

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ
ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

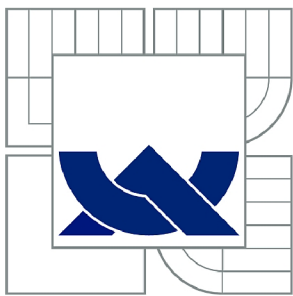
ELEKTROCHEMICKÁ IMPEDANČNÍ SPEKTROSKOPIE JAKO
CHARAKTERIZAČNÍ METODA MODIFIKOVANÝCH
NANOSTRUKTUROVANÝCH ELEKTROD

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. EVA VRBOVÁ

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

ELEKTROCHEMICKÁ IMPEDANČNÍ SPEKTROSKOPIE JAKO CHARAKTERIZAČNÍ METODA MODIFIKOVANÝCH NANOSTRUKTUROVANÝCH ELEKTROD

ELECTROCHEMICAL IMPEDANCE SPECTROSCOPY AS A NANOSTRUCTURED
BIOELECTRODES CHARACTERIZATION METHOD

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

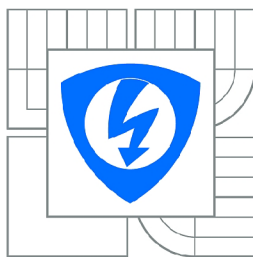
Bc. EVA VRBOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. RADIM HRDÝ, Ph.D.

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ
TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

Ústav biomedicínského inženýrství

Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor
Biomedicínské a ekologické inženýrství

Studentka: Bc. Eva Vrbová

ID: 136494

Ročník: 2

Akademický rok: 2014/2015

NÁZEV TÉMATU:

Elektrochemická impedanční spektroskopie jako charakterizační metoda modifikovaných nanostrukturovaných elektrod

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

- 1) Proveďte rešerši aplikací elektrochemické impedanční spektroskopie v oblasti biomodifikovaných nanostrukturovaných elektrod a aktuálních trendů výroby nanostrukturovaných povrchů pro biosenzory.
- 2) Navrhnete vhodnou metodiku pro testování elektrochemických nanostrukturovaných elektrod se zaměřením na vliv nanostruktur na odezvu signálu.
- 3) Vyberte vhodné materiály a realizujte výrobu nanostrukturované elektrody.
- 4) Vyberte vhodnou biomolekulu a realizujte modifikaci povrchu s využitím thiolové vazby.
- 5) Proveďte elektrochemická měření biomodifikovaných nanostrukturovaných elektrod a statisticky vyhodnoťte naměřená data.
- 6) Sestavte náhradní elektrický obvod elektrochemického systému a vyhodnoťte vlastnosti modifikovaných nanostruktur.
- 7) Diskutujte dosažené výsledky a zhodnoťte vliv biomodifikací povrchu na výslednou odezvu systému.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

- [1] HRDÝ, R; at al. Electrochemical Impedance Spectroscopy Behaviour of Guanine on Nanostructured Planar Electrode; Int. J. Electrochem. Sci., 2013, roč. 8, č. 4, s. 4384-4396. ISSN: 1452- 3981.
- [2] DRBOHLAVOVÁ, J. et al. Effect of Nucleic Acid and Albumin on Luminescence Properties of Deposited TiO₂ Quantum Dots. Int. J. Electrochem. Sci., 2012, roč. 7, č. 2, s. 1424-1432. ISSN: 1452-3981.

Termín zadání: 9.2.2015

Termín odevzdání: 22.5.2015

Vedoucí práce: Ing. Radim Hrdý, Ph.D.

Konzultanti diplomové práce:

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.

Předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá nanostrukturovanými povrchy, nanočásticemi a elektrochemickými charakterizačními metodami, jako jsou cyklická voltametrie, diferenčně pulzní voltametrie a elektrochemická impedanční spektroskopie. Cílem této diplomové práce je teoretická řešerše problematiky výroby a charakterizace modifikovaných nanostrukturovaných elektrod. Součástí praktické části je výroba biomodifikovaných nanostrukturovaných elektrod metodou anodizace W/Al vrstev s následnou galvanickou depozicí zlata nebo depozicí rtuti, modifikace těchto elektrod kyselinou 11-merkaptoundekanovou a bovine serum albuminem (BSA). Součástí práce jsou i SEM snímky nanostrukturovaných elektrod, měření kontaktního úhlu těchto elektrod a vytvoření elektrického obvodu s následnou simulací průběhů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Anodizace, cyklická voltametrie, diferenčně pulzní voltametrie, elektrochemická impedanční spektroskopie, hovězí sérový albumin, kontaktní úhel, kyselina 11-merkaptoundekanová, nanostruktura, nanostrukturovaná elektroda, nanotechnologie, solid-amalgámové elektrody.

ABSTRACT

Diploma thesis deals of nanostructured surfaces, nanoparticles and electrochemical characterization methods such as cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. The aim of this thesis is a theoretical research issues of production and characterization nanostructured modified electrodes. The practical part is the production of biomodified nanostructured electrodes by anodization W/Al layers with galvanic deposition of gold or deposition of mercury, a modification of the electrodes by 11-mercaptoundecanoic acid and by bovine serum albumin (BSA). The thesis includes SEM images of nanostructured electrodes contact angle measurements of these electrodes and form an electrical circuit with subsequent simulation waveforms.

KEYWORDS

Anodization, cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy, bovine serum albumin, contact angle, 11-mercaptoundecanoic acid, nanostructures, nanostructured electrode, nanotechnology, solid-amalgam electrodes.

VRBOVÁ, Eva *Elektrochemická impedanční spektroskopie jako charakterizační metoda modifikovaných nanostrukturovaných elektrod*: diplomová práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství, 2015. 78 s. Vedoucí práce byl Ing. Radim Hrdý, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma „Elektrochemická impedanční spektroskopie jako charakterizační metoda modifikovaných nanostrukturovaných elektrod“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této diplomové práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně

.....

(podpis autora)

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce panu Ing. Radimu Hrdému, Ph.D. za odborné vedení, konzultace, trpělivost a podnětné návrhy k práci. Dále bych chtěla velice poděkovat Ing. Haně Kynclové za poskytnuté cenné rady a pomoc při praktickém zpracování mé práce. Poděkování patří i Ing. Kateřině Přikrylové a kolegům z laboratoře LabSensNano za vytvoření příjemného prostředí pro práci.

V Brně

.....

(podpis autora)

Výzkum popsáný v této diplomové práci byl realizovaný v laboratořích podpořených projektem Centrum senzorických, informačních a komunikačních systémů (SIX); registrační číslo CZ.1.05/2.1.00/03.0072, operačního programu Výzkum a vývoj pro inovace.

OBSAH

Úvod	13
1 Nanostruktury	16
1.1 Výroba nanostruktur	16
1.1.1 Geometrické dělení nanostruktur	18
1.2 Nanostrukturované elektrody a senzory	19
1.3 Modifikované elektrody	20
1.3.1 Solid - amalgámové elektrody	22
1.3.2 BSA - bovine serum albumin	24
2 Charakterizační metody	26
2.1 Elektrochemická impedanční spektroskopie	26
2.1.1 Impedance elektrody	27
2.1.2 Kapacita dvojvrstvy	28
2.1.3 Konstantní fázový prvek (CPE)	30
2.2 Voltametrické metody	32
2.2.1 Cyklická voltametrie	33
2.2.2 Diferenčně pulzní voltametrie	35
2.3 Skenovací elektronový mikroskop	35
2.4 Měření kontaktního úhlu	36
3 Praktická část	39
3.1 Použitý materiál	39
3.2 Výroba zlatých nanostrukturovaných elektrod	41
3.2.1 Anodizace W/Al vrstev	42
3.2.2 Elektrodepozice zlatých nanostruktur	44
3.3 Výroba solid-amalgámových nanostrukturovaných elektrod	46
3.4 Modifikace elektrod	48
4 Charakterizace	50
4.1 Elektrochemická měření	50
4.2 Měření kontaktního úhlu	57
4.3 Náhradní elektrické obvody a jejich simulace	59
5 Závěr	64
Literatura	66

Seznam symbolů, veličin a zkratk	73
6 Příloha	75

SEZNAM OBRÁZKŮ

1.1	Proces výroby nanostruktur [40]	16
1.2	Geometrické dělení nanostruktur [23]	18
1.3	Modifikace nanostrukturované elektrody	21
1.4	Spojení biomolekuly a zlatého povrchu elektrody pomocí přímé kovalentní vazby	22
1.5	Chemická struktura acetátu rtuti [21]	23
1.6	Chemická struktura BSA [22]	24
2.1	Příklad zobrazení impedančního spektra ve 3D [24]	27
2.2	Model impedance elektrody - Randlesův obvod [17]	28
2.3	Modely elektrické dvojvrstvy - Helmholtzův model (A), Gouyův-Chapmanův model (B) a Sternův model (C) [38]	29
2.4	Nyquistův graf [52]	31
2.5	Charakteristika elektrody v roztoku [52]	31
2.6	Schématické zapojení tříelektrodevého systému [27]	33
2.7	Cyklický voltamogram [29]	34
2.8	Průběh trojúhelníkového potenciálu [30]	34
2.9	Charakter vkládaného potenciálu s výsledným průběhem voltamogramu [39]	35
2.10	Smáčivost povrchu [53]	37
2.11	Rozdělení povrchů dle smáčivosti v závislosti na kontaktním úhlu Θ [54]	38
2.12	Rozdíl ve smáčivosti odlišných povrchů - pokud je kontaktní úhel na hladkém povrchu větší než 90° , kontaktní úhel na nanostrukturovaném povrchu vzroste	38
3.1	Růst porézní masky [35]	41
3.2	Schéma výrobního pracoviště	42
3.3	Anodizační křivka u nanoporézní masky Al 100 nm	43
3.4	Detailní pohled na proces anodizace - kontakt teflonové hlavy ($d = 9, 25$ mm) se substrátem	43
3.5	Napěťové pulzy	44
3.6	SEM snímek nanostrukturované elektrody (Al 500 nm), došlo k lokálnímu odtržení masky (a), shlukování zlatých nanotyčinek (b)	45
3.7	SEM snímky zlatých nanotyčinek - Al = 500 nm (a) a Al = 100 nm (b)	46
3.8	Schéma výroby nanostrukturované amalgámové elektrody	46
3.9	Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) - nadeponované zlaté tyčinky (a), nadeponovaná rtuť postupem 1. (b), nadeponovaná rtuť postupem 2. (c), předeponovaná rtuť (d)	47

3.10	Rozdílnost v době leptání	48
3.11	Chemická struktura kyseliny 11-merkaptoundekanové	48
4.1	Měření ve Faradayově kleci (a), řez teflonovou celou (b)	50
4.2	Nyquistův diagram pro nanostrukturovanou a hladkou elektrodu (a) a cyklická voltametrie pro nanostrukturovanou a hladkou elektrodu (b)	51
4.3	Nyquistův diagram pro amalgámové elektrody (a) a cyklická voltametrie pro amalgámové elektrody (b)	52
4.4	Nyquistův diagram pro zlatou nanostrukturovanou modifikovanou elektrodu (a) a cyklická voltametrie pro zlatou nanostrukturovanou modifikovanou elektrodu (b)	53
4.5	Nyquistův diagram pro modifikované amalgámové tyčinky (a) a amalgámové kuličky (b)	53
4.6	Cyklická voltametrie pro modifikované amalgámové tyčinky (a) + detail (b) a pro modifikované amalgámové kuličky (c) + detail (d) . . .	54
4.7	Závislost změny skenovací rychlosti u hladké elektrody (a), nanostrukturované zlaté (b), amalgámových tyčinek (c) a amalgámových kuliček (d)	55
4.8	Diferenčně pulzní voltametrie pro hladkou zlatou elektrodu (a) a nanostrukturovanou zlatou elektrodu (b)	56
4.9	Diferenčně pulzní voltametrie pro amalgámové elektrody (a) a modifikované amalgámové elektrody (b)	57
4.10	Hladká elektroda $KU = 50,58^\circ$ (a) a odleptaná maska po anodizaci $KU = 48,34^\circ$ (b)	57
4.11	Nanostrukturovaná elektroda $KU = 62,47^\circ$ (a) a modifikovaná nanostrukturovaná $KU = 28,46^\circ$ (b)	58
4.12	Amalgámové tyčinky $KU = 77,41^\circ$ (a) a modifikované $KU = 32,47^\circ$ (b)	58
4.13	Amalgámové kuličky $KU = 97,21^\circ$ (a) a modifikované $KU = 25,13^\circ$ (b)	59
4.14	Náhradní elektrický obvod pro čisté zlato	59
4.15	Náhradní elektrický obvod pro nanostrukturované Au tyčinky, Au/Hg kuličky a Au/Hg tyčinky	60
4.16	Závislost R_{CT} na druhu elektrody	61
4.17	Závislost logaritmu C_{DL} na druhu elektrody	61
4.18	Simulace Nyquistova diagramu pro čisté zlato a nanostrukturu (a) , pro modifikovanou nanostrukturu (b), pro amalgámové kuličky (c) a pro amalgámové tyčinky (d)	62
6.1	Anodizační křivka u nanoporézní masky naprášené Al 100 nm	75
6.2	Anodizační křivka u nanoporézní masky napařené Al 500 nm	75

6.3	Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) - depozice zlata 3 pulzy na Al 100 nm (a), depozice zlata 5 pulzů na Al 100 nm (b), depozice zlata 10 pulzů na Al 100 nm (c), depozice zlata 10 pulzů na Al 500 nm (d)	76
6.4	Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) - depozice zlata 20 pulzů na Al 500 nm (a), depozice zlata 45 pulzů na Al 500 nm (b), depozice zlata 45 pulzů se sekundární depozicí rtuti 10 pulzů postupem 1. na Al 500 nm (c + d)	77
6.5	Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) - odleptaná maska v mezikroku (Obr. 3.8 h) (a), depozice zlata 45 pulzů se sekundární depozicí rtuti 15 pulzů postupem 2. na Al 500 nm (b + c), depozice zlata 45 pulzů se sekundární depozicí rtuti 15 pulzů postupem 2. na Al 500 nm s následným leptáním 3 minuty(d)	78

SEZNAM TABULEK

4.1	Tabulka simulovaných hodnot součástek z náhradních elektrických obvodů	60
-----	--	----

ÚVOD

Nanomateriály a nanotechnologie jsou pojmy, s kterými se v dnešní době setkáváme téměř všude. V současné době to již není pouze otázka vědy a výzkumu, ale stále častěji se vyskytují i v běžném životě. Nanomateriály se skládají ze stavebních jednotek nazývaných nanočástice, jejichž velikost se pohybuje v rozmezí jednotek až stovek nanometrů (1 nm je 10^{-9} m). Tato velikost odpovídá přibližně jedné tisícíně tloušťky lidského vlasu.

Již v roce 1905 Albert Einstein stanovil průměr molekuly cukru *cca* na jeden nanometr. Dalším mezníkem ve vývoji nanotechnologií byl v roce 1959 Richard Feynmann, který přednesl základní úvahy o nanotechnologiích [10]. Roku 1976 byla zveřejněna významná práce Granqvista a Buhrmana o výrobě nanokrystalů napařováním v prostředí inertních plynů [32]. Pokračovalo to přes identifikaci osob podle DNA z jediného vlasu v roce 1988 [7] až po výrobu prvního uhlíkového světelného zdroje, miniaturní baterky v podobě trubičky 5000 krát tenčí než lidský vlas, firmou IBM v roce 2003. To byla překročena hranice 50 nm [8]. V současné době se setkáváme i s rozvojem elektrochemických metod. Tyto metody můžeme využívat k měření chemických veličin a určování koncentrací látek. Už roku 1832 Michael Faraday formuloval základní elektrochemické zákony. Důležitým mezníkem, hlavně pro českou elektrochemii, bylo získání Nobelovy ceny Jaroslavem Heyrovským v roce 1959 za polarografii [1]. Za prvního průkopníka nanotechnologií je považován Richard Feynman (1918 - 1988), který v prosinci roku 1959 přednesl přednášku *There's plenty of room at the bottom (Tam dole je spousta místa)* při příležitosti zasedání Americké fyzikální společnosti na Kalifornské technologické univerzitě (CALTECH). Tato přednáška je základem pro úvahy o nanotechnologiích. V přednášce položil otázku *Proč nemůžeme zapsat 24 svazků Encyklopedie Britannica na špendlíkovou hlavičku?* a taktéž vyzval vědecký svět, aby začal *dobývat* nanosvět [10].

Důležitým bodem v oblasti nanotechnologií jsou i senzory, které jsou každodenně používány například ve formě dotykových tlačítek ve výtahu, v autech, strojích, letadlech, v medicíně nebo v robotice. Celosvětový technologický pokrok stále více umožňuje vyrábět senzory v mikroskopickém měřítku, ve většině případů totiž mikrosenzory mohou dosahovat podstatně vyšší rychlosti a citlivosti ve srovnání s makroskopickými senzory [36].

Vývoj nových nanotechnologií se v současné době zaměřil hlavně na nanoelektroniku. V roce 2007 získali Nobelovu cenu za fyziku Albert Fert a Peter Grünberg za objev jevu obří magnetické rezonance (GMR). To přispělo ke konstrukci počítačových pamětí nové generace a senzorů [11]. Nanotechnologie mají vliv na ekonomiku i společnost a přináší novou průmyslovou revoluci. Mezi nejnovější vědecké výzkumy z oblasti nanotechnologie patří například TiO_2 nanomateriály, které mají

uplatnění ve fotovoltaických a fotokatalytických aplikacích a hrají velkou roli v ochraně životního prostředí [12]. Dále pak antimikrobiální nanočástice pro desinfekci vody [13] nebo nanosenzory pro vysokou senzitivitu a selektivitu detekce biologických a chemických látek [14].

Nanosenzory jsou biologické, chemické nebo chirurgické body sloužící k předávání informací o nanočásticích. Použití nanosenzorů se točí kolem potenciálu nanosenzorů přesně identifikovat jednotlivé buňky nebo místa v těle. V případě, že jde o senzor pracující s biologickým materiálem, včetně práce in vivo, mluvíme o nanobiosenzoru [19]. Měření změn v objemu, koncentraci, rychlosti, měření gravitační, elektrické a magnetické síly, tlaku nebo teploty buněk v těle, můžou nanosenzory rozlišit a rozpoznat určité buňky, zejména rakovinotvorné, na molekulární úrovni s cílem dopravit lék na konkrétní místo v těle. Nanosenzory se dále využívají v konstrukci malých integrovaných obvodů, hlavně v těch oblastech, kde velikost a hmotnost systémů jsou omezeny na minimum, například satelity a letecké stroje [16]. V aplikacích v nanomedicíně je hlavním cílem "miniaturizace" senzorů. Vyhledávají patogeny, monitorují je a neutralizují chemické toxiny. Další oblastí využití je biosenzorika, kdy se využívá navazování biolátek, protilátek i oligonukleotidů na zlaté nanočástice pomocí thiolové vazby -SH [15].

Nyní se v mnoha oblastech nanotechnologií začaly využívat zlaté nanočástice hlavně díky jejich fyzikálním vlastnostem. Na tyto zlaté nanočástice mohou být navázány různé biomolekuly, jako jsou protilátky nebo nukleové kyseliny. S tím souvisí i jejich velikost, která se pohybuje od 1 nm až do 100 nm. Mají příznivé optické a elektrické vlastnosti, dále je to jejich lesk, díky kterému mohou odrážet záření ze svého povrchu. V biologických aplikacích se nanočástice velmi často spojují se specifickými rozpoznávacími molekulami. Nanočástice zlata se získávají redukcí jednoduchých solí zlata přidáním speciálních pomocných látek. Množstvím redukční látky lze upravit jejich velikost na rozmezí od 3 do 120 nm. Účinné látky a cílové molekuly se mohou připojit k nanočásticím zlata prostřednictvím thiolové vazby. V mnoha případech bylo využito pro elektrochemické značky při detekci nukleových kyselin redukčně – oxidačních vlastností Au nanočástic [31].

Nanočástice ušlechtilých kovů, především zlaté, se díky svým unikátním elektrickým a optickým vlastnostem dostaly do popředí zájmu moderní vědy a našly využití na poli chemie, fyziky, medicíny, biologie a dalších vědních oborů. V roce 2013 Dr. Jim Denham, profesor v oboru onkologie z Univerzity Newcastle v Austrálii, publikoval, že při léčbě rakoviny prostaty pomocí ozařování mají výborné výsledky právě zlaté nanočástice [18].

Diplomová práce se zabývá studiem povrchově upravených elektrod, jejichž povrch je modifikován zlatými nanotyčinkami vyrobenými elektrochemickou depozicí zlata na předem vyrobený křemíkový substrát. Důležitou částí práce je i výroba unikát-

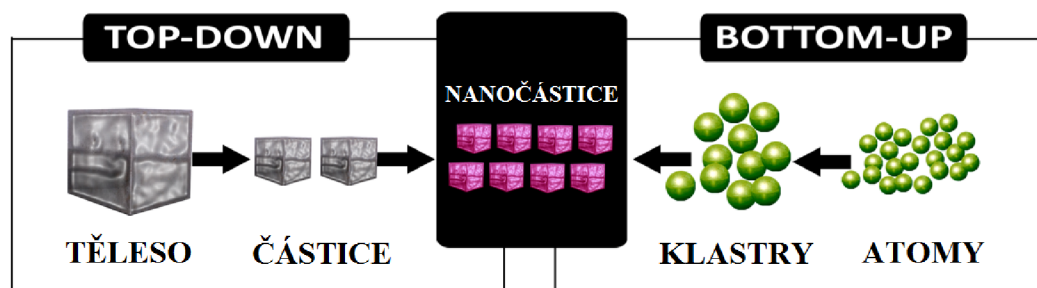
ních solid-amalgámových elektrod, jejichž povrch je modifikován sloučeninou Au/Hg - amalgámem. Cílem této diplomové práce je teoretická řešení problematiky výroby a charakterizace nanostrukturových elektrod. Praktická část popisuje výrobu zlatých i amalgámových nanostrukturovaných elektrod metodou anodizace W/Al vrstev s následnou galvanickou depozicí zlata a rtuti. Dále následuje modifikace těchto elektrod kyselinou 11-merkaptoundekanovou a biolátkou. Jako biolátka byl zvolen bovine serum albumin (BSA). Následuje charakterizace elektrod elektrochemickou impedanční spektroskopií, cyklickou voltametrií a diferenčně pulzní voltametrií a výsledná diskuze výsledků. Součástí práce je i měření kontaktního úhlu a sestavení náhradního elektrického obvodu elektrochemického systému a vyhodnocení vlastností modifikovaných nanostruktur.

1 NANOSTRUKTURY

Nanostruktury mají kvantitativně i kvalitativně rozdílné vlastnosti ve srovnání s materiály o rozměrech nad 100 nanometrů. Prostorové uspořádání nanočástic může vytvářet další struktury, jako například vlákna, trubice nebo tenké vrstvy [19]. Velký nárůst poměru plochy povrchu částic k objemu částic materiálu má výrazný vliv na jejich chemické i fyzikální vazby a vlastnosti. Počet atomů, které se podílejí na vytvoření povrchu nanočástice je mnohem vyšší, než počet atomů, které se nachází uvnitř. Chování atomů se tedy již neřídí zákony běžné fyziky, ale řídí se kvantovou fyzikou [9]. Zmenšování rozměrů těchto struktur při zachování požadovaných vlastností se využívá hlavně v mikroelektronice při výrobě integrovaných obvodů a vývoji umělé inteligence. Protékající elektrické proudy jsou tak nízké, že představují tok jen několika málo elektronů a přestávají zde platit zákony Newtonovské fyziky a plnou měrou se uplatňují kvantově mechanické jevy.

1.1 Výroba nanostruktur

Výroba nanostruktur se zabývá výrobou částic a struktur v rozměrech nanometrů a dělí se do dvou základních skupin. Výroba metodou „top down“ (shora dolů), která se označuje jako fyzikální a výroba metodou „bottom up“ (zespoda nahoru), která se označuje jako chemická [40]. Obě metody se snaží kontrolovaně vytvářet nanočástice a nanostruktury stejného tvaru a velikosti. Proces výroby těmito metodami je zobrazen na Obr. 1.1.



Obr. 1.1: Proces výroby nanostruktur [40]

Top-down je nejpoužívanější postup výroby nanočástic. Cílem je zmenšování velikosti makroskopických částic. V každém kroku miniaturizace se vytváří produkt o něco menší, než byl předcházející až vznikne struktura, která je dostatečně malá pro danou funkci [43]. Současné top-down technologie pracují v rozměrech 10 - 100 nm

a využívají litografii, leptání a další procesy, které jsou postupným vývojem zdokonalovány [1]. Litografie je technologický proces sloužící pro vytváření jemných struktur, obzvláště mikrostruktur a nanostruktur. Při litografických postupech dochází k přenesení dané struktury na povrch strukturovaného substrátu. Nejdůležitějšími parametry při procesu litografie je kvalita struktury a rychlost vytváření struktur [41].

Bottom-up je proces výroby nanočástic pomocí nejmenších stavebních částic - atomů. Z nich se skládají molekuly, klastry a další složky komplikovanějších systémů. *Bottom-up* metody využívají kontrolované chemické reakce a jsou proto levnější než litografické metody [43]. Často se také využívá přirozené schopnosti jednotlivých složek vzájemně se rozpoznávat a samoorganizovat. Uplatňují se především v přírodě při vytváření biologických struktur. Velikost výsledných nanočástic se pohybuje v rozmezí 2 - 10 nm. V dnešní době mají využití hlavně při výrobě uhlíkových nanotrubic a kvantových teček [41].

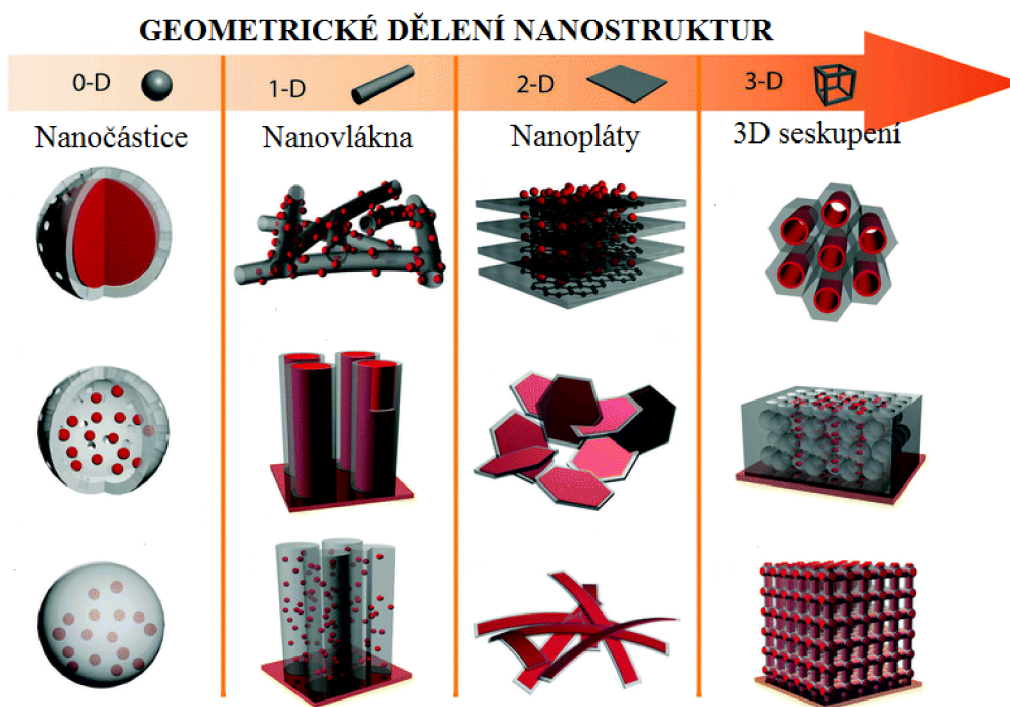
Široce používanou technologií pro výrobu 2D nanostruktur (vrstev) je nanášení tenkých filmů. Takto vyrobené nanostrukтуры jsou v mnoha případech z jiného materiálu než je substrát. Nanášení vrstev je možné realizovat z plynné fáze, PVD (Physical Vapor Deposition - napařování, napařování), CVD (Chemical Vapor Deposition - depozice), elektrolytické pokovování, odstředivé nanášení vrstvy (spincoating) nebo elektrochemickou depozicí nanostruktur do nanoporézní masky (podkapitola 3.2). Chemická depozice z plynné fáze (CVD - Chemical Vapor Deposition) je chemický proces, který se využívá pro přípravu tenkých filmů. Substrát je vystaven účinkům jednoho nebo více plynů, které na jeho povrchu reagují mezi sebou nebo se rozkládají za vzniku požadovaného materiálu, celý proces probíhá za vysoké teploty. CVD má využití v polovodičovém průmyslu, k přípravě polykrystalického oxidu křemičitého, uhlíkových vláken a nanotrubic, atd. Pomocí CVD se také připravují syntetické diamanty [42].

1D vlákna se vyrábějí způsobem zvaným elektrospinning, což je proces využívající silného elektrického pole pro zvláknování vodných roztoků polymerů [43]. Dochází k formování nanovláken na podložce spojené se zdrojem vysokého napětího.

Z vytvořených tenkých vláken se dají vyrábět lehké a velmi pevné textilie. Jejich póry jsou dostatečně malé na to, aby jimi nemohly projít bakterie či viry, naopak pro kyslík jsou propustné. Tyto textilie se používají v laboratořích, chirurgických sátech apod. V medicíně je lze využít jako krycí a obvazový materiál, struktura je podobná struktuře buněčné hmoty lidské tkáně [43].

1.1.1 Geometrické dělení nanostruktur

Nanomateriály se klasifikují do čtyř základních skupin v závislosti na jejich prostorové orientaci v okolí, tedy na jejich rozměrech (Obr. 1.2). Jsou to nanočástice a kvantové tečky (0D), nanovlákná (1D) a nanovrstvy (2D) a kombinace těchto zmíněných materiálů do větších celků (3D) [1].



Obr. 1.2: Geometrické dělení nanostruktur [23]

Kvantové tečky (0D) jsou klastry atomů obsahující několik set až několik tisíc atomů polovodivého materiálu (CdSe, CdTe, ap.). Klastry mají rozměr 2 – 10 nm a lze je charakterizovat jako nanočástice o velikosti proteinů. Polovodičové jádro je potaženo tenkou vrstvou jiného polovodiče (ZnS) a poté vrstvou polymeru pro lehčí připojování biomolekul. Pokud dojde k ozáření kvantových teček, pak menší binární kvantové tečky emitují záření na kratší vlnové délce, což se projevuje modrou barvou, zatímco větší tečky emitují záření na delší vlnové délce, což se naopak projevuje červenou barvou. Jsou to látky, které absorbují světelné fotony, které pak znovu emitují na jiné vlnové délce. Některé kvantové tečky jsou rozpustné ve vodě a mohou být připojeny ke specifickým molekulám. Využití mají v medicínských aplikacích při označování buněk nebo při zobrazování tkání uložených v těle (označení markeru rakoviny prsu) [34]. Nanodrátky (1D) se uplatní například jako spojovací elementy aktivních komponent v nanostrojích. Příkladem jsou zlaté nanodrátky o průměru 20 nm. Do této skupiny nanomateriálů patří i uhlíkové nanotrubičky. Jsou to

podlouhlé útvary, jejichž stěny jsou tvořeny atomy uhlíku o průměru 1 až 100 nm a o délce do 100 μm . Využití mají v elektrotechnice a mohou sloužit jako výborné vodiče, neboť se v nich mohou elektrony pohybovat téměř volně, odpor nanotrubic je velmi malý a téměř nezávisí na jejich délce [23].

1.2 Nanostrukturované elektrody a senzory

Výroba nanostruktur na povrchu elektrod začala na počátku roku 1990. Tyto struktury byly původně použity pro zvýšení elektrochemických signálů vlivem jejich vysokého poměru povrchu k objemu. Postupně se začaly využívat i v biokonjugovaných systémech. Nárůst elektroaktivní plochy umožňuje nižší meze detekce a vyšší citlivost na analyty [56].

Nanotechnologie pronikají do nejrůznějších oblastí současného výzkumu, průmyslu či klinické diagnostiky. Jedna ze slibných oblastí, jako velmi potřebného interdisciplinárního oboru, je příprava biosenzorů. Jejich praktické využití je v současnosti široké a stále se objevují nové konstrukční metody, resp. aplikační způsoby jejich využití. Biosenzor je zařízení využívající specifické biochemické reakce nebo interakce, sprostředkované izolovanými biomolekulami, organelami, celými buňkami nebo tkanivami/pletivami na detekci různých analytů. Biosenzor má principiálně tři základní části: biorozpoznávací element (biomolekula, která specificky interaguje se zkoumaným analytem, čímž se podílí na tvorbě biologického signálu), fyzikální převodník (přeměňuje biologický signál na měřitelný, fyzikální signál) a detektor vyhodnocující daný fyzikální signál. Tyto senzory musí mít vysoký stupeň citlivosti (hlavně v případě, že měří velmi malé změny) a dynamický rozsah [36]. Celosvětový technologický pokrok stále více umožňuje vyrábět senzory v mikroskopickém měřítku, ve většině případů totiž nanosenzory mohou dosahovat podstatně vyšší rychlosti a citlivosti ve srovnání s makroskopickými senzory.

Velký význam mají v současnosti hlavně ušlechtilé kovové nanočástice, např. Ag, Au a Pt. Jako i při jiných nanomateriálech, nanočástice zvyšují imobilizační povrch elektrod a biosenzorů, vykazují ale také katalytické vlastnosti, které např. u makroskopického zlata nenajdeme. Tyto katalytické vlastnosti se můžou využít při přípravě biosenzorů, např. při katalýze průběhu elektrochemické reakce na povrchu biosenzoru. Dalším příkladem využití je za pomoci jejich vlastnosti zlepšit transport elektronů na povrchu senzoru nebo elektrody. Podobně jako kovové nanočástice, našli své uplatnění v oblasti výroby biosenzorů i uhlíkové nanomateriály. Nejznámější a nejvíc používané jsou uhlíkové nanotrubičky. Objevené byly v roce 1991 a vyznačují se v podstatě jednou z nejjednodušších atomových konfigurací. Uhlíkové nanotrubky lze také deponovat ve vertikálně uspořádané formě v plazmovém

výboji, a to hlavně pro oblast sensoriky. Obvykle se užívá Fe nebo Ni. Plazmový výboj vzniká za sníženého tlaku a je vyvolán mikrovlnným zdrojem. Výhodou této techniky je selektivní růst vertikálně uspořádaných struktur [57].

Limitace připravovaných biosenzorů, jako nízká selektivita a senzitivita, můžou být často důsledkem nesespecifických interakcí. Proto je při jejich přípravě potřebné eliminovat nesespecifické interakce. Často používané látky jsou kyselina mléčná, proteiny, sérové albuminy, rybí sérum, atd. Velmi efektivní se ukazuje být albumin z hovězího séra (bovine serum albumine - BSA), který vykazuje při 35 % pokrytí monovrstvy efektivitu blokování nesespecifických interakcí 90 až 100 % při hydrofóbních a 68 až 100 % při hydrofilních površích.

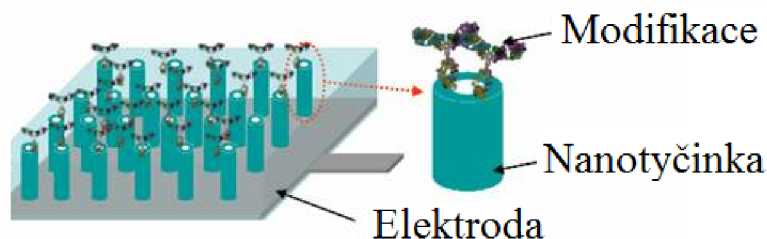
Nanostrukturované elektrody lze využít při výrobě nejen biosenzorů a nanostrukturovaných elektrod, ale i integrovaných obvodů a pasivních součástek jako jsou kondenzátory, baterie a pájecí plošky součástek. Převážnými metodami výroby jsou litografické metody, ale hledají se i levnější způsoby vytváření nanostruktur [57]. Nelitografické metody jsou mnohem levnější, protože se využívá postupů samouspořádání. Vytvářené nanostruktury jsou uspořádané do polí a jsou všechny naprosto stejné. Toho se využívá především v těch případech, kde cílem je vytvoření stejné struktury na povrchu elektrody. Hlavní nevýhodou těchto metod je nemožnost vytváření libovolných struktur různých tvarů, jako to je možné u metod litografických. [57].

1.3 Modifikované elektrody

Mezi nanostrukturované elektrody využívající se v nanotechnologiích patří i biologicky modifikované elektrody. Jsou to především ty elektrody, které jsou modifikované nízkou i vysokomolekulárními látkami. Hlavním důvodem modifikace elektrod je zprostředkování průběhu reakce, která na nemodifikovaném povrchu nemá výhodné kinetické podmínky [48]. Dalším důvodem je zakoncentrování analytu na povrchu elektrody při velmi nízké koncentraci v roztoku. Modifikací lze také zamezit průběhu nežádoucích a jinak rušivých reakcí [46].

Adaptace (nebo inkorporace) nanostrukturovaných materiálů v biomedicínských aplikacích je předmětem velkého zájmu. Prostřednictvím modifikací stávajících nanostrukturních materiálů lze řídit a přizpůsobit vlastnosti těchto materiálů předvídatelným způsobem, aby lépe vyhovovaly jejich integraci s biomedicínskými systémy. Tyto upravené nanostrukturní materiály mohou přinést nové a jedinečné schopnosti různých biomedicínských aplikací od implantátů přes modulované podávání léků až po klinické biosenzory a diagnostiku [46]. V současné době medicína a biomedicínské inženýrství patří mezi nejslibnější a nejnáročnější obory podílející se na uplatňování

nanostrukturovaných materiálů. Rychlé vylepšení nanostrukturovaných materiálů poskytlo možnost jejich využití v široké škále biomedicínských aplikacích, včetně tkáňového inženýrství, systému podávání léků, non-virových přenašečů, biosenzorů a screeningových systémů, a klinických bio-analytických diagnostik [44].



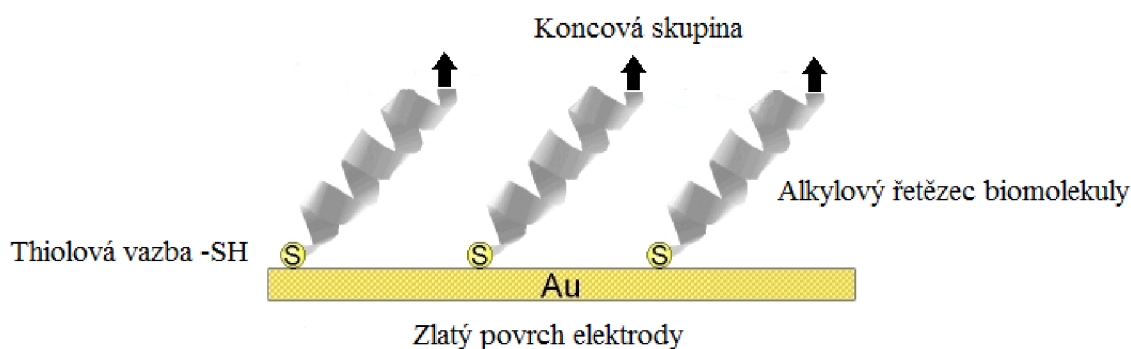
Obr. 1.3: Modifikace nanostrukturované elektrody

Povrchy nanostrukturovaných materiálů mohou být modifikovány a funkcionalizovány reakčními činidly za použití různých metod, včetně fyzikálních, chemických nebo biologických. Biologická modifikace nanočásticových povrchů je často nezbytná pro funkčnost nanočástic a biokompatibilitu (Obr. 1.3). Prostřednictvím chemických nebo fyzikálních metod, biospecifické molekuly mohou být konjugovány s nanočásticemi a nabízejí biospecifická místa pro další imobilizaci ligandů specifických pro tyto molekuly. Tyto imobilizace specifických ligandů jsou prováděny prostřednictvím biologicky specifických reakcí, jako je například protilátka-antigen, receptor-ligand, avidin (nebo strepavidin) -biotin, a DNA-DNA hybridizace [44].

Funkční molekuly mohou být kovalentně spojeny s povrchem nanostrukturovaných materiálů. Ve srovnání s některými fyzikálními metodami, mohou chemické modifikace aktivovat povrchy nanostrukturovaných materiálů ve vyšší míře a nabídnout silnější interakce mezi spojovacími molekulami a povrchy materiálů prostřednictvím stabilních chemických vazeb. Ke spojení biomolekuly a zlatého povrchu elektrody dochází pomocí přímé kovalentní vazby (schéma je zobrazeno na Obr. 1.4). Přímá kovalentní vazba na povrch nanočástic je možná prostřednictvím thiolové funkční skupiny¹. V některých případech proteinů (albumin) majících na svém povrchu thiolové skupiny dochází k tvorbě pevné vazby na zlaté povrchy nanočástic [48].

Vzhledem k tomu, že vazba S-S je silnější než vazba O-O a zároveň vazba S-H slabší než O-H, podléhají thioly mírné oxidaci ve vodním prostředí a vytváří disulfidy. Thioly se často dobře vážou ke kovům především k Au, Ag, Zn, Cd, Pd, Co a v neposlední řadě k Hg. Modifikování povrchu zlata samouspořádajícími se alkanthioly (SAM) je předmětem výzkumu posledních let. Thiolové molekuly vytváří

¹Thioly jsou organické sloučeniny síry, obecného vzorce $C_nH_{2n+1}SH$, odvozené od alkoholů, které mají jeden či více alkoholových kyslíků nahrazených sírou.



Obr. 1.4: Spojení biomolekuly a zlatého povrchu elektrody pomocí přímé kovalentní vazby

stabilní strukturu na zlatém povrchu elektrody díky silné afinitě mezi sírou a zlatem a Van der Waalsovými silami mezi alkylovými řetězci [48].

Nanočástice, modifikované funkční molekulou, která poskytuje specifické vazebné místo pro vazbu biomolekul, jsou používány jako specifické analytické nástroje pro stanovení proteinů a oligonukleotidů. Například zlaté nanočástice pokryté streptavidinem byly použity pro afinitní vazbu s biotinylovanými proteiny (imunoglobulin, sérový albumin) nebo biotinylovanými oligonukleotidy [49].

V současné době jsou významné elektrochemické nanoimunosenzory založené na detekci prostatických specifických antigenů (PSA) pomocí vícevrstevných uhlíkových nanotrubic (MWCNTs) a nanočástic zlata (AuNPs). Povrch elektrody je poté charakterizován pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu a elektrochemických technik, jako je elektrochemická impedanční spektroskopie a voltametrie [47]. Nedávná práce taktéž odhalila existenci třídy malé nekódující RNA, známé jako mikroRNA, která má kritické funkce v různých biologických procesech. V souvislosti s navazováním na nanostrukturované elektrody lze díky této mikroRNA diagnostikovat rakovinu [46]. Ve vývoji je simultánní elektrochemická detekce DNA sekvence a detekce genu rakoviny prsu na nanostrukturovaných elektrodách. Tyto výsledky ukazují možnost selektivního vzorování různých biomolekul na jednom zařízení a mohou mít významné dopady pro budoucí vývoj čipů a biosenzorů [45].

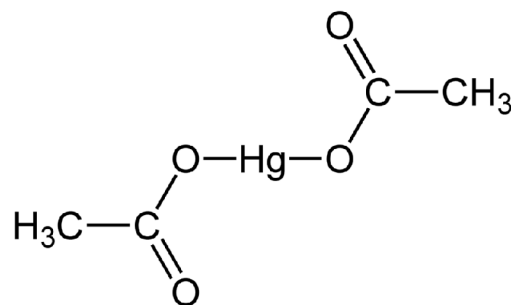
1.3.1 Solid - amalgámové elektrody

Unikátní vlastností atomů rtuti je tvorba komplexu s některými atomy kovů za vytvoření sloučenin, známých pod pojmem amalgámy. Zvláštní význam má Ag/Hg amalgám, díky svým elektronickým a optickým vlastnostem. V elektrochemii se v posledních letech začalo využívat Ag/Hg a Au/Hg elektrod pro elektrochemickou detekci proteinů z DNA a vysokomolekulárních látek díky své vysoké citlivosti a bylo

taktéž zjištěno, že stříbrné a zlaté částice adsorbují Hg při současné změně vlnové délky. Na základě toho dochází k absorpci par rtuti na zlatém a stříbrném povrchu elektrody. Povrch elektrody je potencionálním akceptorem atomů rtuti a dochází k vytvoření Ag/Hg nebo Au/Hg amalgámu [51].

Rtuť [Hg] je těžký, toxický kovový prvek, který slouží jako součást slitin a jako náplň různých přístrojů (teploměrů, vakuometrů, tlakoměrů, atd.). Je to kov, který se za normálních podmínek ($p = 101,325$ kPa) vyskytuje v kapalném stavu. Patří mezi velmi toxické látky a karcinogeny. Rtuť má využití i v detekčních metodách, jako je polarografie (měření intenzity elektrického proudu mezi rtuťovou kapkovou a referenční elektrodou v závislosti na elektrickém potenciálu, vloženém na tyto elektrody), za kterou v roce 1959 získal Nobelovu cenu za chemii Jaroslav Heyrovský [20].

V této práci je použita rtuť pro výrobu nanostrukturovaných amalgámových elektrod. Pro výrobu depozičního roztoku byl využit acetát rtuti, chemická sloučenina se vzorcem $\text{Hg}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2$. Používá se jako činidlo pro vytváření organických sloučenin rtuti z nenasyčených organických prekurzorů. Chemická struktura je zobrazena na Obr. 1.5.



Obr. 1.5: Chemická struktura acetátu rtuti [21]

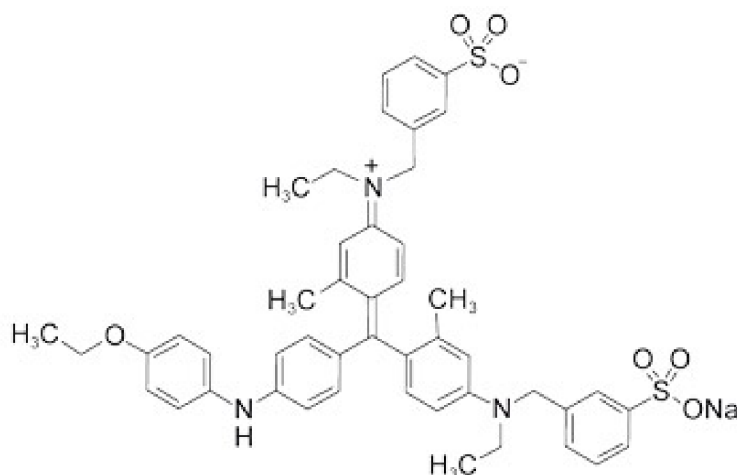
Kontaminace životního prostředí ionty těžkých kovů je velkým problémem po celá desetiletí po celém světě. Ve vodě rozpustné ionty rtuti (HG_{2+}) jsou příkladem vysoce toxických a znečišťujících látek, způsobující poškození mozku, nervového systému, endokrinního systému a dokonce i ledvin. Tyto problémy vedly výzkumníky k vyvinutí efektivních metod pro selektivní a citlivou detekci těchto těžkých kovů. Byly použity analytické metody, jako je například odpařování za studena s atomovou absorpční spektrometrií, indukčně vázaná plazmová atomová emisní spektrometrie, indukčně vázaná plazmová hmotnostní spektrometrie, povrchově zesílený Ramanův scattering, impedanční spektrometrie, atd. [20]. I když tyto metody jsou vysoce citlivé, objemné instrumentace a dlouhodobé přípravy vzorků omezují jejich použití a tyto nedostatky jsou komplikované, nákladné a časově náročné. Ke zmírnění těchto

problémů a zjednodušení přípravy vzorků došlo k rozvoji nových postupů, u kterých je manipulace se vzorky a rychlost detekce HG_{2+} iontů podstatně méně náročnější [51].

V posledních desetiletích se začaly využívat snímací systémy, založené na detekci HG_{2+} pomocí organických molekul, oligonukleotidů, proteinů a geneticky upravených bakterií. Je důležité poznamenat, že rozpoznávání těchto iontů na molekulární úrovni je vždy založeno na vzájemném působení S-N-, nebo O- funkční skupiny molekuly akceptoru a HG_{2+} prostřednictvím kovalentní vazby nebo kovové koordinace [51].

1.3.2 BSA - bovine serum albumin

Tato práce se zabývá především výrobou nanostrukturovaných elektrod a jejich modifikací biolátkou. Jako modelová látka pro detekci byl zvolen bovine serum albumin (BSA), především díky své stabilitě. BSA je jedním ze základních globulárních proteinů v biochemických laboratořích a nachází uplatnění v mnoha experimentech.



Obr. 1.6: Chemická struktura BSA [22]

Nejčastěji se používá jako referenční protein, se kterým se srovnávají vlastnosti jiných proteinů a jako blokátor volných vazebných míst. Jeho hydrofobní kapsa na povrchu slouží v krvi jako nosič hydrofobních látek, které mají nízkou rozpustnost. V krvi má BSA vysokou koncentraci a uplatňuje se jako pufrací činidlo a udržuje stabilní pH krve. V buněčné kultuře působí jako nosič molekul díky jeho negativnímu náboji. Váže vodu, soli, mastné kyseliny, vitamíny a hormony a přenáší tyto složky mezi tkání a buňkami. Hovězí sérový albumin účinně pohlcuje toxické látky, včetně pyrogenních látek, je snadno rozpustný ve vodě a lze jej vysrážet pouze vysokými koncentracemi neutrálních solí, jako je síran amonný. Stabilita roztoku sérového

albuminu skotu je vynikající, používá se k rozpuštění lipidů, často bývá využit jako stabilizátor [22].

BSA má využití v biochemických aplikacích, včetně testů ELISA² a imunohistochemie. Při měření nemá vliv na jiné proteiny, díky své stabilitě se využívá k zesilování signálu v testech a může být odebírán při čištění hovězí krve, z čehož vyplývají nízké náklady (na rozdíl od albuminu, jehož cena je podstatně vyšší). Chemická struktura je zobrazena na Obr. 1.6.

²ELISA (angl. zkratka enzyme-linked immuno sorbent assay) je analytická metoda využívaná ke kvantitativnímu stanovení různých antigenů. Tato metoda má řadu variant. Všechny jsou založeny na vysoce specifické interakci antigenu a protilátky, přičemž na jednoho z těchto partnerů je kovalentně navázán enzym. Enzym katalyzuje chemickou přeměnu substrátu, který je přidán do reakční směsi, na produkt, který je barevný. Stanovuje se pak spektrofotometricky, nebo na základě fluorescence.

2 CHARAKTERIZAČNÍ METODY

2.1 Elektrochemická impedanční spektroskopie

Impedance bývá nejčastěji označována za zobecněný odpor. S odporem se lze nejčastěji setkat ve formě Ohmova zákona [58]:

$$U = R \times I \quad (2.1)$$

kde

U ... napětí na elektrickém odporu

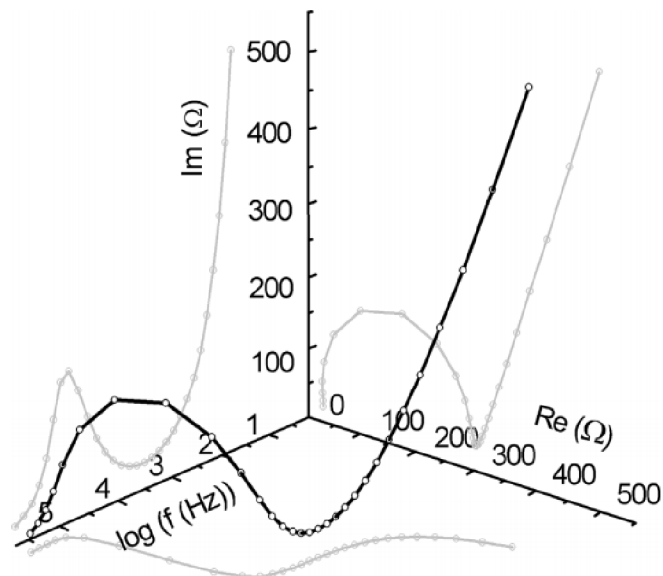
I ... elektrický proud systémem protékající

R ... vlastní ohmický odpor k průchodu proudem

Elektrochemická impedanční spektroskopie (EIS) je perspektivní technika pro výzkum mezifázových elektrických vlastností různých druhů pevných nebo kapalných látek spojených s vhodným elektrochemickým převodníkem. EIS má využití v procesech kontroly baterií a polovodičů, v technologii tenkých filmů, při monitorování koroze. EIS je rovněž úspěšně používána při návrhu a vývoji nanostrukturovaných elektrod, senzorových systémů a mikrosystémů [24].

EIS je elektrochemická metoda založená na odezvě korodující elektrody na vložený napěťový nebo proudový signál o malé amplitudě při různých frekvencích. Elektrochemická impedanční spektroskopie představuje vysoce citlivou experimentální techniku určenou ke stanovení kinetických parametrů systému [58]. Je založena na periodickém budícím signálu, což společně s jeho malou použitou amplitudou zabezpečuje minimální koncentrační změny u povrchu elektrody spojené s vlastním měřením. Tato vlastnost je významná především v případě systémů citlivých na tzv. koncentrační polarizaci. Široký rozsah používaných frekvencí budícího signálu navíc umožňuje charakterizovat systémy zahrnující více vzájemně propojených dějů s odlišnou kinetikou [58]. Veškeré elektrochemické děje jsou, co se týká přenosu náboje přes fázové rozhraní, heterogenní. To znamená, že jsou vždy spojeny s přenosovými ději na rozhraní elektroda-elektrolyt. To výrazně komplikuje popis celého systému. Je to dáno zejména tím, že závislosti zde platící jsou obvykle nelineární [58].

Principem EIS je vkládání napětí na měřenou elektrodu a následné měření proudové odezvy. Dle Ohmova zákona je tedy měřen odpor systému, protože je však použito střídavé napětí, odpor systému je frekvenčně závislý a označuje se jako impedance. Impedance se vyjadřuje pomocí komplexních čísel a má tedy dvě složky, reálnou a imaginární část, které jsou závislé na frekvenci [24]. Příklad grafu zobrazení impedančního spektra ve 3D je uveden na Obr. 2.1.



Obr. 2.1: Příklad zobrazení impedančního spektra ve 3D [24]

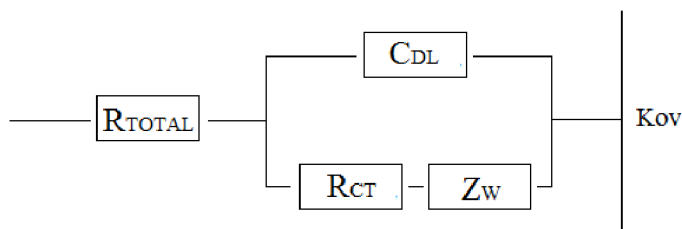
Na pracovní elektrodu se vkládá konstantní potenciál se superponovaným střídavým napětím o určité amplitudě a měří se střídavá složka proudové odezvy. Potenciál je předem zvolen, nebo se měří při potenciálu nezatíženého obvodu, což je vlastní potenciál proudově nezatížené (nezapojené) elektrody. Frekvence střídavého napětí se při měření mění s časem. Měření obvykle probíhá od vyšších frekvencí k nižším, protože některé systémy jsou omezeně stabilní (vyšší frekvence se měří podstatně rychleji). Frekvence se pohybují v rozmezí od 1 MHz do 0,1 mHz a pro měření se obvykle používá potenciostat v tříelektrodovém zapojení [24].

Z tvaru impedančního spektra (Obr. 2.1) a z představy chování systému lze odvodit vhodný matematický obvod. Jednotlivým prvkům obvodu je poté přiřazen fyzikální význam. Nejčastějšími prvky obvodu jsou odpor, kapacitance a induktance. Dále se mohou vyskytovat některé speciální elektrochemické prvky jako např. prvek s konstantní fází CPE [24]. Jednoduchou korozní reakci na fázovém rozhraní modeluje tzv. Randlesův obvod $R(CR)$ (Obr. 2.2). Model je složen z odporu elektrolytu R_{TOTAL} v sériovém zapojení s paralelní kombinací odporu přenosu náboje R_{CT} a kapacity elektrické dvojvrstvy C_{DL} . Zjednodušený Randlesův obvod je výchozím modelem pro ostatní komplexnější modely [24].

2.1.1 Impedance elektrody

Nejčastější metodou pro analýzu získaných dat je metoda matematického modelu impedance. Uvedený model dle Obr. 2.2 představuje impedanci jedné elektrody. Reálné měřicí elektrody reprezentují dvě taková zapojení v sérii, při kterém rezistor

R_{TOTAL} představuje měřený odpor elektrolytu a C_{DL} odpovídá elektrické kapacitě na fázovém rozhraní elektroda-elektrolyt. Vložení elektrody do elektrolytu, dochází k chemickým reakcím a tudíž i k nerovnováze nábojů. Tato nerovnováha je ihned vyrovnávána přesunem iontů k elektrodě až do té doby, dokud se koncentrace nábojů nevyrovná. V okolí elektrody začíná vznikat dvojvrstva, která je tvořena kladně nabitými ionty a záporně nabitými ionty [17].



Obr. 2.2: Model impedance elektrody - Randlesův obvod [17]

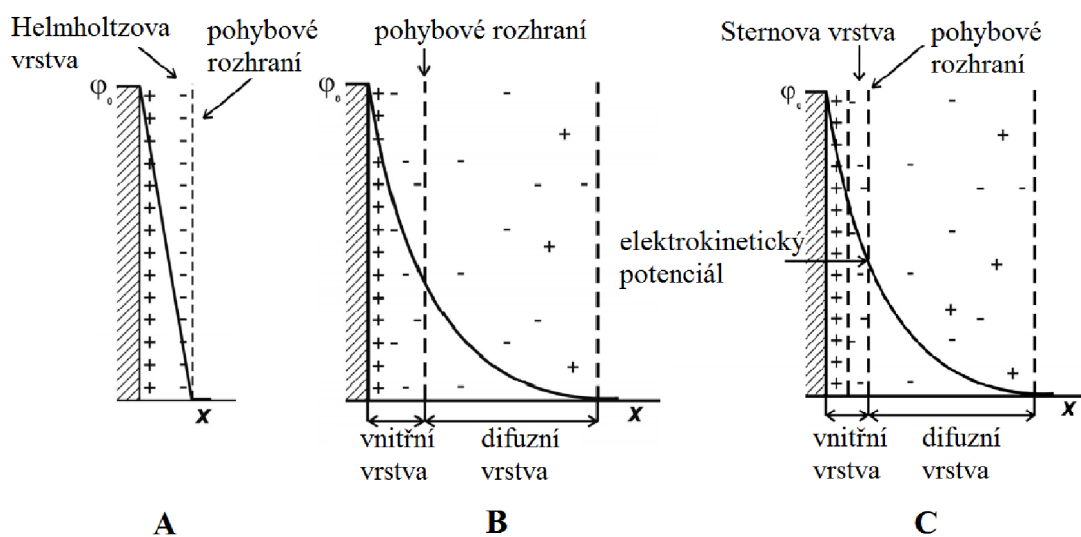
Náboje přes dvojvrstvu přecházejí, avšak přechod je zpomalován rychlostí výměny elektronů mezi ionty a elektrodou. Výše popsaný děj se nazývá odpor přenosu náboje a na uvedeném modelu je to R_{CT} . Jedná se o tzv. polarizační odpor elektrodové reakce. Fyzikální význam tohoto odporu odpovídá směrnici polarizační křivky elektrodové reakce. Jeho hodnota je tedy funkcí elektrodového potenciálu. S narůstajícím přepětím elektrodové reakce a s ním spojeným zrychlením kinetiky přenosu náboje dochází k jeho poklesu. Tento odpor je nelineární a závisí na napětí. Kvůli tomu bylo zavedeno limitní napětí, pro které je jeho chování ještě lineární. Protože R_{CT} klesá s frekvencí, limitní napětí s frekvencí stoupá [17]. Důležitým blokem obvodu je Warburgova impedance Z_W , která je způsobena konečnou rychlostí difúze iontů z elektrolytu k elektrodě. Tato impedance Z_W spolu s R_{CT} tvoří Faradayovu impedanci. Tento náhradní obvod, nazývaný také *Randlesův*, platí pouze pro ideální případy charakteristické tím, že přenos náboje přes fázové rozhraní elektroda-elektrolyt není omezován žádným jiným dějem, pouze kinetikou přenosu náboje. V praxi je takových elektrodových dějů pouze omezený počet [17].

2.1.2 Kapacita dvojvrstvy

Jedním z parametrů při určování vlastností a popisu elektrod je kapacita dvojvrstvy, anglicky double layer capacity. Rozhraní elektroda-elektrolyt představuje z elektrochemického hlediska nejzajímavější místo celého systému, neboť právě zde probíhá vlastní elektrochemický děj. Při vnoření elektrody do roztoku elektrolytu se vytváří na jeho povrchu tzv. elektrická dvojvrstva, která je složená ze dvou opačně nabitých vrstev. Nabitý povrch elektrody tvoří tzv. vnitřní vrstvu (potenciál se zde mění

lineárně se vzdáleností od povrchu elektrody), k níž jsou elektrostatickými a adsorpčními silami přitahovány ionty převážně opačného znaménka (protiionty). Náboj vnitřní vrstvy neutralizuje náboj povrchu – tzv. vnější vrstva (dochází zde k exponenciálním potenciálovým změnám). Jevy, kdy se elektricky nabitě částice pohybují vůči disperznímu prostředí, nazýváme jako jevy elektrokinetické. Jsou vyvolány existencí elektrického náboje na fázovém rozhraní mezi elektrodou a disperzním prostředím, díky němuž dochází k uspořádání opačných nábojů v blízkosti tohoto rozhraní [37]. Pro popis elektrické vrstvy byly vytvořeny modely elektrické dvojvrstvy - Helmholtzův, Gouyův-Chapmanův a Sternův (Obr. 2.3).

Helmholtz vypracoval základní teorii uspořádání elektrické dvojvrstvy. Tato teorie byla založena na podobnosti s uspořádáním deskového kondenzátoru, kde náboj částic tvořících jednu vrstvu byl zcela vykompenzován nábojem opačně nabitých částic, které se objevují ve druhé vrstvě (Obr. 2.3 A). Tato teorie elektrické dvojvrstvy neodpovídala skutečnosti a později byla doplněna Gouyem, Chapmanem a Sternem [37].



Obr. 2.3: Modely elektrické dvojvrstvy - Helmholtzův model (A), Gouyův-Chapmanův model (B) a Sternův model (C) [38]

Podle **Gouyho a Chapmana** nemohou ionty na povrchu částice vázat stejné množství protiiontů v protivrstvě, protože tyto ionty se pohybují vlivem difúze a rozptylují se tak v celém objemu kapaliny. K první vrstvě iontů je tedy poután pouze určitý počet protiiontů. Zbývající část opačně nabitých iontů je soustředěna v tzv. vnější (difúzní) vrstvě, přičemž první vrstva iontů určující povrchový náboj koloidní částice se nazývá vnitřní (kompaktní) vrstva (Obr. 2.3 B). Gouyho-Chapmanova představa elektrické dvojvrstvy však selhávala, jelikož tito autoři nepočítali se

skutečnými rozměry částic [37]. Po této nepřesné představě přišla nová teorie struktury elektrické dvojvrstvy, kde byly zahrnuty i rozměry iontů a specifické neelektrické interakce iontů. Tento model navrhl Stern.

Podle **Sterna** jsou k vnitřní vrstvě iontů přitahovány elektrostatickými a adsorpčními silami ionty opačného znaménka (Obr. 2.3 C). Sternova vrstva (vrstva protiiontů těsně u povrchu) je tvořena ionty vázanými převážně adsorpčními silami a tvoří kompaktní vnitřní vrstvu. Následuje difúzní vrstva tvořena protiionty, které se nachází ve větší vzdálenosti od povrchu částice a jsou přitahovány elektrostatickými silami. Při pohybu částice se kompaktní vrstva iontů pohybuje spolu s částicí, naopak vrstva difúzní se s částicí nepohybuje. Rozhraní, které odděluje pohyblivou a nepohyblivou část elektrické dvojvrstvy se nazývá pohybové rozhraní [37].

2.1.3 Konstantní fázový prvek (CPE)

Konstantní fázový prvek, neboli CPE, je obvodový prvek modelující chování dvojvrstvy, která slouží jako nedokonalý kondenzátor. Často se pomocí CPE nahrazují kapacitory, a to z důvodu nelineárního rozmístění v systému. V některých systémech se očekává, že Nyquistův graf bude tvořit půlkruh se středem na ose x [52]. Ve většině případů je grafem opravdu oblouk kruhu, ale střed neleží na ose x, nýbrž v určité vzdálenosti pod ní. Tyto půlkruhy byly vysvětleny řadou jevů, v závislosti na povaze systému, který je stále předmětem zkoumání. Vysvětlením tohoto jevu jsou nehomogenní vlastnosti systému. Stručně řečeno, CPE může být užitečným modelovacím prvkem, a to i v případě, že skutečná podstata systému je neznámá [52].

Matematicky je CPE popsán vztahem:

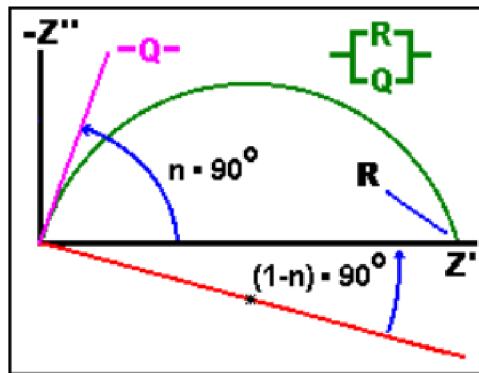
$$\frac{1}{Z} = Y = Q^\circ(j\omega)n \quad (2.2)$$

kde Q° má číselnou hodnotu admitance ($\frac{1}{|Z|}$) na $\omega = 1 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$. Jednotky Q° jsou [S·sn] [52]. Důsledkem této jednoduché rovnice je, že fázový úhel impedance CPE je nezávislý na frekvenci a má hodnotu $-(90 \times n)^\circ$. V případě, že $n = 1$ dochází ke stejnému případu, jako u rovnice impedance kondenzátoru, kde $Q^\circ = C$.

$$\frac{1}{Z} = Y = j\omega Q^\circ = j\omega C \quad (2.3)$$

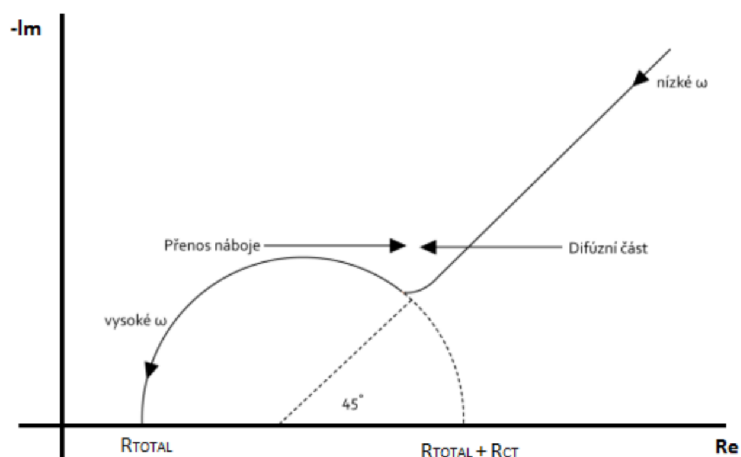
Při $n = 1$ se CPE chová jako čistý kondenzátor, ale jeho fázový posun není 90° , ten bude při všech frekvencích menší než 90° , zatímco při $n = 0$ se chová jako čistý rezistor. CPE je ekvivalentní Warburgově impedanci v případě $n = 0.5$ [52].

Na Obr. 2.4 je zobrazen Nyquistův graf obvodu, složený z CPE (symbolizovaný Q) a odporu (symbolizovaný R). CPE zobrazuje v grafu přímkou, svírající s osou x



Obr. 2.4: Nyquistův graf [52]

úhel $n \times 90^\circ$. Odpor, který je v obvodu zapojen paralelně s CPE, je zobrazen v grafu zelenou barvou. V tomto případě je střed půlkruhu pod osou x, v úhlu $(1-n) \times 90^\circ$ [52].



Obr. 2.5: Charakteristika elektrody v roztoku [52]

Charakteristiku jedné elektrody v kapalném roztoku obsahující lineární část se sklonem 45° prezentovanou difúzí iontů k elektrodě, je zobrazena na Obr. 2.5. První část má tvar půlkruhu a popisuje přenos náboje přes dvojvrstvu. Tato část je pozorovatelná na vysokých frekvencích. Druhá část má tvar přímky a popisuje kapacitní charakter látky a pozorujeme ji na nižších frekvencích. Pokud je z větší části zastoupena přímková část, znamená to, že k přenosu náboje dochází rychleji. Naopak, pokud je z větší části v diagramu zastoupena půlkruhovitá část, k přenosu náboje dochází pomaleji [52].

2.2 Voltametrické metody

Voltametrické metody řadíme mezi elektroanalytické metody. Je základní elektrochemickou metodou, která se využívá ke stanovení rozpuštěných látek ve vodných roztocích nebo rozpouštědlech. Měří se závislost proudu, který protéká pracovní elektrodou, na potenciálu, který se mění v čase a vkládá se na tuto elektrodu z vnějšího zdroje [26]. Velikost proudu, který protéká elektrodou, je funkcí jeho koncentrace a je popsán rovnicí 2.4.

$$I = f(cA) \quad (2.4)$$

Naměřené hodnoty se měří vůči referenční elektrodě, zatímco změny proudu se měří proti pomocné elektrodě. Výsledná měření jsou znázorněna jako polarizační křivka - voltamogram (závislost proudu tekoucího polarizovatelnou elektrodou na jejím potenciálu). Píky na voltamogramu jsou charakteristické pro každou molekulu analytu, lze z nich získat informace o kinetice přenosu náboje a výška píku je přímo úměrná koncentraci látky v roztoku a lze ji využít ke kvantitativnímu hodnocení. Mezi voltametrické metody patří lineární voltametrie, cyklická voltametrie a diferenčně pulzní voltametrie [28].

Elektrochemický článek je chemický zdroj elektrického napětí, který se skládá ze dvou materiálů spojených elektrolytem. V praxi můžeme použít dva druhy článků. Je to primární elektrochemický článek (galvanický článek) a sekundární elektrochemický článek (akumulátor) [26]. Vzniklé napětí je elektromotorické a vzniká z rozdílu potenciálů na elektrodách. Tyto elektrické potenciály jsou důsledkem chemických reakcí mezi elektrolytem a elektrodami. Reakce mohou být samovolné nebo vyvolané přechodem elektrického proudu. Jakmile zapojíme článek do obvodu, uvnitř článku proběhnou reakce, kterými se postupně snižuje energie a článek se začne vybíjet. Jestliže se napětí na článku po vybití nedá znovu obnovit, mluvíme o takzvané ireverzibilní reakci (primární elektrochemický článek). Pokud se dá článek opět nabít, mluvíme o reakci reverzibilní (akumulátor). Když článkem prochází elektrický proud, projevuje se vnitřní odpor článku a ten má za následek snížení napětí článku [26]. Tento jev je popsán Ohmovým zákonem pro uzavřený elektrický obvod. Elektrochemický článek může být zdrojem pouze jednosměrného proudu.

$$U = U_e - R_i \times I \quad (2.5)$$

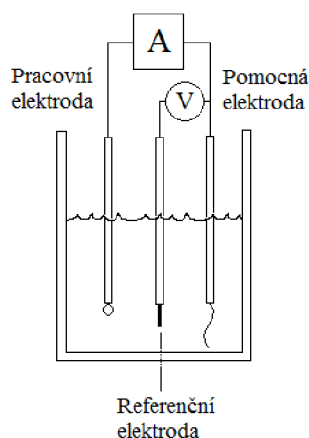
kde

U_e ... elektromotorické napětí [V]

R_i ... odpor zdroje [Ω]

I ... elektrický proud [A]

Měření probíhá ve voltametrické cele pomocí elektrod, ampérmetru a voltmetru. Schéma zapojení voltametrie je uvedeno na Obr. 2.6. Elektrody jsou pracovní a referenční (dvouelektrodové zapojení) nebo mohou být přítomny i elektrody pomocné (tříelektrodové zapojení). Voltmetrem měříme napětí, které je vkládáno na pracovní a referenční elektrodu. Přítomný proud, který prochází článkem, je naopak měřen ampérmetrem [26].

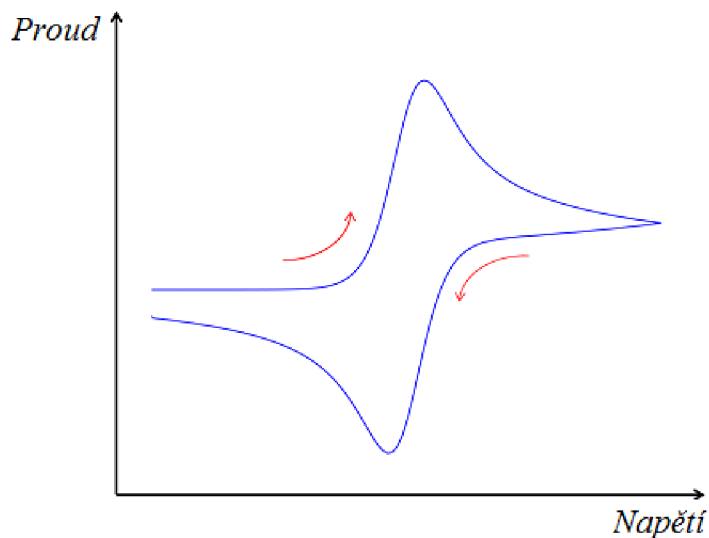


Obr. 2.6: Schématické zapojení tříelektrodového systému [27]

2.2.1 Cyklická voltametrie

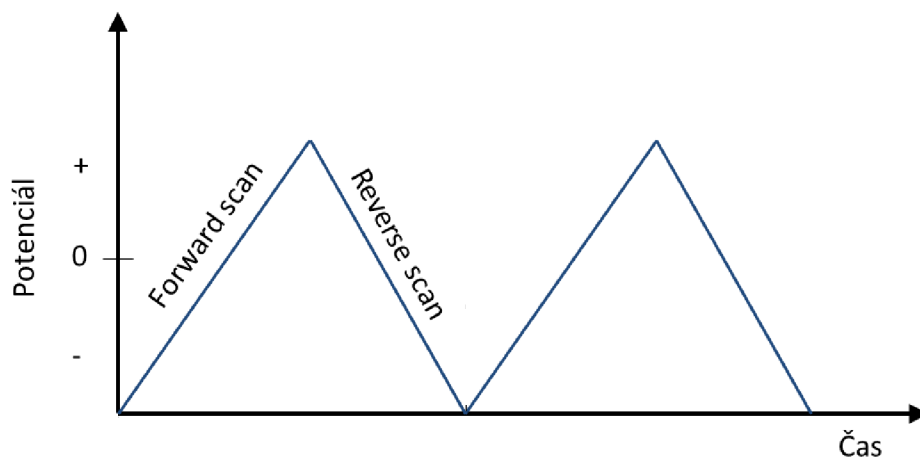
Cyklická voltametrie je dynamická voltametrická metoda odvozená od polarografie. Měřený povrch je ponořen do elektrolytu (pufry, KNO_3 , atd.) a tvoří pracovní elektrodu. Mezi pracovní a pomocnou elektrodou proudí elektrický proud a napětí na pracovní elektrodě je nastavováno vzhledem k referenční elektrodě [29]. Zkoumaný materiál je podroben potenciálu vloženému na elektrody a to tak, že potenciál je zvyšován (lineárně) od začátku ke "zlomovému" potenciálu (tzv. dopředný (forward) scan). Následně klesá až k finálnímu potenciálu (tzv. zpětný (reverse) scan) a tvoří jeden cyklus tzv. „potenciál trojúhelníkového tvaru“ (Obr. 2.8). Odezvou systému je tzv. polarizační křivka (voltamogram), neboli závislost proudu protékajícího elektrodou na jejím potenciálu, což ukazuje Obr. 2.7. Tato křivka bývá též někdy označována jako elektrochemické spektrum systému [29].

Klíčovými parametry CV jsou mezní hodnoty vloženého potenciálu a rychlost, s jakou je potenciál měněn, tj. skenovací rychlost (scan rate). Počáteční potenciál je zpravidla shodný s konečným potenciálem a rychlost, s jakou je měřen, určuje časové okno experimentu. Průměrná rychlost změny potenciálu se pohybuje od 20 mV/s do



Obr. 2.7: Cyklický voltamogram [29]

1 V/s a závisí hlavně na ploše elektrody [28]. Jde-li potenciál vložený na elektrody z vyšší hodnoty směrem k hodnotě nižší, dochází k redukci této látky. Naopak při přechodu z nižší na vyšší hodnotu dochází k oxidaci. Voltamogram adsorbované látky je proto symetrický podle proudové osy.

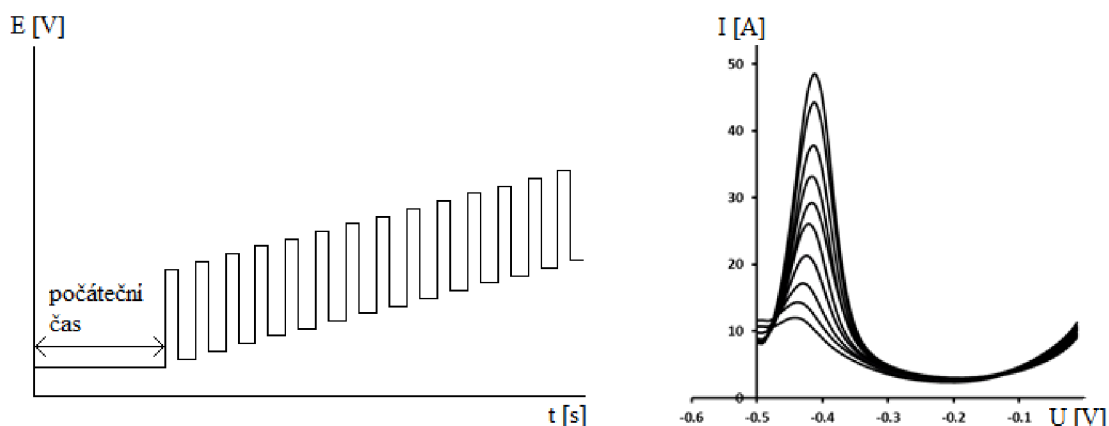


Obr. 2.8: Průběh trojúhelníkového potenciálu [30]

Elektrolýza probíhá pouze v malé vrstvě v okolí elektrody, proto je možné získat z jednoho měřeného materiálu neomezený počet voltamogramů. Pro měření voltamogramů se nejčastěji používá tříelektrodové zapojení (Obr. 2.6) a pro jeho zapojení je potřeba tří elektrod. Pracovní (working - Pt, Au), referenční (reference - kalomelová, argentchloridová) a pomocná (auxiliary - Pt plíšek) [26].

2.2.2 Diferenčně pulzní voltametrie

Pulzní voltametrie (polarografie) patří mezi moderní elektroanalytické metody a často se využívá ke zjišťování reverzibility elektrodového děje. Diferenčně pulzní voltametrie (DPV) je citlivá a cenná metoda umožňující přístup ke zkoumaným elektrochemickým vlastnostem především modifikovaných vrstev na povrchu nanostrukturovaných elektrod a umožňuje charakterizovat jejich vodivé vlastnosti. DPV je nejvyužívanější pulzní metoda, při které je potenciál lineárně s časem měněn pomocí přikládáního napětového pulzu. Měří se zde rozdíl proudů těsně před počátkem pulzu a těsně před koncem pulzu. Diferenční pulzní voltametrií lze stanovit koncentrace analytů až $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Amplituda pulzu se pohybuje od 10 mV do 100 mV a doba trvání pulzu je řádově v desítkách ms (Obr. 2.9). Regstruje se rozdíl proudů mezi pracovní (rtuťovou) elektrodou a pomocnou (platinovou) elektrodou změřených těsně před vložení pulzu a na jeho konci. Závislost rozdílu proudů na potenciálu prochází maximem a má tvar píku. Poloha píku na potenciálové ose je dána kvalitou analytu, jeho výška závisí na koncentraci [39].



Obr. 2.9: Charakter vkládaného potenciálu s výsledným průběhem voltamogramu [39]

2.3 Skenovací elektronový mikroskop

Pro zhodnocení správnosti vyrobeného nanostrukturovaného předmětu (v tomto případě nanostrukturované elektrody) se nelze obejít bez kvalitních zobrazovacích technik (mikroskopů). Při výběru se musí dbát hlavně na to, aby pozorovaná struktura byla viditelná, tudíž zvětšení musí být co největší. Někdy je potřebné i zvětšení až 1000000 x. Z toho vyplývá, že nelze použít světelný mikroskop, u kterého je možné

dosáhnout pouze 1000 x zvětšení. Musí se tedy volit takový mikroskop, který je schopen toto zvětšení poskytnout. Nejlepší volbou jsou elektronové mikroskopy.

Nejdůležitějším parametrem, při výběru mikroskopu je jeho mezní rozlišovací schopnost, která je úměrná vlnové délce použitého záření. Rozlišovací schopnost je schopnost zařízení, která je dána minimální vzdáleností dvou ještě rozlišitelných bodů (Rayleighovo kritérium) [5].

$$X_{min} = 0,61 \times \lambda / \eta \times \sin \theta \quad (2.6)$$

kde

λ ... vlnová délka světla

n ... index lomu prostředí

θ ... poloviční úhlová apertura čočky [5]

Jelikož elektrony mají několikanásobně kratší vlnovou délku (až 10^5 x) než má světlo, bude mít elektronový mikroskop vyšší rozlišovací schopnost než světelný mikroskop a může tedy dosáhnout mnohem většího zvětšení. Mezi ty nejpoužívanější patří TEM (transmisní elektronová mikroskopie) a SEM (skenovací elektronová mikroskopie). V této práci byla využita skenovací elektronová mikroskopie [4].

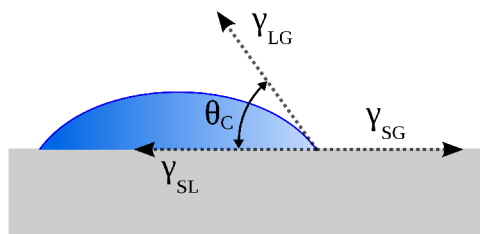
Paprsek elektronů se u SEM soustřeďuje soustavou čoček do co nejmenšího místa (průměr 5 - 10 nm), který dopadá na pozorovaný vzorek. Pomocí vychylovacích cívek rastruje paprsek elektronů po řádcích po povrchu pozorovaného vzorku. Dopadem paprsku na vzorek, jsou z něj vyráženy sekundární elektrony, které jsou přitahovány k detektoru a dopadají na scintilátor s fotonásobičem. Z fotonásobiče vychází elektrický signál, který je zesílen a určuje intenzitu elektronového paprsku na obrazovce [5]. Skenovací elektronová mikroskopie má rozlišení 0.5 nm a zvětšení 10 x až 1000000 x.

2.4 Měření kontaktního úhlu

Měření kontaktních úhlu poskytuje lepší porozumění interakcím mezi pevnou látkou a kapalinou, či mezi nemísitelnými kapalinami [54]. Interakce mezi pevnou látkou a kapalinou hraje hlavní roli v porozumění chemických a fyzikálních procesů v mnoha oblastech. Adheze mezi různými kompozitními strukturami (sklo-kov, kůže-tkanina, dřevo-papír) a smáčení na substrátu lze dosáhnout pomocí měření kontaktního úhlu.

Kontaktní úhel vzniká při interakci kapalin s pevnými látkami. Je-li systém v klidu, vzniká statický kontaktní úhel, je-li v pohybu, vzniká dynamický. Systém v klidu je v rovnováze, tedy ve stavu nízkoenergetickém. Stabilní rovnováha vzniká,

je-li pevná látka homogenní, planární a nedeformovaná. Pak se formuje rovnovážný kontaktní úhel. Je-li pevná látka heterogenní, systém se může nacházet v metastabilních stavech a kontaktní úhel se pak nazývá metastabilní. V metastabilních stavech je Θ_a větší než Θ_r (Obr. 2.11), v případě rovnovážných kontaktních úhlů jsou totožné [53].



Obr. 2.10: Smáčivost povrchu [53]

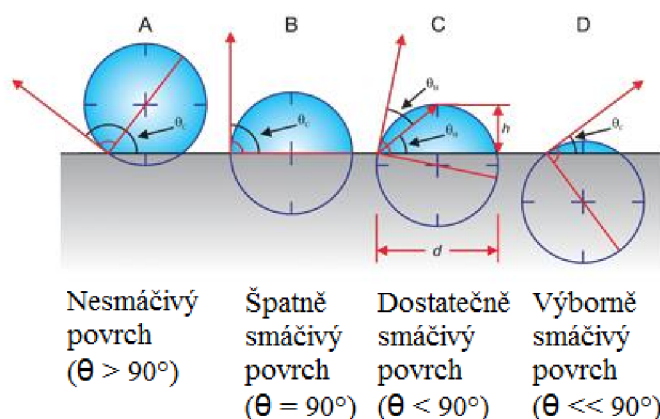
Reálné povrchy nejsou zcela hladké a jsou heterogenní. Kapalina může na těchto površích zaujmout stabilní rovnováhu (stav s minimální energií) nebo rovnováhu metastabilní. Na ideálním hladkém homogenním povrchu je rovnovážný kontaktní úhel roven „Youngovu“ kontaktnímu úhlu [53]. Vztah mezi tímto úhlem smáčení Θ a jednotlivými mezifázovými energiemi je dán Youngovou rovnicí:

$$\gamma_{LG} \times \cos\Theta = \gamma_{SG} - \gamma_{SL} \quad (2.7)$$

kde γ_{LG} a γ_{SG} jsou povrchové energie kapaliny, popř. tuhé látky, γ_{SL} je mezifázová energie na rozhraní tuhá látka-kapalina (Obr. 2.10).

Úhel smáčení je jednou z mála přímo měřitelných vlastností fázového rozhraní pevná látka/kapalina/plyn. Ideální je pevný, dokonale rovný, chemicky homogenní povrch. Problémy mohou vytvářet mikrotrhliny, vady materiálu (porušení homogeneity nebo chemického složení), drsnost povrchu. Tyto kritéria je velmi těžké zajistit. Problematické je zajistit především homogenitu povrchu, kvůli přítomnosti nečistot. A právě homogenita povrchu ovlivňuje adhezi, adsorpci a smáčivost povrchu.

Řada technologických procesů (např. čištění, barvení, lepení) je závislá na tom, jak dobře kapalina smáčí povrch tuhé látky. Tato schopnost je kvantifikována hodnotou kontaktního úhlu, jehož hodnota může být ovlivněna řadou faktorů [55]. Patří mezi ně kvalita povrchu - drsnost, výskyt mikrotrhlin a vad materiálu, schopnost rozestírání kapaliny na povrchu adsorpcí látek přítomných v plynné fázi na povrchu tuhé látky, hystereze úhlu smáčení. V automobilovém a stavebním průmyslu je potřeba optimalizace mezifázového napětí a měření síly interakce pomocí užití



Obr. 2.11: Rozdělení povrchů dle smáčivosti v závislosti na kontaktním úhlu Θ [54]

styčných úhlů. Dále pak využití v papírnictví, při výrobě polymerových potravinářských balících fólií, v leteckém průmyslu a výrobě sportovních potřeb. V textilním průmyslu vše od kobercových vláken po chirurgické rukavice obsahuje pro ochranu textilního materiálu úpravu povrchu, jakou jsou antistatické či skvrnám zabraňující nátěry [55].



Obr. 2.12: Rozdíl ve smáčivosti odlišných povrchů - pokud je kontaktní úhel na hladkém povrchu větší než 90° , kontaktní úhel na nanostrukturovaném povrchu vzroste

Při měření kontaktního úhlu smáčení nastává mnoho vlivů, které je potřeba kompenzovat nebo s nimi jinak počítat. Vzorek je nutné připravit, nesmí být znečištěn, zamaštěn, ohmatán či mechanicky poškozen. Bylo vyvinuto několik postupů a metod pro měření kontaktního úhlu. Dnes jsou nejčastěji používané dva postupy. Měření statického kontaktního úhlu a měření dynamického kontaktního úhlu. Existuje několik metod přímého a nepřímého měření kontaktního úhlu. Mezi nepřímé metody patří kapilární elevace na svislé destičce a vyvažování Wilhelmyho destičky. Mezi přímé metody měření patří měření úhlu na naklánějící se destičce a měření kontaktního úhlu na přisedlé kapce nebo bublině, kde úhel je měřen z profilu kapky pomocí goniometrického okuláru nebo kamery [55].

3 PRAKTICKÁ ČÁST

Praktická část diplomové práce byla zaměřena na samotnou výrobu povrchově upravených elektrod. Povrch byl modifikován zlatými nanotyčinkami vyrobenými elektrochemickou depozicí zlata na předem vyrobený křemíkový substrát. Dále byly vyrobeny solid-amalgámové elektrody modifikované rtutí, čímž vznikl unikátní nanostrukturovaný amalgámový povrch. Elektrodepozice probíhala pomocí systému s řízeným oběhem elektrolytu a předcházela jí anodizace W/Al vrstev. Dále následovala charakterizace v elektronovém mikroskopu a modifikace kyselinou 11-merkaptoundekanovou. Dalším krokem byla modifikace biolátkou BSA. Poté probíhalo měření ve Faradayově kleci s tříelektrodovým zapojením metodou elektrochemické impedanční spektroskopie, cyklické voltametrie a diferenčně pulzní voltametrie. Nakonec bylo provedeno měření kontaktního úhlu, byly sestaveny náhradní elektrické obvody a vypočítány simulace. Výsledné hodnoty byly zpracovány a diskutovány.

Tato diplomová práce se zabývala až výslednou výrobou nanostrukturovaných elektrod, tudíž zde nebyla zahrnuta výroba křemíkových substrátů, které byly v této práci použity.

3.1 Použitý materiál

Pro výrobu elektrod byly použity tyto roztoky:

1. fosfátový pufr o $\text{pH} = 7$ (leptání)

K přípravě tohoto pufru bylo potřeba 1,5601 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 100 ml *demi* vody a 1,7799 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 100 ml *demi* vody. Z prvního roztoku bylo pipetou odebráno 19 ml a z druhého stejným způsobem odebráno 81 ml, vzniklých 100 ml bylo smícháno se 100 ml *demi* vody. Výsledný roztok byl promíchán a pro kontrolu bylo změřeno pH pomocí pH metrem. Koncentrace pufru byla 0,1 M ($\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$).

2. zlatí roztok

Roztok byl připraven smícháním 0,6 g $\text{K}[\text{Au}(\text{CN})_2]$ s 0,232 g H_3BO_3 a 100 ml *demi* vody.

3. výsledné leptání masky

Výsledné leptání masky probíhalo v leptadle připraveném z 3 g CrO_3 , 5 ml H_3PO_4 a 100 ml *demi* vody.

4. roztok rtuti

Rtuť byla deponována z roztoku 0,1 M HClO_4 (70%) + 5 mM $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ + 100 ml *demi* vody.

Pro měření elektrod byly použity roztoky:

1. fosfátový pufr o $\text{pH} = 7,5$

Pufr potřebný k měření elektrochemické imedanční spektroskopie a dalších charakterizačních metod akumulovaných elektrod byl připraven z 1,7799 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 100 ml *demi* vody a 1,3609 g KH_2PO_4 + 100 ml *demi* vody. První roztok byl smíchán s druhým v poměru 61:39. Výsledná koncentrace pufru byla 0,1 M ($\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$).

2. roztok $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$

Tento roztok byl využit pro měření zlatých hladkých elektrod a nanostrukturovaných zlatých elektrod. Nejdříve byl připraven roztok KCl, který vznikl smícháním 3,728 g KCl s 0,5 l vody. Dále bylo odváženo 0,03293 g $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a 0,04222 g $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Obě odvážené látky se poté smíchaly se 100 ml roztoku KCl. Tím vznikl potřebný roztok o koncentraci 2 mM.

3. roztok ruthenia

Roztok ruthenia byl použit pro měření amalgámových elektrod. Bylo potřeba připravit acetátový pufr, složený s 0,1 M roztoku kyseliny octové a 0,1 M roztoku acetátu sodného. Tyto látky se smíchaly v takovém poměru, aby výsledný acetátový pufr měl $\text{pH} = 5,1$. Nakonec se ruthenium smíchalo s acetátovým pufrem v poměru 1:10.

V této práci byly použity tyto látky:

(a) křemíkový substrát s naprášenou, popř. napařenou vrstvou W/Al

(b) deionizovaná voda (Millipore Corp., USA)

(c) dihydrogenfosforečnan sodný $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (156,01 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Fluka, Německo)

(d) hydrogenfosforečnan disodný $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (177,99 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Fluka, Německo)

(e) kyselina šťavelová $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (90,03 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)

(f) kyselina fosforečná H_3PO_4 (98,00 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)

(g) dihydrogenfosforečnan draselný KH_2PO_4 (136,09 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Fluka, Německo)

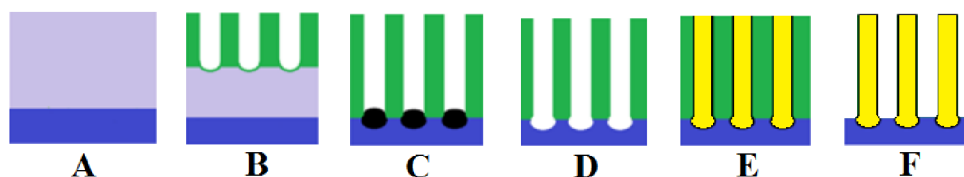
(h) dikyanozlatan draselný $\text{K}[\text{Au}(\text{CN})_2]$ (288,00 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Safina, Česká republika)

(i) kyselina boritá H_3BO_3 (61,83 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)

- (j) kyselina chloristá HClO_4 (100, 46 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)
- (k) octan rtuťnatý $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (318, 68 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)
- (l) oxid chromový CrO_3 (99, 99 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)
- (m) absolutní ethylalkohol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (46, 07 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)
- (n) 11-merkaptoundekanová kyselina $\text{HS}(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ (218, 36 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Sigma Aldrich, USA)
- (o) chlorid draselný KCl (74, 55 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)
- (p) hexakynoželeznatan draselný $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (368, 35 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Sigma Aldrich, USA)
- (q) hexakynoželezitan draselný $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (329, 24 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Sigma Aldrich, USA)
- (r) kyselina octová CH_3COOH (60, 05 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)
- (s) acetát sodný CH_3COONa (82, 04 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Penta, Česká republika)
- (t) bovine serum albumin (66430 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, Sigma Aldrich, Německo)
- (u) ruthenium

3.2 Výroba zlatých nanostrukturovaných elektrod

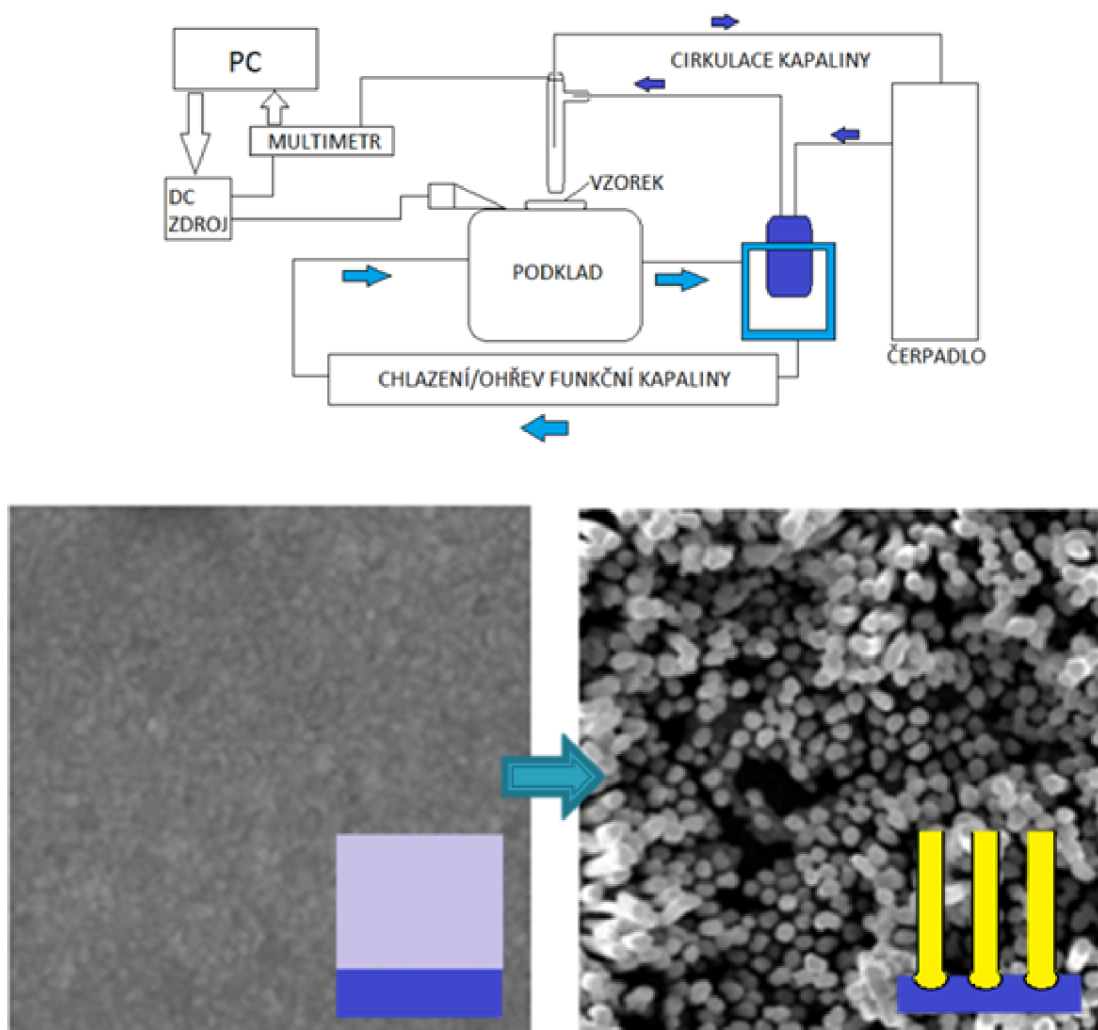
Výroba nanostrukturovaných elektrod probíhala metodou anodizace W/Al vrstev s následnou galvanickou depozicí zlata. Nejdříve byl vyroben nový substrát (wafer) typu „sandwich“. Základem byla vrstva SiO_2 (500 nm) na něm nanesená adhezivní 20 nm vrstva titanu, dále 200 nm vrstva wolframu a vrchní (napařena, resp. naprášena) 100 nm vrstva hliníku, která sloužila jako substrát pro vytvoření nanoporézní masky. Byla použita taktéž 300 nm a 500 nm vrstva hliníku.



Obr. 3.1: Růst porézní masky [35]

Na Obr. 3.1 je zobrazen proces výroby nanostrukturované elektrody. Prvním krokem byla anodizace 0,1 M kyselinou šťavelovou při napětí 53 V, která zformovala nanoporézní masku z Al_2O_3 (Obr. 3.1 A). Vznikly póry, které se vytvarovaly do hexagonální struktury (Obr. 3.1 B). Dále se hliníková vrstva začala spotřebovávat

až do doby, kdy došlo k postupnému prorůstání WO_3 struktur do vzniklých pórů (Obr. 3.1 C).



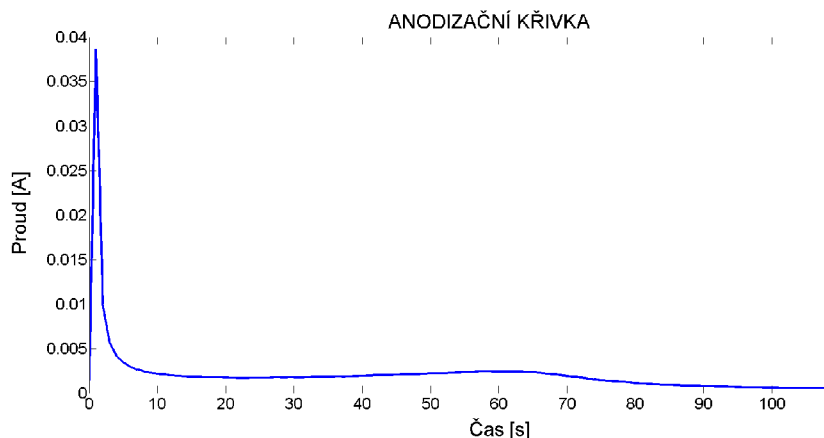
Obr. 3.2: Schéma výrobního pracoviště

Následně byly selektivně odleptány vzniklé WO_3 struktury fosfátovým pufrem a v povrchu wolframu vznikly struktury „jamky“ (Obr. 3.1 D). Do těchto útvarů bylo galvanicky nadeponováno zlato z roztoku dikyanozlatanu draselného $\text{K}[\text{Au}(\text{CN})_2]$ (Obr. 3.1 E). Posledním krokem bylo odstranění nanoporézní masky, čímž došlo k vytvoření samostatných zlatých nanotyčinek (Obr. 3.1 F). Na Obr. 3.2 je zobrazeno schéma výrobního pracoviště anodizace a depozice.

3.2.1 Anodizace W/Al vrstev

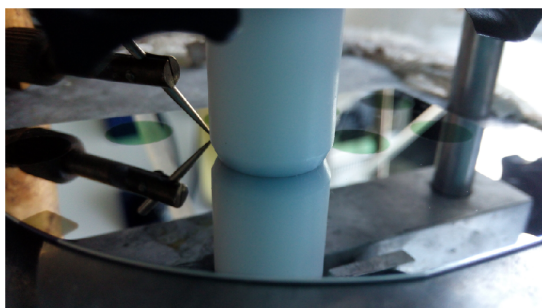
Anodizace je chemický proces, při kterém se vytváří na povrchu odolná chemická vrstva oxidu. Tato vrstva se začala vytvářet na začátku procesu anodizace a na

anodizační křivce se projevila rapidním vzestupem proudu (graf na Obr. 3.3). Dále docházelo k formování nanopórů, což se projevilo mírným růstem proudu a následoval kontinuální růst nanoporézní masky, jenž je znázorněn poklesem proudu. Velikost napětí bylo konstantně nastaveno na 40 V a sledovalo se klesání proudu, který byl v průběhu měření proměnný.



Obr. 3.3: Anodizační křivka u nanoporézní masky Al 100 nm

Anodizace byla prováděna za teploty 10 °C roztokem kyseliny šťavelové (COOH)₂ o koncentraci 0,3 M. Cirkulace (COOH)₂ byla řízena membránovým čerpadlem STEPDOS 08 S s průtokem 80 ml·min⁻¹. Při anodizaci docházelo k průniku kyslíkových iontů přes tenkou bariéru na dně každého póru (Obr. 3.1 C), čímž se přeměňoval hliník na oxid hlinitý. Průměr těchto nanopórů se pohyboval v rozmezí 10-150 nm a závisel na tloušťce hliníkové vrstvy a použitém proudu. Tím se postupně vytvořila porézní maska Al₂O₃. Výsledná doba anodizace byla 130 sekund u 100 nm vrstvy hliníku, 360 sekund u 300 nm vrstvy hliníku a 450 sekund u 500 nm vrstvy hliníku. Při tomto čase docházelo ke vzniku největšího počtu WO₃ struktur. Po anodizaci byly vzorky opláchnuty v demi vodě a následně osušeny.



Obr. 3.4: Detailní pohled na proces anodizace - kontakt teflonové hlavy (d = 9,25 mm) se substrátem

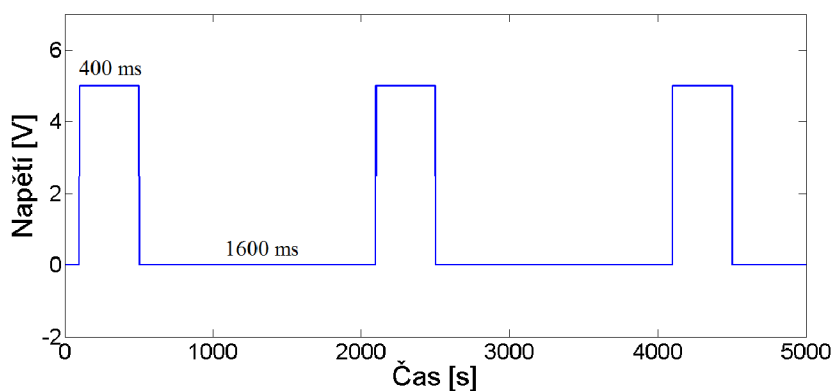
Dalším krokem bylo odstranění WO_3 struktur vyleptáním ve 25 °C fosfátovém pufru o pH 7 po dobu dvanácti minut.

Průběžná charakterizace povrchu ve skenovacím elektronovém mikroskopu byla důležitá z důvodu kontroly správnosti výroby a nezbytného vakua, které sloužilo k pořádnému vysušení vzorků. Odstranění vody v masce bylo klíčové pro zabránění delaminace při procesu elektrochemické depozice. Po vysušení ve vakuu tedy mezi póry nezůstávala žádná tekutina a snižovalo se tím riziko odtržení masky.

3.2.2 Elektrodepozice zlatých nanostruktur

Na takto modifikovaný povrch bylo nadeponováno zlato z roztoku dikyanozlatanu draselného $\text{K}[\text{Au}(\text{CN})_2]$ metodou elektrodepozice. Pro tuto elektrodepozici byl také využit systém s řízeným oběhem roztoku ovládaný membránovým čerpadlem STEPDOS 08 S, průtok byl snížen na $30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pro správnou výslednou homogenitu povrchu elektrody byla použita pulzní depozice, kde vrstva wolframu sloužila jako katoda, zatímco jako pomocná elektroda byla zlatá anoda. Mezi obě tyto elektrody byl přiváděn konstantní proud. Zlaté anionty byly přitahovány katodou, začalo jejich vylučování na povrchu elektrody a vytváření zlatých nanotyčinek. Zdrojem pulzů byl pulzní generátor, který byl řízen



Obr. 3.5: Napěťové pulzy

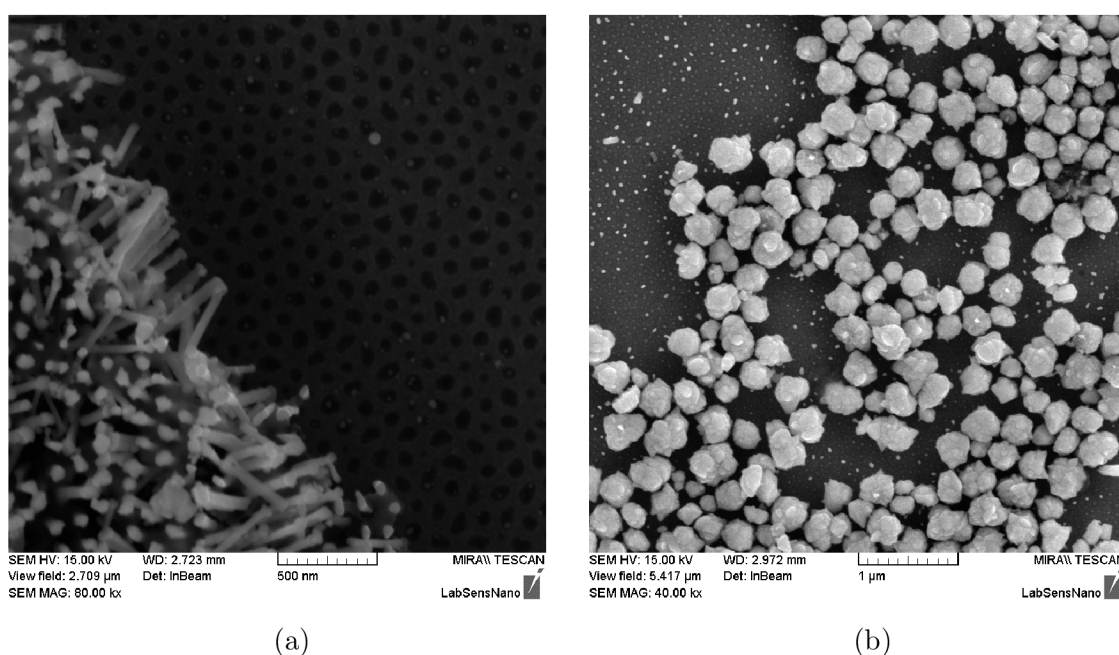
pomocí softwaru vyvinutého v prostředí LabView (autor programu Ing. Vratislav Harabiš, Ph.D.). Proudový signál, vysílaný z pulzního generátoru, byl ovlivňován napěťovými pulzy o velikosti 5 V (Obr. 3.5). Velikost proudu byla zvolena na 10 mA, délka pulzu 400 ms s periodou 2 s. Systém lze provozovat jak v proudovém, tak i v napěťovém režimu.

U 100 nm vrstvy byl zvolen počet pulzů 10 - 15 a u 300 a 500 nm vrstvy 45 pulzů (Obr. 3.5). Při použití malého množství pulzů nebyla většina pórů vyplněna,

naopak při vysokém počtu pulzů docházelo k předeponování povrchů, což se projevovalo shlukováním tyčinek (Obr. 3.6 (b)). Délka vytvořené nanostruktury byla ve výsledku přímo úměrná velikosti proudové hustoty a času elektrodepozice. Následovalo odtržení masky v 55 °C leptadle $\text{CrO}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4$. Odtraňování probíhalo po dobu deseti minut.

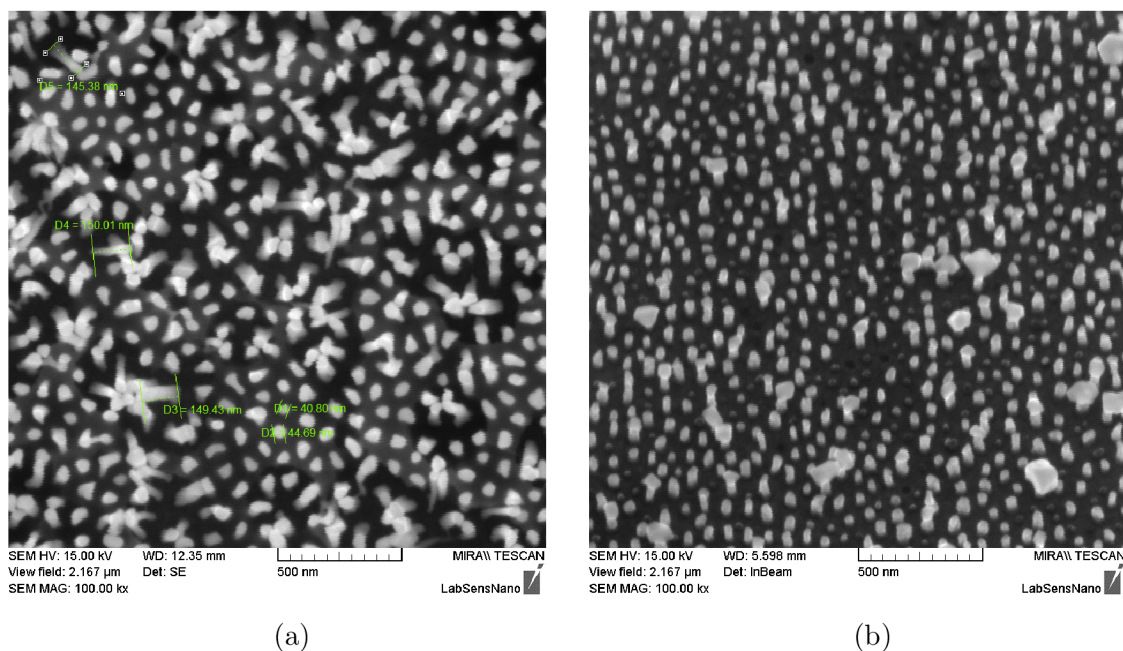
Pro zjištění průměrné rychlosti leptání bylo potřeba zvolit dobu leptání na 3, 4 a 5 minut. Z odleptané výšky masky se na základě dané doby leptání vypočítala průměrná rychlost leptání, která byla $1,11 \text{ nm}\cdot\text{s}^{-1}$.

Posledním krokem byla SEM charakterizace výsledných elektrod s nadeponovaným zlatem.



Obr. 3.6: SEM snímek nanostrukturované elektrody (Al 500 nm), došlo k lokálnímu odtržení masky (a), shlukování zlatých nanotyčinek (b)

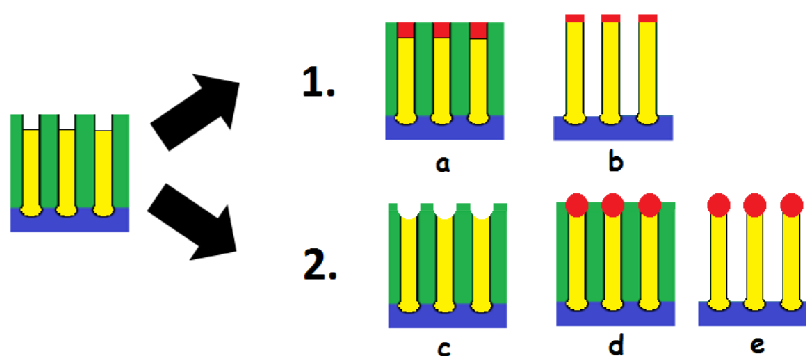
Na Obr. 3.6 (a) je zobrazen SEM snímek nanostrukturované elektrody. Kvůli vysokému počtu pulzů došlo k lokálnímu odtržení masky, proces depozice se nevydařil a elektroda se stala nepoužitelnou. Při správném počtu pulzů vznikly nanotyčinky na povrchu elektrody, které jsou zobrazeny na Obr. 3.7. Průměrná výška těchto nanotyčinek závisela na velikosti použité Al vrstvy. U 100 nm vrstvy hliníku se výška pohybovala v rozmezí 50 - 80 nm, u 500 nm vrstvy v rozmezí 150 - 450 nm.



Obr. 3.7: SEM snímky zlatých nanotyčinek - Al = 500 nm (a) a Al = 100 nm (b)

3.3 Výroba solid-amalgámových nanostrukturovaných elektrod

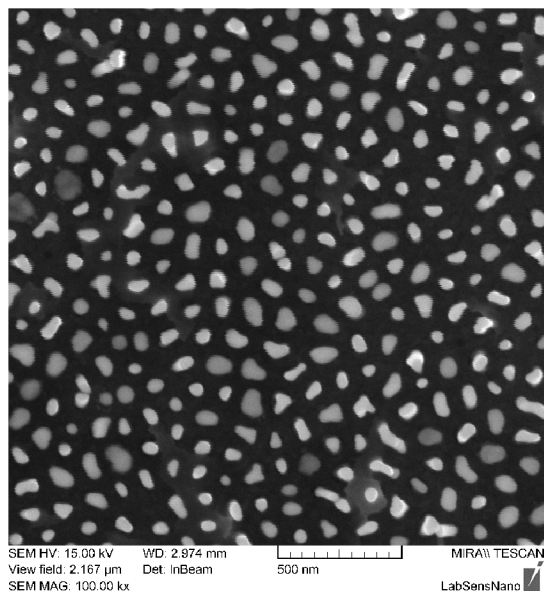
Počáteční výroba solid-amalgámových nanostrukturovaných elektrod probíhala stejným způsobem, jako tomu bylo u zlatých nanostrukturovaných elektrod (podkapitola 3.2). Po nadeponování zlata ze zlatího roztoku výroba dále pokračovala dvěma rozdílnými postupy (Obr. 3.8).



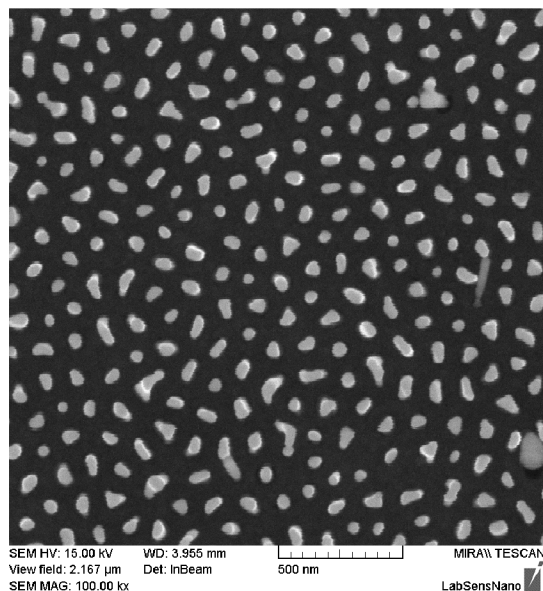
Obr. 3.8: Schéma výroby nanostrukturované amalgámové elektrody

Na takto nadeponovanou elektrodu byla v prvním postupu (Obr. 3.8 a) nadeponována rtuť, která se sloučila se zlatem za vzniku amalgámu. Poté byla odleptána

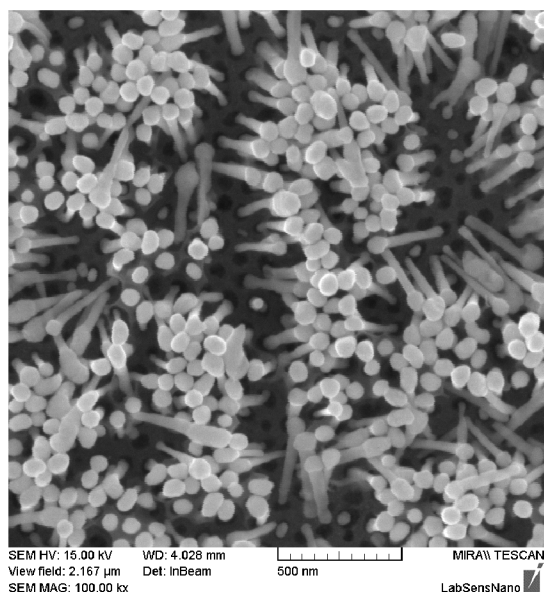
nanoporézní maska v roztoku $\text{CrO}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4$, čímž vznikly zlaté nanotyčinky s amalgámovými špičkami (Obr. 3.8 b), které odpovídaly morfologii zlatých nanotyčinek (viz Obr. 3.9 (a) a (b)).



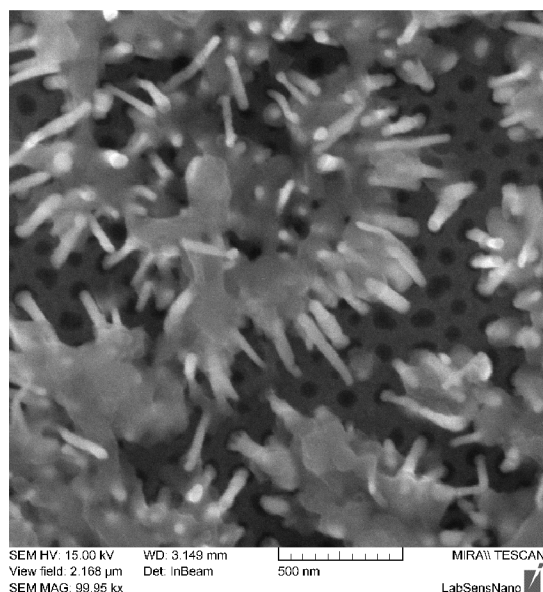
(a)



(b)



(c)



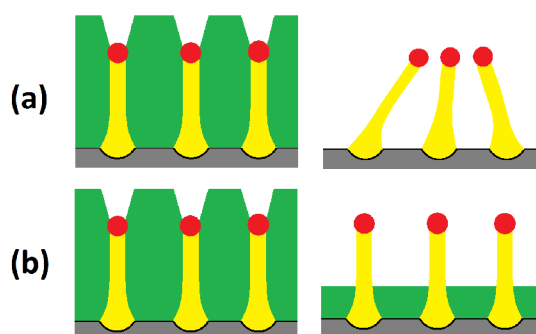
(d)

Obr. 3.9: Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) - nadeponované zlaté tyčinky (a), nadeponovaná rtuť postupem 1. (b), nadeponovaná rtuť postupem 2. (c), předeponovaná rtuť (d)

Druhý typ přípravy spočíval v selektivním leptání nanoporézní masky v roztoku $\text{CrO}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4$ po dobu 1,5 minuty a vytvoření rozšířené nanoporézní masky

(Obr. 3.8 c), do které byla nadeponována rtuť za vzniku sférických útvarů (Obr. 3.8 d). Nakonec byla opět odleptána nanoporézní maska v roztoku $\text{CrO}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4$ po dobu 5 minut, čímž vznikly zlaté nanotyčinky s kuličkami rtuti na svém povrchu (Obr. 3.8 e). Výsledná struktura je zobrazena na Obr. 3.9 (c). Při předeponování (Obr. 3.9 (d)) vznikaly klastry nanotyčinek spojené amalgámovým blokem o velikosti cca $3\text{-}5\ \mu\text{m}$.

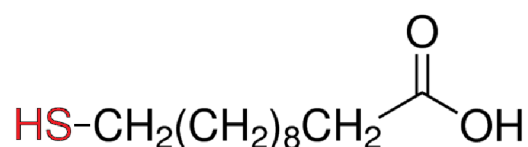
Doba leptání byla nejdříve zvolena na 10 minut, avšak při této době došlo k odleptání celé nanoporézní masky a tyčinky začaly padat a vytvářet „klastry“ (Obr. 3.10 (a)). Z toho důvodu byla doba zkrácena na 5 minut, nedošlo k odleptání celé nanoporézní masky a tím pádem nedocházelo k shlukování tyčinek (Obr. 3.10 (b)).



Obr. 3.10: Rozdílnost v době leptání

3.4 Modifikace elektrod

Po úspěšné výrobě nanostrukturovaných zlatých a amalgámových elektrod došlo k jejich biomodifikaci. Před samotnou akumulací biolátky byla nutná aktivace zlatého povrchu pomocí kyseliny 11-merkaptoundekanové (MUA).



Obr. 3.11: Chemická struktura kyseliny 11-merkaptoundekanové

Tato kyselina byla použita jako *most* pro navázání zvolené biolátky (v tomto případě BSA). Pro výrobu bylo nutné rozpuštění MUA v absolutním ethylalkoholu (ethanolu). Koncentrace byla zvolena na 5 mM. Tedy při zvoleném objemu ethanolu 200 ml bylo použito 0,218 g MUA. Akumulace elektrod probíhala v Petriho misce

nebo v měřící cele po dobu 24 hodin. Na Obr. 3.11 je zvýrazněna thiolová skupina - SH, kterou se kyselina váže pomocí silné kovalentní vazby na zlatý, popř. amalgamový povrch elektrody. Po vytažení elektrod z roztoku MUA bylo nutné jejich opláchnutí v absolutním ethanolu pro odstranění nenavázaných molekul MUA.

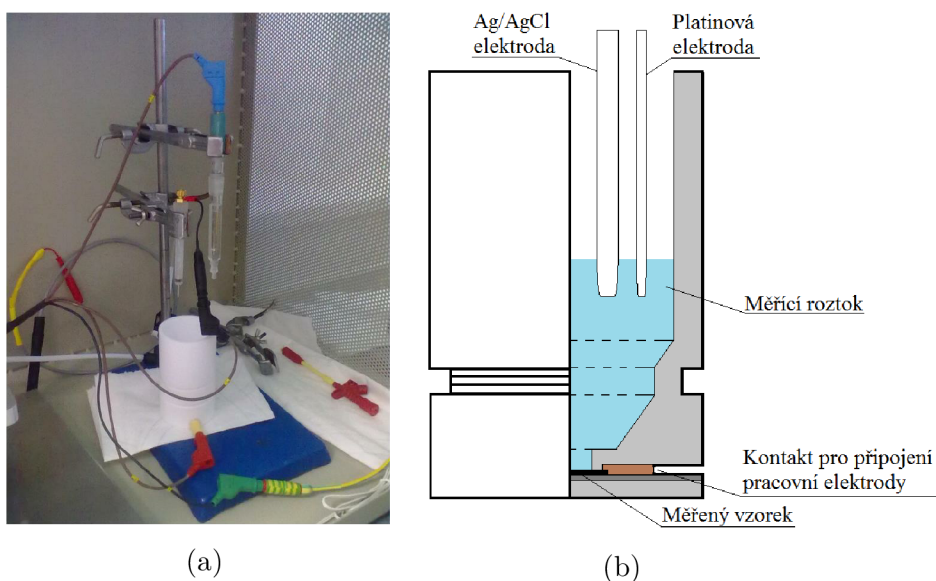
Po aktivaci nanostrukturovaného povrchu elektrody došlo k její modifikaci biolátkou. Jako modelový protein pro detekci byl zvolen bovine serum albumin. Akumulační roztok BSA byl připraven smícháním BSA s demi vodou, popřípadě s fosfátovým pufrem. Množství BSA v roztoku záviselo na zvolené výsledné koncentraci. Byla zvolena koncentrace $c_m = 0,5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, tedy množství BSA na 100 ml vody bylo 0,05 g. Akumulace probíhala v Petriho misce, popřípadě přímo v měřící cele, doba byla zvolena na 10 minut.

4 CHARAKTERIZACE

Výrobní postup nanostrukturovaných elektrod modifikovaných zlatými nanotyčinkami a amalgámem i s následnou modifikací BSA byl popsán v podkapitole 3.2 a 3.3. V této kapitole jsou diskutovány výsledky z elektrochemického měření, také výsledky z měření kontaktního úhlu a zobrazeny sestavené náhradní elektrické obvody. Celý postup výroby a charakterizace probíhal na pracovišti CEITEC na Technické 10, Brno.

4.1 Elektrochemická měření

Jako zobrazovací technika byl použit skenovací elektronový mikroskop (SEM) Tescan MIRA LMU II. Vzorky byly měřeny elektrochemickou impedanční spektroskopií, cyklickou voltametrií a diferenčně pulzní voltametrií pomocí přístroje MetroOhm μ AutoLab III ovládaného přes počítačový program NOVA 1.10. Samotné měření probíhalo v teflonové cele s tříelektrodovým zapojením (Obr. 4.1).

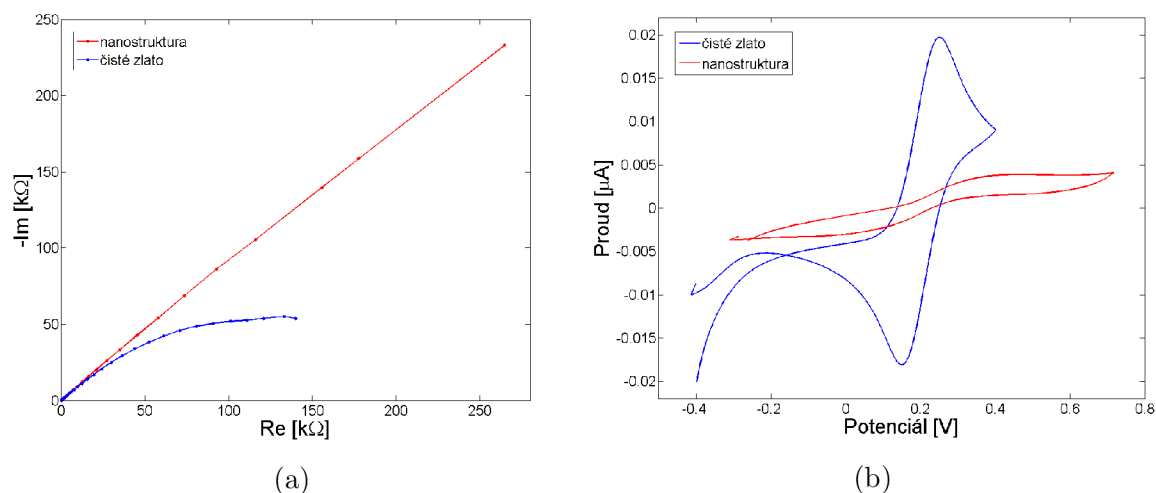


Obr. 4.1: Měření ve Faradayově kleci (a), řez teflonovou celou (b)

Jako elektroda referenční byla použita argentschloridová elektroda (Ag/AgCl), pomocná elektroda byla platinová a pracovní elektrodou byl měřený vzorek. Měřicím roztokem byl fosfátový pufr o pH 7,5, roztok $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ a roztok ruthenia (podkapitola 3.1). Před každým měřením probíhal rychlý *scan* elektrod z důvodu jejich pročištění a minimalizace chyb při následném měření. Měření probíhalo ve Faradayově kleci, která sloužila k tomu, aby minimalizovala nebo dokonce rušila působení elektrostatického pole uvnitř klece. Tím nedocházelo k chybnému měření

způsobeného vnějším okolím.

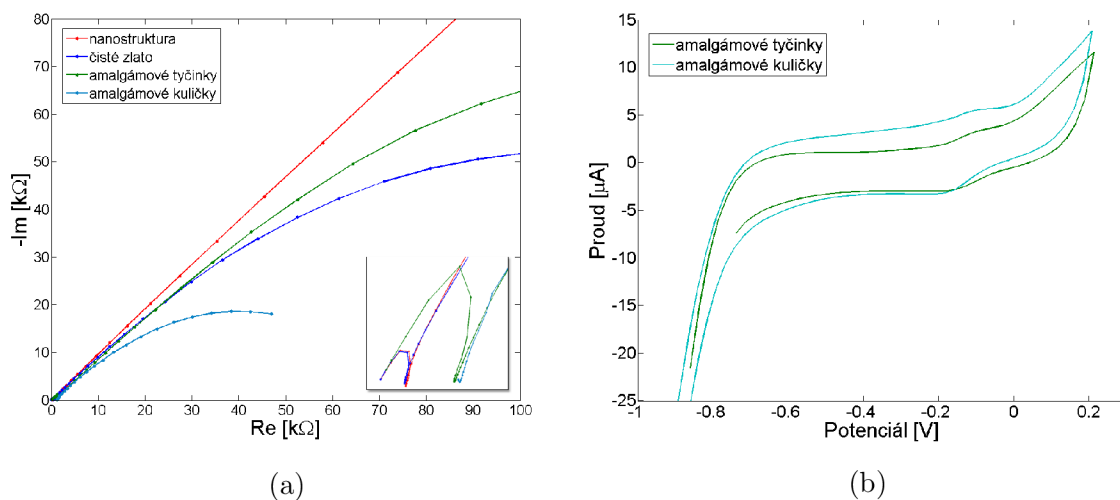
Elektrochemickou impedanční spektroskopií byly měřeny vzorky v rozsahu frekvencí od 1 Hz do 500 kHz, amplituda byla nastavena na 0,06 V, počet frekvencí byl 50 a integrační čas 0,125 s. Při měření zlatých nanostrukturovaných elektrod cyklickou voltametrií byl nastaven rozsah napětí od $-0,4$ V do $0,7$ V a u solid-amalgámových elektrod od $-1,1$ V do $0,2$ V, step potenciál $0,00244$ V a skenovací rychlost $0,1$ V/s. Diferenčně pulzní voltametrie byla nastavena v rozmezí napětí od $-0,4$ V do $0,7$ V u zlatých nanostrukturovaných elektrod a od $-1,1$ V do $0,2$ V u solid-amalgámových elektrod, step potenciál $0,0005$ V, modulační amplituda $0,1$ V, modulační čas $0,025$ s a skenovací rychlost $0,00667$ V/s.



Obr. 4.2: Nyquistův diagram pro nanostrukturovanou a hladkou elektrodu (a) a cyklická voltametrie pro nanostrukturovanou a hladkou elektrodu (b)

V naměřených impedančních spektrech znázorněných v Nyquistově grafu byly vždy pozorovány následující rysy. Půlkruhovitá část, která odpovídala rychlosti přenosu náboje, lokální minimum a vzrůstající lineární křivka, která odpovídala difuzi iontů. Nejdříve došlo k měření zlaté hladké elektrody a zlaté nanostrukturované elektrody v roztoku $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, jejichž srovnání je zobrazeno na Obr. 4.2 (a). Výsledky nám ukázaly, že zlatá nanostrukturovaná elektroda má sklon vzrůstající křivky 45° a zlatá hladká elektroda menší než 45° . Je tedy patrný velký vliv kapacitního chování difuzní vrstvy, kterou vytváří nanostruktura na povrchu elektrody, což je viditelné výrazným zakřivením. Vliv difuze je u obou elektrod dominantní v celém frekvenčním rozsahu. Rychlost přenosu náboje je taktéž srovnatelná, je to způsobeno tím, že do elektrochemických reakcí se zapojují pouze špičky nanotyčinek a může se tak tato elektroda chovat jako hladká. Na Obr. 4.2 (b) je zobrazeno srovnání cyklických voltametrií těchto dvou elektrod. Zde je viditelný rozdíl ve velikosti Faraday-

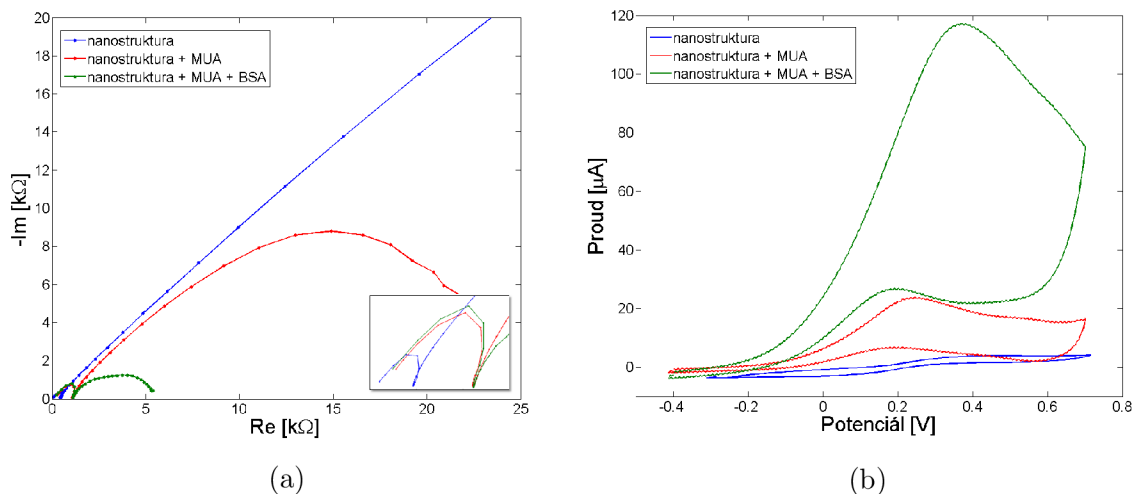
kého proudu. Zlaté tyčinky vytváří povrch, který zvyšuje odpor elektrody, procházející proud je ve srovnání s hladkou elektrodou 4x menší.



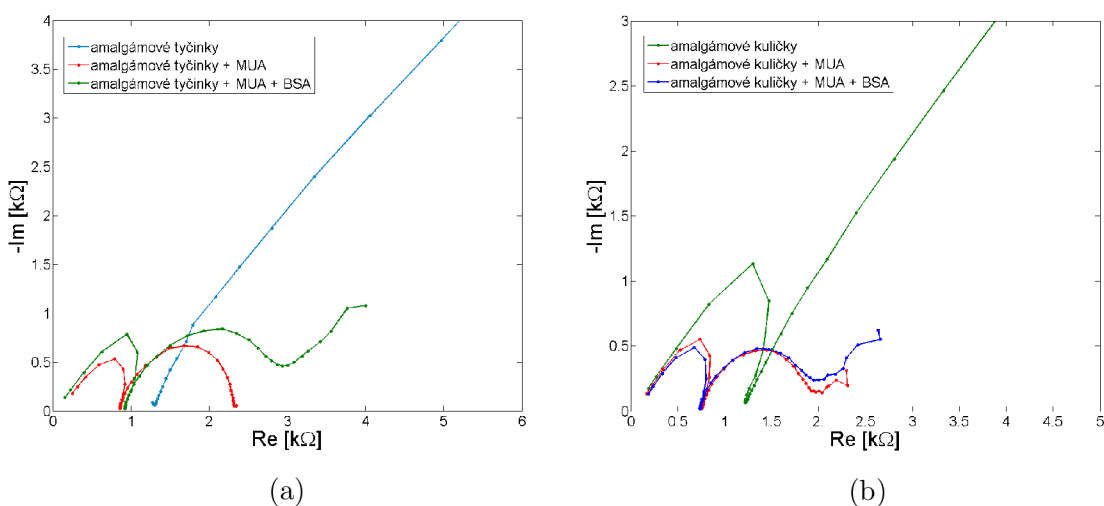
Obr. 4.3: Nyquistův diagram pro amalgámové elektrody (a) a cyklická voltametrie pro amalgámové elektrody (b)

Na Obr. 4.3 (a) je zobrazeno srovnání impedančních spekter již popsaných elektrod spolu s amalgámovými elektrodami, které byly měřeny v roztoku ruthenia. Amalgámové tyčinky mají viditelně vyšší sekundární kapacitu difuzní vrstvy než amalgámové kuličky. Je to způsobeno sférickou difuzní vrstvou amalgámových kuliček, která tuto kapacitu výrazně snižuje. U obou Au/Hg elektrod je viditelný posun lokálního minima po ose x směrem k vyšším hodnotám (detail Obr. 4.3 (a)), je zde také patrná zvýšená rychlost přenosu náboje. Na grafu cyklické voltametrie (Obr. 4.3 (b)) je viditelný menší pík na hodnotě $-0,1$ V, kde bylo detekováno ruthenium. U amalgámových tyčinek se velikost Faradayckého proudu pohybuje v oblasti $10 \mu\text{A}$, ve srovnání se zlatými tyčinkami je to přibližně dvojnásobek. U amalgámových kuliček je proud $15 \mu\text{A}$, což se blíží hodnotě proudu u hladké zlaté elektrody.

Po změření všech elektrod došlo k akumulaci MUA po dobu 24 hodin a poté k následné modifikaci pomocí BSA. Měření všech akumulovaných elektrod probíhalo ve fosfátovém pufru. Na grafu Nyquistova diagramu pro nanostrukturovanou zlatou elektrodu (Obr. 4.4 (a)) je vidět, že dlouhé řetězce molekul MUA fungovaly jako dobře vodivé prostředí pro prostup elektronů. Sekundární kapacita difuzní vrstvy po navázání MUA výrazně klesla. Při následné akumulaci BSA došlo k vytvoření další vrstvy na povrchu elektrody, která zvyšovala vodivost a sekundární kapacita ještě klesla. Je zde také patrný výrazný posun lokálního minima po ose x a zvýšení rychlosti přenosu náboje (detail Obr. 4.4 (a)). Na grafu cyklické voltametrie je po navázání MUA zřetelně výrazný nárůst proudu (Obr. 4.4 (b)).

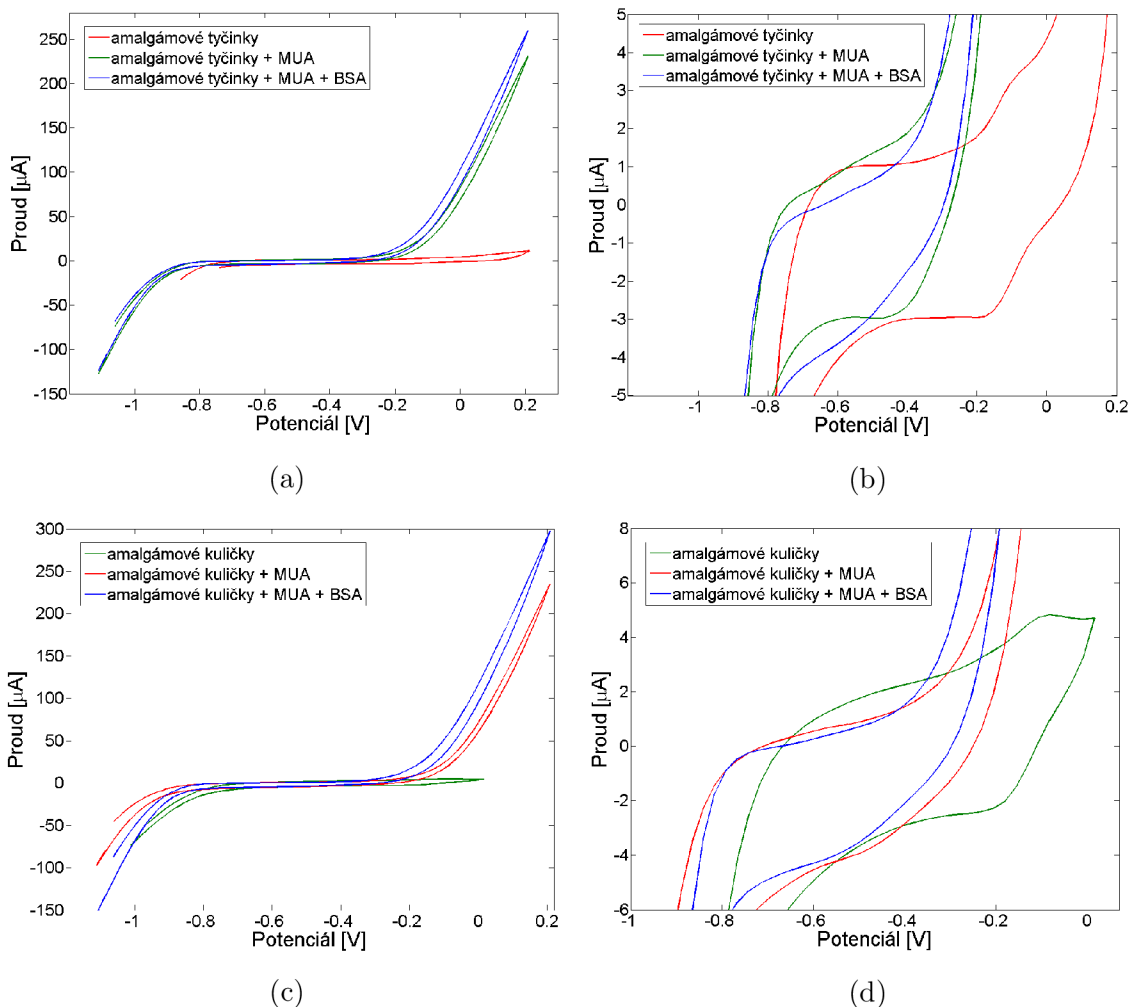


Obr. 4.4: Nyquistův diagram pro zlatou nanostrukturovanou modifikovanou elektrodu (a) a cyklická voltametrie pro zlatou nanostrukturovanou modifikovanou elektrodu (b)



Obr. 4.5: Nyquistův diagram pro modifikované amalgámové tyčinky (a) a amalgámové kuličky (b)

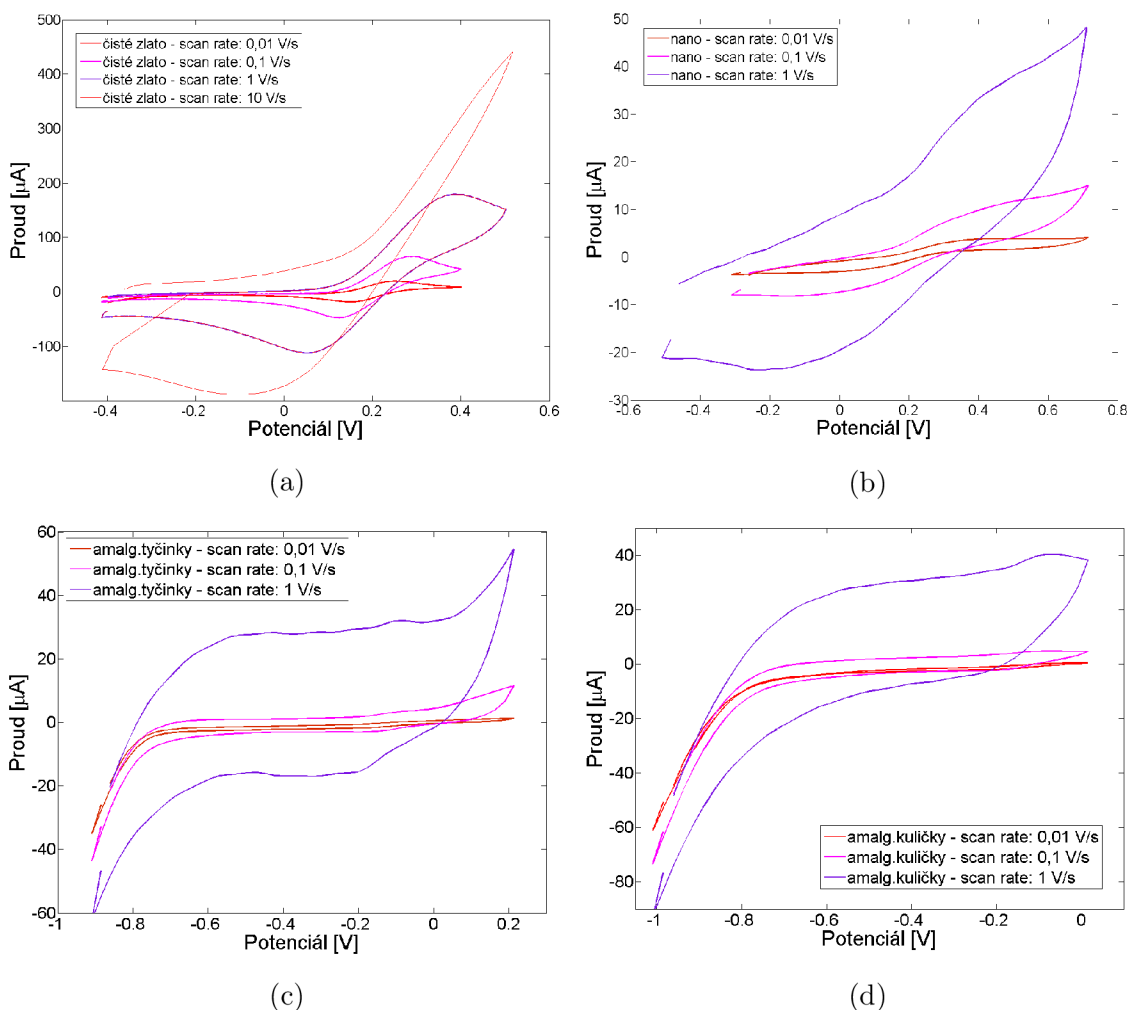
Obr. 4.5 zobrazuje Nyquistův diagram pro modifikované nanostrukturované amalgámové elektrody. Po navázání molekul MUA dochází k dramatickému poklesu difuzní části a vytvoření druhé polokružnice, snižuje se sekundární kapacita difuzní vrstvy, a to jak u amalgámových tyčinek, tak i u kuliček. Po následné modifikaci BSA však kapacita vzniklé vrstvy mírně vzrostla. Může to být způsobeno tím, že vzniklá vrstva proteinu na povrchu má za následek horší difuzi elektronů přes vrstvu, čímž se zvyšuje impedance. Rychlost přenosu náboje se u obou elektrod zmenšuje se současným posunem lokálního minima po ose x k menším hodnotám.



Obr. 4.6: Cyklická voltametrie pro modifikované amalgámové tyčinky (a) + detail (b) a pro modifikované amalgámové kuličky (c) + detail (d)

Dalším měřením na modifikovaných amalgámových nanostrukturovaných elektrodách byla cyklická voltametrie, jejíž průběhy jsou zobrazeny na grafu Obr. 4.6. U obou elektrod se po navázání MUA výrazně zvýšil Faradaycký proud. Po následné akumulaci BSA již proud nevzrůstal, narozdíl od modifikovaných nanostrukturovaných zlatých elektrod. Na detailu (Obr. 4.6 (b) a (d)) jsou u nemodifikovaných elektrod viditelné píky v oblasti $-0,1$ V, kde bylo detekováno ruthenium. U modifikovaných elektrod molekulou MUA můžeme její detekci pozorovat v oblasti $-0,5$ V.

U všech měřených elektrod byla u cyklické voltametrie změněna skenovací rychlost (frekvence snímání = rychlost změny napětí v čase). V každém kroku se tak skenovací rychlost 10x zvýšila, od $0,01$ V/s po 10 V/s (Obr. 4.7). Mění-li se rychlost skenování, mění se také proudová odezva. Každá křivka má přibližně stejný tvar, ale je zřejmé, že celkový proud se zvyšuje se zvyšující se rychlostí snímání. To může být

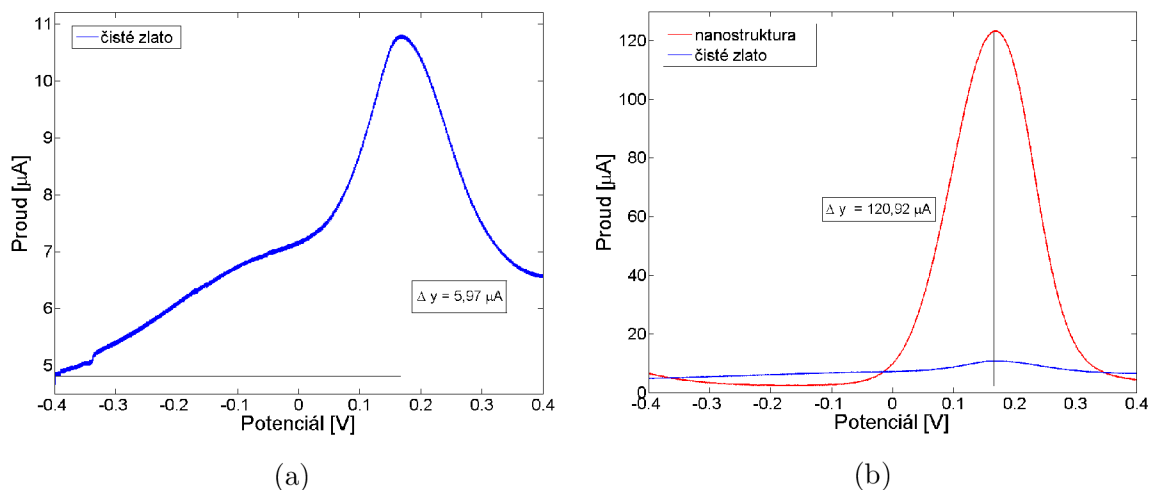


Obr. 4.7: Závislost změny skenovací rychlosti u hladké elektrody (a), nanostrukturované zlaté (b), amalgámových tyčinek (c) a amalgámových kuliček (d)

vysvětleno velikostí difuzní vrstvy a časem potřebným pro záznam skenování. Proto velikost difuzní vrstvy na povrchu elektrody se bude lišit v závislosti na použité snímací napěťové úrovni. Při pomalém skenování bude difuzní vrstva růst mnohem dále od elektrody ve srovnání s rychlým skenováním. V důsledku toho je tok na povrchu elektrody podstatně menší při pomalé rychlosti skenování, než je tomu při vyšších rychlostech. Vzhledem k tomu, že proud je úměrný toku směrem k elektrodě, je velikost proudu nižší při pomalé rychlosti skenování a vyšší při vysoké rychlosti skenování. Při dostatečně nízké skenovací rychlosti došlo k úplnému vymizení katodického píku.

Po měření elektrod elektrochemickou impedanční spektroskopií a cyklickou voltametrií došlo k měření metodou diferenčně pulzní voltametrie.

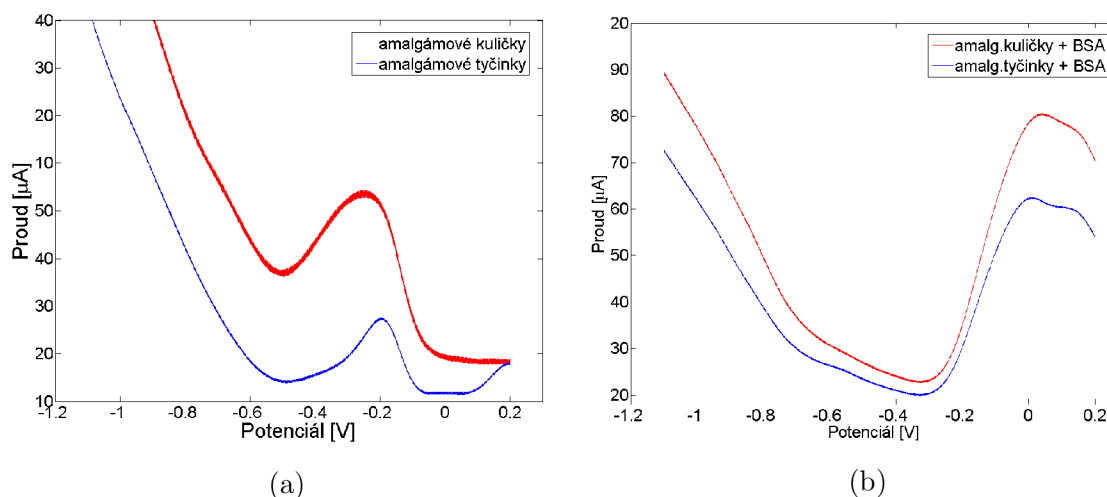
Na Obr. 4.8 jsou zobrazeny průběhy DPV pro zlatou nanostrukturovanou elek-



Obr. 4.8: Diferenčně pulzní voltametrie pro hladkou zlatou elektrodu (a) a nanostrukturovanou zlatou elektrodu (b)

trodu a čistou hladkou elektrodu. Křivka holé zlaté elektrody (Obr. 4.8 (a)) ukazuje typický špičkový průběh proudu. Velikost tohoto proudu je 5,97 μA . Velice podobný průběh proudu má i nanostrukturovaná zlatá elektroda, velikost proudu je 120,92 μA . Důležitým parametrem je zde difuzní vrstva. Dle 2. Fickova zákona, který popisuje změnu gradientu koncentrace v závislosti na čase, lze usuzovat, že velikost difuzní vrstvy je výrazně vyšší u nanostrukturovaného povrchu. Difuzní vrstva u něj pokrývá celou plochu tyčinek a zvyšuje tak přenos náboje. Je zde patrné výrazné zvýšení proudu, což potvrzuje vysokou citlivost nanostrukturovaného povrchu oproti hladkému.

U amalgámových nanostrukturovaných elektrod (Obr. 4.9 (a)) je průběh křivek rozdílný od zlatého povrchu, avšak vzájemně jsou si hodně podobné. Vyšší proud je u amalgámových kuliček, což je způsobeno větší difuzní vrstvou díky jejich sférickému tvaru. Po následné akumulaci BSA bylo cílem detekovat tento protein, což je vidět na Obr. 4.9 (b). BSA bylo detekováno na potenciálu 0 V u obou elektrod. I zde je patrný zvýšený proud u amalgámových kuliček.

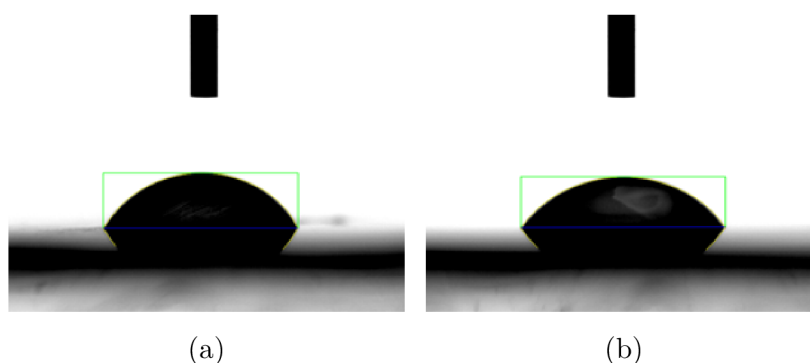


Obr. 4.9: Diferenčně pulzní voltametrie pro amalgámové elektrody (a) a modifikované amalgámové elektrody (b)

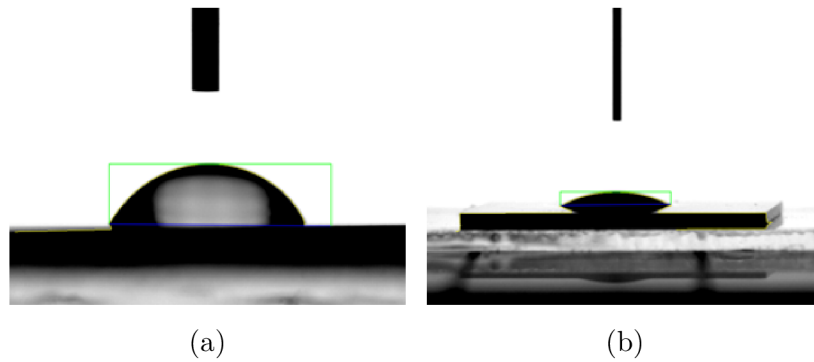
4.2 Měření kontaktního úhlu

Úhel smáčení je jednou z mála přímo měřitelných vlastností fázového rozhraní pevná látka/kapalina/plyn. V tomto případě se jedná o fázové rozhraní povrch elektrody/voda/vzduch. Měření kontaktního úhlu (KU) je velmi rychlá, jednoduchá metoda a nedochází k poškození měřeného vzorku, ten může být tedy znovu použit k dalšímu zkoumání.

Měření kontaktního úhlu probíhalo na přístroji Phoenix 300 od firmy SEO za pomoci počítačového programu Surfaceware 8. Pro měření úhlu byla použita demi voda, která byla dávkována po 500 μl na každý vzorek. Příklady naměřeného kontaktního úhlu jsou zobrazeny na Obr. 4.10 - 4.13.

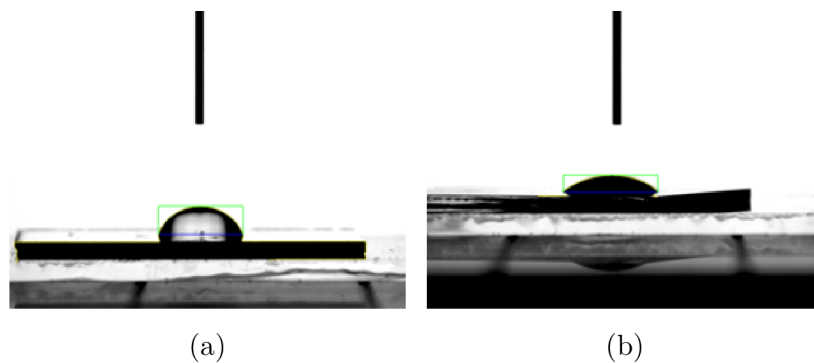


Obr. 4.10: Hladká elektroda $KU = 50,58^\circ$ (a) a odleptaná maska po anodizaci $KU = 48,34^\circ$ (b)



Obr. 4.11: Nanostrukturovaná elektroda $KU = 62,47^\circ$ (a) a modifikovaná nanostrukturovaná $KU = 28,46^\circ$ (b)

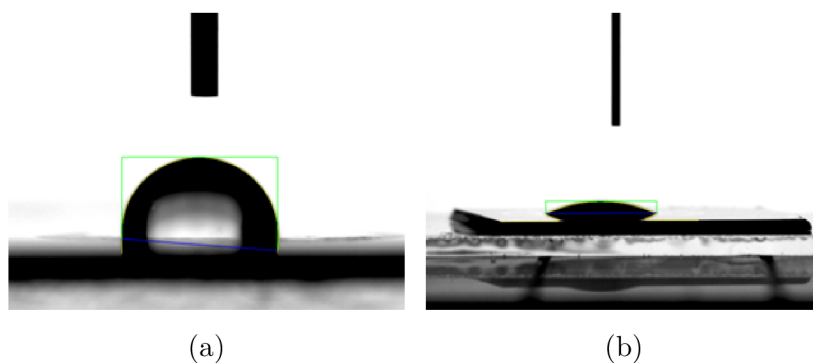
Velikost kontaktního úhlu pro hladkou zlatou elektrodu je $50,58^\circ$ a pro nanostrukturovanou zlatou elektrodu $62,47^\circ$. Nanostrukturovaný povrch by měl působit více hydrofobně (dle Obr. 2.12), což se potvrdilo. Po následné modifikaci tohoto povrchu proteinem BSA došlo k výraznému snížení kontaktního úhlu na $28,46^\circ$, hydrofobita se snížila a povrch se stal velmi dobře smáčivým.



Obr. 4.12: Amalgámové tyčinky $KU = 77,41^\circ$ (a) a modifikované $KU = 32,47^\circ$ (b)

U nemodifikovaného povrchu s amalgámovými tyčinkami je kontaktní úhel větší, než u zlatého nanostrukturovaného povrchu, a to $77,41^\circ$. Je to způsobeno právě vzniklým amalgámem, který snižuje smáčivost povrchu. Modifikací se hydrofobita opět sníží, kontaktní úhel je $32,47^\circ$.

Podle podkapitoly 2.4 můžeme za velmi nesmáčivý povrch označit povrch pokrytý nanostrukturovanými amalgámovými kuličkami. Ty vytváří na povrchu elektrody bariéru, která zvyšuje hydrofobitu a kontaktní úhel této vrstvy je $97,21^\circ$. Po modifikaci se však i tento povrch stane značně smáčivým.

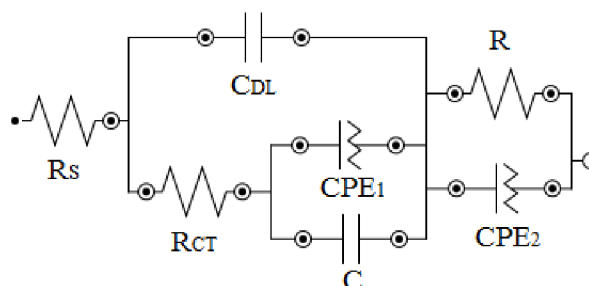


Obr. 4.13: Amalgámové kuličky $KU = 97,21^\circ$ (a) a modifikované $KU = 25,13^\circ$ (b)

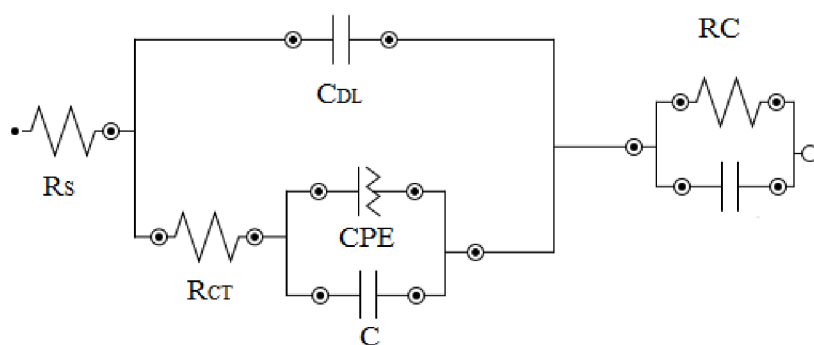
4.3 Náhradní elektrické obvody a jejich simulace

Jak bylo uvedeno v teoretické části v podkapitole 2.1.1, z výsledného impedančního spektra lze sestavit vhodný matematický model elektrického obvodu, který nejlépe odpovídá chování elektrody. Pro každou elektrodu byl vytvořen samostatný matematický model, který simuluje naměřené hodnoty s minimální odchylkou. Ve výsledku potom vznikly dva obvody, jeden pro hladkou elektrodu a druhý pro všechny nanostrukturované elektrody, které se od sebe vzájemně liší pouze hodnotami použitých součástek. Simulace obvodů a výpočty parametrů byly prováděny v softwaru NOVA 1.10 firmy MetroOhm EcoChemie.

Náhradní elektrický obvod pro hladkou zlatou elektrodu je uveden na Obr. 4.14. Prvek R_S znázorňuje v obvodu měřený odpor elektrolytu, R_{CT} reprezentuje odpor přenosu náboje, kapacita dvojrstvy je interpretována prvkem C_{DL} , CPE_1 modeluje chování difuze a kapacitor C slouží jako obecný model nelinearity pro schopnost simulovat nelineární prvky a difuzní děje. Poslední částí obvodu je odpor R a konstantní fázový element CPE_2 , které popisují chování struktury na povrchu měřené elektrody.



Obr. 4.14: Náhradní elektrický obvod pro čisté zlato



Obr. 4.15: Náhradní elektrický obvod pro nanostrukturované Au tyčinky, Au/Hg kuličky a Au/Hg tyčinky

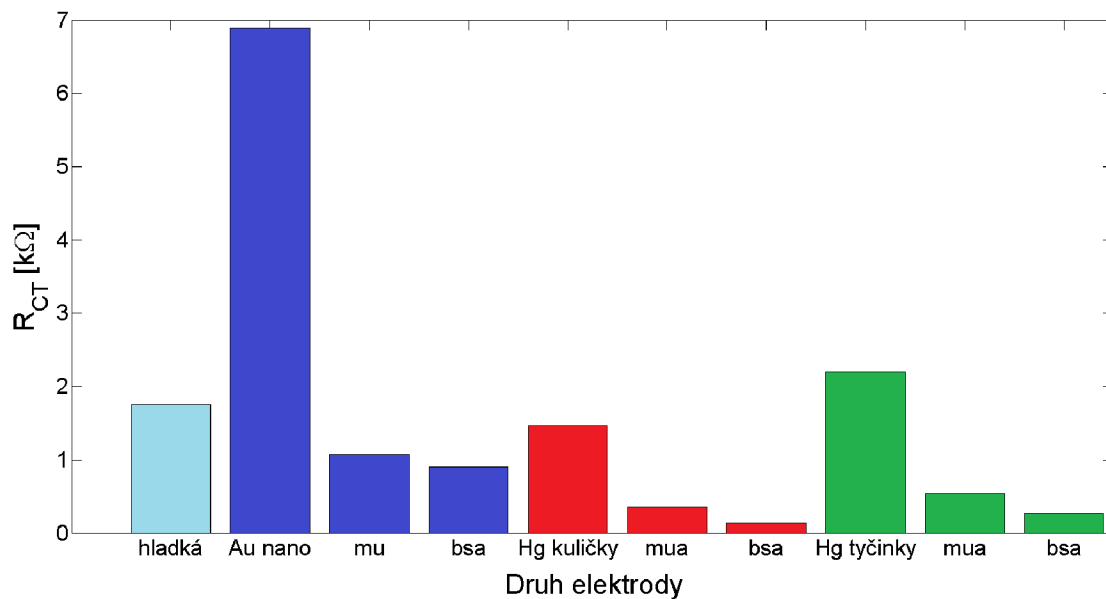
Na Obr. 4.15 je zobrazen náhradní elektrický obvod pro všechny nanostrukturované elektrody. Sestavený obvod je velmi podobný obvodu pro hladkou zlatou elektrodu, je však odlišný posledním blokem, kterým je RC článek. Ten upravuje chování modelu v difuzní části a jeho prvky jsou odpor R a kapacitor C . Obvody se od sebe liší pouze hodnotami obsažených součástek. Tyto hodnoty jsou uvedeny v Tab. 4.1.

Tab. 4.1: Tabulka simulovaných hodnot součástek z náhradních elektrických obvodů

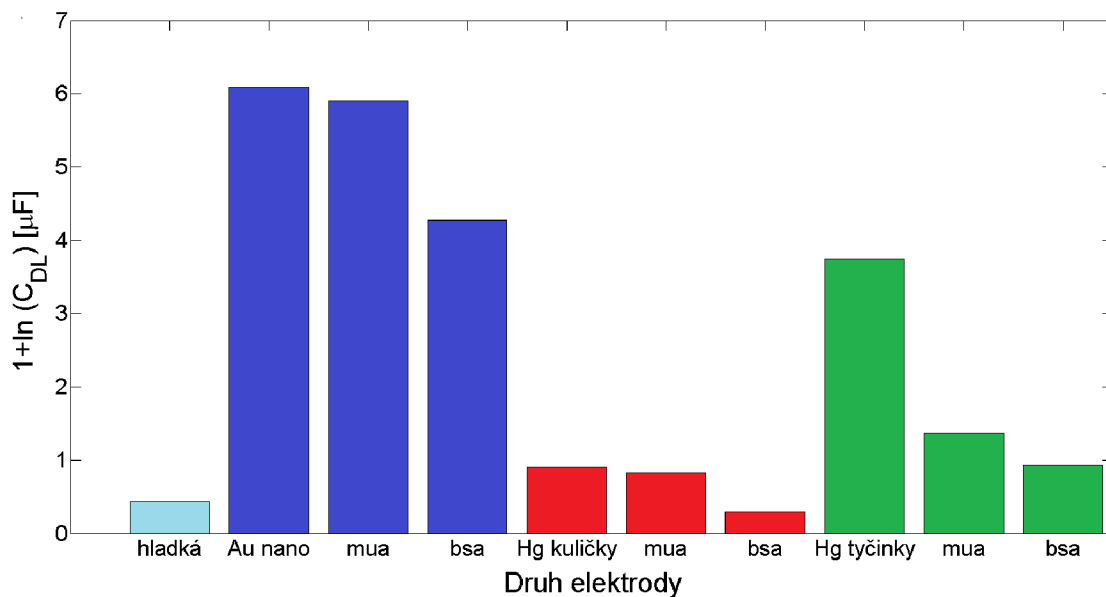
	R_{CT} [Ω]	R_S [Ω]	C_{DL} [μF]	CPE_1 [μMho]	R [Ω]	CPE_2 [μMho]
hladká	1750	600	0,539	42,100	2070	37
	R_{CT} [Ω]	R_S [Ω]	C_{DL} [μF]	CPE [μMho]	R [Ω]	C [nF]
Au tyčinky	6890	600	440	8,020	47200	239
mua	1070	600	365	0,440	10000	142
bsa	900	600	71	0,289	1080	51
Hg kuličky	2070	600	1,46	10,7	1220	166
mua	1650	600	1,29	0,432	712	155
bsa	270	600	0,34	0,459	652	13
Hg tyčinky	2200	600	41,3	33,4	19500	244
mua	1420	600	2,93	36,4	736	98
bsa	939	600	1,54	12	208	66

Nasimulované hodnoty pro R_{CT} a C_{DL} v závislosti na druhu elektrody byly vyneseny do grafů, které jsou uvedeny na Obr. 4.16 a 4.17. Z důvodu velkého rozsahu hodnot C_{DL} byla osa y zlogaritmována (Obr. 4.17). Z hodnot je patrné, že nejvyšší hodnota odporu R_{CT} byla u zlatých nanostrukturovaných elektrod, naopak nejnižší hodnota byla u hladkých zlatých elektrod. Z hodnot odporu R_{CT} lze taktéž vyčíst,

že s postupným navazováním MUA a BSA hodnoty klesaly, nejnižší odpor R_{CT} byl u amalgámových nanostrukturovaných kuliček po navázání BSA. Hodnota kapacity C_{DL} byla nejvyšší u zlatých nanotyčinek a nejnižší u hladké zlaté elektrody. S každým navázáním postupně klesala, podobně tomu bylo i u hodnot odporu R . Dalším parametrem byl odpor R_S , který znázorňuje odpor elektrolytu. Hodnota tohoto odporu byla konstantně zvolena na 600Ω . Kapacita dvojvrstvy C byla nejvyšší u amalgámových a zlatých nanotyčinek, nejnižší byla u amalgámových kuliček.

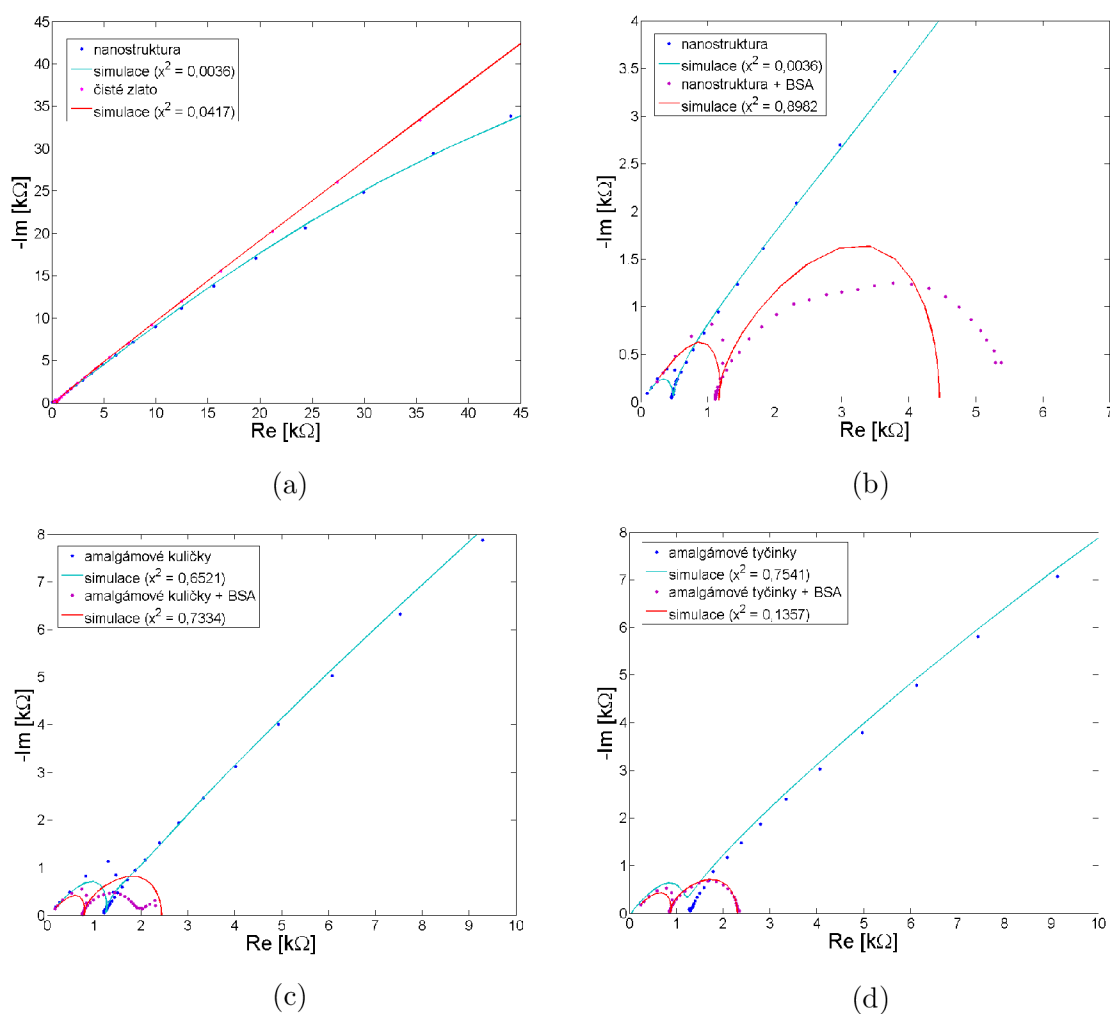


Obr. 4.16: Závislost R_{CT} na druhu elektrody



Obr. 4.17: Závislost logaritmu C_{DL} na druhu elektrody

Za pomoci těchto náhradní obvodů byly vytvořeny simulace průběhů Nyquistova diagramu pro každou z elektrod. Pro hladkou a nanostrukturovanou zlatou elektrodu dosahují navržené obvody téměř stejných hodnot při simulaci jak difuzní části tak i oblasti přenosu náboje (Obr. 4.18 (a)). Odchylka od skutečných hodnot je $x^2 = 0,0036$ pro nanostrukturovanou zlatou elektrodu a $x^2 = 0,0417$ pro hladkou zlatou elektrodu. Pro modifikovanou zlatou nanostrukturovanou elektrodu (Obr. 4.18 (b)) navržený obvod dosahuje v difuzní části podobných hodnot, avšak v oblasti přenosu náboje se hodnoty jenně odlišují. Odchylka je $x^2 = 0,8962$.



Obr. 4.18: Simulace Nyquistova diagramu pro čisté zlato a nanostrukturu (a) , pro modifikovanou nanostrukturu (b), pro amalgámové kuličky (c) a pro amalgámové tyčinky (d)

U amalgámových kuliček (Obr. 4.18 (c)) se simulované hodnoty se skutečnými rozchází hlavně v difuzní části, odchylka je $x^2 = 0,6521$, u modifikovaných amalgámových kuliček dochází k nepřesnostem v simulovaných obvodech především v oblasti

přenosu náboje, odchylka je $x^2 = 0,7334$. Simulace Nyquistova diagramu pro amalgámové tyčinky (Obr. 4.18 (d)) se rozchází od skutečných hodnot především v difuzní oblasti, s odchylkou hodnot $x^2 = 0,7541$, naopak u modifikovaných amalgámových tyčinek je simulace poměrně přesná, odchylka je $x^2 = 0,1357$. I přes drobné nepřesnosti můžeme říct, že odchylky od skutečných hodnot jsou velmi nízké a simulace se zdařila.

5 ZÁVĚR

Obsahem této diplomové práce byla výroba a charakterizace povrchově upravených elektrod. Povrch těchto elektrod byl modifikován zlatými nanotyčinkami, amalgámovými nanotyčinkami a amalgámovými kuličkami vytvořenými elektrochemickou depozicí s následnou modifikací těchto útvarů biolátkou.

V teoretické části byla podrobně popsána aplikace nanomateriálů a nanostruktur v oblasti nanotechnologií. Dále zde byly popsány metody výroby nanostruktur a jejich modifikace biolátkami. Práce dále objasňovala některé elektrochemické charakterizační metody, jako cyklická voltametrie, diferenčně pulzní voltametrie a elektrochemická impedanční spektroskopie s podrobným popisem modelu impedance elektrody. V poslední kapitole bylo popsáno měření kontaktního úhlu na hladkých i nanostrukturovaných površích. Praktická část diplomové práce obsahovala podrobný popis výroby nanostrukturovaných elektrod galvanickou depozicí zlata i soubor použitých roztoků, včetně jejich výroby. Součástí práce byl popis výroby unikátních solid-amalgámových nanostruktur ve tvaru tyčinek, popř. kuliček s přiloženými fotografiemi z elektronového skenovacího mikroskopu.

Byly vyrobeny nanostrukturované elektrody s povrchem modifikovaným zlatými i amalgámovými nanotyčinkami, jak na 100 nm vrstvě hliníku, tak i na 300 nm a 500 nm vrstvě hliníku. Délka tyčinek dosahovala velikosti 350 nm, u tyčinek s vyšším poměrem průměru k délce docházelo k jejich deformaci a vznikaly tzv. klastry. Úpravou výrobního postupu se podařilo dosáhnout kvantitativní zlepšení mechanických vlastností nanostruktur a k deformacím již nedocházelo. Dále následovala biomodifikace těchto elektrod kyselinou 11-merkaptoundekánovou, která obsahovala thiolovou vazbu -SH a sloužila jako most pro další navazování biolátky. Jako referenční biolátka byl zvolen bovine serum albumin (BSA), který je využíván ve spoustě experimentů jako modelový protein pro detekci. Po úspěšné modifikaci těchto elektrod byla provedena analýza povrchu měřením kontaktního úhlu, skenovací elektronovou mikroskopií a elektrochemické vlastnosti byly zkoumány pomocí elektrochemické impedanční spektroskopie, cyklické voltametrie a diferenčně pulzní voltametrie.

Na základě těchto měření bylo zjištěno, že nanostruktury výrazně zvyšují velikost povrchu elektrody a taktéž i schopnost navázat vyšší množství biologické látky na svůj povrch. Z toho vyplývá, že nanostrukturovaná elektroda je výrazně citlivější na detekci látky než hladká elektroda, což bylo potvrzeno především pomocí metody DPV. Taktéž bylo zjištěno, že povrch s amalgámovými tyčinkami vykazuje větší sekundární kapacitu difuzní vrstvy než povrch se zlatými nanotyčinkami. Naopak amalgámové kuličky, díky své sférické difuzní vrstvě, mají velmi nízkou sekundární kapacitu difuzní vrstvy a zvyšují tak vodivost celé elektrody.

Ze změřených impedančních spekter byly vytvořeny dva náhradní elektrické obvody, které popisovaly chování hladké zlaté elektrody a všech vyrobených nanostrukturovaných elektrod. Z navržených náhradních obvodů byly simulovány hodnoty jednotlivých obvodových prvků pomocí nichž byly jednotlivé typy elektrod porovnány. Následně byly hodnoty R_{CT} a C_{DL} vyneseny do grafu v závislosti na druhu elektrody.

Z výsledků je patrné výrazné zlepšení elektrochemických vlastností vyrobených nanostrukturovaných elektrod, především v rámci pulzních technik. Věřím, že tato práce bude do budoucna přínosná pro další vědeckou práci na toto téma.

LITERATURA

- [1] *Nanotechnologie na VŠB-TU* [online]. 2007, poslední aktualizace 17.11.2007 [cit. 12.9.2014]. Dostupné z URL: <<http://nanotechnologie.vsb.cz/>>.
- [2] FRANSILLA, S. *Introduction to Microfabrication*. 2nd edition 2010. ISBN 978-0-470-74983-8. [cit. 12.9.2014].
- [3] *Scanning Electron Microscope Energy Dispersive X-ray analysis* [online]. 2009, poslední aktualizace 7.8.2009 [cit. 20.10.2014]. Dostupné z URL: <http://www.vub.ac.be/META/toestellen_sem-edx.php>.
- [4] ŠAFÁŘOVÁ, K. *Skenovací (rastrovací) elektronová mikroskopie* [online]. 2009, poslední aktualizace 4.2.2009 [cit. 21.10.2014]. Dostupné z URL: <http://nanosystemy.upol.cz/upload/18/safarova_sem.pdf>.
- [5] NEBESÁŘOVÁ, J. *Elektronová mikroskopie pro biology* [online]. 2001 [cit. 21.10.2014]. Dostupné z URL: <<http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/2.1.html>>.
- [6] BÍLEK, O. *Pokroky matematiky, fyziky a astronomie - Albert Einstein a Brownův pohyb* [online]. 2005, 177-181 [cit. 31.10.2014]. Dostupné z URL: <http://dml.cz/bitstream/handle/10338.dmlcz/141268/PokrokyMFA_50-2005-3_1.pdf>.
- [7] MILLER, S. A., DYKES, D. D., POLESKY, H. F. *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells - Memorial Blood Center of Minneapolis, 2304 Park Avenue South, Minneapolis, MN 55404, USA* [online]. 18.11.1987 [cit. 31.10.2014]. Dostupné z URL: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC334765/pdf/nar00145-0424.pdf>>.
- [8] *Historie moderních technologií - Význam nových technologií v technické civilizaci* [online]. 2013 [cit. 31.10.2014]. Dostupné z URL: <http://nanotechnologie.vsb.cz/Historie/nano_historie.pdf>.
- [9] LEITNER, J. *Struktura nanomateriálů, Ústav inženýrství pevných látek VŠCHT* [online]. Praha, 2011 [cit. 31.10.2014]. Dostupné z URL: <http://old.vscht.cz/ipl/nanomaterialy/Skripta/FCH_NANO_Struktura%20nanomateri%11%F9.pdf>.
- [10] FEYNMAN, R. P. *There's Plenty of Room at the Bottom* [online]. Vol. 1, No. i. pp. 60-66, 1992 [cit. 2.11.2014]. Dostupné z URL: <http://media.wiley.com/product_data/excerpt/53/07803108/0780310853.pdf>.

- [11] *The Nobel Prize in Physics 2007* [online]. Nobelprize.org. Nobel Media AB 2014. Web. 1, 2014 [cit. 2. 11. 2014]. Dostupné z URL: <http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/2007/>.
- [12] CHEN, X., MAO, S. S. *Titanium Dioxide Nanomaterials: Synthesis, Properties, Modifications, and Applications* [online]. Chem. Rev. 2007, 107, 2891-2959, 2006 [cit. 2. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/cr0500535>>.
- [13] LI, Q., MAHENDRA, S., LYON, Y. D., BRUNET, L., LIGA, V. M., LI, D., ALVAREZ, P. J. J. *Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications* [online]. Volume 42, Issue 18, 4591-4602, 2008 [cit. 2. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135408003333>>.
- [14] CUI, Y., WEI, Q., PARK, H., LIEBER, M. CH. *Nanowire Nanosensors for Highly Sensitive and Selective Detection of Biological and Chemical Species* [online]. Vol. 293 no. 5533 pp. 1289-1292, 2001 [cit. 2. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.sciencemag.org/content/293/5533/1289.short>>.
- [15] CAO, G. *Nanostructures: synthesis, properties* [online]. Hackensack, NJ: Imperial College Press, 433 p., 2004, ISBN 978-186-0944-802 [cit. 3. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.sciencemag.org/content/293/5533/1289.short>>.
- [16] VASITA, R., KATTI, D. S. *Nanofibers and their applications in tissue engineering* [online]. Int J Nanomedicine, roč. 1, čís. 1, s. 15-3, 2006, ISSN 1178-2013 [cit. 3. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2426767/?tool=pubmed>>.
- [17] MACDONALD, D. D. *Application of Electrochemical Impedance Spectroscopy in Electrochemistry and Corrosion Science* [online]. Techniques for Characterization of Electrodes and Electrochemical Processes, edited by Varma, pp.515-580, John Wiley and Sons, Toronto, 1991 [cit. 3. 11. 2014].
- [18] BRANLEY, A. *Prostate cancer gold treatment* [online]. 2013 [cit. 3. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.theherald.com.au/story/1745626/prostate-cancer-gold-treatment/>>.
- [19] ŠRÁMEK, J. *Nanotechnologie v medicíně* [online]. Masarykova univerzita v Brně, Lékařská fakulta-Biofyzikální ústav, 2009 [cit. 3. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.med.muni.cz/biofyz/doc/NMgr/nanotech.pdf>>.

- [20] PAGE, J. E. *Applications of polarography in pharmaceutical analysis* [online]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4: 1–20. doi: 10.1111/j.2042-7158.1952.tb13105, 2011 [cit. 3. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.2042-7158.1952.tb13105.x/pdf>>.
- [21] MILLS, B. *Structural formula of an Hg(OAc)₂ molecule from the crystal structure of mercury(II) acetate* [online]. X-ray crystallographic data, (1973) 138, 366-373, 2009 [cit. 3. 11. 2014]. Dostupné z URL: <[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mercury\(II\)-acetate-from-xtal-1973-2D.png](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mercury(II)-acetate-from-xtal-1973-2D.png)>.
- [22] *Bovine Serum Albumin Structure* [online]. [cit. 3. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.biowest.net/products/serum/bovine-serum-albumin-bsa/>>.
- [23] LIU, R., DUAYA, J., LEE, S. B. *Heterogeneous nanostructured electrode materials for electrochemical energy storage* [online]. *Chem. Commun.*, 47, 1384-1404, DOI: 10.1039/C0CC03158E, 2010 [cit. 4. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2011/cc/c0cc03158e/unauth#!divAbstract>>.
- [24] TATARKOVIČ, M., BRONCOVÁ, G., KRONĎÁK, M. *Elektroimpedanční spektroskopie a její využití v chemické analýze* [online]. Ústav analytické chemie, Fakulta chemicko-inženýrská, VŠCHT Praha, *Chemické listy* 106, 1067-1074, 2012 [cit. 4. 11. 2014]. Dostupné z URL: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_11_1067-1074.pdf>.
- [25] KLIS, M., ROGALSKI, J., KARBARZ, M., STOJEK, Z., BILEWICZ, R. *Designing of cathodes modified with enzymes for the biofuel cell applications* [online]. Warsaw University, Faculty of Chemistry, Polsko, 2009 [cit. 4. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.science24.com/paper/4410>>.
- [26] HELÁN, V. *Elektroanalytické metody: Sborník přednášek z kurzu* . Vyd. 1. Český Těšín : 2 THETA, p. 316 s, ISBN 80-86380-07-6, 2001 [cit. 8. 11. 2014].
- [27] *Voltammetry* [online]. [cit. 8. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://mail.chiangmai.ac.th/~scijjkmn/voltammetry.htm>>.
- [28] KIZEK, R. *Bioelektrochemie a nanotechnologie* [online]. CZ.1.07/2.3/.00/09.0224, Brno, 2011 [cit. 8. 11. 2014].

- [29] *Cyklická voltametrie* [online]. [cit. 8. 11. 2014]. Dostupné z URL: <http://fch.upol.cz/skripta/pok1Cyklicka_voltametrie.pdf>.
- [30] *Skupina fyziky povrchů - Cyklická voltametrie* [online]. Katedra fyziky povrchů a plazmatu MFF UK, Praha [cit. 8. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://physics.mff.cuni.cz/kfpp/povrchy/metoda/cv>>.
- [31] *Encyklopedia G. W.* . EU. Edtion ed.: Mediasat Poland Sp. ISBN 83-89651-46-7 [cit. 9. 11. 2014].
- [32] SCHOONMAN, J. *Solid State Ionics 135* [online]. pp.5-19, 2000 [cit. 11. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.journals.elsevier.com/solid-state-ionics/>>.
- [33] *Carbon nanotube* [online]. 2012 [cit. 11. 11. 2014]. Dostupné z URL: <[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Carbon_nanotube_\(8,8\)_3D_ball.png](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Carbon_nanotube_(8,8)_3D_ball.png)>.
- [34] ŽÁČEK, M. *Kvantové tečky a jednofotonové součástky* [online]. Týdeník věnovaný aktualitám a novinkám z fyziky a astronomie, 2005, ISSN: 1214-1674 [cit. 13. 11. 2014]. Dostupné z URL: <http://www.aldebaran.cz/bulletin/2005_18_qua.php>.
- [35] HRDÝ, R. *Techniky přípravy elektrod s nanostrukturovaným povrchem a jejich charakterizace* [online]. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2013. 132 s. Vedoucí dizertační práce doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D [cit. 13. 11. 2014].
- [36] RENJUN, P; ZHILIANG, Ch; ERKANG, W; XIURONG, Y. *Biosensors and Bioelectronics: Amplification of antigen-antibody interactions based on biotin labeled protein-streptavidin network complex using impedance spectroscopy* [online]. Changchun Jilin, p. 355-361, ISSN 0956-5663, 2001 [cit. 17. 11. 2014].
- [37] Výkladový slovník. *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [online]. 2005 [cit. 24. 11. 2014]. Dostupné z URL: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001>.
- [38] KVÍTEK, L., PANÁČEK, A. *Základy koloidní chemie* [online]. Katedra fyzikální chemie, Fakulta přírodovědecká, Univerzita Palackého, Olomouc, 2007 [cit. 24. 11. 2014]. Dostupné z URL: <<http://fch.upol.cz/skripta/kol/koch.pdf>>.
- [39] REICHLOVÁ, T. *Diferenční pulzní voltametrie pro detekci metallothioneinu* [online]. bakalářská práce. Brno: FEKT VUT v Brně, 2011 [cit. 24. 11. 2014].

- [40] DOMÉNECH, B., BASTOS-ARRIETA, J., ALONSO, A., MACANÁS, J., MUNOZ, M., MURAVIEV, N. D. *Bifunctional Polymer-Metal Nanocomposite Ion Exchange Materials, Ion Exchange Technologies* [online]. Prof. Ayben Kilislioglu (Ed.), ISBN: 978-953-51-0836-8, In-Tech, DOI: 10.5772/51579, 2012 [cit. 2. 12. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.intechopen.com/books/ion-exchange-technologies/bifunctional-polymer-metal-nanocomposite-ion-exchange-materials>>.
- [41] HUBÁLEK, J. *Co jsou to nanotechnologie?* [online]. Laboratoř mikrosenzorů a nanotechnologií, Vysoké učení technické v Brně [cit. 2. 12. 2014]. Dostupné z URL: <http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/data/soubory/Co_%20jsou_to_nanotechnologie.pdf>.
- [42] CHEUNG, N. *Chemical Vapor Deposition (CVD)* [online]. U.C. Berkeley, 2010 [cit. 2. 12. 2014]. Dostupné z URL: <http://www-inst.eecs.berkeley.edu/~ee143/fa10/lectures/Lec_13.pdf>.
- [43] HÁJKOVÁ, Z. *Návrh implementace nových poznatků z interdisciplinárního oboru „nanotechnologie“ do výuky přírodovědných předmětů na SŠ* [online]. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha, 2009 [cit. 2. 12. 2014]. Dostupné z URL: <http://www.studiumchemie.cz/materialy/Zdenka_Hajkova/nanotechnologie.pdf>.
- [44] XUA, T., THANGA, N., NICHOLSA, H. L., SHIB, D., WEN, X. *Modification of nanostructured materials for biomedical applications* [online]. Materials Science and Engineering: C, Volume 27, Issue 3, April 2007, Pages 579–594 [cit. 29. 4. 2015]. Dostupné z URL: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493106001500#>>.
- [45] HARPER, J. C., WHEELER, D. R., DIRK, S. M., BROZIK, S. M. *Selective Immobilization of DNA and Antibody Probes on Electrode Arrays: Simultaneous Electrochemical Detection of DNA and Protein on a Single Platform* [online]. Biosensors and Nanomaterials, Sandia National Laboratories, New Mexico, 2007 [cit. 4. 12. 2014].
- [46] LU, J., GETZ, G., MISKA, E. A., ALVAREZ-SAAVEDRA, E., LAMB, J., PECK, D. *MicroRNA expression profiles classify human cancers* [online]. Nature Publishing Group, NATURE Vol. 435, 2005 [cit. 4. 12. 2014].
- [47] AKTER, R., RAHMAN, M. A., RHEE, CH. K. *Amplified Electrochemical Detection of a Cancer Biomarker by Enhanced Precipitation Using Horseradish*

- Peroxidase Attached on Carbon Nanotubes* [online]. American Chemical Society 84, 6407-6415, 2012 [cit. 4. 12. 2014].
- [48] BRUMBACH, M., ARMSTRONG, N. R. *Modification of Transparent Conducting Oxide (TCO) Electrodes through Silanization and Chemisorption of Small Molecules* [online]. Encyclopedia of Electrochemistry, University of Arizona, Tucson, Arizona, 2007, ISBN: 978-3-527-30402-8 [cit. 4. 12. 2014]. Dostupné z URL: <http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527304029_c01.pdf>.
- [49] KATZ, E., WILLNER, I. *Integrated Nanoparticle-Biomolecule Hybrid Systems: Synthesis, Properties, and Applications* [online]. Angewandte Chemie 43, 6043, 2004 [cit. 4. 12. 2014].
- [50] *Textilní nanomateriály* [online]. Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů, Fakulta textilní, Technická univerzita v Liberci, 2014 [cit. 9. 12. 2014]. Dostupné z URL: <<https://nanoed.tul.cz/course/view.php?id=22>>.
- [51] DENG, L., OUYANG, X., JIN, J., MA CH., JIANG, Y., ZHENG, J., LI, J., LI, Y., TAN, W., YANG, R. *Exploiting the Higher Specificity of Silver Amalgamation: Selective Detection of Mercury(II) by Forming Ag/Hg Amalgam* [online]. Anal. Chem., 85 (18), pp 8594-8600, DOI: 10.1021/ac401408m, 2013 [cit. 10. 12. 2014]. Dostupné z URL: <<http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/ac401408m#citing>>.
- [52] BUZZ, B. *Electrochemistry Resources - The Constant Phase Element (CPE)* [online]. [cit. 10. 12. 2014]. Dostupné z URL: <<http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/ac401408m#citing>>.
- [53] *Contact angle* [online]. From Wikipedia, the free encyclopedia, 2014 [cit. 18. 12. 2014]. Dostupné z URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Contact_angle>.
- [54] KUHN, A., WILLIAMS, D. *Products finishing* [online]. Just How Clean Is Clean?, 2012 [cit. 18. 12. 2014]. Dostupné z URL: <<http://www.pfonline.com/articles/just-how-clean-is-clean>>.
- [55] KRÁSNÝ, I. *Měření kontaktních úhlů smáčení a určování povrchové energie plastů* [online]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, diplomová práce 2012 [cit. 31. 12. 2014]. Dostupné z URL: <https://dspace.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/14169/kr%C3%A1sn%C3%BD_2010_dp.pdf?sequence=1>.

- [56] GOORDING, J. J., LAI, L. M. H., GOON, I. Y. *Nanostructured Electrodes with Unique Properties for Biological and Other Applications* [online]. Advances in Electrochemical Science and Engineering: Vol. 11 Chemically Modified Electrodes, 2009, ISBN: 978-3-527-31420-1 [cit. 1. 5. 2015]. Dostupné z URL: <http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527314202_c01.pdf>.
- [57] HUBÁLEK, J. *Techniky vytváření nanostrukturovaných povrchů elektrod u mikrosoučástek* [online]. Ústav mikroelektroniky, FEKT, Vysoké učení technické v Brně, 2009 [cit. 1. 1. 2015]. Dostupné z URL: <http://www.nanocon.eu/files/proceedings/nanocon_09/Lists/Papers/111.pdf>.
- [58] KARAS, F. *Stanovení kinetických parametrů pomocí metody elektrochemické impedanční spektroskopie* [online]. Ústav anorganické technologie, VŠCHT Praha [cit. 2. 1. 2015]. Dostupné z URL: <<http://uat.vscht.cz/cz/ke-stazeni/>>.

SEZNAM SYMBOLŮ, VELIČIN A ZKRATEK

SEZNAM ZKRATEK

AuNPs Au nanoparticles - zlaté nanočástice

BSA Bovine serum albumin - hovězí sérový albumin

CPE Konstantní fázový prvek - constant phase element

CV Cyklická voltametrie

CVD Chemical vapor deposition - chemická depozice z plynné fáze

DEMI Deionizovaná voda

DPV Diferenčně pulzní voltametrie

EIS Elektrochemická impedanční spektroskopie

MUA 11-mercaptoundecanoic acid - kyselina 11-merkaptoundekanová

PVD Physical vapor deposition

SAM Self assembled monolayer - samouspořádaná monovrstva

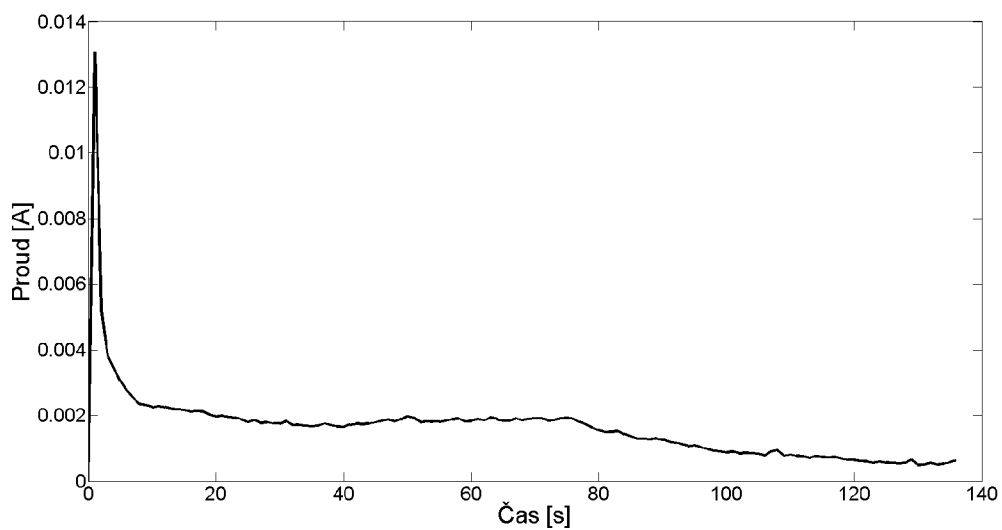
SEM Skenovací elektronová mikroskopie

TEM Transmisní elektronová mikroskopie

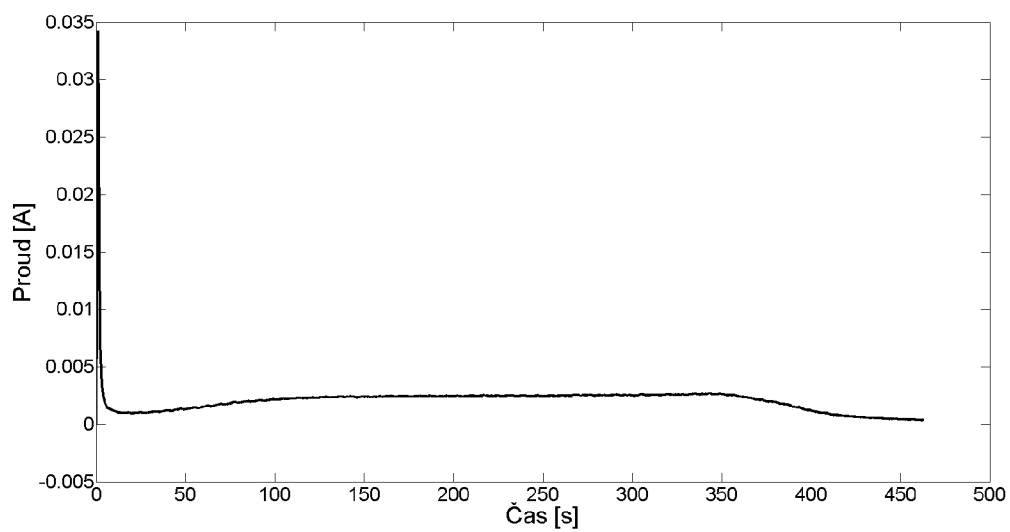
SEZNAM VELIČIN

C	Kapacita [F]
C_{DL}	Kapacita dvojvrstvy [F]
c	Molární koncentrace [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]
c_m	Hmotnostní koncentrace [$\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]
f	Frekvence [Hz]
I	Proud [A]
M	Molární hmotnost [$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$]
m	Hmotnost [g]
pH	Vodíkový exponent - potential of hydrogen
R	Odpor [Ω]
R_{CT}	Odpor přenosu náboje [Ω]
R_S	Měřený odpor elektrolytu [Ω]
T	Teplota [$^{\circ}\text{C}$]
t	Čas [s]
U	Napětí [V]
V	Objem [l]
Z_W	Warburgova impedance [Ω]
ω	Úhlová frekvence [Hz]

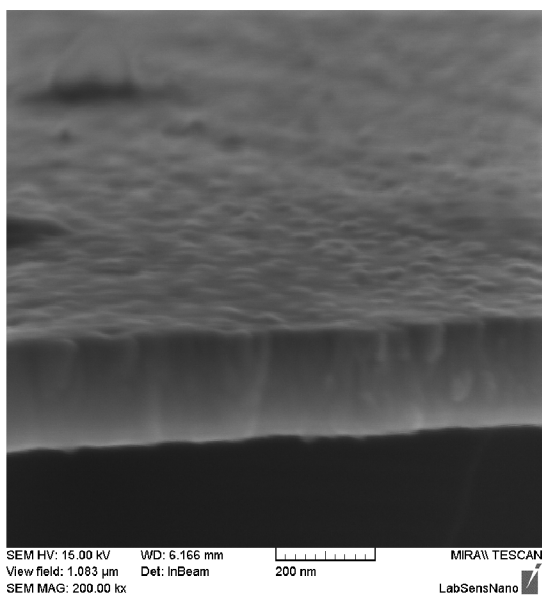
6 PŘÍLOHA



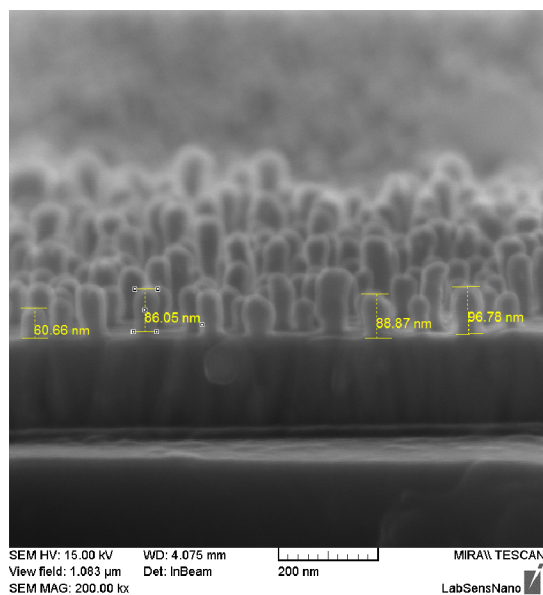
Obr. 6.1: Anodizační křivka u nanoporézní masky naprášené Al 100 nm



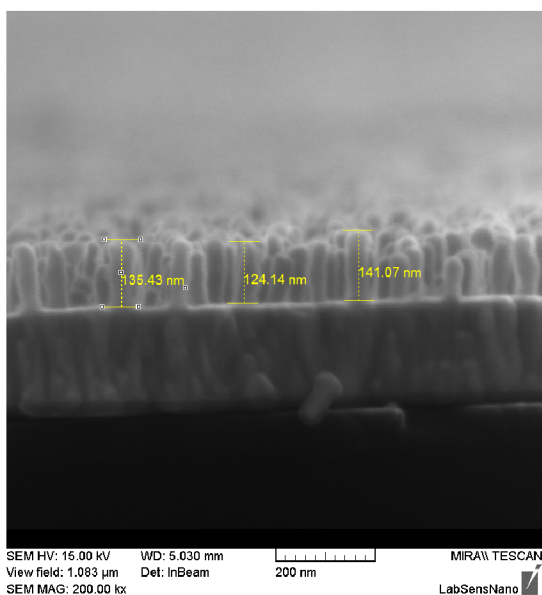
Obr. 6.2: Anodizační křivka u nanoporézní masky napařené Al 500 nm



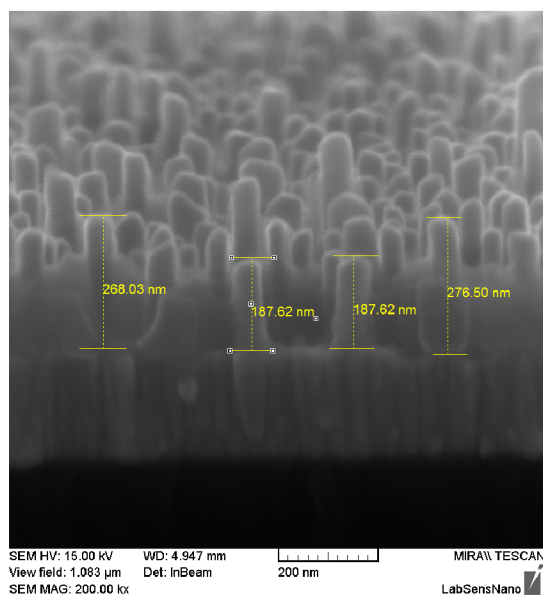
(a)



(b)

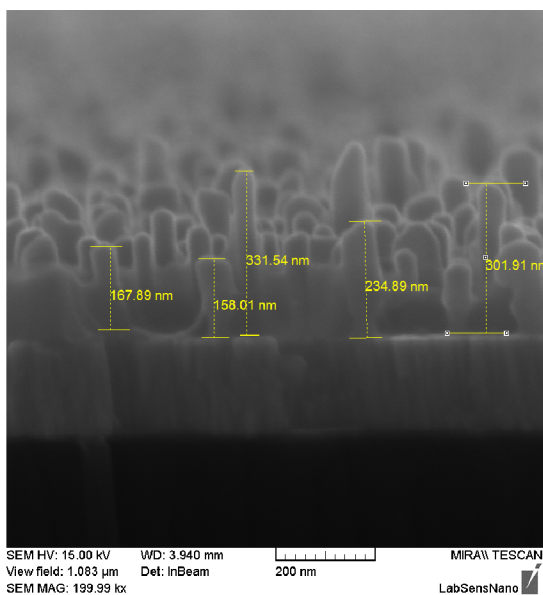


(c)

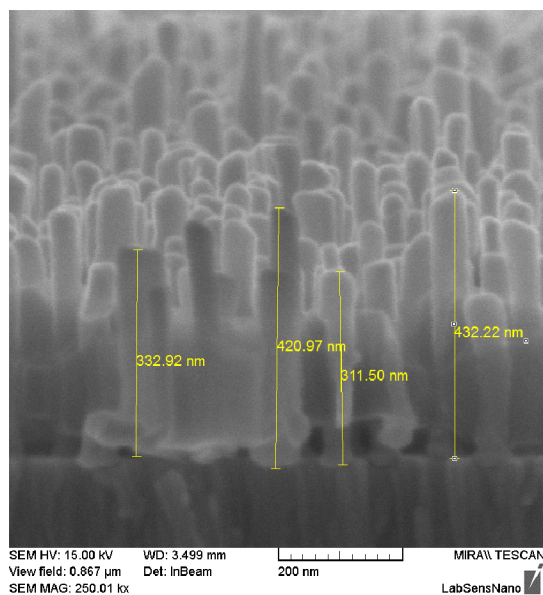


(d)

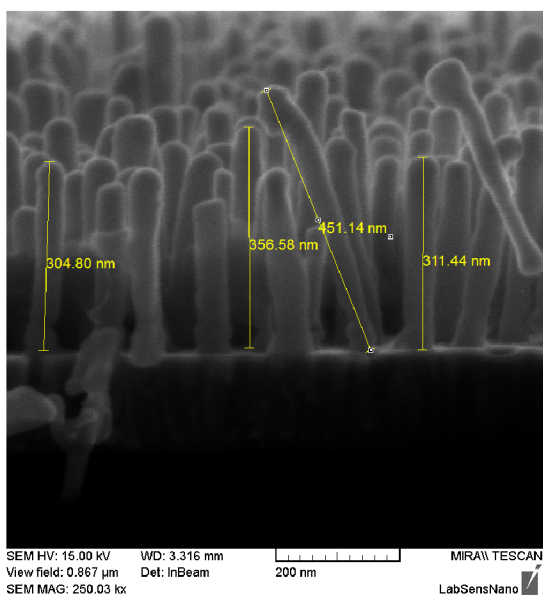
Obr. 6.3: Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) - depozície zlata 3 pulzy na Al 100 nm (a), depozície zlata 5 pulzů na Al 100 nm (b), depozície zlata 10 pulzů na Al 100 nm (c), depozície zlata 10 pulzů na Al 500 nm (d)



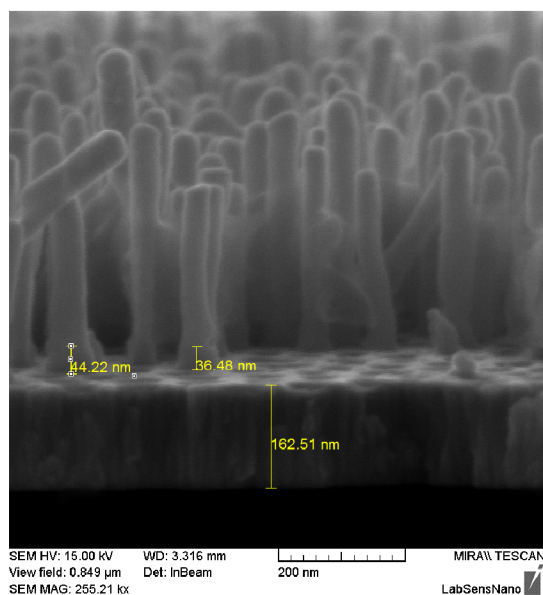
(a)



(b)

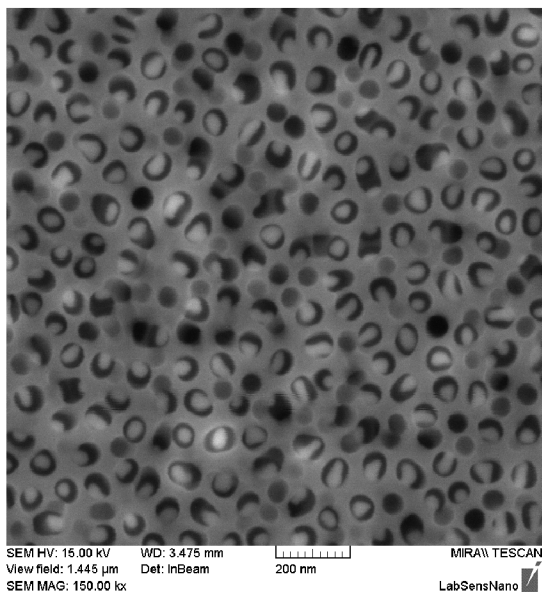


(c)

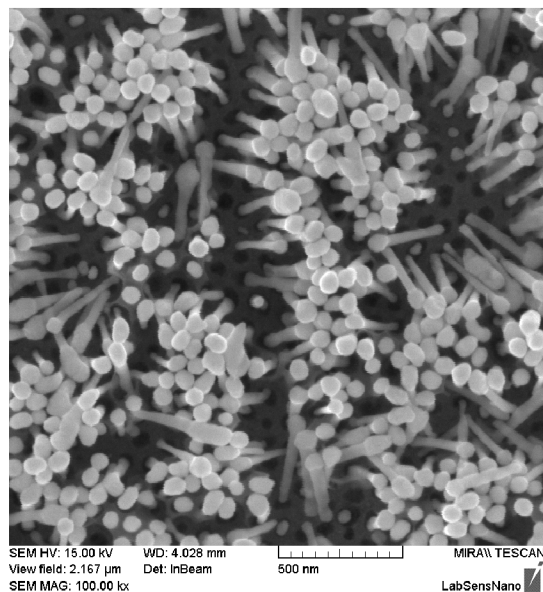


(d)

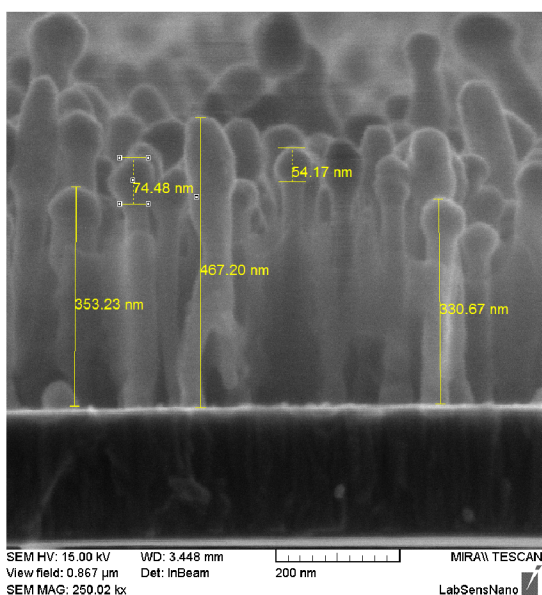
Obr. 6.4: Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) - depozície zlata 20 pulzů na Al 500 nm (a), depozície zlata 45 pulzů na Al 500 nm (b), depozície zlata 45 pulzů se sekundární depozicí rtuti 10 pulzů postupem 1. na Al 500 nm (c + d)



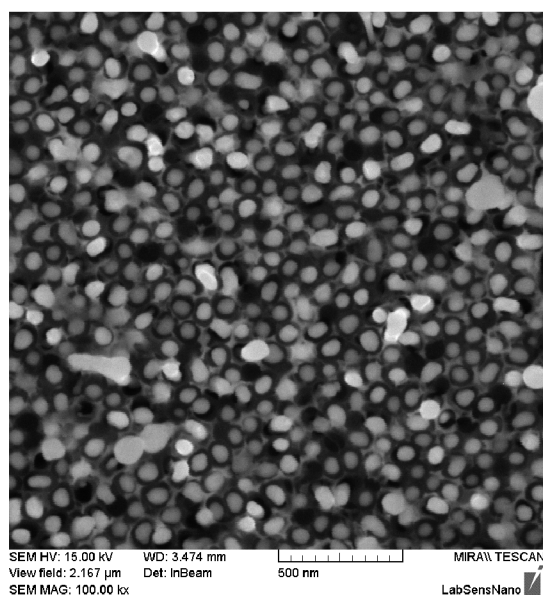
(a)



(b)



(c)



(d)

Obr. 6.5: Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) - odleptaná maska v mezikroku (Obr. 3.8 h) (a), depozice zlata 45 pulzů se sekundární depozicí rtuti 15 pulzů postupem 2. na Al 500 nm (b + c), depozice zlata 45 pulzů se sekundární depozicí rtuti 15 pulzů postupem 2. na Al 500 nm s následným leptáním 3 minuty(d)