, J.A., Martin, B.M., Glutamate dehydrogenase covalently binds to a reactive metabolite of acetaminophen, *Chemical Research in Toxicology* **1996**, vol 9,541.

149. Tomeckova, V., Gajova, A., Velika, B., *Spectroscopy* **2011**, vol 25,45.
150. Liao, M. L., Seib, P. A., *Food Technology*,**1987**, vol 41 (11),104.
151. Lehninger, A., *Principles of Biochemistry*, Worth, New York **1982**.
152. Seib, P. A., Tolbert, B. M., "Ascorbic acid: Chemistry, Me- tabolism and Uses," *Advances in Chemistry Series, American Chemical Society*, Washington, DC **1982**.
153. Brenner, G. S., Hinkley, D. F., Perkins, L. M., and Weber, S., *J. Org. Chem.* **1964**, vol 29, 2389.
154. Eitelman, S. J., Hall, R. H., Jordaan, A., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**,923.
155. Sapper, H., Pleyer-Weber, A., Lohmann, W. H., *Naturforsch, Z. C: Biosci.* **1982**, vol 37C,129.
156. Bielski, B. H. J., Allen, A. O., Schwarz, H. A., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, vol 103,3516.
157. Bors, W., Buettner, G. R., "The vitamin C radical and its re- actions," in: L. Packer and J. Fuchs (eds.), *Vitamin C in Health and Disease*, Marcel Dekker, New York **1987**,75.
158. Ohmori, M., Takagi, M., *Agric. Biol. Chem.* **1978**, vol 42,170.
159. Laurenov, S., Preobrazhevskaja, M., *Pharmaceutical Chemistry Journal* **2005**, vol 39, 251.
160. Hu, X. An optical fiber sensing probe using a titanium (IV) oxyacetylacetonate immobilized nafion coating on an bent optical fiber probe. *Sens. J.* **2011**, vol 11, 2032.
161. Pinkernell, U.; Effkemann, S.; Karst, U. Simultaneous HPLC determination of peroxyacetic acid and hydrogen peroxide. *Anal. Chem.* **1997**, vol 69,3623.
162. Hanaoka, S.; Lin, J.M.; Yamada, M. Chemiluminescent flow sensor for H₂O₂ based on the decomposition of H₂O₂ catalyzed by cobalt (II)-ethanolamine complex immobilized on resin. *Anal. Chim. Acta* **2001**, vol 426,57.

163. Wolfbeis, O.S.; Dürkop, A.; Wu, M.; Lin, Z. A europium-ion-based luminescent sensing probe for hydrogen peroxide. *Angew. Chem.* **2002**, vol 41,4495.
164. Hurdis, E.C.; Romeyn, H., Jr. Accuracy of determination of hydrogen peroxide by cerate oxidimetry. *Anal. Chem.* **1954**, vol 26,320.
165. Xu, S.Y.; Peng, B.; Han, X.Z. A third-generation H₂O₂ biosensor based on horseradish peroxidase-labeled Au nanoparticles self-assembled to hollow porous polymeric nanospheres. *Biosens. Bioelectron.* **2007**, vol 22,1807.
166. Wang, B.; Zhang, J.J.; Pan, Z.Y.; Tao, X.Q.; Wang, H.S. A novel hydrogen peroxide sensor based on the direct electron transfer of horseradish peroxidase immobilized on silica-hydroxyapatite hybrid film. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, vol 24,1141.
167. Malinauskas, A., Malinauskiene, J., Revising the kinetics of aniline electropolymerization under controlled potential conditions. *Chemija* **2005**, vol 16 (1),1.
168. Wei, Y., Sun, Y., Tang, X., () Auto-acceleration and kinetics of electrochemical polymerization of aniline. *J Phys Chem* **1989**, vol 93, :4878.
169. Wu, T.S., Yang, C.H., Electrochemical polymerization of aniline and toluidine on RuO₂-coated titanium electrodes. *J. Electrochem Soc* **1996**, vol 143,4019.
170. Yang, C.H., Electrochemical polymerization of aniline and toluidines on a thermally prepared Pt electrode. *J Electroanal. Chem.* **1998**, vol 459,71.
171. Jureviciute, I., Brazdziuviene, K., Bernotaite, L., Salkus, B., Malinauskas, A. Polyaniline modified electrode as an amperometric ascorbate sensor. *Sens Actuat B* **2005**, vol 107,716.
172. Brazdziuviene K, Jureviciute I, Malinauskas A () Amperometric ascorbate sensor based on conducting polymer: poly (N-methylaniline) versus polyaniline. *Electrochim Acta* **2007**, vol 53,785.