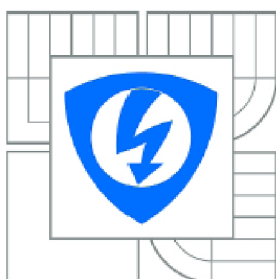




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH  
TECHNOLOGIÍ

ÚSTAV MIKROELEKTRONIKY

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION  
DEPARTMENT OF MICROELECTRONICS

## ELEKTROCHEMICKÁ DETEKCE PURINOVÝCH BÁZÍ POMOCÍ TLUSTOVRSTVÝCH CU<sub>2</sub>O ELEKTROD

ELECTROCHEMICAL DETECTION OF PURINE BASES USING THICK FILM CU<sub>2</sub>O ELECTRODES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

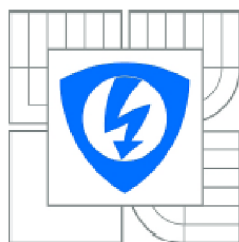
PETR GABRIEL

VEDOUcí PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. JANA CHOMOUCKÁ, Ph.D.

BRNO 2012



VYSOKÉ UČENÍ  
TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky  
a komunikačních technologií

Ústav mikroelektroniky

# Bakalářská práce

bakalářský studijní obor  
Mikroelektronika a technologie

*Student:* Petr Gabriel

*ID:* 125427

*Ročník:* 3

*Akademický rok:* 2011/2012

## NÁZEV TÉMATU:

**Elektrochemická detekce purinových bází pomocí tlustovrstvých Cu<sub>2</sub>O elektrod**

## POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

Seznamte se s technologií tlustých vrstev v oblasti senzorů. Blíže prostudujte možnost využití Cu<sub>2</sub>O elektrod pro elektrochemickou detekci purinových bází (adenin, guanin). Na základě získaných znalostí pomocí síťotisku a spray coatingu připravte pracovní elektrody s využitím Cu<sub>2</sub>O nanočástic. Připravené elektrody proměřte na testovací aparatuře při detekci purinových bází. Dosažené výsledky vyhodnoťte a porovnejte s výsledky udávanými v literatuře.

## DOPORUČENÁ LITERATURA:

Podle pokynů vedoucího pracel

*Termín zadání:* 6.2.2012

*Termín odevzdání:* 31.5.2012

*Vedoucí práce:* Ing. Jana Chomoucká, Ph.D.

*Konzultanti bakalářské práce:*

**doc. Ing. Jiří Háze, Ph.D.**

*Předseda oborové rady*

## UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské 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**

Tato práce se zabývá problematikou výroby tlustovrstvých elektrod. Zaměřuje se na přípravu  $\text{Cu}_2\text{O}$  pracovních elektrod metodou sítotisku a spray - coatingu na korundovém substrátu. V předkládané práci jsou obě metody přípravy elektrod popsány spolu se základními elektrochemickými metodami. Připravené  $\text{Cu}_2\text{O}$  elektrody byly využity k detekci purinových bází (adenin, guanin) pomocí cyklické voltametrie. Byl sledován vliv pH pufru na detekci purinů.

## **Abstract**

This work deals with the production process thick films electrodes. It is focused on the  $\text{Cu}_2\text{O}$  working electrodes preparation by screen printing and spray coating - methods on the corundum substrate. In this work are described both methods of fabrication and basic electrochemical methods. Prepared  $\text{Cu}_2\text{O}$  electrodes were used for electrochemical detection of purine bases (adenine, guanine) using cyclic voltammetry. The effect of pH on the detection of purines was also examined.

## **Klíčová slova**

Tlusté vrstvy, elektrochemie, elektroda, adenin

## **Key words**

Thick layers, electrochemistry, electrode, adenine

## **Bibliografická citace**

GABRIEL, P. *Elektrochemická detekce purinových bází pomocí tlustovrstvých  $\text{Cu}_2\text{O}$  elektrod*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2012. 32 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Jana Chomoucká, Ph.D.

## Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma **Elektrochemická detekce purinových bází pomocí tlustovrstvých Cu<sub>2</sub>O elektrod** jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucí bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

V Brně dne 31. května 2012

.....

podpis autora

## Poděkování

Děkuji Ing Janě Chomoucké, PhD. za trpělivost, toleranci a metodické vedení během celé práce. Děkuji také rodičům za vytrvalou podporu během mého studia.

# Obsah

Úvod .....	6
1 Technologie tlustých vrstev .....	7
1.1 Substrát .....	7
1.2 Tlustovrstvé pasty .....	8
1.2.1 Nanášení tlustých vrstev .....	9
1.2.2 Výpal .....	10
2 Elektrochemické metody .....	12
2.1 Přímá potenciometrie .....	12
2.2 Polarografie .....	12
2.3 Voltametrie .....	13
2.3.1 Lineární voltametrie .....	13
2.3.2 Cyklická voltametrie .....	13
2.4 Amperometrie .....	14
2.5 Druhy měřících elektrod .....	14
3 Purin .....	15
3.1 Adenin .....	15
3.2 Guanin .....	16
4 Experimentální část .....	17
4.1 Výroba elektrod .....	17
4.2 Měřící aparatura .....	18
5 Výsledky a diskuze .....	20
5.1 Vliv rychlosti změny potenciálu .....	20
5.2 Detekce adeninu v acetátovém pufru .....	21
5.3 Detekce guaninu v acetátovém pufru .....	25
5.4 Detekce purinů při rozdílném pH .....	28
6 Závěr .....	30
7 Seznam použité literatury .....	31

## Úvod

V dnešní době jsou kladeny větší a větší nároky na detekování různých látek v přírodě. Ať už se jedná o využití ekologické, průmyslové nebo výzkumné.

Dříve se ve velkém množství a téměř ve všech oblastech používaly senzory na bázi rtuti a jiných toxických látek. Rtuti se dnes z ekologických a zdravotních důvodů snažíme vyhnout, proto hledáme různé alternativy. Také díky stále pokračující miniaturizaci musíme hledat vhodné alternativy za klasické elektrody. Touto alternativou jsou senzory realizované pomocí tlustovrstvé technologie.

Pomocí tlustovrstvých senzorů můžeme detekovat velké množství specifických látek nebo téměř všechny fyzikální veličiny (teplota, tlak...). Tlustovrstvé senzory představují výhodný kompromis mezi kompaktními rozměry, výhodnou cenou a mechanickou odolností.

Pomocí elektrochemických tlustovrstvých senzorů můžeme detekovat téměř jakoukoliv látku v malých i velkých koncentracích. Tlustovrstvé senzory se nejčastěji používají pro detekci těžkých kovů. Ovšem je možné tyto senzory použít i ve zdravotnictví nebo při měření znečištění ovzduší, podzemní vody, zeminy a mnoha dalších prostředí.

# 1 Technologie tlustých vrstev

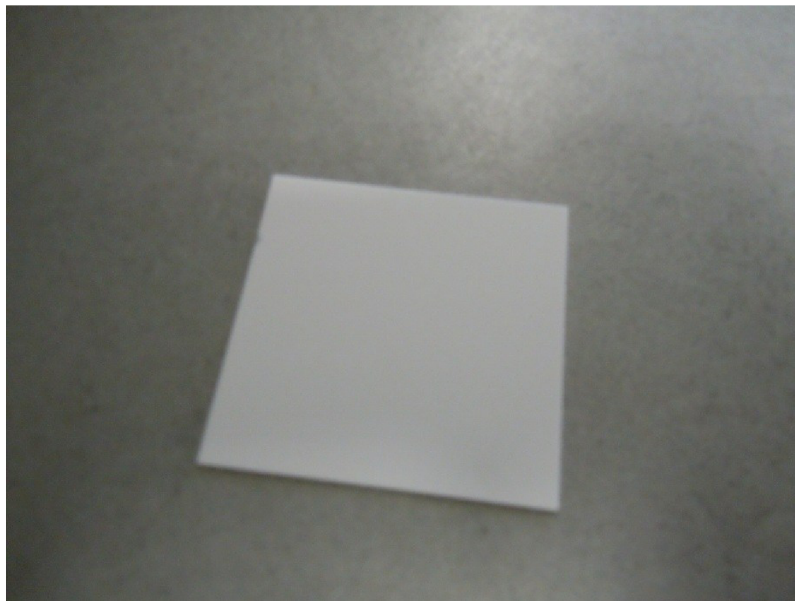
Tlusté vrstvy jsou vytvářeny na keramických substrátech (většinou korundová keramika). Nejčastěji se na substrát nanáší vodivé, odporové a dielektrické vrstvy pomocí sítotisku. V některých případech lze použít i nanášení pomocí rozprašování rozředěného prášku. Charakteristickým znakem tlustých vrstev je amorfni struktura vytvořená nevakuovými depozičními metodami. Po nanesení pasty dojde k zasušení vrstvy pasty na substrátu a následně k jejímu vypálení. Technologie tlustých vrstev se používá v oblasti realizace senzorů, hybridních integrovaných obvodů, topných těles a obecně pro výkonové, mikrovlnné a maloseriové produkty. Tlusté vrstvy mají po výpalu tloušťku od 10 do 20  $\mu\text{m}$  [1].

## 1.1 Substrát

Jako substrát se používá destička z korundové keramiky. Nejčastěji  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (oxid hlinitý). Substráty dělíme na:

- anorganické – polyamid, polyester,
- organické – LTCC, beryliová keramika, oxid hlinitý, aluminium-nitridová keramika, oxid zirkoničitý.

Po substrátech se požaduje, aby byl výborný izolant a výtečný tepelný vodič.  $\text{Al}_2\text{O}_3$  tyto požadavky splňuje. Má tepelnou vodivost 25 W/mK a velikost částic cca 5  $\mu\text{m}$ . Pokud je na jednom substrátu více obvodů, provede se perforování pomocí laseru nebo ruční řezačky. Narušení povrchu se provádí kvůli snazšímu oddělení jednotlivých obvodů. Stačí bodově narušit povrch substrátu [2].



Obr. 1 Keramický substrát

## 1.2 Tlustovrstvé pasty

Tlustovrstvé pasty slouží pro vytváření pasivních sítí na substrátech. Pasty se vyznačují definovanou viskozitou a tixotropními vlastnostmi. To znamená, že se viskozita mění podle mechanického tlaku. Nejnižší viskozity pasty dosahují v okamžiku odskoku síta od substrátu. V tomto okamžiku dochází k přenesení pasty ze síta na substrát. Pasty představují heterogenní termodynamický systém. Obsahují více složek s různými chemickými i fyzikálními vlastnostmi.

Pasty dělíme podle složení a požadovaného použití na:

- Vodivé – slouží pro vytváření vodivých cest. Funkční složkou jsou drahé kovy (Ag, Au, Pd, Pt). Tyto kovy jsou použity především pro jejich stálost a netečnost proti vnějším vlivům. Výpal probíhá při teplotách 750-1000°C.
- Odporové – používají se pro vytváření rezistorů. Hodnota jejich odporu je udávána pomocí jednotky ohm na čtverec [ $\Omega/\square$ ]. Tato hodnota se pohybuje v rozmezí 50 m $\Omega$  až 1 M $\Omega$ . Hodnota závisí na poměru funkčních částic vůči tavivových a teplotě, při které dochází k výpalu. Hodnota odporu se dá upravit pomocí trimování (laserem nebo otryskáváním křemičitým pískem). Jako funkční složka slouží oxidy drahých kovů.
- Dielektrické – používají se pro výrobu kondenzátorů menších hodnot. Jako funkční složka slouží ve většině případů titaničitan barnatý ( $\text{BaTiO}_3$ ). Pomocí titaničitanu barnatého upravujeme permitivitu pasty.
- Izolační – neobsahují funkční složku. Používají se jako ochrana jiných vrstev proti chemickému, nebo mechanickému poškození, a jako izolační vrstva při křížení vodivých cest.
- Speciální – jako pasty mohou být nanášeny i jiné funkční směsi. Tyto směsi se používají na chemické senzory, luminiscenční, magnetické, termistorové a stínící vrstvy.

Složky tlustovrstvých past rozdělujeme podle jejich funkce na:

- Funkční – u vodivých past je tato složka tvořena drahými kovy, u odporových jejich oxidy a u dielektrických a izolačních past je funkční složka tvořena částicemi dielektrických a skelných frit. Všechny částice by měly mít přibližně stejný tvar a velikost. Velikost částic funkční složky se pohybuje v řádu  $\mu\text{m}$ , jejich velikost musí být dostatečně malá, aby prošly oky u sítě.
- Tavivová – tato složka vytváří pevné spojení mezi funkční složkou a substrátem. Při výpalu se tato složka nesmí roztavit, ale má pouze změkknout. Je složena z nízkotavných skel, které mají teplotu měkknutí okolo 600 °C. Dnes se stále více používají pasty s oxidovou vazbou s přidaným kovem. Například do Au pasty přidáme malé množství Cu.

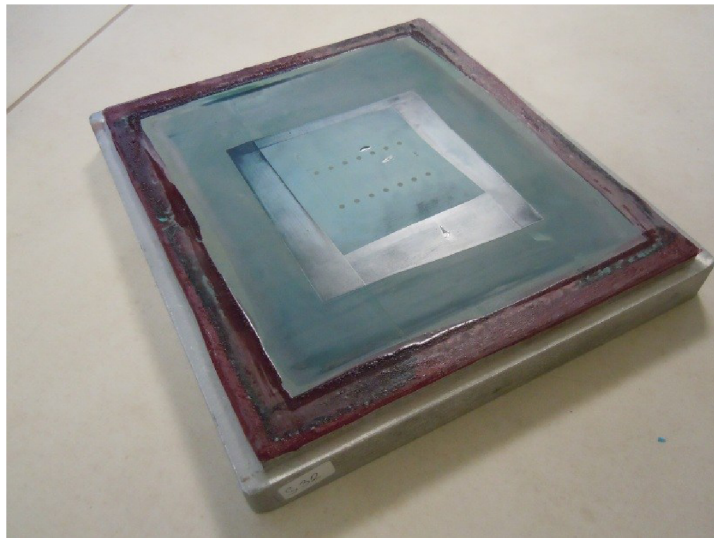


- Pojivová – je tvořena organickými látkami (butyldiglykolacetát, terpineol atp.). A zajišťuje správné tiskové vlastnosti pasty (ovlivňuje viskozitu). Pojivová složka se v průběhu přetavení odpaří a nemá vliv na konečné vlastnosti a funkčnost vrstvy [3].

## 1.2.1 Nanášení tlustých vrstev

### 1.2.1.1 Sítotisk

Síto je vyrobeno ze syntetických vláken (polyamid, polyester) nebo z nerezové oceli (odolnější a jemnější síta). Síťovina z těchto materiálů se upne do pevného kovového rámu. Tento rám se posléze upíná do sítotisku.



Obr. 2 Ovrstvené síto

Sítotisk funguje na principu protlačení tlustovrstvých past přes síto, které je vloženo v sítotiskovém poloautomatu, na substrát umístěný pod sítem. Pastu na sítu stírá třerka, která protlačí přes nezakrytá místa na sítu pastu na substrát. Pasty musí mít výhodné tixotropní vlastnosti, protože tyto vlastnosti zaručují přenesení tlustovrstvé pasty na substrát při odsokku síta. Síto je nutné nastavit do vhodné vzdálenosti od substrátu, protože špatně zvolená vzdálenost negativně ovlivňuje výsledný tisk. K negativnímu ovlivnění kvality výsledného tisku dochází také při nesprávném nastavení tlaku třerky, úhlu naklopení třerky vzhledem k sítu a krajních bodů stírání.



Obr. 3 Sítotiskový poloautomat

### 1.2.1.2 Stříkání

Tato metoda je anglicky nazývána spray - coating. Při ní je nutné rozředit jemné částice požadované funkční látky ve vhodném množství rozpouštědla a důkladně promíchat (nejlépe pomocí ultrazvuku). Nanášení probíhá například pomocí stříkací pistole. Roztok je nanášen na substrát přes šablonu. Šablona i substrát jsou umístěny na topném tělese a rovnou při nanášení dochází k zaschnutí a zasušení. Tento způsob je zdoluhavější a snadněji dojde k dostání nanášeného materiálu pod šablonu a tím k možnému znehodnocení tisku.



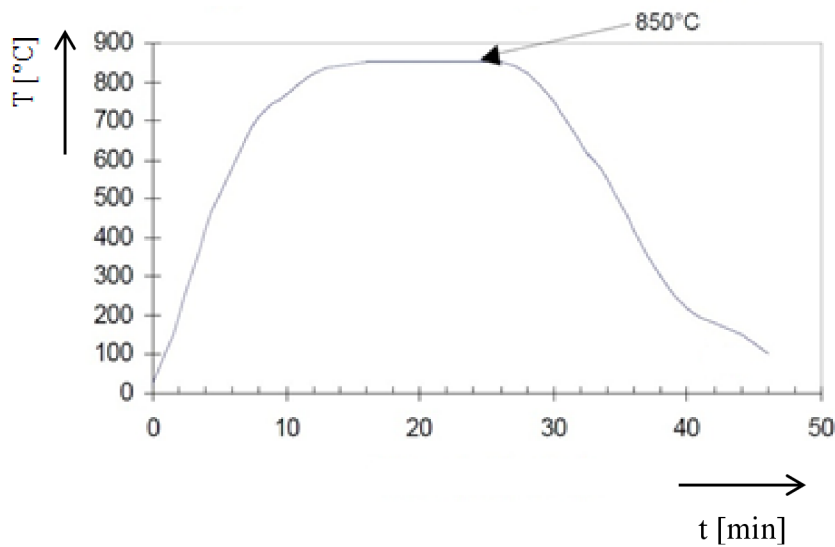
Obr. 4 Stříkaná elektroda bez uhlíku

### 1.2.2 Výpal

Vypalování tlustovrstvé pasty probíhá po zasušení, které se provádí při teplotě okolo 130 °C po dobu požadovanou výrobcem konkrétní pasty. Pro správnou funkci obvodu a kvalitní průběh výpalu je nutné mít správně nastavený teplotní profil. Tento profil dodává výrobce k dokumentaci o pastě. Vzhledem k větším a přesnějším možnostem nastavení je vhodné používat in-line pece spíše než vsázkové. Při výpalu dochází k vytvoření pevné vazby mezi pastou a substrátem a získání požadovaných elektrických i mechanických vlastností.

Výpal obvykle trvá kolem šedesáti minut a teplota v peci dosahuje 800-1000 °C. Pro správné vypálení pasty je nutné dodržet i maximální tepelné gradienty a ostatní výrobcem požadované vlastnosti.

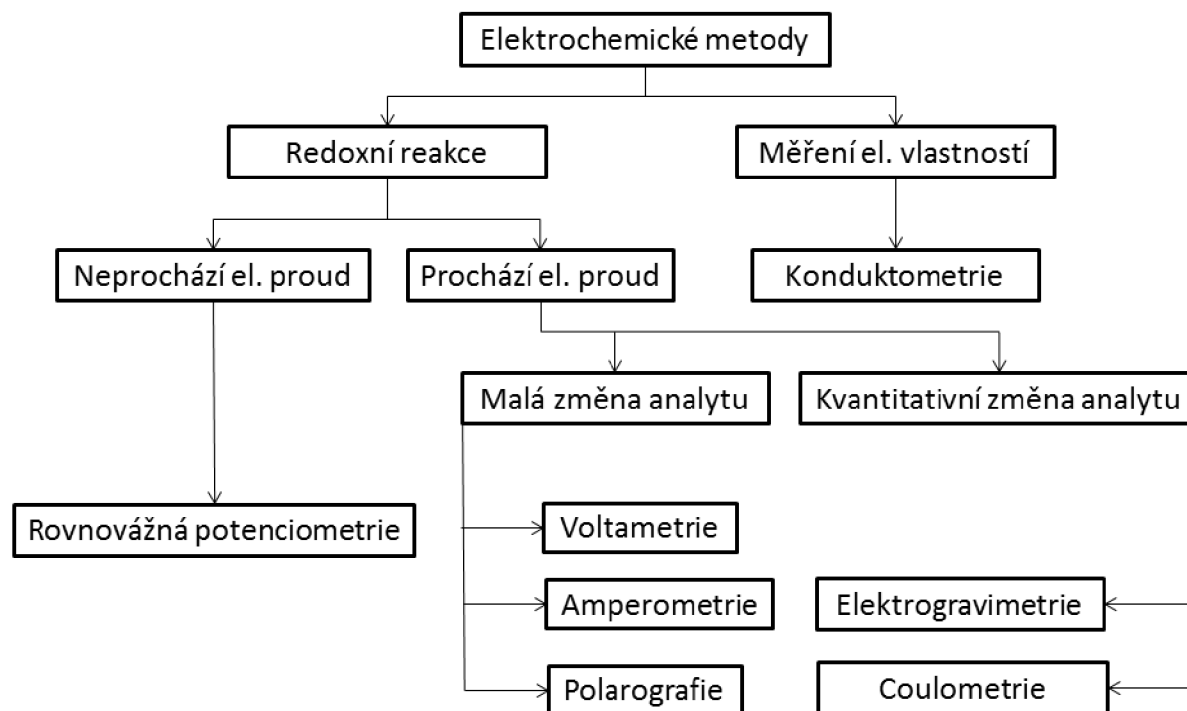
Krom běžných cermetových past jsou používány také polymerní pasty, které jsou na bázi uhlíku. Tyto pasty není nutné vypalovat, stačí je vytvrdit v peci při teplotě dosahující přibližně 150 °C po výrobcem definovanou dobu. Tyto pasty rychle zasychají i při běžné pokojové teplotě.



Obr. 5 Teplotní profil tlustovrstvé pasty

## 2 Elektrochemické metody

Tyto metody jsou založeny na měření některé z elektrických veličin, například napětí, spotřebovaný náboj, permitivita a vodivost roztoku.



Obr. 6 Rozdělení elektrochemických metod [6]

### 2.1 Přímá potenciometrie

Měření je prováděno tak, aby článkem netekl elektrický proud. Koncentrace se určuje pomocí napětí elektrochemického článku, který je tvořen pomocí referenční elektrody spojené se solným můstkem, a elektrody indikační.

### 2.2 Polarografie

Princip této metody spočívá ve vyhodnocování závislosti elektrického proudu na napětí na dvojici elektrod, které jsou ponořené do roztoku, v němž probíhá elektrolyza. Závislosti mají tvar vln, jejichž poloha charakterizuje jednotlivé druhy látek. Z velikosti nárůstu proudu lze určit koncentraci příslušné látky.

Jako katoda slouží rtuťová kapková elektroda. Na povrchu kapky rtuti se vytvoří elektrická dvojrstva. Při zvyšování potenciálu mezi anodou a katodou dojde k vyloučení příslušných iontů na katodě a tím k nárůstu proudu [5].

## 2.3 Voltametrie

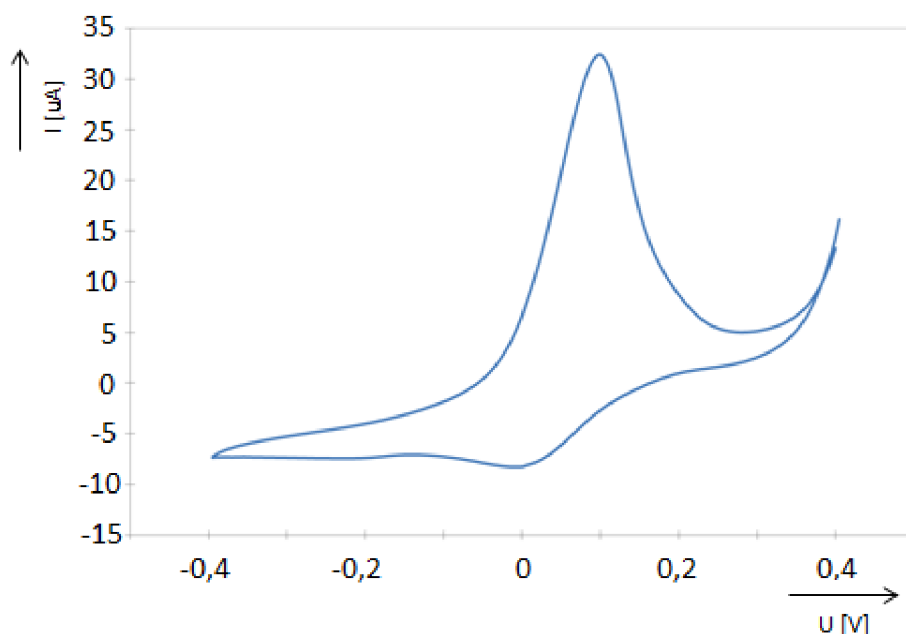
Voltametrie je založena na měření polarizačních křivek. Při voltametrické analýze se používají rozličné pracovní elektrody z různých materiálů (obvykle se jedná o elektrody platinové, zlaté, uhlíkové i rtuťové). Velmi časté je použití rotujících diskových elektrod. Platinovou elektrodu lze v roztoku kyseliny chloristé polarizovat až k potenciálu +1,5 V. Depolarizátor se dostává k povrchu rotující diskové elektrody konvektivně-difúzním transportem. Konvekci se dostává depolarizátor do blízkosti povrchu elektrody, kde se utváří tenká difúzní vrstva [4].

### 2.3.1 Lineární voltametrie

Elektroda se zde polarizuje v rozmezí 10–1000 mV/s. Tato změna potenciálu způsobí vyčerpání analytu v celém okolí elektrody. Výsledným signálem lineární voltametrie je vrchol na křivce, kde jeho potenciál udává kvalitativní parametr a velikost je úměrná koncentraci [6].

### 2.3.2 Cyklická voltametrie

Voltametrie je nejčastěji používaná elektrochemická metoda, kdy se na pracovní elektrodu (rtuť, platina, zlato, uhlík, amalgamy atd.) vkládá potenciál, který se v čase lineárně mění libovolnou zvolenou rychlostí, a sleduje se proudová odezva [7].



Obr. 7 Přibližný průběh cyklické voltametrie

Se vzrůstající koncentrací měřeného roztoku dochází ke změně proudové odezvy a na křivce vznikají vlny. S rostoucím přenášeným elektrickým nábojem dochází ke zvyšování hodnoty proudu (křivka má vyšší maximální hodnoty), která je přímo úměrná koncentraci detekované látky, napětí, při kterém k tomuto nárůstu došlo, je pak pro danou látku a systém typické.

## 2.4 Amperometrie

Metoda je odvozená od voltametrie. Používá se spíše pro tenkovrstvé technologie. Potenciál je volen tak, aby elektrodou tekla limitní proud roztoku [7].

## 2.5 Druhy měřicích elektrod

Elektrody se dělí podle materiálu, který je použit na jejich výrobu, a roztoku, do kterého jsou ponořeny.

- Elektrody I. druhu
  - Elektroda je ponořena do roztoku iontů svého druhu.
  - Probíhá přímá výměna iontů mezi elektrodou a roztokem.
  - Kovové – Ag elektroda pro  $\text{Ag}^+$ , Cu elektroda pro  $\text{Cu}^{2+}$
  - Plynové – vodíková, chlorová elektroda
- Elektrody II. druhu
  - Používají se jako referenční elektrody (argentchloridová ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ), kalomelová ( $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ))
- Elektrody III. druhu
  - Elektroda je ponořena do roztoku obsahujícího oxidované i redukované formy dané látky.
  - Výměna náboje probíhá pomocí elektronu.
  - Elektrody jsou z ušlechtilého kovu (Pt, Au nebo Hg).
  - Jsou polarizovatelné.

### 3 Purin

Purin je dusíkatá sloučenina, která je tvořena pyrimidinovým a imidazolovým kruhem. Purin je zásaditá krystalická látka. Je to látka obsažená v nukleových kyselinách a jiných látkách důležitých pro život. Purinové báze (adenin, guanin) dohromady s pyrimidinovými bázemi (cytosin, thymin) tvoří páry, které kódují genetickou informaci v DNA. Při detekování DNA se využívá dobrých detekčních vlastností purinů. Abnormální změny množství purinů značí poruchu imunitního systému. Z tohoto důvodu je důležité stanovení množství purinů pro klinické a biologické diagnózy [8].

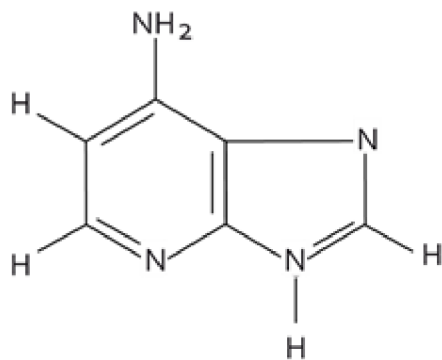
Vlivem působení purinů a pufru na Cu dochází ke snížení oxidačního stavu z Cu (II) na Cu (I). Cu (I) reaguje s adeninem a guaninem a tvoří nerozpustné sloučeniny, které se tvoří na povrchu elektrod. Adenin na rozdíl od guaninu tvoří komplex i s  $\text{Cu}_2\text{O}$  [9].

Pro detekci purinů se běžně používají elektrody z leštěného uhlíku (glassy carbon), na kterých je nanesená tenká vrstva mědi. Tato metoda má však za následek nenávratnou adsorpci purinů na povrchu elektrody a vede k trvalému znečištění a poškození elektrody. Tyto elektrody mají také malou proudovou odezvu na změnu koncentrace purinů, proto se také od jejich používání ustupuje [10].

V dnešní době se zkoumá využití oxidů mědi při detekci purinů. Trendem je vytváření elektrod na keramickém základu bez použití katalyzátorů a rozpouštědel při výrobě elektrod [11]. Pro takovou výrobu elektrod se používají tenkovrstvé technologie (např. elektredepozice). Tyto senzory mají velmi dobrou proudovou odezvu a lze pomocí nich detekovat adenin i guanin zároveň [12]. Zkoumá se také využití  $\text{TiO}_2$ . Například využití nanosené vrstvy oxidu titaničitého na grafitové elektrodě [13].

#### 3.1 Adenin

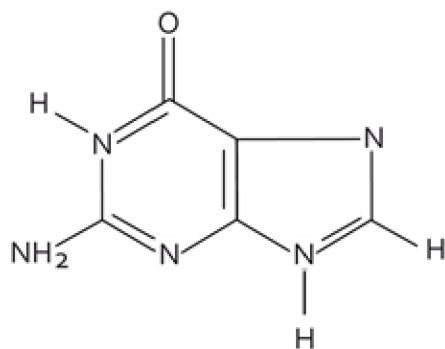
Adenin (6-aminopurin) je v čistém stavu krystalická látka. Váže se pomocí dvou vodíkových můstků s thyminem a tvoří jednu z částí šroubovice DNA. Obsažen je také v RNA. Adenin je obsažen také ve vitamínu B4, který se jinak také nazývá kyselina listová [11].



Obr. 8 Adenin

### 3.2 Guanin

Guanin (2-amino-6-oxo-purin) je heterocyklická sloučenina, která je obsažena v DNA i RNA. Váže se s cytosinem pomocí tří vodíkových můstků. U obojživelníků je guanin příčinou zbarvení kůže [11].



Obr. 9 Guanin



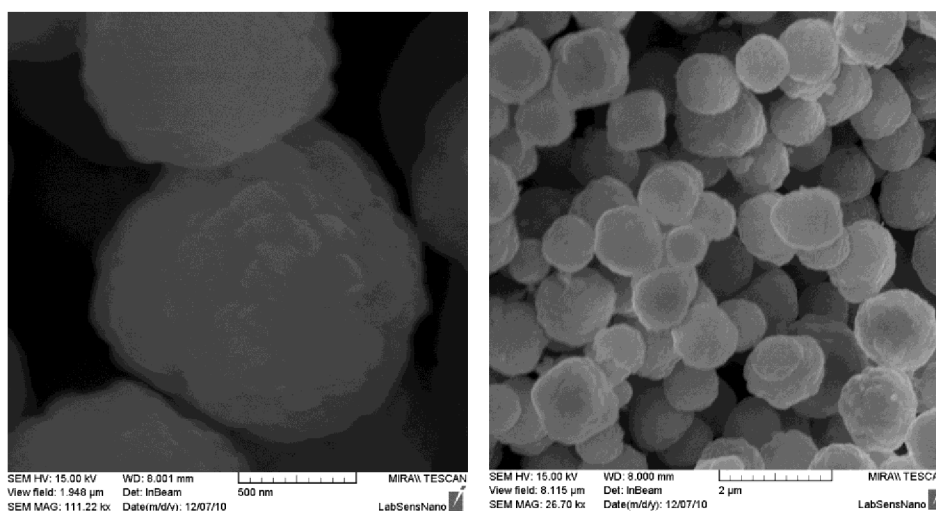
## 4 Experimentální část

### 4.1 Výroba elektrod

Planární tlustovrstvé (TLV) elektrody byly vyrobeny standardní TLV technologií na sítotiskovém poloautomatu AUREL C880. Na substrát  $\text{Al}_2\text{O}_3$  byla pomocí sítotiskového poloautomatu a vodivé tlustovrstvé pasty Ag/Pd/Pt pasty (ESL 9562, Electrosience, UK) nanášena vodivá cesta pro přívody elektrod. Po zasušení v peci na  $125\text{ }^\circ\text{C}$  po dobu deseti minut bylo přistoupeno k vypálení pasty v průběžné peci BTU TFF51 při  $850\text{ }^\circ\text{C}$  po dobu jedné hodiny.

V dalším kroku se nanášela nevodivá cermetová pasta (ESL 4917, Electrosience, UK), která slouží jako ochranná maska vodivé cesty. Tato pasta rovněž prošla procesem zasušení po dobu deseti minut při teplotě  $125\text{ }^\circ\text{C}$ . Poté byla sítotiskem nanášena další vrstva této pasty, která byla opět zasušena při stejných podmínkách jako vrstva první. Po druhém zasušení došlo k vypálení pasty opět po dobu jedné hodiny a maximální teploty  $850\text{ }^\circ\text{C}$ .

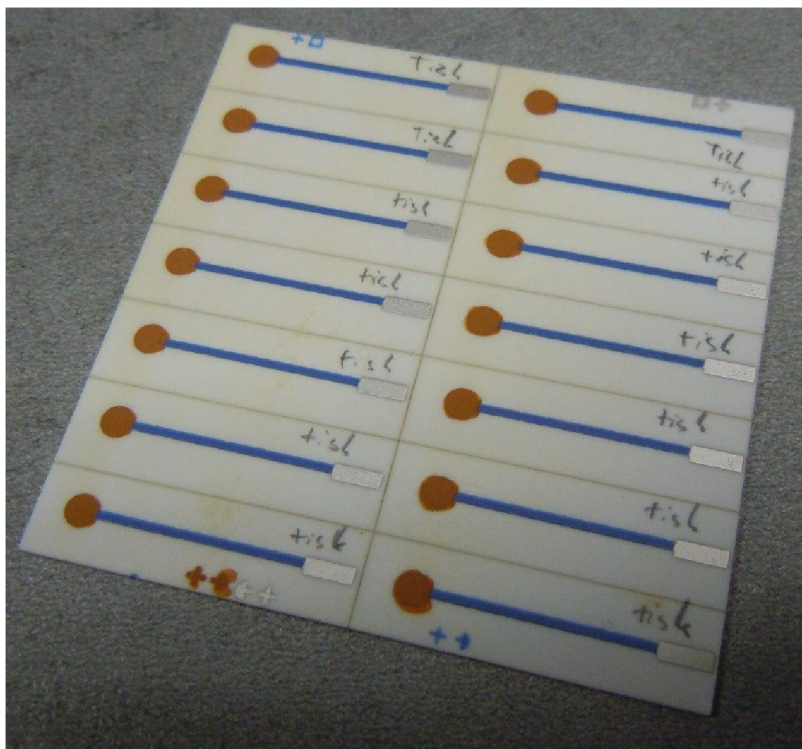
Po přípravě základu pro elektrody byla část elektrod překryta uhlíkem (BQ 221, DuPont), aby bylo možné odfiltrovat případný nežádoucí vliv stříbrného kontaktu na odezvu. Tento krok opět probíhal na sítotiskovém poloautomatu a pasta byla opět zasušena, tentokrát při teplotě  $130\text{ }^\circ\text{C}$  a době cca 15 minut. Výpalu nebylo potřeba, protože se jednalo o polymerní pastu.



Obr. 10 Částice  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Vlevo shluk částic a vpravo jedna částice. Zachyceno rastrovacím elektronovým mikroskopem Tescan Mira II LMU.

Aktivní vrstva elektrody byla nanášena dvěma způsoby. U první metody byly  $\text{Cu}_2\text{O}$  nanočástice ve formě TLV polymerní pasty nanášeny sítotiskem na připravený substrát a následně zasušeny. V případě druhé metody byly  $\text{Cu}_2\text{O}$  nanočástice částice rozdispergovány v N-Methyl-Pyrrolidonu a poté nanášeny pomocí stříkáčkové pistole na substrát vyhřátý na  $220\text{ }^\circ\text{C}$ . K zasušení částic docházelo rovnou při kontaktu mikrokapiček se substrátem.

Elektrody byly skladovány v dusíkové atmosféře kvůli rychlé oxidaci  $\text{Cu}_2\text{O}$  na  $\text{CuO}$ .



Obr. 11 Elektrody s natisknutými  $\text{Cu}_2\text{O}$  nanočásticemi

## 4.2 Měřící aparatura

Měření probíhalo pomocí zařízení PalmSens. Toto zařízení obstarávalo komunikaci mezi elektrodami a počítačem. Na počítači docházelo ke zpracování naměřených hodnot a jejich exportu pomocí programu PSTrace. Byl použit tříelektrodový měřící systém. Jedna elektroda byla referenční (argentchloridová), druhá pomocná (platinová) a třetí pracovní (tištěná nebo stříkaná elektroda). Tyto elektrody byly proměřovány ve 20 ml pufru. První měření bylo vždy pro čistý pufr a postupně bylo zvyšováno množství adeninu a guaninu ( $1 \cdot 10^{-3}$  mol/l) na 50  $\mu\text{l}$ , 100  $\mu\text{l}$ , 150  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$ , 250  $\mu\text{l}$  a 300  $\mu\text{l}$  což odpovídá koncentracím  $2,5 \cdot 10^{-6}$ ,  $5 \cdot 10^{-6}$ ,  $7,5 \cdot 10^{-6}$ ,  $10 \cdot 10^{-6}$ ,  $12,5 \cdot 10^{-6}$ ,  $15 \cdot 10^{-6}$  mol/l.

Skenovací rychlost byla nastavena na 100 mV/s. Tato hodnota byla zvolena jako nejlepší kompromis mezi velikostí odezvy a plynulostí křivky. Tento proces byl aplikován na každou elektrodu několikrát.

V této práci byla použita cyklická voltametrie (CV) pro elektrochemickou analýzu adeninu. Elektrody procházely polarizací v rozmezí potenciálu 0,4 až -0,4V. Počáteční hodnota byla 0,4 V a postupně docházelo ke snižování potenciálu až k hodnotě -0,4V čímž docházelo k redukci  $\text{Cu}^+$  iontů na  $\text{Cu}^0$ . Při opačném kroku (změna od záporného ke kladnému potenciálu) docházelo k oxidaci a z mědi se opět stával  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Při těchto změnách potenciálu se měřila proudová odezva.

Elektrody byly proměřovány v acetátovém pufru (0,2 mol/l pH=5,3, kyselina octová a octan sodný) pomocí tříelektrodového měřicího systému. V druhé části experimentu byl zkoumán vliv pH na odezvu a detekci adeninu a guaninu v Britton-Robinsonově pufru (0,2 mol/l, hydroxid draselný, kyselina boritá, octová, fosforečná). Tento pufr byl namíchán na hodnoty pH 3, 5 a 7.



Obr. 12 Zařízení PalmSens [14]

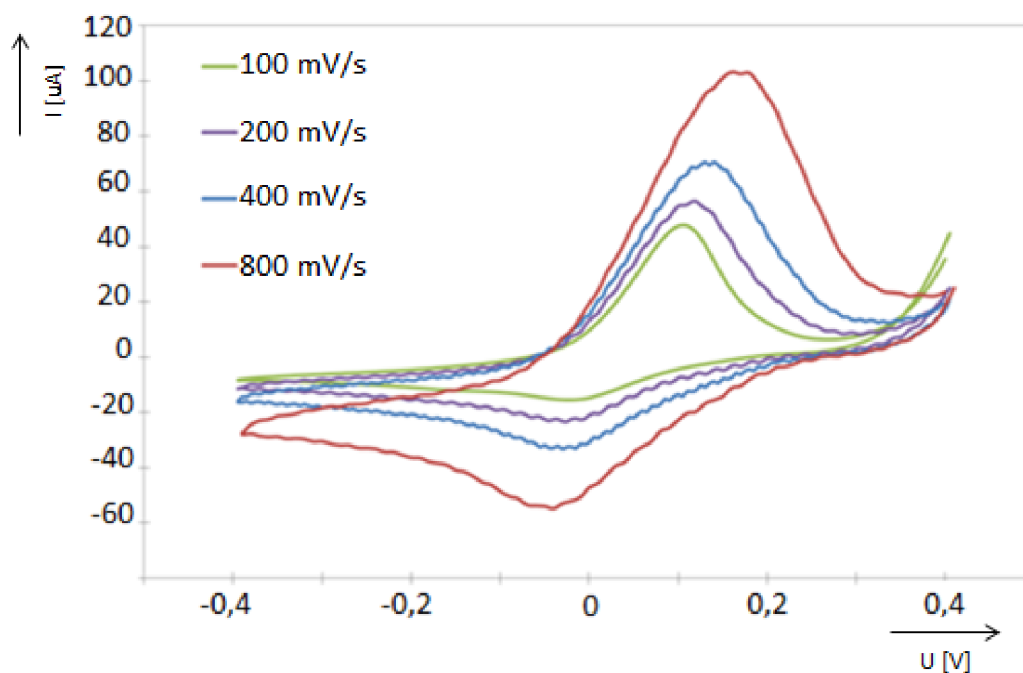
## 5 Výsledky a diskuze

Hlavním úkolem této práce bylo vytvořit elektrody a ověřit jejich funkčnost při detekci adeninu a guaninu. Substráty s přívody pro elektrody byly vyrobeny na sítotiskovém poloautomatu z Ag/Pd/Pt pasty (ESL 9562), přičemž polovina z nich byla navíc překryta uhlíkem, aby bylo možné odfiltrovat případný nežádoucí vliv stříbrného kontaktu na odezvu. V dalším kroku byly na elektrody nanесeny částice  $\text{Cu}_2\text{O}$  pomocí sítotisku nebo stříkání. Část elektrod byla vyrobena pomocí sítotisku ( $\text{Cu}_2\text{O}$  nanočástice byly smíchány s lakovou složkou a tato pasta zasušena po dobu 10 minut při teplotě  $130\text{ }^\circ\text{C}$ ). Druhá část byla nanесena stříkáním nanočástic rozdispergovaných v 1-Methyl-2-pyrrolidinonu. Při stříkání docházelo rovnou k zasušení, protože substrát i se šablonou byl umístěn na topné desce. Ta byla nastavena na  $220\text{ }^\circ\text{C}$ . Druhá metoda byla časově náročnější a výsledek nebyl tak uspokojivý jako u elektrod tisknutých, protože došlo u některých elektrod k podtečení roztoku pod šablonu.

Ověřování funkčnosti elektrod probíhalo pomocí cyklické voltametrie. V prvním kroku docházelo ke snižování napětí, probíhala redukce  $\text{Cu}^+$  iontů na  $\text{Cu}^0$ . Při opačném kroku v druhé polovině cyklu docházelo k oxidaci a z mědi se opět stával  $\text{Cu}_2\text{O}$ . První měření bylo vždy pro čistý pufr a postupně bylo zvyšováno množství adeninu ( $1 \cdot 10^{-3}\text{ mol/l}$ ) na  $50\mu\text{l}$ ,  $100\mu\text{l}$ ,  $150\mu\text{l}$ ,  $200\mu\text{l}$ ,  $250\mu\text{l}$  a  $300\mu\text{l}$ , což je koncentraci  $2,5 \cdot 10^{-6}$ ,  $5 \cdot 10^{-6}$ ,  $7,5 \cdot 10^{-6}$ ,  $10 \cdot 10^{-6}$ ,  $12,5 \cdot 10^{-6}$ ,  $15 \cdot 10^{-6}\text{ mol/l}$ . V těchto koncentracích už byla jasně zřetelná změna odezvy oproti čistému pufru.

### 5.1 Vliv rychlosti změny potenciálu

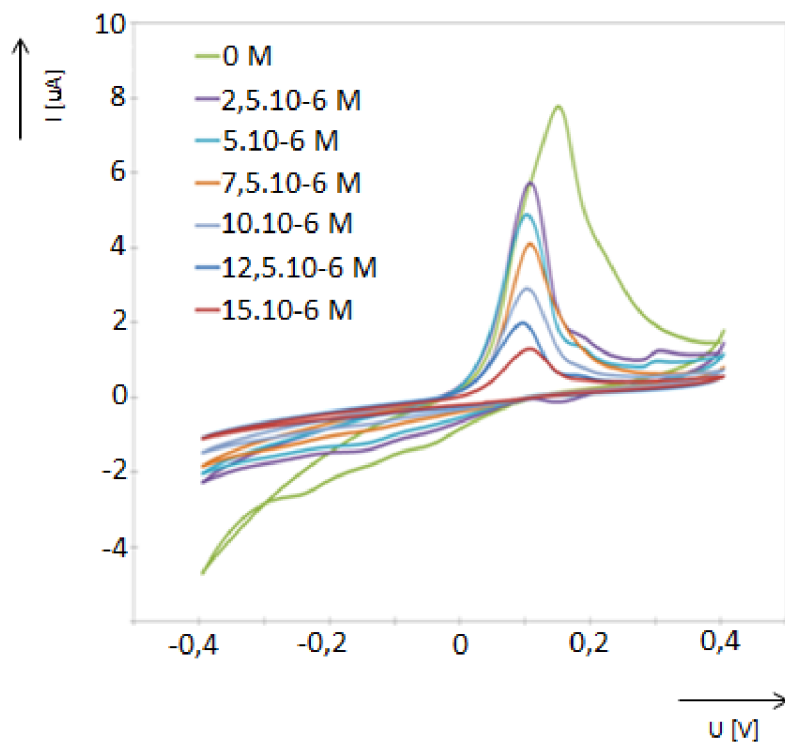
Vliv skenovací rychlosti byl zkoumán v čistém acetátovém pufru. Rychlost změny byla měněna na 100, 200, 400, 800 mV/s. Proudové odezvy jsou znázorněny na Obr. 13. S rostoucí skenovací rychlosti se zvětšovala proudová odezva. Docházelo ale k tomu, že křivka značící proudovou odezvu v závislosti na změně napětí byla méně plynulá. Nejvhodnější kompromis byl dosažen při 100 mV/s.



Obr. 13 Závislost proudové odezvy na scan rate pro stříkané elektrody bez uhlíku. Hodnoty jsou uvedeny pro čistý pufr.

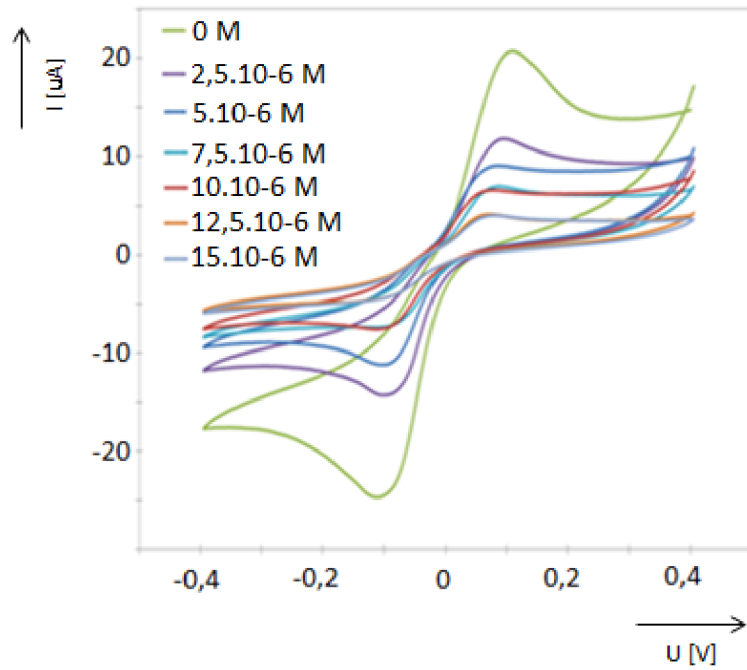
## 5.2 Detekce adeninu v acetátovém pufru

Literární zdroje uvádí [11], že pík přímé detekce adeninu a guaninu se vyskytuje při potenciálech vyšších než 0,5 V. V případě využití mých  $\text{Cu}_2\text{O}$  elektrod docházelo při tomto potenciálu k poškození elektrod jejich rozpouštěním. Adenin byl detekován nepřímou metodou, kdy se vzrůstající koncentrací adeninu docházelo ke snižování proudové odezvy měděné elektrody při potenciálu 100 mV. Na Obr. 14 je také vidět, že se vzrůstající koncentrací adeninu docházelo k mírnému posunu píku směrem k 0 V.

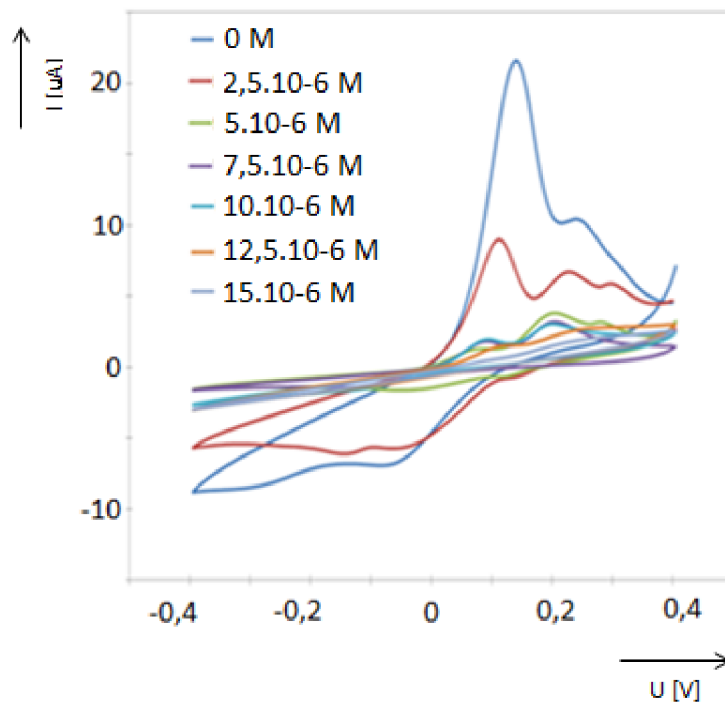


Obr. 14 Závislost proudové odezvy na změně potenciálu pro tištěné elektrody bez uhlíku.

U obou stříkaných elektrod a u tištěné elektrody s uhlíkem docházelo k prudkému poklesu píku  $i$  při nízké koncentraci adeninu a posléze byl již pokles pomalejší (Obr. 15, Obr. 16, Obr. 17). U tisknuté elektrody bez uhlíku byl pokles mezi čistým pufrem a pufrem s adeninem pozvolnější.

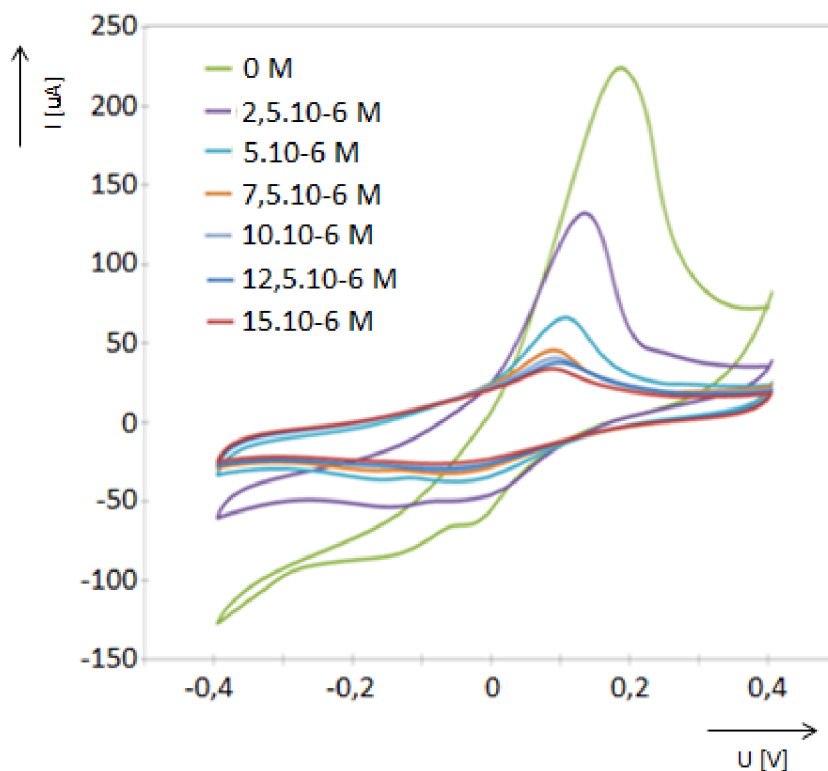


Obr. 15 Závislost proudové odezvy na změně potenciálu pro tištěné elektrody s uhlíkem.



Obr. 16 Závislost proudové odezvy na změně potenciálu pro stříkané elektrody bez uhlíku.

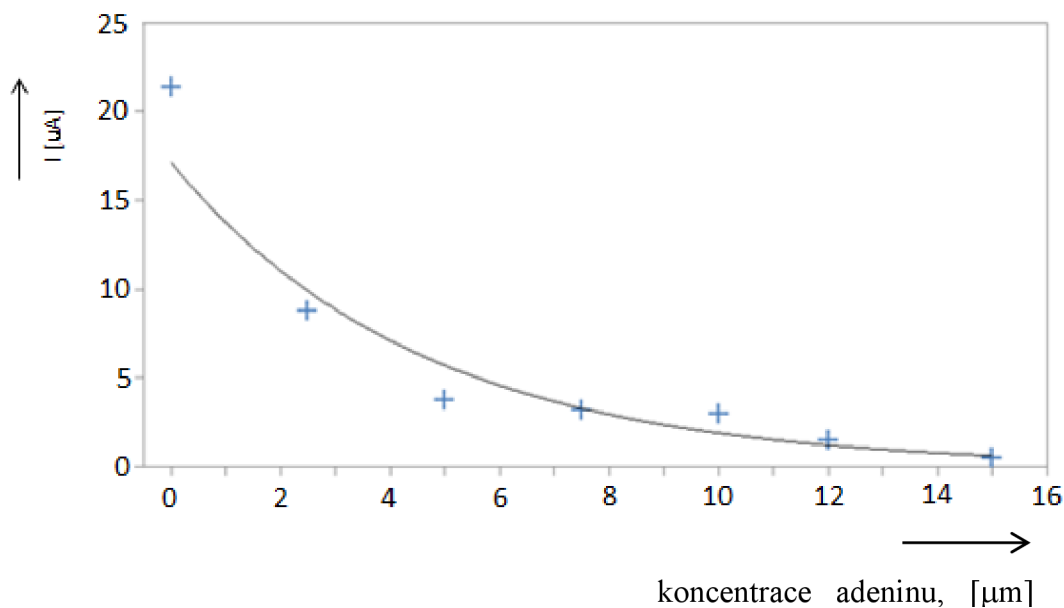
Stříkané elektrody byly citlivější na vzrůstající koncentraci adeninu, což se projevilo mnohem větší proudovou odezvou. Obzvláště dobře je to vidět u stříkaných elektrod s uhlíkem (Obr. 17). Na těchto elektrodách dosahoval pík přes 150 mA. U tištěných elektrod s uhlíkem byla odezva překvapivě hodně malá (Obr. 18), což je pravděpodobně způsobeno obalením aktivních částic elektrody pojivem.



Obr. 17 Závislost proudové odezvy na změně potenciálu pro stříkané elektrody s uhlíkem.

K exponenciálnímu poklesu proudové odezvy s rostoucí koncentrací adeninu docházelo z toho důvodu, že se adenin navázal na  $\text{Cu}_2\text{O}$ , vytvořil s ním těžko rozpustný komplex, čímž došlo ke snížení aktivního povrchu elektrody. Při určité koncentraci adeninu došlo k zaplnění všech volných vazeb na  $\text{Cu}_2\text{O}$  a tím došlo k zamezení další změny proudové odezvy. Dobře je to patrné například u stříkané elektrody bez uhlíku.

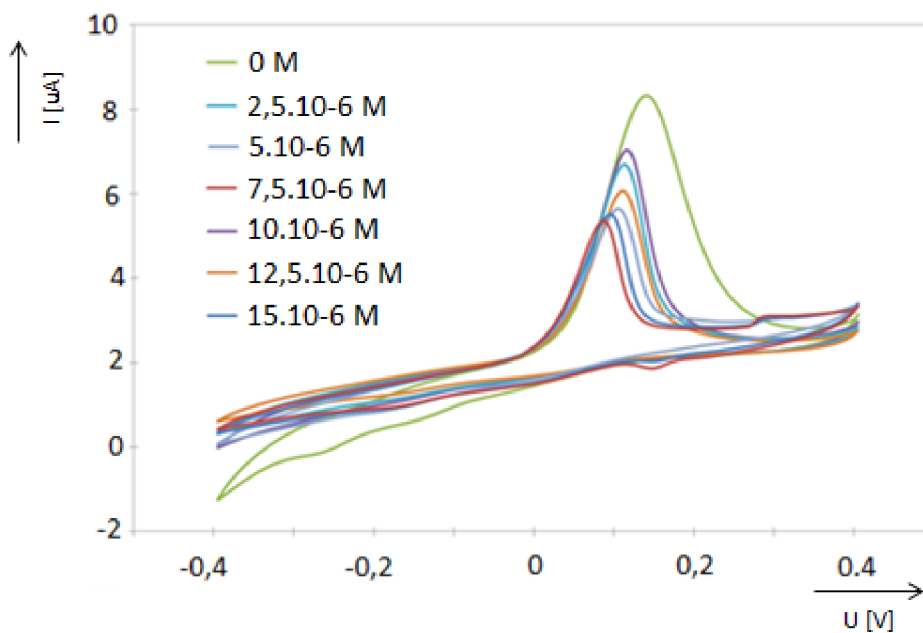




Obr. 18 Pokles proudové odezvy v závislosti na koncentraci adeninu u stříkané elektrody bez uhlíku.

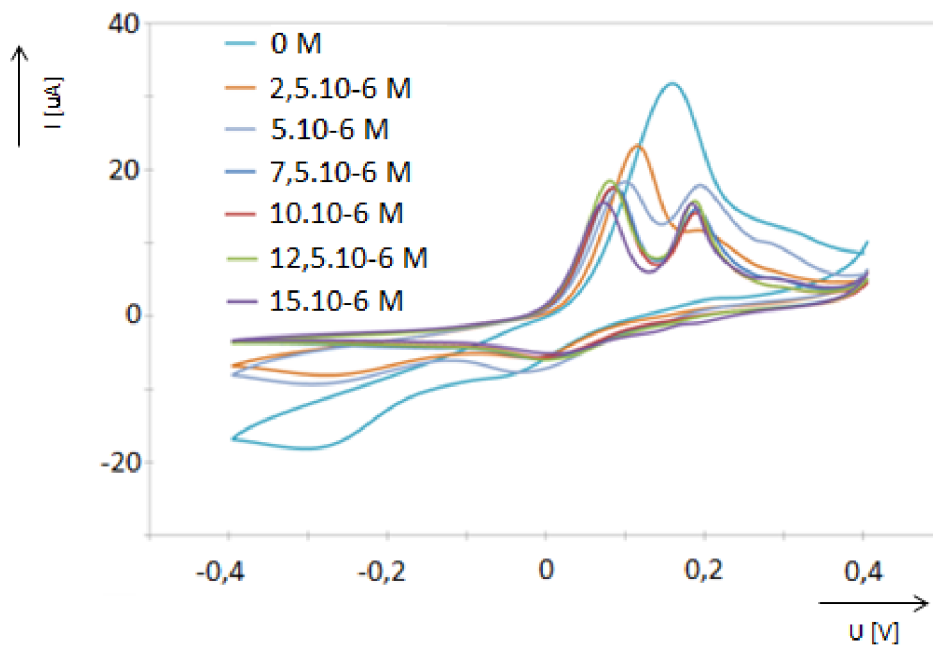
### 5.3 Detekce guaninu v acetátovém pufru

Stejně jako při detekci adeninu byla použita skenovací rychlost 100 mV/s. Při detekování guaninu byly výsledky obdobné jako u detekování adeninu. U stříkaných elektrod byla proudová odezva větší než u tištěných. Elektrody s uhlíkem měly také větší proudovou odezvu oproti elektrodám bez uhlíkového podkladu. U guaninu neplatila nepřímá úměrná závislost na koncentraci. Guanin se na povrchu  $\text{Cu}_2\text{O}$  elektrody adsorbuje, nevytváří komplex jako v případě adeninu. Už při nízké koncentraci guaninu došlo k zahlcení povrchu elektrody a zamezení další změny proudové odezvy.

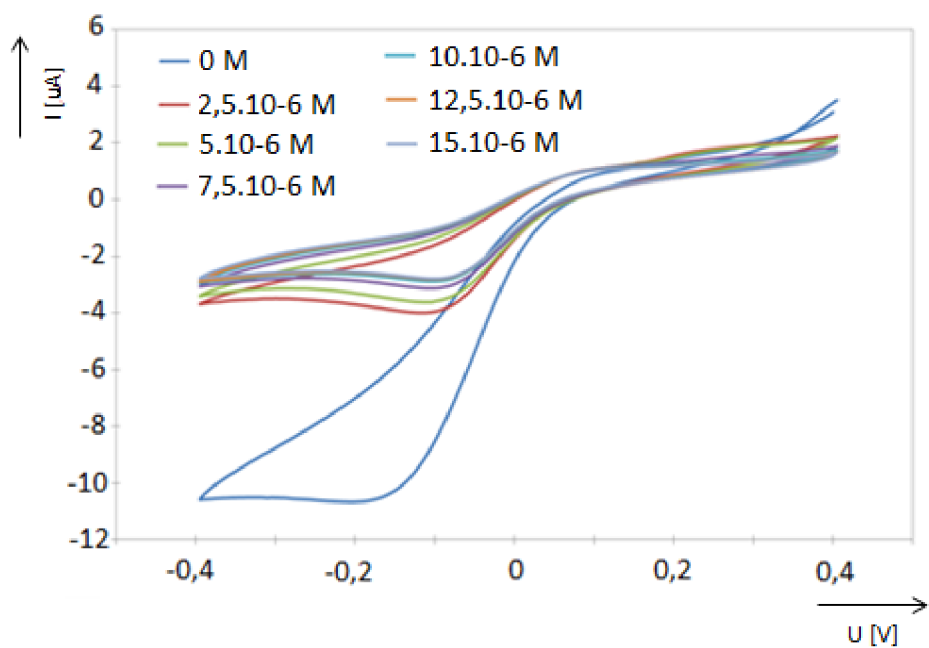


Obr. 19 Závislost proudové odezvy na koncentraci guaninu na tištěné elektrodě bez uhlíku.

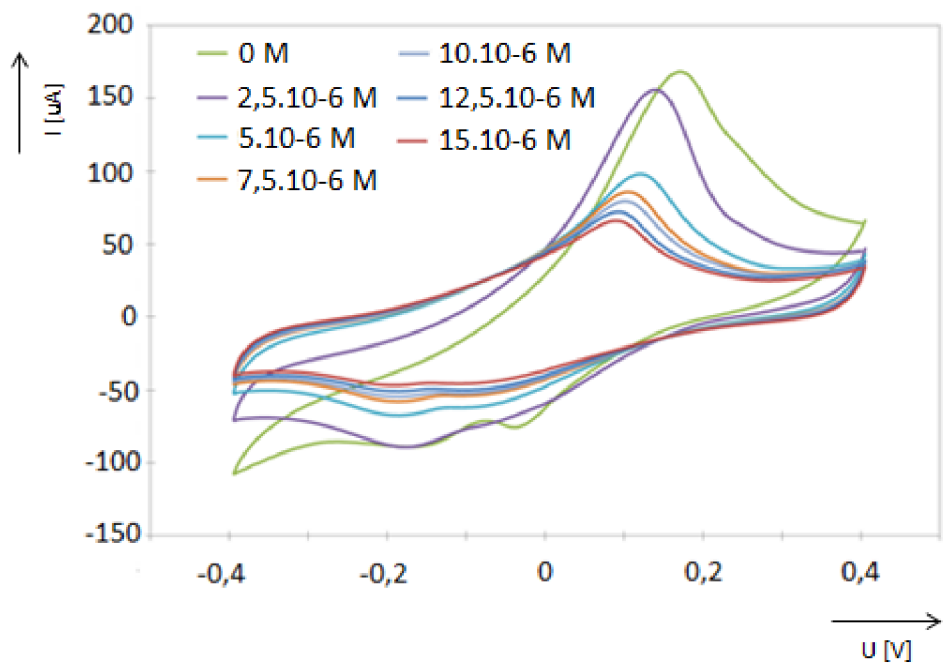
U stříkané elektrody bez uhlíku (Obr. 20) jsou vidět dva píky mědi. K tomu došlo vlivem stárnutí elektrody a oxidaci  $\text{Cu}_2\text{O}$  na  $\text{CuO}$ . Tento jev je nežádoucí.



Obr. 20 Závislost proudové odezvy na koncentraci guaninu na stříkané elektrodě bez uhlíku.



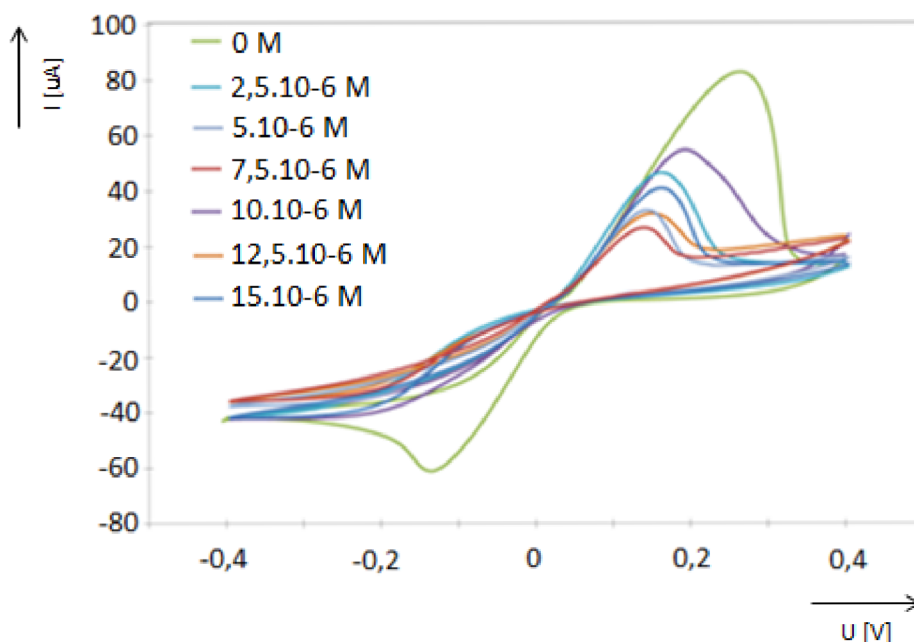
Obr. 21 Závislost proudové odezvy na koncentraci guaninu na tištěné elektrodě s uhlíkem.



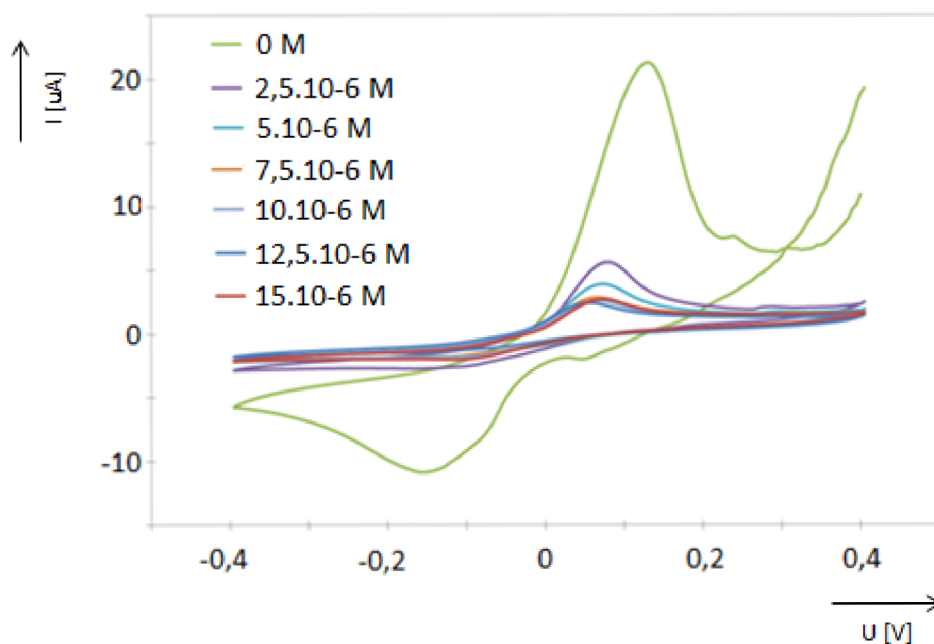
Obr. 22 Závislost proudové odezvy na koncentraci guaninu na stříkané elektrodě s uhlíkem.

## 5.4 Detekce purinů při rozdílném pH

Pro zjišťování vlivu pH na detekci purinů byl použit Britton – Robinsonův pufr o pH 3; 5 a 7. Bylo zjištěno, že se vzrůstajícím pH klesá proudová odezva. Bohužel se nepodařilo úspěšně detekovat přítomnost adeninu a guaninu v pufru, protože odezvy na různé koncentrace purinů nebyly nijak úměrné.

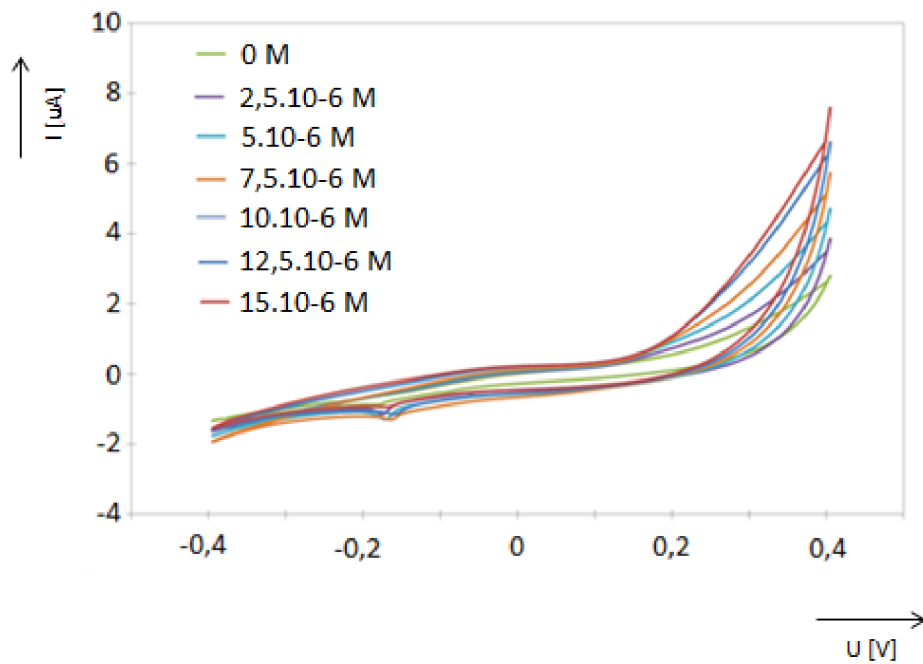


Obr. 23 Detekce purinů při pH3 pro tisknutou elektrodu s uhlíkem.



Obr. 24 Detekce purinů při pH5 pro tisknutou elektrodu s uhlíkem.

Při pH7 již nedošlo ani k růstu píku mědi, který se jinak objevoval u všech měření (Obr. 25).



Obr. 25 Detekce purinů při pH7 pro tisknutou elektrodu s uhlíkem.

## 6 Závěr

Úspěšně se podařilo vyrobit elektrody pomocí různých výrobních technik (sítotisk a stříkání). Poté byla porovnána jejich citlivost na adenin a guanin a funkčnost pomocí cyklické voltametrie.

Na většině elektrod se podařilo detekovat změnu koncentrace adeninu v acetátovém pufru. Neúspěch u některých elektrod byl zapříčiněn například nepřesnostmi během měření, možnými nečistotami v měřicí aparatuře a některé elektrody byly vadné (nebyly do měření zahrnuty).

Adenin byl detekován nepřímou metodou, kdy se vzrůstající koncentrací adeninu docházelo ke snižování proudové odezvy měděné elektrody při potenciálu 100 mV. Se vzrůstající koncentrací adeninu docházelo také k mírnému posunu píku směrem k 0 V. Stříkané elektrody měly větší proudovou odezvu, než tištěné. Větší proudovou odezvu měly také elektrody s uhlíkovým základem. Bylo to způsobeno tím, že díky vodivému uhlíku pod mědí, měla elektroda lepší vodivost. U stříkaných elektrod byla lepší proudová odezva, protože povrch těchto elektrod nebyl úplně celistvý a adenin se lépe vázal s tímto povrchem.

Guanin bylo téměř nemožné detekovat, protože se hůře váže s mědí a nedocházelo k takovému ovlivňování elektrody. K tomuto jevu docházelo, protože se guanin adsorbuje na povrchu elektrody a netvoří komplex jako v případě adeninu. Tím nedochází k zahlcování povrchu elektrody a poklesu píku mědi.

Při detekci purinů při různém pH v Britton – Robinsonově pufru, bylo zjištěno, že se vzrůstajícím pH se zlepšuje proudová odezva elektrod. Tato vlastnost se potvrdila u všech elektrod a to při detekci adeninu i guaninu.

## 7 Seznam použité literatury

- [1] SZENDIUCH, Ivan. *Http://www.umel.feec.vutbr.cz/* [online]. 2009 [cit. 2011-12-10]. Ústav mikroelektroniky VUT FEKT. Dostupné z WWW: <<http://www.umel.feec.vutbr.cz/%7Eszend/vyuka/bmts/2009-BMETS-4-tluste-vrstvy.pdf>>.
- [2] ŘEZNÍČEK, Michal; HEJÁTKOVÁ, Edita; BURŠÍK, Martin. *Https://www.vutbr.cz/elearning/course/view.php?id=111865* [online]. 2011 [cit. 2011-12-10]. BMETS - Mikroelektronika a technologie součástek . Dostupné z WWW: <<https://www.vutbr.cz/elearning/mod/resource/view.php?id=147867>>.
- [3] SZENDIUCH, Ivan. *Http://www.umel.feec.vutbr.cz/* [online]. 2009 [cit. 2011-12-10]. Ústav mikroelektroniky VUT FEKT. Dostupné z WWW: <[http://www.umel.feec.vutbr.cz/~szend/vyuka/bmts/05a\\_tluste\\_vrstvy.pdf](http://www.umel.feec.vutbr.cz/~szend/vyuka/bmts/05a_tluste_vrstvy.pdf)>.
- [4] ŠÍMA, Jan. *Jihočeská univerzita* [online]. 2010 [cit. 2011-11-23]. Elektrochemické analytické metody. Dostupné z WWW: <[http://users.prf.jcu.cz/sima/analyticka\\_chemie/elektroa.htm](http://users.prf.jcu.cz/sima/analyticka_chemie/elektroa.htm)>.
- [5] POLICKÝ, Jiří. *Využití uhlíkových nanotrubic pro realizaci elektrod tlustovrstvých senzorů*. Brno, 2010. 56 s. Diplomová práce. Vysoké učení technické.
- [6] ČÍHALÍK, Jaroslav. *3 pól* [online]. 8. duben 2005 [cit. 2011-11-23]. Polarografie. Dostupné z WWW: <<http://3pol.cz/339-polarografie>>.
- [7] *Pedagogická fakulta Univerzity Karlovy* [online]. 2010 [cit. 2011-11-23]. Katedra chemie a didaktiky chemie. Dostupné z WWW: <<http://userweb.pedf.cuni.cz/wp/kch/files/2010/10/Voltametrie.pdf>>.
- [8] CHOMOUCKÁ, Jana, PRÁŠEK, Jan, BUŠINOVÁ, Petra, TRNKOVÁ, Libuše, HUBÁLEK, Jaromír. Fabrication of copper microparticles based working electrodes for electrochemical detection of adenine. In *XI. pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - sborník příspěvků*. Brno: Mendelova Univerzita v Brně, 2011. s. 148-151. ISBN: 978-80-7375-514-0.
- [9] TRNKOVÁ, Libuše, ZERZANKOVÁ, Lenka, DYCKA, Filip, MIKELOVÁ, Radka a JELEN, František. Study of Copper and Purine-Copper Complexes on Modified Carbon Electrodes by Cyclic and Elimination Voltammetry. *Sensors*. 2008, s. 429-444. ISSN 1424-8220.

[10] CHEN, Shen-Ming a WANG, Ching-Hung. Electrocatalytic properties of guanine, adenine, guanosine-5-monophosphate, and ssDNA by Fe(II) bis(2,2':6,2'-terpyridine), Fe(II) tris(1,10-phenanthroline), and poly-Fe(II) tris(5-amino-1,10-phenanthroline). *Bioelectrochemistry*. 2007, roč. 70, č. 2, s. 452-461. ISSN 15675394. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2006.07.004.

[11] ABBASPOUR, Abdolkarim a GHAFFARINEJAD, Ali. Copper Oxide Nanoparticle Modified Sol-Gel-Derived Carbon Ceramic by Microwave Irradiation, and Its Application for Determination of Adenine at Very Low Potential. *Electroanalysis*. 2010-12-02, n/a-n/a. ISSN 10400397. DOI: 10.1002/elan.201000473.

[12] ZHANG, Xiaoyan, LIANG, Xian, XU, Mai, BAO, Xia, WANG, Fengwu a YANG, Zhousheng. Electrodeposit nano-copper oxide on glassy carbon electrode for simultaneous detection of guanine and adenine. *Journal of Applied Electrochemistry*. 2012, roč. 42, č. 6, s. 375-381. ISSN 0021-891x. DOI: 10.1007/s10800-012-0407-3.

[13] FAN, Yang, HUANG, Ke-Jing, NIU, De-Jun, YANG, Chun-Peng a JING, Qiang-Shan. TiO<sub>2</sub>-graphene nanocomposite for electrochemical sensing of adenine and guanine. *Electrochimica Acta*. Amsterdam: Elsevier, 2011, roč. 56, č. 12, s. 4685-4690. ISSN 00134686. DOI: 10.1016/j.electacta.2011.02.114.

[14] *Www.palmsens.com/* [online]. 2011 [cit. 2011-12-10]. PalmSens. Dostupné z WWW: <[http://www.palmsens.com/uploads/pics/palmsens\\_netbook\\_homepic\\_large.png](http://www.palmsens.com/uploads/pics/palmsens_netbook_homepic_large.png)>.