



УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
ТЕХНОЛОШКО – МЕТАЛУРШКИ ФАКУЛТЕТ



м-р Ива Зоки Димитриевска

**РАЗВОЈ НА ПОЛИМЕРНИ И ПОЛИМЕР-БАЗИРАНИ
КОМПОЗИТНИ ЕЛЕКТРОХЕМИСКИ СЕНЗОРИ
НАМЕНЕТИ ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И СЛЕДЕЊЕ
НА ДОКСОРУБИЦИН ВО СИМУЛИРАНА
БИОЛОШКА СРЕДИНА**

– ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА –

Скопје, 2025

Докторанд:
ИВА ЗОКИ ДИМИТРИЕВСКА

Тема:
РАЗВОЈ НА ПОЛИМЕРНИ И ПОЛИМЕР-БАЗИРАНИ КОМПОЗИТНИ
ЕЛЕКТРОХЕМИСКИ СЕНЗОРИ НАМЕНЕТИ ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И
СЛЕДЕЊЕ НА ДОКСОРУБИЦИН ВО СИМУЛИРАНА БИОЛОШКА
СРЕДИНА

Ментор

Проф. д-р Анита Грозданов, ред. проф.
Технолошко – металуршки факултет,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, С. Македонија

Комисија за одбрана

Проф. д-р Перица Пауновиќ, ред. проф., претседател
Технолошко – металуршки факултет,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, С. Македонија

Проф. д-р Анита Грозданов, ред. проф., ментор
Технолошко – металуршки факултет,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, С. Македонија

Проф. д-р Јадранка Блажевска Гилев, ред. проф., член
Технолошко – металуршки факултет,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, С. Македонија

Проф. д-р Зорица Арсова – Сарафиновска, ред. проф., член
Факултет за медицински науки,
Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип, С. Македонија

д-р Смиља Марковиќ, научен советник, член
Институт за технички науки,
Српска академија на науки и уметности, Белград, Србија

Научна област:

Полимерно инженерство (2.04.00.11)

Датум на одбрана:

На моето семејство, моето сè.
За безрезервната љубов и несебичната
поддршка во секој момент од мојот живот.

Бескрајно ве сакам, мама, тато, Лука и Ангел.

Благодарност

На мојот ментор, **проф. д-р Анита Грозданов**, за несебичното водство, континуираната поддршка и пренесеното знаење уште од почетокот на моето високо образование, до изработката на оваа докторска дисертација. Благодарам за сите вредни совети од аспект на учител и пред сè пријател, кои се од непроценливо значење за мојот научен развој. Вашата посветеност и доверба ми служат како постојан извор на мотивација.

Огромно благодарам и на **проф. д-р Перица Пауновиќ**, за целото пренесено знаење, како и сугестиите и советите во текот на сите наши истражувања. Без Вашата помош, изработката на оваа дисертација ќе беше неспоредливо потешка.

Им благодарам на **членовите на рецензентската комисија** за времето, трудот и конструктивните совети, кои придонесоа за подобрување на квалитетот на ова истражување.

На **д-р Ѓорѓи Петрушевски**, за несебично пренесеното знаење и секој стручен и пријателски совет при изработката на оваа дисертација.

Посебна благодарност им упатувам на моите драги соработници, **д-р Смиља Марковиќ, д-р Катарина Алексиќ и д-р Анцела Митровиќ Рајиќ**, за стручноста, помошта и несебичното споделување на идеи кои беа од огромно значење за унапредување на ова истражување. Вашата енергија и искрено пријателство ми помогнаа во надминување на сите препреки во текот на ова научно патување.

Најдлабока благодарност им должам на **моите родители, Зоки и Маја и мојот брат Лука**, чија љубов, трпение и верба во мене беа и остануваат мојот најголем поттик во животот. Оваа докторска дисертација е резултат на посветеноста и бескрајната поддршка на сите вас. Денес сум тоа што сум само поради вас. Ви благодарам од срце!

На **мојот партнер Ангел**, му должам неизмерна благодарност за љубовта, вербата и безуморната поддршка без која не би можела да ја замислам реализацијата на оваа докторска дисертација, ниту пак моето секојдневие. Во моменти на предизвици, ти си тој кој ми дава сила да продолжам понатаму. Без тебе, ова животно патување немаше да биде исто. Ти благодарам што постојано ме потсетуваш за убавата страна на животот.

Изјавувам дека докторскиот труд го изработив самостојно, дека уредно ги цитирам сите користени извори и литература, дека трудот не е користен во рамките на други универзитетски студии или за стекнување на друго звање и дека електронската верзија на истиот е идентична со печатената.

Ива Димитријевска, с.р.

Ива Зоки Димитријевска

РАЗВОЈ НА ПОЛИМЕРНИ И ПОЛИМЕР-БАЗИРАНИ КОМПОЗИТНИ ЕЛЕКТРОХЕМИСКИ СЕНЗОРИ НАМЕНЕТИ ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И СЛЕДЕЊЕ НА ДОКСОРУБИЦИН ВО СИМУЛИРАНА БИОЛОШКА СРЕДИНА

АПСТРАКТ

Во последната деценија, развојот и примената на полимерните нанокмозити во аналитичката електрохемија бележи значителен напредок, особено во развојот на електрохемиски сензори за детекција и мониторинг на фармацевтски супстанции. Овие сензори нудат супериорни аналитички карактеристики, едноставно производство и употреба и ниска цена на чинење. Посебно значајна е нивната примена во терапевтскиот мониторинг, каде се користат како алатка за контрола на дозата при хемотерапија, со што се подобрува ефикасноста на третманот и се намалуваат несаканите ефекти.

Истражувањето во овој докторски труд се фокусира на развој на полимерни и полимер-комозитни електрохемиски сензори базирани на печатени електроди, со посебен акцент на нивната способност за површинска модификација. За таа цел, систематски се истражени четири стратегии на модификација: со комозитно мастило базирано на синтетизиран нанохибрид, со нанесен полимер, со електрополимеризиран полимер и преку озрачување со бета-честички. Посебен акцент во истражувањето е ставен на синтезата на нанохибридниот материјал, составен од редуциран графен оксид декориран со златни наночестички, кој е искористен како активна компонента во нанокмозитното мастило. Со цел да се разберат неговите карактеристики пред примената, истиот е подложен на детална физичко-хемијска карактеризација, која вклучува рендгенска дифракција, раманска и Фуриетрансформна инфрацрвена спектроскопија, скенирачка електронска микроскопија со енергетско-дисперзивна спектроскопија, диференцијална скенирачка калориметрија и термогравиметрија/деривативна термогравиметрија.

Развиените електроди базирани на комерцијални мастила од јаглородни материјали и наноматеријали, како и благородни метали се тестирани користејќи раствор на доксорубицин во фосфатен пуфер, во опсег на концентрации од 1,5 до 22,1 $\mu\text{mol/L}$. Како техника за електрохемијска карактеризација е користена циклична волтамметрија. Ултравioletова-видлива спектроскопија е користена за следење на промените во електролитниот раствор за време на мерењата. Дополнително, направена е целосна валидација на развиените електроди и самиот аналитички метод за определување на доксорубицин.

Добиените резултати покажуваат дека модифицираните електроди имаат значително подобрен електрохемиски одговор кон доксорубицин, кој се манифестира преку зголемена чувствителност, подобрена кинетика на реакција и пониски граници на детекција и квантификација, во споредба со немодифицираните електроди. Свкупно, добиените сознанија ја потврдуваат успешноста на применетите методологии на модификација и ветуваат нивна практична примена.

Клучни зборови: *електрохемиски сензор, полимер-модифицирани електроди, печатени електроди, цитотоксични агенси, нанокмозит.*

Iva Zoki Dimitrievska

**DEVELOPMENT OF POLYMER AND POLYMER-BASED COMPOSITE
ELECTROCHEMICAL SENSORS FOR IDENTIFICATION AND MONITORING
DOXORUBICIN IN SIMULATED BIOLOGICAL ENVIRONMENT**

ABSTRACT

Over the last decade, the development and application of polymer nanocomposites in analytical electrochemistry have shown significant progress, particularly in the development of electrochemical sensors for detecting and monitoring pharmaceutical substances. These sensors offer superior analytical characteristics, simple production and use, and low cost. Their application in therapeutic drug monitoring is particularly significant, where they are used as a tool for dose control during chemotherapy, thereby improving treatment efficacy and reducing side effects.

The research in this doctoral thesis focuses on the development of polymer and polymer-composite electrochemical sensors based on screen-printed electrodes, with a special emphasis on their surface modification capability. For this purpose, four modification strategies were systematically investigated: using a composite ink based on a synthesized nanohybrid, an applied polymer layer, an electropolymerized polymer, and through beta-particle irradiation. A special emphasis of the research is placed on the synthesis of the nanohybrid material, based on reduced graphene oxide decorated with gold nanoparticles, which was subsequently used as the active component in the nanocomposite ink. To fully understand its characteristics before application, it was subjected to detailed physicochemical characterization, including X-ray diffraction, Raman and Fourier-transform infrared spectroscopy, scanning electron microscopy with energy-dispersive spectroscopy, differential scanning calorimetry, and thermogravimetric/derivative thermogravimetric analysis.

The developed electrodes based on commercial inks of carbon materials and nanomaterials, as well as noble metals, were tested using a doxorubicin solution in phosphate buffer, in a concentration range of 1.5 to 22.1 $\mu\text{mol/L}$. Cyclic voltammetry was used as the electrochemical characterization technique. Ultraviolet-visible spectroscopy was used to monitor changes in the electrolyte solution during the measurements. Additionally, a full validation of the developed electrodes and the analytical method for doxorubicin determination was performed.

The obtained results showed that the modified electrodes have a significantly improved electrochemical response towards doxorubicin, which is manifested through increased sensitivity, improved reaction kinetics, and lower limits of detection and quantification, compared to the unmodified electrodes. Overall, the obtained findings confirm the success of the applied modification methodologies and promise their practical application.

Keywords: *electrochemical sensor, polymer-modified electrodes, screen-printed electrodes, cytotoxic agents, nanocomposite.*

ПУБЛИКАЦИИ И КОНФЕРЕНЦИИ ПРОИЗЛЕЗЕНИ ОД ДОКТОРСКАТА ДИСЕРТАЦИЈА

Трудови објавени во списанија со фактор на влијание:

1. **Dimitrievska I**, Paunović P, Grozdanov A, Polymer-modified screen-printed electrode-based electrochemical sensors for doxorubicin detection, *J. Electrochem. Sci. Eng.* **15(1)** (2025) 2501, <http://dx.doi.org/10.5599/jese.2501> (IF 2.9)
2. **Dimitrievska I**, Paunović P, Grozdanov A, Electrochemical Sensors Based on Polymer-Modified Screen-Printed Graphene Electrodes for Detection of Pharmaceuticals in Aquatic Environments, *Mineral Processing and Extractive Metallurgy* (2025) <https://doi.org/10.1177/25726641251384865> (IF 1.0)
3. Paunović P, **Dimitrievska I**, Paunović M K, Mitevska M, Grozdanov A, Influence of irradiation treatment on sensing performances of screen-printed electrodes aimed for doxorubicin monitoring, *J. Electrochem. Sci. Eng.* **15(3)** (2025) 2656, <http://dx.doi.org/10.5599/jese.2656> (IF 2.9)

Трудови објавени во списанија со меѓународен уредувачки одбор:

1. **Dimitrievska I**, Aleksić K, Paunović P, Marković S, Grozdanov A, Application of a novel polymer-modified screen-printed gold electrode for detection of the anticancer drug doxorubicin, *Journal of Cancer Prevention and Current Research*, **15(6)** (2024) 130–133, <https://doi.org/10.15406/jcpcr.2024.15.00564>
2. **Dimitrievska I**, Paunovic P, Grozdanov A, Recent advancements in nanosensors for air and water pollution control, *Material Science & Engineering International Journal*, **7(2)** (2023) 113–128, <https://doi.org/10.15406/mseij.2023.07.00214>

Поглавја од книга:

1. **Dimitrievska I**, Aleksić K, Paunović P, Marković S, Grozdanov A, Polymer Nanocomposite-Based Electrochemical Sensor Aimed at Detection of Doxorubicin, *Nanotechnological Advances in Environmental, Cyber and CBRN Security, ISCME 2024, NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics. Springer* (2025) 473-479, https://doi.org/10.1007/978-94-024-2316-7_35
2. Paunović M K, **Dimitrievska I**, Grozdanov A, Paunović P, Nanosensors Based on Carbon Nanotubes for Detection of Anticancer Drug: Doxorubicin, *Nanotechnological Advances in Environmental, Cyber and CBRN Security, ISCME 2024, NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics. Springer* (2025) 495-502, https://doi.org/10.1007/978-94-024-2316-7_37
3. **Dimitrievska I**, Paunovic P, Grozdanov A, Electrochemical Sensors Based on Polymer-Modified Screen-Printed Graphene Electrodes for Detection of Pharmaceuticals in Aquatic Environments, 2nd Conference on Green Engineering, Sustainable Materials, and Technologies for Circular Economy (2025), Skopje, N. Macedonia. <https://congress.sctm.mk/event/6/book-of-abstracts.pdf>.

Трудови презентирани на конференции – усни презентации:

1. **Dimitrievska I**, Aleksić K, Paunović P, Marković S, Grozdanov A, Electrochemical sensors based on polymer/nanocomposite-modified carbon and gold screen-printed electrodes for monitoring doxorubicin, 22nd Young Researchers' Conference – Materials Science and Engineering, 4 – 6/12/2024, Belgrade, Serbia.
2. **Dimitrievska I**, Aleksić K, Paunović P, Marković S, Grozdanov A, Polymer composite-based electrochemical sensor aimed for detection of doxorubicin, NATO Advanced Study Institute, Nanotechnological Advances in Environmental, Cyber and CBRN Security, 14 – 22/09/2024, Sozopol, Bulgaria.
3. **Dimitrievska I**, Paunović P, Grozdanov A, Comparison of the electrochemical sensitivity of modified sensors based on screen-printed electrodes for real-time detection of anticancer medication, Electrochemical Sensors for the Pollutants Detection – WaPoDe Workshop, 30/05/2024, Belgrade, Serbia.
4. **Dimitrievska I**, Paunović P, Grozdanov A, Comparison of the electrochemical sensitivity of modified sensors based on screen-printed electrodes for real-time detection of doxorubicin, 9th Regional Symposium on Electrochemistry – South East Europe (RSE-SEE), 03 – 07/06/2024, Novi Sad, Serbia.
5. **Dimitrievska I**, Paunović P, Grozdanov A, Optimization of biochemical sensitivity of screen-printed electrodes for monitoring traces of anticancer drugs, 26th Congress of SCTM, 20 – 23/09/2023, Ohrid, N. Macedonia.

Трудови презентирани на конференции – постер презентации:

1. **Dimitrievska I**, Paunović P, Polymer-modified graphene screen-printed electrodes for sensitive aqueous analyte monitoring, 9th International Student Conference on Technical Sciences, 22 – 25/10/2025, Bor, Serbia.
2. **Dimitrievska I**, Aleksić K, Paunović P, Marković S, Grozdanov A, Enhanced Electrochemical Sensing of Doxorubicin Using a Polymer Nanocomposite-Modified Screen-Printed Carbon Electrode, 18th European Congress and Exhibition on Advanced Materials and Processes – FEMS EUROMAT 2025, 14 – 18/09/2025, Granada, Spain.
3. **Dimitrievska I**, Aleksić K, Paunović P, Marković S, Grozdanov A, Polymer-Modified Screen-Printed Gold Electrode for Sensitive Electrochemical Detection of Doxorubicin, 13th International Conference on Radiation, Natural Sciences, Medicine, Engineering, Technology and Ecology (RAD 2025), 16 – 20/06/2025, Herceg Novi, Montenegro, <https://doi.org/10.21175/rad.abstr.book.2025.44.4>.
4. **Dimitrievska I**, Aleksić K, Paunović P, Marković S, Grozdanov A, Electroconductive Polymer-Based Nanocomposite Ink for Enhanced Electrochemical Detection of Doxorubicin Using Modified Screen-Printed Electrodes, 13th International Conference on Radiation, Natural Sciences, Medicine, Engineering, Technology and Ecology (RAD 2025), 16 – 20/06/2025, Herceg Novi, Montenegro, <https://doi.org/10.21175/rad.abstr.book.2025.44.2>

5. **Dimitrievska I**, Paunovic P, Grozdanov A, Electrochemical Sensors Based on Polymer-Modified Screen-Printed Graphene Electrodes for Detection of Pharmaceuticals in Aquatic Environments, 2nd Conference on Green Engineering, Sustainable Materials, and Technologies for Circular Economy (GREEN CIRC '25), 22 – 25/04/2025, Skopje, N. Macedonia.
6. **Dimitrievska I**, Paunovic P, Grozdanov A, Optimization of Sensing Parameters for Detection of Doxorubicin Using Polymer-Modified Screen-Printed Electrodes, 14th Virtual Nanotechnology Poster Conference – Nanopaprika 2025, 23 – 30/04/2025
7. **Dimitrievska I**, Paunovic P, Grozdanov A, Polymer composite-based electrochemical sensor aimed for detection of Doxorubicin, NATO Advanced Study Institute, Nanotechnological Advances in Environmental, Cyber and CBRN Security, S-3, pg. 41, 14 – 22/09/2024, Sozopol, Bulgaria.
8. Paunović M K, Grozdanov A, **Dimitrievska I**, Paunović P, Nanosensors based on carbon nanotubes for detection of anticancer drug – doxorubicin, NATO Advanced Study Institute, Nanotechnological Advances in Environmental, Cyber and CBRN Security, pg. 74, 14 – 22/09/2024, Sozopol, Bulgaria.
9. Paunović P, Grozdanov A, **Dimitrievska I**, Paunović M K, Mitevska M, Irradiation treatment on sensing performances of screen-printed electrodes aimed for monitoring of anticancer drug – Doxorubicin, NATO Advanced Study Institute, Nanotechnological Advances in Environmental, Cyber and CBRN Security, pg. 11, 14 – 22/09/2024, Sozopol, Bulgaria.
10. Paunović P, Grozdanov A, **Dimitrievska I**, Paunović K M, Mitevska M, Irradiation Treatment on Sensing Performances of Screen-Printed Electrodes Aimed for Monitoring of Anticancer Drug – Doxorubicin, Sofia Electrochemical Days 2024, 02 – 06/07/2024, Varna, Bulgaria.
11. Grozdanov A, Paunovikj P, **Dimitrievska I**, Comparison of SPEs sensors based on various carbon nanostructure for monitoring of anticancer doxorubicin, NANOTECHNOLOGY 2024, 02 – 05/07/2024, Thessaloniki, Greece.
12. **Dimitrievska I**, Paunovic P, Grozdanov A, Synthesis of a Highly Effective rGO/Au NPs Nanocomposite for Advanced Electrochemical Sensor Application, NP2024-004, Online Conference “Nanopaprika”, 15 – 21/04/2024.
13. **Dimitrievska I**, Paunovikj P, Grozdanov A, Comprehensive structural analysis of gamma irradiated carbon nanomaterials, PSSE P–1, 26th Congress of SCTM, 20 – 23/09/2023, Ohrid, N. Macedonia.
14. **Dimitrievska I**, Endekovska M, Paunovikj P, Grozdanov A, Graphene-based biosensor for detection of anticancer agent Doxorubicin within a simulated biological matrix, PSSE P–16, 26th Congress of SCTM, 20 – 23/09/2023, Ohrid, N. Macedonia.
15. Grozdanov A, Paunovic P, **Dimitrievska I**, Keller K, Greco F, Electrochemical monitoring of anticancer drug Doxorubicin, NN23-P2–11, 20th International Conference on Nanosciences & Nanotechnologies, 4 – 7/7/2023, Thessaloniki, Greece.

НАУЧНИ ПРЕСТОИ РЕАЛИЗИРАНИ ЗА ВРЕМЕ НА ДОКТОРСКИТЕ СТУДИИ

- 27.05.2024 – 08.06.2024 – Научна мобилност на Институтот за технички науки при Српската академија на науките и уметностите (ITS SASA), Белград, Србија. Научниот престој е финансиран од Western Balkan Fund.
- 01.10.2023 – 01.12.2023 – Гостински докторанд на Универзитетот Кранфилд, Факултет за вода, енергија и животна средина, Кранфилд, Обединето Кралство. Научниот престој е финансиран од British Scholarship Trust. Област на истражување: Дизајн и оптимизација на биосензори за детекција на антиканцерогени лекови во биолошка матрица.

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ

Кратенка	Англиски назив	Опис
SPE	<i>Screen-Printed Electrodes</i>	Печатени електроди
CNT	<i>Carbon Nanotubes</i>	Јаглеродни наноцевки
GO	<i>Graphene Oxide</i>	Графен оксид
rGO	<i>Reduced Graphene Oxide</i>	Редуциран графен оксид
Au	<i>Gold</i>	Злато
Pt	<i>Platinum</i>	Платина
CH	<i>Chitosan</i>	Хитозан
PVDF	<i>Polyvinylidene fluoride</i>	Поли(винилиден флуорид)
PANI	<i>Polyaniline</i>	Поли(анилин)
PEDOT	<i>Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)</i>	Поли(3,4-етилендиокситиофен)
PSS	<i>Polystyrenesulfonate</i>	Поли(стирен сулфонат)
Au NPs	<i>Gold (Au) nanoparticles</i>	Златни наночестички
DOX	<i>Doxorubicin</i>	Доксорубицин
WE	<i>Working electrode</i>	Работна електрода
RE	<i>Reference electrode</i>	Референтна електрода
CE	<i>Counter electrode</i>	Спротивна електрода
CV	<i>Cyclic voltammetry</i>	Циклична волтамметрија
Ag/AgCl	<i>Silver/Silver chloride</i>	Сребро/Сребро хлорид
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>	Дезоксирибонуклеинска киселина
SAM	<i>Self-assembled monolayer</i>	Самоорганизирање на монослоев
CHF	<i>Congestive heart failure</i>	Конгестивна срцева слабост
HPLC	<i>Highly efficient liquid chromatography</i>	Високофикасна течна хроматографија
LC-MS	<i>Liquid chromatography – mass spectrometry</i>	Течна хроматографија спрегната со масена спектрометрија
UV-Vis	<i>Ultraviolet – Visible Spectroscopy</i>	Ултравioletово-видлива спектроскопија
G	<i>Graphene</i>	Графен
C	<i>Carbon Paste</i>	Јаглеродна паста
Au BT	<i>High Porosity Gold</i>	Злато со висока порозност
Au AT	<i>Low Porosity Gold</i>	Злато со ниска порозност
DPV	<i>Differential Pulse Voltammetry</i>	Диференцијална пулсна волтамметрија
DAS	<i>Dasatinib</i>	Дасатиниб
MEX	<i>Methotrexate</i>	Метотрексат
SMV	<i>Simvastatin</i>	Симвастатин
EPI	<i>Epirubicin</i>	Епирубицин
IDA	<i>Idarubicin</i>	Идарубицин
DA	<i>Daunorubicin</i>	Даунорубицин
PTFE	<i>Polytetrafluoroethylene</i>	Поли(тетрафлуороетилен)
SWCNTs	<i>Single-walled carbon nanotubes</i>	Едноѕидни јаглеродни наноцевки
MWCNTs	<i>Multi-walled carbon nanotubes</i>	Повеќесидни јаглеродни наноцевки
HOPG	<i>Highly ordered pyrolytic graphite</i>	Високо ориентиран пиролизички графит
AgNPs	<i>Silver nanoparticles</i>	Сребрени наночестички
PAA	<i>Polyacrylic acid</i>	Поли(акрилна киселина)
GCE	<i>Glassy Carbon Electrode</i>	Стаклеста јаглеродна електрода
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>	Фуриетрансформна инфрацрвена спектроскопија
XRPD	<i>X-ray powder diffraction</i>	Рендгенска дифракција
DSC	<i>Differential scanning calorimetry</i>	Диференцијална скенирачка калориметрија
TG	<i>Thermogravimetry</i>	Термогравиметрија
DTA	<i>Derivative thermogravimetry</i>	Деривативна термогравиметрија

СОДРЖИНА

ЛИСТА НА КРАТЕНКИ.....	xii
ВОВЕД.....	1
ТЕОРЕТСКИ ДЕЛ.....	3
1. ПЕЧАТЕНИ ЕЛЕКТРОДИ.....	3
1.1. Принципи и примена.....	3
1.2. Производство на SPE.....	5
1.3. Избор на мастила.....	6
1.4. Примена на SPE во фармацевтската анализа.....	10
1.5. Потреба од сензори базирани на печатени електроди.....	11
2. ПРЕГЛЕД НА ДОСТИГНУВАЊАТА ВО ОБЛАСТА НА ДИЗАЈН НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКИ СЕНЗОРИ ЗА ДЕТЕКЦИЈА И МОНИТОРИНГ НА ДОКСОРУБИЦИН.....	13
3. МАТЕРИЈАЛИ ЗА ПЕЧАТЕНИ ЕЛЕКТРОДИ.....	22
3.1. Вовед во материјали за печатени електроди.....	22
3.2. Јаглеродни материјали и нивни модификации.....	23
3.2.1. Графен.....	23
3.2.2. Графен оксид.....	25
3.2.3. Редуциран графен оксид.....	26
3.2.4. Јаглеродни наноцевки.....	27
3.2.5. Графит.....	29
3.3. Метални материјали.....	31
3.3.1. Злато и златни наночестички.....	31
3.4. Полимерни материјали.....	32
3.4.1. Поли(анилин).....	33
3.4.2. Поли(3,4-етилендиокситиофен):поли(стирен сулфонат).....	35
3.4.3. Поли(винилиден флуорид).....	38
3.4.4. Хитозан.....	40
3.4.5. Нафион.....	41
3.4.6. Поли(акрилна киселина).....	43
4. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО.....	45
5. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ.....	46
5.1. Синтеза на нанохибриден материјал базиран на редуциран графен оксид и златни наночестички.....	46
5.1.1. Користени материјали.....	46
5.1.2. Метод на подготовка.....	46
5.1.3. Методи на испитување и инструментални параметри.....	47
5.1.3.1. Рендгенска дифракција од прашок (XRPD).....	47
5.1.3.2. Раманска спектроскопија (Raman).....	48
5.1.3.3. Фуриетрансформна инфрацрвена спектроскопија (FTIR).....	48
5.1.3.4. Скенирачка електронска микроскопија со енергетско- дисперзивна спектроскопија (SEM-EDS).....	49

5.1.3.5.	Диференцијална скенирачка калориметрија (DSC).....	49
5.1.3.6.	Термогравиметрија/деривативна термогравиметрија (TG/DTG).....	49
5.2.1.	Електроспроводно мастило базирано на rGO/AuNPs и модификација на електроди.....	50
5.2.1.1.	Користени материјали	50
5.2.1.2.	Метод на подготовка	50
5.2.1.3.	Модификација на електроди со електроспроводно мастило базирано на rGO/AuNPs	51
5.2.2.	Полимерна модификација на електроди преку метод на капка	52
5.2.2.1.	Користени материјали	52
5.2.2.2.	Метод на подготовка	52
5.2.2.3.	Модификација на електроди со полимери преку метод на капка.....	52
5.2.2.4.	Методи на испитување и инструментални параметри	53
5.2.2.4.1.	Скенирачка електронска микроскопија (SEM)	53
5.2.3.	Полимер и полимер-композитна модификација на електроди преку електрохемиска полимеризација на анилин	54
5.2.3.1.	Користени материјали	54
5.2.3.2.	Метод на подготовка	54
5.2.3.3.	Припрема за електрополимеризација – електрохемиско плакнење на електроди со циклична волтаметрија	55
5.2.3.4.	Електрохемиска полимеризација и инструментални параметри	55
5.2.4.	Модификација на електроди преку озрачување со бета-честички	58
5.2.4.1.	Користени материјали	58
5.2.4.2.	Метод на подготовка	58
5.2.4.3.	Бета-честички	59
5.2.4.4.	Методи на испитување и инструментални параметри	60
5.2.4.4.1.	Скенирачка електронска микроскопија (SEM)	60
5.3.	Евалуација и оптимизација на електроаналитичките карактеристики на модифицираните сензори	60
5.3.1.	Користени материјали и метод на подготовка.....	60
5.3.2.	Спектрална карактеризација на електролит.....	62
5.3.2.1.	Ултравioletова-видлива спектроскопија (UV-Vis)	62
5.3.3.	Електрохемиска евалуација и инструментални параметри	63
5.3.4.	Статистичка анализа.....	69
5.3.5.	Валидациони параметри и експериментални услови	71
6.	РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	76
6.1.	Физичко-хемиска карактеризација на синтетизиран нанохибриден материјал базиран на редуциран графен оксид и златни наночестички.....	76
6.1.1.	Рендгенска дифракција од прашок (XRPD).....	76
6.1.2.	Раманска спектроскопија (Raman)	78
6.1.3.	Фуриетрансформна инфрацрвена спектроскопија (FTIR).....	82
6.1.4.	Диференцијална скенирачка калориметрија (DSC)	90

6.1.5.	Термогравиметрија/деривативна термогравиметрија (TG/DTG).....	92
6.2.	Електрохемиска карактеризација на електродни системи за детекција на доксорубин	96
6.2.1.	Електрохемиска карактеризација на електроди модифицирани со композитно мастило (КМ)	96
6.2.1.1.	Споредбена анализа на КМ јаглеродни електроди со циклична волтамметрија.....	96
6.2.1.1.1.	Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на јаглеродна КМ електрода.....	98
6.2.1.1.2.	Механизам на електрохемиска реакција.....	100
6.2.1.1.3.	Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција	100
6.2.1.1.4.	Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина	102
6.2.1.1.5.	Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој	103
6.2.1.2.1.	Квантитативна анализа и определување на аналитички перформанси на златна КМ електрода.....	105
6.2.1.2.2.	Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција	106
6.2.1.2.3.	Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина	107
6.2.1.2.4.	Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој	108
6.2.1.3.	Споредбена анализа со традиционална електрода од стаклест јаглерод (GCE).....	108
6.2.2.	Електрохемиска карактеризација на електроди модифицирани со полимерно мастило (ПМ)	109
6.2.2.1	Споредбена анализа на ПМ графенски електроди со циклична волтамметрија.....	110
6.2.2.1.1.	Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на графенски ПМ електроди.....	110
6.2.2.1.2.	Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција	111
6.2.2.1.3.	Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина	112
6.2.2.1.4.	Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој	113
6.2.2.2.	Споредбена анализа на ПМ електроди од јаглеродни наноцевки со циклична волтамметрија.....	115
6.2.2.2.1.	Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на ПМ електроди од јаглеродни наноцевки	116
6.2.2.2.2.	Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција	117
6.2.2.2.3.	Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина	117
6.2.2.2.4.	Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој	118
6.2.2.3.	Споредбена анализа на ПМ поли(анилин)ски електроди со циклична волтамметрија	119
6.2.2.3.1.	Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на ПМ поли(анилин)ски електроди.....	119
6.2.2.3.2.	Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција	120
6.2.2.3.3.	Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина	120

6.2.2.3.4.	Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој	121
6.2.3.	Електрохемиска карактеризација на електроди модифицирани со електрополимеризација (ЕП) 122	
6.2.3.1.	Синтеза и карактеризација на електрополимеризираниот филм	122
6.2.3.2.	Евалуација на ЕП електроди за детекција на доксорубицин.....	125
6.2.4.	Електрохемиска карактеризација на електроди модифицирани преку озрачување со бета честички (ОЕ)	125
6.2.4.1.	Споредбена анализа на PANI/Carbon OE електроди со циклична волтаметрија ...	125
6.2.4.1.1.	Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на OE PANI/Carbon електроди.....	126
6.2.4.1.2.	Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција	127
6.2.4.1.3.	Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина	127
6.2.4.1.4.	Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој	128
6.2.4.2.	Споредбена анализа на CNT/Carbon OE електроди со циклична волтаметрија	129
6.2.4.2.1.	Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на OE CNT/Carbon електроди.....	129
6.2.4.2.2.	Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција	130
6.2.4.2.3.	Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина	130
6.2.4.2.4.	Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој	131
6.2.5.	Заклучок од резултатите добиени при електрохемиската карактеризација на електродите	132
6.4.	Компаративна валидација на најперспективните сензорски системи.....	135
6.4.2.	Споредбена анализа на точноста на електродите.....	135
6.4.3.	Споредбена анализа на прецизноста на електродите.....	136
6.4.3.1.	Повторливост (интра-дневна прецизност)	136
6.4.3.2.	Прецизност на метода.....	136
6.4.3.3.	Интермедиерна прецизност	137
6.4.3.4.	Репродуцибилност	137
6.4.4.	Споредбена анализа на стабилноста на електродите	138
6.4.5.	Робустност на електродите	139
6.4.6.	Селективност на електродите.....	139
ЗАКЛУЧОК		141
КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА		146

ВОВЕД

Минијатуризацијата денес, несомнено претставува тренд во аналитичката хемија, а производството на печатени електроди со мали димензии се јавува како атрактивен одговор на оваа побарувачка. Во последните две децении, методите и технологиите за производство на компактни електрохемиски сензори бележат брз развој, при што особено внимание привлекуваат сензорите базирани на печатени електроди. Овие сензори предизвикуваат сè поголем интерес кај истражувачите поради нивната разновидна примена во детекцијата на таргетирани супстанции. Покрај примената во електрохемиските сензори, печатените електроди наоѓаат широка употреба и во други електронски апликации, како што се уреди за складирање и конверзија на енергија, електронски екрани и паметни електронски уреди. Технологијата за добивање на интегрирани печатени електроди најчесто опфаќа техники за производство како што се инк-џет (*англ. „ink-jet”*), тродимензионално (3D) и ситопечатење (*англ. „screen-printing”*). Напредокот во технологијата на електрохемиските сензори овозможува замена на традиционалните некомпактни цврсти електроди со печатени електродни сензори кои имаат предности како што се брза детекција, ниска цена, многу поголема флексибилност и лесна приспособливост на моменталните услови [1].

Ситопечатените електроди (*англ. „screen-printed electrodes”, SPE*) во последниве години широко се користат за развој на нови електрохемиски сензорски платформи и подобрување на веќе постоечките карактеристики. Главната предност поврзана со минијатуризацијата на електрохемиските сензори е намалувањето на потребниот волумен на примерокот до неколку микролитри, што значително ја олеснува анализата и помага во намалувањето на големината на системот во кој ќе се интегрира уредот. Дополнително, малата големина на електродите и уредите овозможува едноставно поврзување со преносливи инструменти кои пак овозможуваат чувствително и директно одредување на аналитите од интерес.

Наносензорите претставуваат важна класа на електрохемиски сензори кај кои работната електрода е изработена од мастило добиено од наноматеријали. Електрохемиските наносензорски уреди нудат бројни предности во однос на традиционалните сензори, вклучувајќи зголемена чувствителност, селективност и брзина на одговор. Благодарение на брзиот развој на наноматеријалите, од јаглеродните наноматеријали, па сè до металните нанокмозити, електрохемиските својства на SPE континуирано се подобруваат, истовремено проширувајќи го опусот на нивната практична примена. Дополнително, површината на работната електрода може да се модифицира со различни функционални материјали, како што се полимери, биорецептори, метални наночестички или ензими, со што се овозможува уште поголемо подобрување на нејзината селективност, стабилност и чувствителност. Оваа модификација овозможува детекција на широк спектар на аналити, вклучително и биомаркери, лекови, токсини и други значајни соединенија, при што се зголемува потенцијалот за нивна примена во медицинската дијагностика, фармацијата, безбедноста на храната и животната средина.

Една од најзначајните области на примена на наносензорите е биомедицината, каде што тие се користат за детекција на различни биомаркери, патогени и лекови, како што се хемотерапевтските агенси, во биолошки примероци (крв и урина). Високата чувствителност на наносензорите овозможува детекција на многу ниски концентрации на целните аналити, што е од клучно значење за рана дијагностика на болести и следење на терапевтскиот одговор. Покрај тоа, малите димензии на овие сензори овозможуваат нивна имплантација или интеграција во преносливи медицински уреди за континуиран мониторинг на здравствената состојба на пациентите.

Наносензорите имаат големо значење и во мониторингот и заштитата на животната средина. Тие се користат за детекција и следење на загадувачи, токсини и други штетни супстанции присутни во воздухот, водата и почвата. Високата чувствителност на наносензорите и нивната способност за работа во сурови услови ги прави идеални за употреба на терен и за далечински мониторинг на параметрите на животната средина. Со нивно вградување во безжични сензорски мрежи, возможно е да се развијат сеопфатни системи за следење на квалитетот на животната средина во реално време.

Во прехранбената индустрија, наносензорите наоѓаат примена во детекцијата на патогени микроорганизми, токсини и хемиски супстанции во храната. Брзата детекција на овие супстанции е од клучно значење за обезбедување на безбедноста на храната и спречување на појава на болести предизвикани од храна. Наносензорите нудат потенцијал за развој на преносливи и лесни за користење уреди за тестирање на храна, кои можат да се применуваат во различни фази од ланецот на снабдување со храна.

Дополнително, овие сензори имаат значајна улога и во фармацевтската индустрија, каде што се користат за анализа на квалитетот и чистотата на фармацевтските суровини и производи, како и за следење на процесот на развој на лекови. Високата чувствителност на наносензорите овозможува детекција на многу мали количини на онечистувања или деградациони продукти, што е од суштинско значење за развој и производство на безбедни и ефикасни лекови.

Оваа докторска дисертација е насочена кон систематски развој и оптимизација на едноставни и ефективни електрохемиски сензори за анализа на доксорубин. Целокупното истражување е структурирано редоследно, од синтеза на нови материјали до нивна финална валидација како сензорски уреди.

Примарниот фокус на истражувањето е ставен на површинската модификација на комерцијално достапни ситопечатени електроди. За таа цел, применети и евалуирани се четири различни стратегии на модификација: нанесување на нанокмпозитно мастило, нанесување на полимерен слој со метод на капка, *in situ* електрополимеризација на спроводлив полимер, и озрачување на површината со бета-честички.

Како основни платформи за овие модификации, користен е широк спектар на печатени електроди, базирани на јаглерод, злато, платина, графен, јаглеродни нанотруби и поли(анилин). Посебен акцент во истражувањето е ставен на синтезата на нов нанохибриден материјал, составен од редуциран графен оксид декориран со златни наночестички. Овој новосинтетизиран материјал, кој служи како клучна компонента во нанокмпозитното мастило, е подложен на детална физичко-хемиска карактеризација со цел целосно да се разберат неговите структурни, морфолошки и термички својства. За останатите стратегии на модификација, користени се различни функционални полимери, вклучувајќи поли(винилиден флуорид), хитозан, поли(анилин), поли(акрилна киселина), како и кополимер поли(3,4-етилendioксифен):поли(стирен сулфонат).

По подготовката на модифицираните системи, спроведена е детална електрохемиска евалуација со помош на циклична волтаметрија, при што се определени и споредени клучните карактеристики и параметри на електродите.

Финално, врз основа на направената компаративна анализа, селектирани се најперспективните кандидати од секоја група и истите се подложени на аналитичка валидација.

Овој редоследен пристап овозможува не само развој на ефикасни сензори, туку и разбирање на врска помеѓу стратегијата на модификација, карактеристиките на материјалот и финалните аналитички карактеристики, со што се поставува цврста основа за нивна идна практична примена.

ТЕОРЕТСКИ ДЕЛ

1. ПЕЧАТЕНИ ЕЛЕКТРОДИ

1.1. Принципи и примена

Интересот за изработка на електрохемиски сензори со висока чувствителност, селективност и ефикасност брзо расте. Причината за ова е нивната широка примена во најразлични индустрии. Во моментов, многу аналитички инструменти кои се користат во лабораториите за животна средина, храна, фармацевтски или клинички лаборатории, како и повеќето комерцијални уреди за секојдневна грижа на пациентите работат со помош на електрохемиски сензори, интегрирани во целината на уредот. Технологијата на печатење на електроди стекнува значајно признание и комерцијален успех со развојот на биосензорот за детекција на гликоза во крв [2]. Во почетокот на 2000-тите, комерцијализацијата на уреди базирани на SPE значително се проширува и во мониторингот на животната средина, безбедност на храната и здравствената заштита [3]. Достапноста, преносливоста и лесното масовно производство ги прават SPE исклучително привлечни за разновидни примени, вклучувајќи фармацевтска и биолошка анализа [4]. Оттогаш, SPE успешно се применуваат за *in situ* детекција и следење на различни аналити во широк спектар на матрици, овозможувајќи детекција на фармацевтски супстанции и други биомолекули [5].

Електрохемиските анализи на фармацевтските соединенија првично биле изведувани со користење на електроди базирани на жива, кои постепено биле заменети со графитни и метални макроелектроди [6]. Денес, макроелектродите најчесто се изработуваат од високо подреден пиролитички графит, стаклест јаглерод и дијамант допингуван со бор. Електродите можат да се користат како немодифицирани или површински модифицирани со електрокаталитички честички или микро и наноматеријали [7–11]. Поради ова, истражувачите постојано развиваат нови електродни материјали кои се користат за подобрување на чувствителноста и селективноста на електрохемиските методи. Но, покрај овој пристап кој подразбира детално истражување на составот на електродите, често се применува и друг пристап кој вклучува промена на геометрискиот облик на супстратите на макроелектродите, како што е намалување на големината, добивајќи микро или наноелектроди. Поради физичката модификација, процесите на транспорт на маса се менуваат од линеарна/планарна до конвергентна/радијална дифузија, што резултира со значителни подобрувања на електроаналитичкиот сигнал [8,12,13]. Сите овие истражувања заеднички придонесуваат кон развој на сензори базирани на печатени електроди наменети за детекција и мониторинг на различни соединенија во широк спектар на матрици на примероци.

Печатените електроди (SPE) претставуваат алатки кои се препознаени како ефективни платформи во дизајнот и конструкцијата на електрохемиските и електроаналитичките сензори. Вака конструираните сензори нудат бројни предности, вклучувајќи брза и сигурна анализа, висока чувствителност, добра селективност, едноставна употреба, минијатурни димензии, униформност, преносливост и најважната нивна карактеристика – економичност [5]. Концептот на печатење на електроди се јавува како одговор на потребата од помали и поевтини електрохемиски сензори, а нивната примена резултира во добивање на подостапни и попрактични уреди кои поради преносливоста можат да најдат примена во најразлични области. Овие електроди се изработуваат со печатење на различни електропроводливи мастила врз хемиски инертен супстрат т.е. пластична или керамичка подлога. SPE се состојат од три или повеќе електроди, односно работна електрода (англ. „*working electrode*”, WE), референтна електрода (англ. „*reference electrode*”, RE) и спротивна електрода (англ. „*counter electrode*”, CE) кои се печатат преку методологијата на ситопечат (Сл. 1).



Слика 1. Составни компоненти на триелектродна SPE

Поради едноставноста, електрохемискиот механизам на пренос на сигнал добива големо признание во однос на другите механизми и широко се применува во бројни уреди со ниска цена [13]. Главни електрохемиски уреди се амперометриските, потенциометриските и кондуктометриските сензори. Амперометриските сензори често се применуваат при конструкцијата на уреди базирани на SPE за анализа на фармацевтски соединенија [6]. Фармацевтските соединенија можат да се оксидираат или редуцираат на површината на WE при различни потенцијали. На редокс потенцијалот, јоните се ослободуваат или адсорбираат на интерактивниот интерфејс течност-цврста фаза, што резултира со пренос на електрони кон или од електродите и аналитот. Преносот на електрони предизвикува проток на електрична струја помеѓу WE и CE во системот на електролитичката ќелија, создавајќи мерлив електричен сигнал кој може да се манифестира како промена во струјата или потенцијалот. Овој одговор е право пропорционален со концентрацијата на соединението во примерокот и често се анализира со помош на циклична волтамметрија (англ. „cyclic voltammetry”, CV) [14].

Димензиите на една SPE приближно изнесуваат $3 \times 1 \times 0,05$ cm, каде работната електрода е со дијаметар од 4 mm. Сепак, SPE може да има различен број на електроди, од само една до цела низа на WE отпечатени на ист супстрат, па така формите и димензиите можат значително да се разликуваат, како што е прикажано на Сл. 2. [15]. Понатаму, во конструкцијата на уредите базирани на SPE може да се користат различни супстрати за да се подобри нивната повторливост, стабилност, можноста за отстранување по употреба и погодноста за масовно производство. Изминативе неколку децении бележат развој во областа на SPE проследен со значајни подобрувања кои главно се фокусирани на масилата за печатење и нивниот формат [7,16].



Слика 2. Конфигурации на SPE со различен број работни електроди.

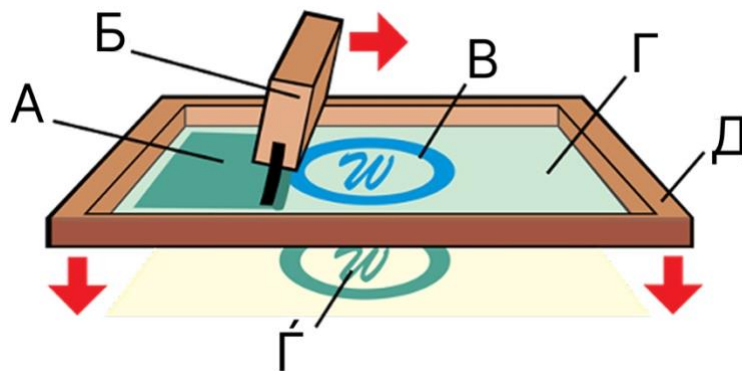
Дополнително, широкиот опсег на модификации на SPE отвора бројни полиња на примена [17]. Електрохемиските сензори базирани на SPE може да се сметаат за корисни

алатки за аналитичката детекција на фармацевтски сировини и производи во широк спектар на примероци, обезбедувајќи важни предности, вклучувајќи едноставна подготовка на примероци, ниски граници на детекција, едноставност, ниска цена, преносливост и потенцијал за минијатуризација [18].

1.2. Производство на SPE

Производството на SPE ја користи технологијата на ситопечат, која се состои од нанесување на различни мастила во слоеви врз цврст супстрат. Развојот на успешен сензор базиран на SPE вклучува печатење и модификација на површината на SPE. Технологијата на ситопечат има бројни предности, вклучувајќи флексибилност во дизајнот, можност за автоматизација на процесот и одлична повторливост. Понатаму, составот на различните мастила кои се користат за печатење на електродите може да се избере во согласност со саканата примена [19]. Така, може да се користи широк спектар на материјали, што резултира во исклучително разновидни уреди кои можат да се применат за таргетирана детекција на аналитите од интерес.

Производството на SPE се одвива низ серија фази, кои вклучуваат избор на шаблон, што ќе ги дефинира геометријата и големината на SPE, избор и подготовка на мастило, избор на материјал за супстрат, печатење и финално, сушење и вцврстување.



Слика 3. Технологија на ситопечат: А – мастило; Б – валјак; В – отвор на шаблонот; Г – шаблон; Д – рамка; Г̃ – печат

Технологијата на ситопечат, детално прикажана на Сл. 3, вклучува излевање на тиксотропна* течност преку печатарска форма (шаблон) која ја дефинира формата и големината на саканата електрода. Шаблонот преставува фина мрежеста ткаенина или сито која го блокира или пропушта мастилото во зависност од позицијата на предвидените отвори. Врз шаблонот се движи валјак кој го притиска и промовира минувањето на мастилото низ отворите на шаблонот [20]. За печатење на различните делови на електродата обично се подготвуваат и користат серија на шаблони (Сл. 4). Мастилата што се применуваат во производството на SPE покажуваат висок вискозитет (од 3 – 10 Pa s) и, меѓу печатењето на два различни слоја на мастило врз супстратот, мастилата треба да се исушат и стврднат преку термички третман. На самиот крај од печатењето, се користи заштитен слој од неспроводливо полимерно мастило со цел физичко изолирање на електродите кои се отпечатени на супстратот [20,21].

* Тиксотропија – појава кога некои колоидни системи при мирување преминуваат во цврста состојба (гелираат), а при употреба на механички дејства (мешање, тресење) повторно се втечуваат.



Слика 4. Технологија на печатење електроди со ситопечат.

1.3. Избор на мастила

Мастилата кои се користат за печатење на електродите можат да се синтетизираат со различен состав и под различни услови, што овозможува голема флексибилност и разновидност на SPE за практична примена [22]. При производството на работната електрода (WE), најчесто користени се мастила базирани на јаглерод или модификации на јаглерод, како што се графен, графит, фулерен и јаглеродни нанотевки. Покрај овие материјали, често се користат и мастила од злато или платина. Површината на WE понатаму може да се модифицира за да се подобри детекцијата на специфични соединенија. Најчесто користен материјал за производството на референтната електрода (RE) преставува сребро/сребро хлоридот (Ag/AgCl), во комбинација со сребро и јаглерод како материјали за печатење на останатите две електроди [23]. Оваа електрода преставува еколошка замена на традиционалната заситена каломелова електрода. Што се однесува до спротивната електрода (CE), таа може да се произведе од истиот материјал како WE или алтернативно може да се користи надворешна платинска жица. Дополнително, мастилата може да се печатат на различни видови цврсти површини, кои се изработени од изолациски материјал како пластика, керамика, поли(етилен терефталат), филм базиран на поли(стирен), алуминиум оксид, стакло, најлон, композит базиран на алуминиум оксид, поли(естер)ска фолија, итн. На овој начин, повеќе конфигурации на SPE базирани на различни материјали може да се добијат на лесен и економичен начин, добивајќи минијатурни уреди за едно или повеќекратна употреба кои се истовремено погодни за масовно производство.

Една од главните предности на SPE е нивната приспособливост. Можат да се користат како едно или повеќекратни електроди подготвени за употреба без модификација или пак површински модифицирани за специјализирана и таргетирана примена, што ги прави погодни за одредување на биомолекули во траги и многу ниски концентрации [24,25]. Откривањето на наноматеријалите отвора нови патишта во областа на развојот на сензорите. Новите достигнувања во SPE технологијата се фокусирани на подобрување на карактеристиките на електродите и сензорите преку иновативни стратегии за модификација на површината со интегрирање на различни видови наноматеријали [26]. Модификацијата се применува за зголемување на чувствителноста, подобрување на селективноста и зголемување на вкупната стабилност на електродите [27]. Дополнително, модификацијата овозможува развој на SPE кои не бараат никаков пред-третман, како што се полирање на електродата или електрохемиско третирање преку електродепозиција, кои често се применуваат на конвенционалните стаклести јаглеродни електроди. Генерално, се применуваат два главни пристапа за

модификација: првиот вклучува промена на составот на мастилото за печатење преку вклучување на полимери, метали, комплекси, ензими и други материјали во хемискиот состав, за развивање на нови работни електроди; вториот вклучува модификација на површината на веќе отпечатените, комерцијални електроди со депозиција на метални или керамички композитни филмови, наноматеријали, ензими или полимери. Во двата случаи, модифицирањето на површината на SPE со различни средства за допингување (опримесување) го подобрува преносот на електрони, а употребата на селективни агенси овозможува детектирање на аналитите од интерес.

Цврстите електроди базирани на јаглеродни материјали многу често се користат во електроаналитиката поради широкиот опсег на потенцијали, низок позадински сигнал (шум), богата површинска хемија, ниска цена на чинење, хемиска инертност и погодност за примена во сензорски уреди. Класата на јаглеродни наноматеријали, која вклучува јаглеродни наноцевки (CNT), графен (G), графен оксид (GO), редуциран графен оксид (rGO), јаглеродно црно и јаглеродни квантни точки, обезбедува материјали кои најчесто се користат за изработка или модификација на површината на SPE. Овие наноматеријали нудат повеќе предности, вклучувајќи значително подобрување на електрохемискиот одговор преку зголемување на електроактивната површина и подобрување на брзината на трансфер на електрони, што ја зголемува аналитичката чувствителност на анализата. Дополнително, високата брзина на трансфер на електрони на овие наноматеријали може да помогне во намалување на појавата на заситување на површината, што резултира со постабилен и посигурен електрохемиски одговор на сензорот [28].

Јаглеродните наноцевки (CNT) се одликуваат со уникатни карактеристики кои неретко наоѓаат примена при конструкцијата на сензорските електроди. Нивната адсорпциона способност, можноста за функционализација, способноста за поттикнување на реакции кои опфаќаат размена на електроди кај голем број молекули и можноста за минијатуризација ги прават CNT многу атрактивен материјал за понатамошен развој на електрохемиски сензори [29].

Графенот, материјал составен од единечен слој на јаглеродни атоми распоредени во структура на саќе, преставува еден од најперспективните материјали за биодетекција благодарение на неговата голема специфична површина и силно изразени електрохемиски својства. Како втор претставник на јаглеродната група материјали, погоден е за електрохемиски сензорски апликации поради своите нанометарски димензии, како и подобрувањето на целокупната чувствителност на електродата воведувајќи зголемување на бројот на површински електроактивни центри и зголемување на брзината т.е. мобилноста на електроните помеѓу електроактивната компонента и електродата [30].

Како нов дводимензионален јаглероден материјал со способност за селективно молекуларно препознавање, графен оксидот има многубројни примени, како што се цврстофазна екстракција, катализа и електрохемиски сензори. Од електрохемиска перспектива, графен оксидот може да ја подобри селективната акумулација на аналитите од интерес, што овозможува развивање на сензори со пониска граница на детекција и добра селективност. Подобрувањето на овие својства се должи на неговата висока порозност, големиот број функционални групи кои овозможуваат врзување на различни биомолекули, дводимензионална (2D) амфибилност[†] и површинска интеракција [1]. Но, покрај сите овие предности, графен оксидот има слаба електроспроводливост, а поради тоа што скоро сите негови јаглеродни атоми се sp^3 хибридизирани често се класифицира и како изолатор [31].

Редуцираниот графен оксид (rGO), претставува дериват на графен оксидот кој се добива при различни методи на редукција. Синтетизируваниот rGO покрај големата

[†] Амфибил – молекула која поседува хидрофилни (поларни) и липофилни својства, т.е. хидрофобни и хидрофилни делови во рамки на структурата.

специфична површина која ја задржува после редуција, задржува и дел од кислородните групи на GO, како што се карбоксилните и хидроксилните групи. Карбоксилните групи овозможуваат формирање амидни врски со амински групи, што овозможува лесна модификација на rGO со различни соединенија, како што се биомолекули, полимери и наночестички. Овој јаглороден материјал може да ја надмине слабата електроспроводливост на графен оксидот (GO), што доведува до зголемена чувствителност на електрохемиската детекција. Поради тоа, rGO е широко користен во електрохемиските сензори благодарение на неговата лесна функционализација и висока електроспроводливост [32]. Дополнително, различни хибридни материјали добиени со комбинирање на rGO со други функционални материјали како што е GO, можат понатаму да ги подобрат својствата на пренос на електрони.

Покрај јаглородните наноматеријали, во развојот на сензорските електроди често се користи и јаглородот, во облик на мастило, паста или стаклеста јаглородна електрода. Јаглородот е релативно евтин материјал, кој има висока хемиска инертност и обезбедува широк опсег на потенцијали со ниска електрична отпорност. Поседува многу чиста кристална структура, што резултира со ниски резидуални струи и висок сооднос на сигналот во однос на шумот [33]. Електродите базирани на јаглород најчесто се изработуваат од графитни честички и полимерно врзивно средство, како и други помошни компоненти во различен состав и сооднос. Разликите во однос на составот на мастилото користено за производство на електродите, како и процесите на печатење и жарење, значително влијаат на електрохемиските својства на добиените SPE, како што се кинетиката на пренос на електрони, позадинскиот сигнал или шум, висината на волтаметрискиот пик и импедансата [34]. Електродите синтетизирани од јаглородна паста се карактеризираат со намален шум и подобра повторливост на струите, споредбено со електродите од чист јаглороден материјал [35].

Иако далеку помалку употребувани во споредба со јаглородните поради повисоката цена на чинење, електродите добиени од благородни метали, како што се златото (Au) и платината (Pt) исто така се применуваат во конструкцијата на електрохемиските сензори благодарение на нивните извонредни електрохемиски и физичко-хемиски својства. Тростандимензионалните електроактивни материјали со порозна структура се одлични кандидати за изработка на електрохемиски сензори со високи аналитички перформанси, благодарение на нивната голема електроактивна површина, спроводливост, како и хемиска и термичка стабилност. Во тој контекст, употребата на порозно злато во последно време станува се попопуларна како материјал за печатење на работни електроди, поради неговата едноставна изработка и високата аналитичка ефикасност при детекција на широк спектар на биомолекули [36]. Златните електроди (од порозно и непорозно злато) се ценети поради нивната висока електроспроводливост и стабилност во различни електролитни средини. Покрај тоа, златните електроди овозможуваат силни површински интеракции со различни биомолекули, што ги прави погодни за конструкција на биосензори, особено во апликации како што се имуносензори и DNK-сензори. Дополнително, златото е компатибилно со техники како што е самоорганизирање на монослоеве (англ. „*self-assembled monolayer, SAM*) при формирање на тиол-златно врски, што овозможува лесна модификација на електродната површина со специфични функционални групи и посспецифична детекција на аналитите [37]. Од друга страна, платинестите електроди се познати по својата висока каталитичка активност, голема специфична површина и одлична хемиска стабилност. Покрај стабилноста, платината исто така покажува и висока хемиска отпорност при високи потенцијали, што ја прави погодна за анализа во агресивна средина истовремено овозможувајќи чувствителна детекција на аналитот од интерес [38].

Покрај јаглеродните наноструктури кои се користат за изработка или модификација на електродите, полимерната модификација која подразбира прекривање на површините на електродите со тенок полимерен филм нуди значителна флексибилност и дополнително подобрување на карактеристиките на сензорите [10,39–42]. Полимерите содржат различни функционални групи кои овозможуваат полесно „прикачување” на анализот, истовремено овозможувајќи повеќеслојна покриеност, издржливост и долготрајност на работната електрода [43]. Некои од често користените полимери за сензорска примена се хитозан (CH), поли(винилиден флуорид) (PVDF), полианилин (PANI), поли(3,4-етилендиокситиофен):поли(стирен сулфонат) (PEDOT:PSS) и нафион.

Хитозанот кој претставува природен биополимер, е високо биокompatибилен аминсахарид, кој може да се смета и за еколошки прифатен поради ниската токсичност [44,45]. Површината на хитозанот може хемиски да се модификува со многу функционални групи, што им овозможува на електродите модифицирани со хитозан да влегуваат во интеракција со анализот од интерес. Дополнително, употребата на наноформи на хитозан ја подобрува сензорската платформа за детекција.

Поли(винилиден флуорид)от (PVDF) е високо нереактивен термопластичен флуорополимер познат по својата пиезоелектричност, супериорна хемиска отпорност, универзалност и издржливост [46]. Уникатната комбинација на физички и хемиски карактеристики го прават PVDF извонредно корисен материјал во разни области на електрохемиската апликација каде како посакувани атрибути се издвојуваат висока чувствителност, стабилност и брз одговор [47].

Меѓу спроводливите полимери, поли(анилин)от (PANI) се смета за најперспективен материјал поради лесната синтеза, релативно високата спроводливост, ниската цена, стабилноста во надворешната средина и одличните електрохемиски својства, а воедно и поради погодноста за прикачување на различни биомолекули. Во полето на сензорите, PANI ужива значајна репутација поради неговата висока спроводливост, реверзибилност на редокс реакциите, долгорочна стабилност во различни средини, способност за анализа во различни раствори и едноставна синтеза која овозможува контролирана дебелина на полимерниот филм нанесен врз сензорската електрода [48]. Дополнително, експериментално е докажано дека јаглеродните материјали можат да ја зголемат стабилноста на PANI и да обезбедат повеќе активни места за нуклеација [49].

Поли(3,4-етилендиокситиофен) (PEDOT) е високоспроводлив полимер со уникатна конјугирана структура, која обезбедува исклучителна електрична спроводливост до 1000 S/cm при допингување со соодветни допанти како поли(стирен) сулфонат (PSS). Материјалот се одликува со извонредна електрохемиска стабилност, оптичка транспарентност во оксидирана состојба и хемиска отпорност кон деградација во различни средини. PEDOT:PSS комбинацијата претставува една од најчесто користените форми на овој полимер, каде PSS служи како противјон и допант кој го стабилизира PEDOT во водена средина, формирајќи колоиден раствор со висока преработливост и подобрена филм-формирачка способност. Електрохемиските својства на PEDOT:PSS се исклучително значајни за развој на високоефикасни сензори, бидејќи обезбедуваат брза електрохемиска кинетика и мален електричен отпор на интерфејсот помеѓу електродата и електролитот. Дополнително, биокompatибилноста на овој композитен материјал го прави идеален кандидат за развој на биосензори, а може и да служи како материјал за импланти во биолошките ткива.

Нафион претставува комерцијално име на јоноизменувачки полимер добиен од перфлуоросулфонска киселина. Комбинацијата на сулфонатни групи и стабилната PTFE основа го прави нафионот добро познат јонски полимер со предности како што се

одлична јонска спроводливост, селективност кон катјони, хемиска инертност и термичка стабилност. Поради своите уникатни карактеристики, овој полимер предизвикува голем интерес во различни истражувачки области и примени, вклучувајќи горивни ќелии и батерии, хемиски сензори, биосензори и сепарациони технологии. Нафионот е добро познат по својата хемиска и механичка стабилност, а дополнително ја зголемува и издржливоста и долговечноста на модифицираните SPE. Освен што има добра електрична спроводливост, нафионот придонесува и за зголемување на интензитетот на аналитичкиот сигнал и помага во минимизирање на ефектите од потенцијалните интерференти [50,51].

Во конструкцијата на електрохемиските сензори, сè поголемо внимание се посветува на благородните метали во нанодимензии. Инкорпорирањето на метални наночестички со различни димензии (1 – 100 nm) на површината на работната SPE овозможува постигнување на уникатни оптички, механички, електрични и хемиски својства. Електродите модифицирани со нанометали се карактеризираат со зголемена електрохемиска активна површина, подобрена брзина на пренос на полнежи и олеснета размена на електрони, што придонесува за поголема чувствителност и побрза детекција на таргет молекулите [51].

Златните наночестички (англ. „gold (Au) nanoparticles”, AuNPs) се особено привлечни поради нивните специфични хемиски, физички и електрични својства. Нивната интеграција во сензорските уреди значително ја зголемува активната површина на електродата, што овозможува поефикасна интеракција со аналитите од интерес. Ова резултира со повисока чувствителност, подобра електропроводливост и зголемена стабилност на сензорот. Дополнително, уникатната комбинација на својства на AuNPs овозможува детекција на биолошки молекули дури и при многу ниски концентрации, што е клучно за примена во електрохемиските сензори и биосензорите, како и медицинската дијагностика [52–54]. Покрај тоа, златните наночестички се био-компатибилни и имаат одлична електрична и топлинска спроводливост, како и висок сооднос помеѓу површината и волуменот. Во електрохемијата, златото често се користи поради својата хемиска инертност, висока стабилност и способноста да ја минимизира стерната пречка при размената на електрони, што го прави исклучително ефикасен материјал за сензорска примена [55]. Дополнително, AuNPs лесно можат да се мултифункционализираат со различни органски или биолошки лиганди, овозможувајќи развој на напредни нанокompозити базирани на злато [56].

1.4. Примена на SPE во фармацевтската анализа

Електрохемиските техники наоѓаат примена во детекцијата и мониторингот на широк спектар фармацевтски и биолошки соединенија со висока чувствителност без потреба од опсежна подготовка на примероците. Овие карактеристики овозможуваат развој на преносни и економични сензори [57]. Меѓутоа, традиционалните електрохемиски системи се соочуваат со значаен проблем познат како пасивизација на електродата при анализа на фармацевтски формулации. Овој процес настанува кога компонентите од матрицата или самите фармацевтски супстанции се прилепуваат на површината на електродата, што го нарушува електроаналитичкото мерење и ја намалува чувствителноста на аналитичката метода [58].

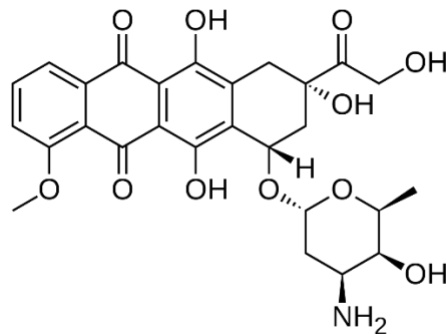
Електрохемиските сензори базирани на SPE успешно го надминуваат овој проблем при брзата анализа на фармацевтски соединенија поради нивната брза обновливост, како и природа за еднакратна употреба. Секогаш кога е потребно, може едноставно да се употреби нова електрода. Дополнителна предност на овие сензори е нивната едноставност за производство и разновидност, што овозможува развој на преносливи уреди погодни за масовно производство кои обезбедуваат брза и економична

детекција на лекови во различни средини без потреба од претходна обработка на примерокот.

Главната предност поврзана со малата големина на овие електрохемиски сензори е тоа што овие уреди се посебно проектирани за работа со микроволумени на примероци (од 20 до 100 μL). Намалувањето на потребниот волумен на примерокот за анализа, ја поедноставува целата аналитичка постапка, а дополнително помага и во намалувањето на вкупната големина на дијагностичкиот систем во кој ќе се интегрира SPE. Нивната робустност, можноста за лесна минијатуризација и одличните граници на детекција ги прават сензорите базирани на SPE една од најактивните области на истражување во аналитичката хемија, особено во доменот на анализа на лекови [15].

1.5. Потреба од сензори базирани на печатени електроди

Доксорубицин хидрохлорид (DOX) (Сл. 5) како антиканцероген лек кој припаѓа во групата на антрациклински антибиотици веќе четири децении е широко применуван во третманот на различни видови малигни заболувања, вклучувајќи карцином на дојка, мочен меур, јајници, коски, како и леукемија и лимфома [59].



Слика 5. Молекуларна структура на доксорубицин

И покрај извонредна ефикасност во борбата со малигностите, употребата на овој хемотерапевтски агенс е ограничена од бројните контраиндикации кои се резултат на неговите антимиотски[‡] и цитотоксични[§] ефекти. Доксорубицинот, ги нарушува клеточните процеси и доведува до апоптоза (програмирана клеточна смрт) и некроза (прерана клеточна смрт) не само во малигните, туку и во здравите ткива, а тоа може да резултира со несакани и токсични ефекти во различни органи, вклучувајќи ги мозокот, црниот дроб, бубрезите и срцето. Најзагрижувачките ризици претставуваат акутната и одложената кардиотоксичност, кои можат да доведат до кардиомиопатија или животно-загрозувачка конгестивна срцева слабост (англ. „congestive heart failure”, CHF) [60]. Овие состојби предизвикуваат трајни оштетувања на срцевиот мускул и потенцијално го компромитираат долгорочното здравје на лицата кои се опоравуваат од канцер [3]. Затоа, за намалување на неговите негативни ефекти, потребно е прецизно следење на нивоата на DOX кај пациентите во текот на процесот на примање хемотерапија, со цел соодветно дозирање на лекот. Покрај ова, следењето и контролата на концентрацијата на DOX кај пациентите овозможува полесна проценка на неговата токсичност и следење на терапевтската ефикасност.

Многу аналитички методи активно се користат за детекција и следење на DOX, како што се високоефикасна течна хроматографија (HPLC), течна хроматографија спрегната со масена спектрометрија (LC-MS), ултравиолетово-видлива спектроскопија (UV-Vis), флуоресценција итн. [4,24–28,61–66]. Иако HPLC и LC-MS методите

[‡] Антимиототик – супстанца или агенс кој ја инхибира или спречува митозата, процесот на клеточна делба.

[§] Цитотоксичност – токсичност која произлегува од дејството на хемотерапевтските агенси врз живите клетки во организмот, во облик на оштетување или нивна смрт.

обезбедуваат најголема селективност и чувствителност кон фармацевтските молекули, сите овие техники бараат комплицирана подготовка на примероците и долго време за анализа, што ги прави несоодветни за брза детекција. Дополнително, цената на чинење на инструментите за анализа, како и реагенсите потребни за подготовка на примероците е многу висока. Електрохемиските методи на детекција, кои вклучуваат користење на електрохемиски сензори добиваат големо внимание поради бројните предности кои веќе беа разгледани на почетокот од ова поглавје. Овие сензори се познати како еден од најпрактичните методи за детектирање на фармацевтски супстанции во биолошки течности (крв или урина) [67]. Користењето на електрохемиски сензори базирани на печатени електроди го задоволува барањето за брза, точна и пренослива детекција, мониторинг и евтина анализа на фармацевтските молекули.

Полето на развој на електрохемиски сензори бележи различни иновации, како што е истакнато во неодамна направените истражувања [68–74]. Деталниот преглед на литература спроведен за ова истражување (прикажан во Поглавје 2 од оваа докторска дисертација) се фокусира на имплементацијата на специфична и уникатна комбинација на материјали приспособена за детекција и следење на DOX. Иако сите овие студии значајно придонесуваат за развојот на ова поле, ниту една не го истражува пристапот предложен во оваа докторска дисертација: печатена електрода модифицирана со нанокмпозитно мастило или полимерен слој како платформа за развој на електрохемиски сензор, дизајнирани за детекција на DOX. Оваа едноставна, економична модификација нуди подобрена чувствителност и повторливост кон DOX. Предностите на развиениот сензор ја истакнуваат оригиналноста на нашиот пристап, претставувајќи нов и практичен пат во електрохемиската детекција на фармацевтски суровини.

2. ПРЕГЛЕД НА ДОСТИГНУВАЊАТА ВО ОБЛАСТА НА ДИЗАЈН НА ЕЛЕКТРОХЕМИСКИ СЕНЗОРИ ЗА ДЕТЕКЦИЈА И МОНИТОРИНГ НА ДОКСОРУБИЦИН

Конструкцијата на електрохемиски сензори за детектирање и следење на доксорубицин е област која привлекува значително внимание кај истражувачите. Овие сензори нудат бројни предности, кои детално се разгледани во претходното поглавје од оваа докторска дисертација. Посебно внимание се посветува на модификацијата на електродите со нови, функционални материјали со цел подобрување на нивните аналитички перформанси. Во ова поглавје ќе бидат разгледани најновите истражувања и пристапи при дизајнирањето на електрохемиски сензори за доксорубицин.

Жао и сор. [75] развиваат електрохемиски сензор со работна електрода базирана на нов материјал синтетизиран од ковалентна органска матрица декорирана со златни наночестички и повеќесидни јаглеродни наноцевки (AuNPs@COFs-MWCNTs). Дизајнираниот сензор чија основа претставува стаклена јаглеродна електрода покажува подобрена дистрибуција на електроактивните центри и зголемен афинитет кон DOX, а истовремено и подобрена електрокаталитичка активност на сензорот кон детекција на анализираниот од интерес. Авторите пријавуваат подобрен линеарен опсег на модифицираниот сензор кој се движи од 0,08 до 25 $\mu\text{mol/L}$, како и ниска граница на детекција од 16 pmol/L при тестирање на примероци од хуман серум.

Електрохемиски сензор модифициран со композит од триптофан/поли(етилен гликол) и кобалт феритни наночестички ((Trp)/(polyethylene glycol)PEGylated-CoFe₂O₄) нанесен врз површина на стаклена јаглеродна електрода е предложен од страна на **Абаси** и сор. [76], за анализа на DOX во клинички флуиди. При оптимални услови, сензорот се одликува со ниска граница на квантификација од 30 ng/mL , а линеарниот опсег се движи од 30 ng/mL до 1,0 $\mu\text{g/mL}$ и 1,0 $\mu\text{g/mL}$ до 5,0 $\mu\text{g/mL}$, соодветно. Молекулите на PEG делуваат импрегнирачки и не дозволуваат таложење на макромолекулите на површината на модифицираната електрода. Авторите објавуваат дека резултатите добиени при тестирањето на предложениот електрохемиски сензор ја укажуваат неговата примена за специфична и чувствителна детекција на DOX во крвна плазма.

Ронг и сор. [77] предложуваат електрохемиски сензор базиран на метал-органска матрица. Тие работат на развивање на стаклена јаглеродна електрода модифицирана со композитна структура од метиленско сино/јаглеродни наноцевки/метал-органска матрица (MB@MWCNTs/Uio-66-NH₂). Авторите покажуваат дека порозниот материјал Uio-66-NH₂ има клучна улога во определувањето на карактеристиките на сензорот. Материјалот може да се користи за катализација на DOX при што се добива добар струен сигнал, а од друга страна неговата способност за апсорпција на молекули се искористува за прикачување на различни материјали (на пример, метиленско сино) кои можат да генерираат интересен референтен сигнал во сензорот. При оптимизирани услови, сензорот покажува широк линеарен опсег на детекција во ранг од 0,1 $\mu\text{mol/L}$ до 75 $\mu\text{mol/L}$, како и граница на детекција од 0,051 $\mu\text{mol/L}$. Авторите ја покажуваат применливоста на овој метод на детекција преку анализа на примероци од човечка плунка.

Скалова и сор. [78] предлагаат и споредуваат две нови методи за детекција на DOX. Првиот метод, е базиран на диференцијална пулсирачка волтаметрија (DPV) врз полирана сребро-амалгамска електрода во специјално дизајнирана микроволуменска волтаметриска ќелија, додека пак вториот, е базиран на DPV на поларизирана течност-течност меѓуфазна граница која претставува мембрана од микропорозен поли(винилиден флуорид) и јонска течност. Првиот метод е погоден за детекција на DOX во линеарен динамички опсег од 0,6 до 10 $\mu\text{mol/L}$ и има граница на детекција од 0,44 $\mu\text{mol/L}$.

Применливоста на овој метод авторите ја потврдуваат со анализа на спајкувани** примероци во вода и урина. Слични резултати се добиени и при тестирање на вториот метод (линеарен динамички опсег од 1 до 40 $\mu\text{mol/L}$, граница на детекција од 0,84 $\mu\text{mol/L}$), но поради присуство на интерферирачки и липофилни соединенија неопходно е да се спроведе сепарационен чекор во случај на анализа на човечки флуиди.

Нов, дводимензионален нанокмпозит со улога на медијатор при детекција на DOX во биолошки примероци е предложен од страна на **Мехмандуст** и сор. [79]. Нанокмпозитот е базиран на дводимензионален графитен јаглерод нитрит/натриум додецил сулфат/графенски нанолистови и истиот е нанесен како модификација врз површината на печатена електрода (2D-g-C₃N₄/SDS/GNPs/SPE). Авторите објавуваат дека конструируаниот сензор покажува одлични електрохемиски перформанси, меѓу кои широк динамички опсег од 0,03 до 1,0 и 1,0 до 13,5 $\mu\text{mol/L}$ и ниска граница на детекција од 10 pmol/L . Сензорот покажува одлична чувствителност, стабилност и повторливост кон детекцијата на DOX. Може да се користи за детекција на DOX во вистински примероци, како крвна плазма и урина, каде покажува одлична корелација и коефициент на варијација под 6,0 %.

Резаи и сор. [80] предлагаат нов и чувствителен импедиметриски имуносензор базиран на имобилизација на специфични антитела врз златни наночестички поврзани со тиол-модифицирана златна електрода. По оптимизација на аналитичките параметри, релативната отпорност на трансфер на полнежи линеарно се зголемува со концентрацијата на DOX во опсег од 0,1 до 1 и 2,5 до 50 pg/mL , со граница на детекција од 0,09 pg/mL . Висока вредност за константата на дисоцијација ($1,4 \times 10^{11} \text{ mol/L}$) е добиена при определување на афинитетот на DOX кон антителата имобилизирани на површината на електродата. Можностите на овој сензор се тестирани во примероци од спајкуван хуман серум и урина, а добиените резултати покажуваат дека имуносензорот е погоден за определување на DOX во биолошки примероци.

Нова насока во детекцијата на антрациклини како DOX со помош на интеркалација на матична деоксирибонуклеинска киселина (DNA) се предложени и реализирани со електрохемиски сензор составен од **Шумагсумова** и сор. [81]. Авторите објавуваат сензор базиран на стаклена јаглеродна електрода прекриена со поли(анилин) добиен со електрополимеризација во присуство на матична DNA и оксална киселина како допант. Импедиметриските и волтаметриските мерења ја покажуваат успешноста на модифицираната електрода преку продолжување на pH опсегот на електрохемиската активност на сензорот и задржаната способност за интеракција со специфични молекули. Инкубацијата на сензорот со аналитот од интерес резултира со очекувано намалување на отпорот на размена на електрони и потиснување на струјата од редокс пробата (ферицијаниден ањон). При оптимални услови, постигнат е праг на детекција од 0,01 pmol/L за DOX, а дополнително се следени и даунорубицин (DA) и идарубицин (IDA). Развиениот електрохемиски сензор тестиран кон комерцијални препарати на DOX покажува 91 – 93 % можност за обновување.

Гуо и сор. [82] пријавуваат терцијарни нанокмпозити составени од сребрени наночестички (AgNPs), јаглеродни точки (CDs) и редуциран графен оксид (rGO), синтетизирани преку едностепена електродепозиција, нанесени врз стаклена јаглеродна електрода (AgNPs-CDs-rGO/GCE). Нанокмпозитот нанесен на електродата покажува супериорна електрокаталитичка активност за редукција на DOX. Најдобра електрокаталитичка активност се забележува при волуменски сооднос на CDs:GO од 3:1 v/v. Интензитетите на струјните пикови на AgNPs-CDs-rGO/GCE сензорскиот систем

** Спајкување (англ. „spike“) – процес на додавање еден или повеќе волумени на стандарден раствор на еднакви волумени од примерокот.

бележат линеарен пораст во однос на концентрацијата на DOX во опсег од $1,0 \times 10^{-8}$ до $2,5 \times 10^{-6}$ mol/L, како и ниска граница на детекција од 2 pmol/L.

Станковиќ и сор. [83] презентираат напредна електрохемиска платформа базирана на печатена дијамантска електрода, способна за квантификација на DOX во биолошки флуиди и фармацевтски производи во количина од само една капка. Со користење на капка од тестираниот раствор, со волумен од околу 30 μ L врз електродата, DOX покажува висока електрична активност при широк опсег на pH вредности. Работниот линеарен опсег за детекција на DOX се движи од 0,1 до 2,5 μ mol/L. Дифузиски контролираната електродна реакција открива долг животен век на предложената електрода како и висок потенцијал за нејзина практична примена. Развиената процедура авторите успешно ја применуваат за анализа на DOX во биолошки флуиди – урина и фармацевтски формулации.

Нова стратегија за подготовка на сензор за детекција на DOX е предложена од **Бехраван** и сор. [84]. Тие развиваат електрохемиски сензор базиран на нанокмпозит добиен од редуциран графен оксид, златни наночестички и поли(пирол) (rGO/AuNPs/PPy) нанесен врз површината на стаклена јаглеродна електрода. Електрохемиските тестирања направени на сензорската електрода покажуваат дека за време на реакцијата на оксидација доаѓа до процес кој вклучува размена на ист број на протони и електрони. Оптималната pH вредност е определена како 5,5. Модифицираната електрода покажува висока чувствителност од 185 μ A/mM, како и ниска граница на детекција од 0,02 μ mol/L со широк линеарен опсег на работа од 0,02 μ mol/L до 25 mmol/L. Дополнително, авторите пријавуваат дека сензорот поседува одлична повторливост и стабилност.

Такур и сор. [85] објавуваат постапка на добивање на нов нанокмпозит составен од јаглеродни точки (CDs) и цериум оксид (CeO_2), кој го применуваат за висока чувствителна електрохемиска детекција на DOX. Нанокмпозитот, CDs/ CeO_2 , нанесен врз површината на печатена јаглеродна електрода (CDs/ CeO_2 /SPE), покажува повисока ефикасност кон електрохемиската детекција на DOX споредбено со поединечните CeO_2 наночестички или јаглеродни точки, преку размена на електрони на површината на самата електрода, без зголемување на количината на јаглеродните точки. Авторите покажуваат дека композитот кој содржи 5 % wt. CDs се одликува со највисок оксидациски одговор кон DOX, во услови на оптимизирана pH од 5. Сензорскиот систем покажува линеарен одговор помеѓу струјниот пик на процесот на оксидација и концентрацијата на DOX во опсег од 0,2 до 20 μ mol/L, како и ниска граница на детекција од 0,09 μ mol/L. Дополнително, авторите објавуваат дека сензорот покажува супериорна селективност кон DOX во присуство на други интерферирачки компоненти.

Чандра и сор. [86] објавуваат метод за сепарација и истовремена детекција на неколку антиканцерогени лекови меѓу кои и DOX, со помош на амперометриски биосензор. Амперометриската детекција подразбира користење на DNA и кардиолипин-модифицирани печатени електроди. Во текот на развојот на сензорот, авторите вршат оптимизација на неколку параметри: pH, температура, концентрација на пуфер и потенцијал на детекција. При тестирањето на сензорот, добиени се линеарни калибрациски криви со коефициент на корелација помеѓу 0,9913 и 0,9982 во опсег од 2 до 60 pmol/L. Сензорот е успешно тестиран во спајкувани примероци на урина.

Работната група на **Абишек Синг** [87] предлага употреба на наносензор за селективна и чувствителна електрохемиска детекција на DOX. Електрохемискиот сензор, базиран на нанокмпозит составен од мултифункционални јаглеродни точки и магнезиум оксид (CDs/MgO), е изграден врз јаглеродна печатена електрода како сензорска платформа (CDs/MgO/SPCE). Авторите прикажуваат најдобри резултати при користење на 5 % јаглеродни точки во нанокмпозитната модификација (CDs-5,0/MgO)

и за истата прикажуваат максимален оксидациски одговор при детекција на DOX со концентрација од 10 $\mu\text{mol/L}$, при pH 5 и брзина на скенирање од 50 mV/s. При оптимизирани услови сензорот покажува линеарен одговор во концентрациски опсег од 0,1 до 1 $\mu\text{mol/L}$, како и ниска граница на детекција од 0,09 $\mu\text{mol/L}$. Дополнително, покажуваат супериорна селективност на сензорот при присуство на интерферирачки агенси.

Сун и сор. [88] развиваат сензор базиран на стаклена јаглеродна електрода модифицирана со ацетиленско црно (GCE/AB) за определување на DOX во хуман серум. При оптимални услови, авторите објавуваат дека развиениот сензор покажува задоволувачка селективност, повторливост и стабилност. Дополнително, објавуваат дека струјните пикови при процесот на оксидација се линеарно пропорционални со концентрацијата на DOX во опсег од 0,01 до 2,5 $\mu\text{mol/L}$, а границата на детекција изнесува 3,006 pmol/L . Развиениот метод е искористен и за квантитативна анализа на спајкувани примероци од серум, по што е добиена задоволувачки одговор од 91,22 до 101,34 %.

Биосензор базиран на нанокмпозит од јаглеродни наноцевки и златни наночестички е објавен од страна на **Шарифи** и сор. [89] како уред за високо чувствителна детекција на DOX. Ултра чувствителниот електрохемиски сензор авторите го дизајнираат врз стаклена јаглеродна електрода модифицирана со повеќесидни јаглеродни наноцевки, декорирани со златни наночестички. При оптимални услови, со сензорот успешно се следи широк линеарен концентрациски опсег на DOX во рамки од 1×10^{-11} до 1×10^{-6} mol/L, како и ниска граница на детекција од 6,5 pmol/L . Функционализацијата на јаглеродните наноцевки со златните наночестички придонесува за соодветна селективност, повторливост и долгорочна стабилност.

Алави-Табари и сор. [90] објавуваат симултана детекција на DOX и дасатиниб (DAS) користејќи сензор базиран на јонска течност и цинк оксидни наночестички. Авторите го истражуваат волтаметриското однесување на DOX на површината на електрода од јаглеродна паста модифицирана со цинк оксидни наночестички и 1-бутил-3-метилимидазолиум тетрафлуороборат (ZnO-NPs/BMTFB/CPE). Синтетизираната модификација го подобрува оксидацискиот одговор на DOX. При оптимизација на pH вредноста на средината, сензорот покажува два поединечни оксидациски сигнали кои се однесуваат на DOX и DAS, а вредноста на потенцијалот на разделување на пиковите изнесува околу 300 mV. Оксидациските струи покажуваат линеарна релација со DOX во опсег од 0,07 до 500 $\mu\text{mol/L}$, а границата на детекција изнесува 9,0 pmol/L .

Електрохемиски сензор за симултана детекција на DOX и метотрексат (MEX) е предложен од страна на **Матерон** и сор. [91]. Авторите објавуваат сензорска модификација базирана на црн јаглен (англ. „carbon black“), бакарни наночестички и нафион-модифицирана стаклена јаглеродна електрода. Модифицираната електрода покажува добра каталитичка активност при електрохемиска оксидација со редокс потенцијал од 0,69 за DOX. При оптимизирани услови, линеарниот опсег на сензорот се движи од $4,5 \times 10^{-7}$ до $5,1 \times 10^{-6}$ mol/L и граница на детекција од $2,4 \times 10^{-8}$ mol/L. Сензорот е тестиран и успешно применет за детекција на DOX во урина.

Рахими и сор. [92] предлагаат нов сензор составен од наноникел кобалтит (NiCo_2O_4) за електрохемиска детекција на DOX. Авторите вршат модификација на површината на печатена електрода со помош на синтетизирана гнездеста наноструктура од NiCo_2O_4 . Според оптималните инструментални и хемиски услови, DPV покажува одговор на модифицираната електрода кон DOX кој има линеарен концентрациски опсег од 0,01 до 600 $\mu\text{mol/L}$, како и граница на детекција од 9,4 pmol/L . Сензорот е тестиран за детекција на DOX во инјекциски раствори и биолошки примероци.

Дипа и сор. [93] опишуваат електрохемиски метод за волтаметриска детекција и определување на DOX. Авторите ја вршат детекцијата со помош на циклична и DPV на

површината на електрода изработена од јаглеродна паста имобилизирана со натриум додецил сулфат (SDS). Резултатите добиени од истражувањата покажуваат дека волтаметрискиот одговор на DOX покажува подобрување при користење на ниски концентрации на SDS, што подразбира дека истиот влијае кон подобрување на електрокаталитичката активност кон фармацевтската компонента. Спроведената електрохемиска карактеризација покажува реверзибилност кон DOX, како и дифузијска контрола на процесот кој вклучува размена на два протони и два електрони. pH оптимизацијата идентификува најдобри струјни пикови при вредност од 6,2. Дополнително, авторите посочуваат ниска вредност за границата на детекција и тоа 0,82 $\mu\text{mol/L}$ при линеарен опсег на концентрации помеѓу 10 – 70 $\mu\text{mol/L}$ следено преку CV и 0,15 $\mu\text{mol/L}$, при линеарен опсег од 1 – 4 $\mu\text{mol/L}$ следено преку DPV.

Сензор базиран на стаклена јаглеродна електрода модифицирана со графенски квантни точки е објавен од страна на **Хашемзаде** и сор. [94], за детекција на DOX во крвна плазма. Аналитичкиот перформанс на сензорот кон DOX е следен со помош на DPV, во средина на фосфатен пуферски раствор со pH вредност 4,0, при што е добиен добра граница на детекција кој изнесува 0,016 $\mu\text{mol/L}$ при линеарен концентрациски опсег од 0,018 – 3,6 $\mu\text{mol/L}$. Авторите укажуваат на подобрување на активноста на сензорот преку инкорпорирање на графенски квантни точки во насока на подобра размена на електрони, а со тоа и подобра потенцијална примена.

Мухамади и сор. [95] објавуваат истовремена детекција на DOX и DAS при користење на печатена сензорска електрода модифицирана со слоевит двоен хидроксид синтетизиран од никел и железо (Ni–Fe). Модифицираниот сензор покажува соодветен одговор и добро електрокаталитичко однесување кон детекцијата на двата аналити од интерес, следено преку употреба на хроноамперометрија, CV и DPV. Резултатите добиени од електрохемиската карактеризација покажуваат широк линеарен опсег за различни концентрации на DOX кој се движи од 0,04 до 585 $\mu\text{mol/L}$, како и ниска граница на детекција од 0,01 $\mu\text{mol/L}$. Практичната примена на сензорот авторите ја демонстрираат преку следење на аналитите од интерес во биолошка наместо симулирана матрица.

Рус и сор. [96] развиваат едноставен, брз и чувствителен сензор за симултана електрохемиска детекција на DOX и симвастатин (SMV). Авторите објавуваат користење на амперометрија и волтаметрија како техники за електрохемиска карактеризација и посочуваат подобрување на границата на детекција при користење на амперометрија (0,1 $\mu\text{g/mL}$), отколку при користење на волтаметрија (1,5 $\mu\text{g/mL}$). Границата на квантификација објавен од страна на авторите изнесува 0,5 $\mu\text{g/mL}$ при динамички концентрациски опсег од 0,5 – 65 $\mu\text{g/mL}$ следен со амперометрија и 1 $\mu\text{g/mL}$ при динамички опсег од 1 – 100 $\mu\text{g/mL}$ следен преку волтаметрија.

Електрохемиски DNA сензор базиран на јаглеродно црно-поли(метиленско сино)-поли(неутрално црвено)-модифицирана стаклена јаглеродна електрода е пријавен од страна на **Капо** и сор. [97]. Развиениот сензор работи во концентрациски опсег од 0,5 pmol/L до 10 pmol/L , со граница на детекција од 0,13 pmol/L при инкубациски период од 20 мин. Авторите објавуваат успешна детекција на DOX при примена на DNA сензорот кај спајкувани примероци на крвна плазма.

Ванг и сор. [98] предлагаат сензор за брза и чувствителна детекција и мониторинг на DOX во примероци на непроцесирана човечка крв со примена на електрохемиски пред-третирана стаклена јаглеродна електрода, модифицирана со филм од вертикално подреден мезопорозен силициум диоксид. Авторите детектираат ултрависока чувствителност на сензорот од 23,94 $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$, ниска граница на детекција од 0,2 pmol/L , како и широк линеарен концентрациски опсег кој се движи од 0,5 pmol/L до 23 $\mu\text{mol/L}$. Пред-третманот на електродата ја подобрува нејзината електрокаталитичка активност и воведува функционални групи кои содржат кислород, кои пак овозможуваат стабилен раст на

мезопорозниот филм на силициум диоксид во отсуство на атхезивен слој. Како резултат на електрокаталитичката активност на електродата, како и електростатичкиот прекоцентрациски ефект на силициум диоксидот, предложениот сензор покажува супериорни електроаналитички карактеристики кон DOX. Авторите исто така ја посочуваат одличната селективност на сензорот во присуство на различни интерферирачки компоненти, кои го прават сензорот применлив и способен за директна детекција на DOX во нефилтрирана човечка крв.

Донг и сор. [99] предлагаат катодна фотоелектрохемиска платформа за детекција на DOX и гентамицин сулфат, базирана на кадмиум сулфид и метал-органиска структура. Авторите покажуваат дека комбинацијата на кадмиум сулфид и метал органиска структура (CdS@PCN-224) креира погодни услови за детекција на DOX и гентамицин, која резултира со добар донор-акцептор систем. При споредба на системот со еднокомпонентен оптоелектронски материјал, подобрувањето на карактеристиките на конструирианиот сензор е деветократно. Работниот опсег на сензорот за детекција на DOX е тестиран во концентрациски опсег помеѓу 10 и 1000 nmol/L, а границата на детекција изнесува 3,57 nmol/L. Практичната примена на сензорот е тестирана во примероци од млеко, при што е добиена повратна информација во опсег 95,42 – 100,19 %, како и релативна стандардна девијација која се движи од 1,85 до 2,22 %, правејќи го сензорот способен за детекција на супстанците од интерес.

Електрохемиски сензор за ултра чувствителна детекција на DOX и MEX базиран на стаклена јаглеродна електрода модифицирана со хибридни композитни нанолистови од циклодекстрин и графен (CD-GNs/GCE) е предложен од страна на **Гуо** и сор. [100]. Електрохемиската анализа на овој сензор покажува значително зголемување на струјните пикови од 26,5 пати за DOX и 23,7 пати за MEX, споредбено со резултатите добиени за чиста, немодифицирана електрода. При оптимизирани услови, линеарниот опсег на одговор на сензорот за DOX и MEX изнесува 10 nmol/L – 0,2 μ mol/L и 0,1 μ mol/L – 1 μ mol/L, со граница на детекција од 0,1 nmol/L и 20 nmol/L, соодветно. Авторите ги посочуваат предностите на сензорот како што се едноставна подготовка, ниска цена на чинење, висока чувствителност, добра стабилност и повторливост за двата аналити од интерес во биолошки, хемиски и фармацевтски подрачја.

Могадам и сор. [101] објавуваат истражување направено во насока на добивање електрохемиски биосензор за волтаметриска детекција на DOX. Нивниот сензор е изграден врз стаклена јаглеродна електрода зајакната со едносидни јаглеродни наноцевки и DNA со двојни вериги (ds-DNA/SWCNTs/GCE). Анализата на молекуларното прицврстување покажува интеркалација на DOX во DNA веригите, при што доаѓа до нивна меѓусебна интеракција. Концентрацискиот опсег на работа на добиениот сензор е помеѓу 1 nmol/L и 20 μ mol/L, додека пак границата на детекција изнесува 0,6 nmol/L. Дополнително, авторите пријавуваат моќна способност на добиениот сензор за детекција на DOX во реални примероци – инјекции, со прифатливо обновување.

Електрохемиски нанобиосензор е предложен од страна на **Карадурмуш** и сор. [102], користен за истражување на интеракцијата помеѓу двоверижна DNA и три лекови од групата на антрациклините: епирубицин (EPI), идарубицин (IDA) и DOX. Сензорот е конструиран со слоевита модификација на печатени електроди со метални наночестички за зголемување на активната површина на сензорот, преку комбинирање на DNA, платински и сребрени наночестички и нивна депозиција врз печатената електрода (ds-DNA/PtNPs/AgNPs/SPE) Електрохемиската карактеризација е направена со DPV. Резултатите добиени од пресметката на релативната стандардна девијација за дневната повторливост на сензорот калкулирана според струјните пикови на гванин и аденин изнесува 0,58 % и 0,73 % соодветно, додека пак интра-дневната прецизност изнесува 1,04 % и 1,26 %, соодветно. Авторите го истражуваат и ефектот на времето на врзување и

концентрацијата на трите антрациклини врз волтаметриските сигнали со базите на двоверижната DNA. Концентрацискиот опсег на работа на сензорот се движи во ранг од 0,3 до 1,3 ppm за EPI, и 0,1 до 1 ppm за IDA и DOX. Електрохемиската карактеризација дополнително го предложува и механизмот на интеракција кој базира на интеркалација на трите антрациклини помеѓу двете DNA вериги.

Преносен електрохемиски сензор за еднократна употреба добиен со интегрирање на вертикално подредена мезопорозна силика (VMFS) и електрохемиски редуциран графен (ErGO) врз печатена јаглеродна електрода (VMSF/ErGO/SPCE) е предложен од страна на **Лив** и сор. [103]. Стабилен раст на VMFS врз површината на електродата може да се постигне со воведување на атхезивен нанослој на ErGO, благодарение на неговите кислородни функционални групи и дводимензионална структура налик на рамнина. Надворешниот VMFS слој делува превентивно како заштитен слој кој не дозволува истекување на внатрешниот ErGO слој од површината на електродата. Електрохемиската анализа на развиениот сензор покажува зголемување на струјниот сигнал за 6,9 пати во споредба со чиста, немодифицирана електрода и 2,5 пати споредбено со електрода модифицирана само со нанослој од електрохемиски редуциран графен оксид (ErGO). Сензорот покажува успешна оперативност во два динамички концентрациски опсега: 2 nmol/L – 1 μmol/L и 1 – 15 μmol/L, а аналитичката чувствителност во високиот и нискиот концентрациски ранг е 12,6 μA/μmol L⁻¹ и 1,15 μA/μmol L⁻¹, соодветно. Границата на детекција на сензорот е пресметана како 1 nmol/L. Дополнително, авторите ја следат и интеракцијата на DOX со други потенцијални интерференти како натриумови јони (Na⁺), калиумови јони (K⁺), гликоза (Glu), аскорбинска киселина (AA), допамин (DA), глицин (Gly), аланин (Ala), урична киселина (UA) и серумски албумин (BSA), кои се воедно и ко-постоечки елементи во биолошките флуиди. Во присуство на 1 mM Na⁺, K⁺, Glu, AA, DA, Gly, Ala, UA и 0,4 mg/mL BSA, анодниот струен пик на DOX останува скоро непроменет, а со тоа се потврдува добрата антиинтерферирачка способност на добиениот сензор. Благодарение на добрите електроактивни карактеристики на сензорот и одличните аналитички карактеристики истиот може да се примени за квантитативна детекција на DOX во биолошки примероци (хуман серум и урина) демонстрирајќи висока чувствителност, добра стабилност на подолг рок и мала количина на потребен примерок за анализа.

Жанг и сор. [104] опишуваат добивање на брз и високо чувствителен електрохемиски сензор за детекција на DOX базиран на електрода од индиум-калај оксид (ITO) модифицирана со бинарен материјал составен од вертикално подредена мезопорозна силика (VMSF) и графенски квантни точки допингувани во присуство на азот (NGQDs). Добиениот сензор покажува засилен електрохемиски сигнал кон DOX и резултира со добри аналитички карактеристики во два широки линеарни концентрациски опсега од 5 nmol/L до 1 μmol/L и од 0,1 до 1 μmol/L, висока чувствителност 30,4 μA/μmol L⁻¹ и ниска граница на детекција од 0,5 nmol/L. Благодарение на својствата на мезопорозната силика да врши молекуларно филтрирање, конструируваниот сензор покажува добра селективност и добри работни карактеристики во хуман серум и урина, со стапка на обновување од 97,0 до 109 %.

Електрохемиски аптасензор модифициран со редуциран графен оксид и златни наночестички за високочувствителна детекција на DOX е предложен од страна на работната група на **Конг** [105]. Сензорот користи златна жица како работна електрода, чија површина е модифицирана со нанокмпозит од редуциран графен оксид и златни наночестички, со цел подобрување на чувствителноста. Аптамерот игра улога на препознавачки елемент за DOX, модифициран со тиол група од едната страна (која се врзува за златните наночестички) и метиленско сино од другата страна (кој има улога на електронски медијатор). Вака дизајнираниот аптасензор покажува добра линеарност во

концентрациски опсег од 0,3 $\mu\text{mol/L}$ до 6 $\mu\text{mol/L}$, со граница на детекција од 0,1 $\mu\text{mol/L}$. При негово тестирање во реални примероци покажува висок степен на обновување.

Маланина и сор. [106] објавуваат волтаметриски сензор базиран на композит од DNA и електрополимеризиран N-фенил-3-(фенилимино)-3H-фенотиазин-7-амин, наменет за чувствителна детекција на DOX. Интеракциите помеѓу DNA и DOX влијаат врз дистрибуцијата на полнежот во површинскиот слој, менувајќи ја редокс рамнотежата на поли(фенотиазин)скиот слој. Волтаметрискиот сигнал успешно се користи за детекција на DOX во концентрациски опсег од 10 pmol/L до 0,2 mmol/L , со граница на детекција од 5 pmol/L . Добиениот сензор е тестиран на спајкувани вештачки плазма примероци и два комерцијални готови производи, со одговор на обновување од 90 – 95 %.

Аларфај и сор. [107] го проучуваат искористувањето на ултра-функционалниот потенцијал на наночестички од никел (NiO) и магнезиум (MgO) оксид во електроактивни нанокмозити применети во истражувањата поврзани со развивање на потенциометриски сензори. Оваа работна група предлага нова стратегија за добивање на мембрански сензори модифицирани со NiO/MgO нанокмозити во облик на јадро-обвивка за квантификација на DOX во фармацевтски производи и крвна плазма. Модифицираниот сензор покажува ултрависока чувствителност и селективност за детекција и квантификација на DOX при линеарен опсег од $1,0 \times 10^{-11}$ до $1,0 \times 10^{-12}$ mol/L .

Цалал и сор. [108] опишуваат постапка за добивање на електрохемиски сензор која подразбира *in situ* раст на никел-кобалт (NiCo) биметална метал-органска матрица врз стаклена јаглеродна електрода која понатаму е модифицирана со спроводливи наноленти од графен оксид допингувани во присуство на азот. Авторите прават компарација на ваков сензор без и со модификација со графен оксидни наноленти, при што објавуваат дека со примена на материјалот за модификација се зголемува волтаметрискиот одговор на сензорот кон DOX, а овој феномен го препишуваат на синергетскиот ефект помеѓу графен оксидните наноленти и NiCo биметалната метал-оксидна матрица. Калибрациската крива за DOX добиена со дизајнираниот сензор покажува два линеарни динамички концентрациски опсега: 0,01 – 1 и 1 – 80 $\mu\text{mol/L}$ и граница на детекција од 6 nmol/L , која е пониска отколку границата на детекција добиена при анализа на реални примероци од крвна плазма ($77,2 \pm 10,5$ nmol/L).

Хагшенас и сор. [109] објавуваат едноставен и ефективен пристап за добивање на електрохемиски оксидирани повеќесидни јаглеродни наноцевки врз стаклена јаглеродна електрода за истовремена детекција на DA и DOX во биолошки примероци. Модифицираната електрода покажува добри електрокаталитички карактеристики кон оксидацијата на DA и DOX. Разликата во потенцијалите на пиковите изнесува 240 mV и е доволно голема за да можат двете фармацевтски компоненти да се детектираат поединечно и истовремено. При оптимални услови, линеарната концентрациска зависност за DA и DOX е во опсег 0,33 – 55 $\mu\text{mol/L}$ и 0,04 – 90 $\mu\text{mol/L}$, соодветно, додека пак соодветната граница на детекција изнесува $8,5 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol/L}$ и $9,4 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol/L}$. Аналитичката примена на конструираниот сензор покажува успешност при истовремена детекција на DA и DOX во реални примероци од крвна плазма и урина.

Чувствителен електрохемиски метод за детекција на DOX во траги со користење на стаклена јаглеродна електрода модифицирана со композитен филм од нанотитаниум диоксид (nano-TiO₂) и нафион е развиен од страна на **Фен** и сор. [110]. Добиената сензорска електрода модифицирана со композитен филм покажува одлично електрохемиско однесување кон редуцијата на DOX, која е значително зголемена во споредба со редуцијата на DOX која се одвива на чиста, немодифицирана стаклена јаглеродна електрода. При оптимални услови, линеарниот опсег за DOX се движи од $5,0 \times 10^{-9}$ mol/L и $2,0 \times 10^{-6}$ mol/L , додека пак границата на детекција изнесува $1,0 \times 10^{-9}$ mol/L . Дополнително, сензорската електрода покажува и добра стабилност по дво-неделно

изложување во атмосфера на воздух, каде нејзиниот струен одговор е намален за околу 3,8 % споредбено со иницијалниот. Сензорот е тестиран за определување на содржината на DOX во примероци од крвна плазма со стапка на обновување од 94,9 до 104,4 %.

Таеи и сор. [111] објавуваат брза и чувствителна детекција на DOX со користење на сензор базиран на електрода од јаглородна паста модифицирана со повеќесидни јаглородни наноцевки (MWCNTs) и кобалт-феритни (CoFe_2O_4) магнетни наночестички со структура на шпинел. При оптимизирани услови, одговорот на сензорот добиен со DPV е во опсег 0,05 – 1150 nmol/L, а границата на детекција изнесува 10 pmol/L.

Работната група на **Кондори** [112] објавуваат добивање на печатена електрода модифицирана со наночестички од метален комплекс на кобалт (Co-NPs) и истиот го применува како електрохемиски сензор за истовремена детекција на DOX и DAS. Модификацијата овозможува значително подобрување на електрокаталитичката активност кон оксидацијата на DOX и DAS, која се манифестира преку зголемување на струјата на анодниот пик, во споредба со чистата, немодифицирана електрода. При анализа со DPV електрохемискиот профил покажува два поединечни анодни пикови на 750 и 350 mV кои одговараат на DAS и DOX, соодветно. Со голема разлика во потенцијалите од 400 mV, авторите демонстрираат успешна истовремена детекција на двете фармацевтски компоненти. Сензорот е тестиран и применлив при детекција на анализите во реални примероци на DOX инјекции, таблети и урина.

Пуста и соработниците [60] развиваат едноставен и пренослив електрохемиски сензор за детекција на DOX, користејќи јаглородни електроди отпечатени во лабораториски услови по „in-house“ метода, декорирани со златни наночестички. Детекцијата е направена со користење на DPV. Развиениот сензор покажува прецизно квантифицирање на DOX од фармацевтски формулации и серум, со динамичен опсег од 1 до 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ и ниска граница на детекција од 0,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Авторите успешно го применуваат сензорот во рамки на истражувањето и развојот во фармацијата, нудејќи поисплатлива алтернатива во раните фази на развој на фармацевтските формулации, намалувајќи ги трошоците и заштедувајќи време, а притоа одржувајќи прецизност.

Развојот на електрохемиските сензори е проследен со различни иновации, како што е истакнато во неодамнешните студии [68–74]. Прегледот на литературата спроведен за ова докторско истражување се фокусира на примена на специфична и единствена комбинација на материјали прилагодени за детекција на DOX. Истражувањата во оваа област се интензивни, но најголем дел од предложените сензори се базираат на биолошки рецептори, како што се ензими, DNA или антитела. Иако сите овие студии значително придонесуваат во оваа област, ниту една од нив не ја истражува предложената метода во оваа докторска дисертација: полимер-модифицирана комерцијална печатена електрода како сензорска платформа дизајнирана за чувствителна детекција на DOX. Нашата едноставна модификација со ниска цена на чинење нуди подобрена чувствителност и е оптимизирана специјално за таргетирана детекција на DOX во биолошка матрица. Предностите на развиениот сензор ја нагласуваат оригиналноста на нашиот пристап, претставувајќи нов и практичен пат во електрохемиската детекција на фармацевтски соединенија.

3. МАТЕРИЈАЛИ ЗА ПЕЧАТЕНИ ЕЛЕКТРОДИ

3.1. Вовед во материјали за печатени електроди

Изборот на соодветни материјали при конструкцијата на работната електрода на сензорите базирани на печатени електроди претставува фундаментален аспект кој директно влијае врз електроаналитичките карактеристики на сензорот. Материјалите кои се користат за печатење на работните електроди се одликуваат со комплексна поврзаност помеѓу нивната структура и својства, што директно се одразува на сензорските карактеристики, како што се чувствителност, селективност, стабилност и повторливост на мерењата.

Во рамките на современиот развој на електрохемиските сензори, материјалите кои се користат за изработка или модификација на печатените електроди може да се класифицираат во неколку главни категории: јаглеродни, метални, полимерни и композитни материјали. Секоја од овие класи поседува уникатни структурни карактеристики и својства кои ги прават исклучително значајни во дизајнот на мастилата за печатење на електродите.

Јаглеродните материјали вклучуваат широка палета на алотропски модификации, од традиционалниот графит до современите наноструктурни форми како јаглеродни наноцевки, графен и неговите деривати, јаглеродни квантни точки и јаглеродно црно. Суштинската карактеристика на овие материјали е нивната електронска структура, заснована на sp^2 хибридуваните јаглеродни атоми, што резултира со делокализирани π -електрони и придонесува кон нивната одлична електрична спроводливост. Покрај тоа, карактеристичната димензионалност и морфологија на различните јаглеродни форми создава уникатни електрохемиски својства кои се од клучно значење за детекција на биолошки и фармацевтски молекули.

Металните материјали, особено благородните метали како злато, платина и сребро, имаат исклучително значење во изработката на електроди поради нивната висока електрична спроводливост, каталитичка активност и хемиска стабилност. Нано-димензионалните металните честички покажуваат значително изменети својства во споредба со своите макро-аналози, вклучувајќи единствени електрокаталитички и површински карактеристики кои ја зголемуваат интеракцијата со аналитите и електронскиот трансфер. Овие нанометали често демонстрираат зголемена специфична површина, што резултира со зголемена чувствителност на сензорот.

Полимерните материјали внесуваат додадена функционалност на електродните површини преку разновидни механизми. Спроводливите полимери, како што се поли(анилин)от (PANI) и поли(3,4-етилендиокситиофен) (PEDOT), претставуваат сложени електрохемиски системи со конјугирана π -електронска структура, која овозможува создавање на високоспроводливи патишта за електрични сигнали. Био-полимерите, како хитозанот, обезбедуваат биокompatibilна матрица со бројни функционални групи кои можат да учествуваат во хемиски и биолошки интеракции. Синтетичките полимери, како поли(винилиден флуорид) и јоноизменувачките полимери, како нафион, придонесуваат со специфични физичко-хемиски својства кои ја подобруваат стабилноста и селективноста на сензорите.

Композитните материјали, кои претставуваат комбинација на претходно споменатите класи, се особено интересни поради синергистичките ефекти што произлегуваат од просторното поврзување на различните компоненти. Во овие системи, структурните карактеристики на интерфејсот меѓу различните фази играат суштинска улога во нивниот вкупен електрохемиски перформанс. На пример, комбинацијата на јаглеродни наноматеријали со метални наночестички често резултира со значително зголемување на каталитичката активност и спроводливоста на електродата.

Изучувањето на корелациите помеѓу структурата и својствата на овие материјали е од суштинско значење за рационален дизајн на електрохемиски сензори со подобрени својства. Како што напредува полето на наноматеријалите и нанотехнологијата, така се проширува и спектарот на достапни материјали за конструкција на печатени електроди. Истовремено, контролата над структурните параметри на нано ниво овозможува прецизно моделирање на електрохемиските својства, што доведува до развој на високо-ефикасни сензори со подобрена чувствителност, селективност и стабилност.

Во следните потпоглавја детално ќе бидат разгледани структурните карактеристики и својствата на различните класи материјали користени при изработката на оваа докторска дисертација, со посебен акцент на нивните внатрешни својства и влијанието врз електрохемискиот перформанс на печатените електроди.

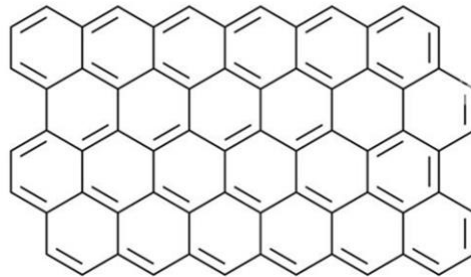
3.2. Јаглеродни материјали и нивни модификации

Јаглеродните материјали, особено во облик на блескави дијаманти, ја восхитуваат човечката цивилизација со векови, додека другите форми како јаглен и кокс продолжуваат да му служат на општеството како горивен материјал. Благодарение на нивните разновидни и уникатни својства, јаглеродните алотропи наоѓаат апликативна примена како супериорни конструкциски материјали во најразлични индустрии. Јаглеродните материјали се најчесто употребуваните материјали за производство на SPE поради бројните придобивки, како што се ниска позадинска струја, лесно обновлива површина и широк прозорец на потенцијали. Овие материјали нудат бројни предности бидејќи се релативно економични, универзално применливи и хемиски инертни [7,113]. Печатените електроди базирани на јаглерод (*англ. „screen-printed carbon electrodes”*, SPCes) можат да се користат во чиста јаглеродна форма или пак во облик на некоја од алотропските модификации – графен, графит или јаглеродни наноцевки. Хронолошки гледано, најпрво откриена алотропска форма на јаглерод претставува фулеренот C_{60} , пронајден во седумдесеттите години на XX век. Тој претставува нултидимензионална (0D) форма на јаглерод во облик на фудбалска топка, во која јаглеродните атоми се распоредени во шестоаголници, а помалку често и во петоаголници. Јаглеродните наноцевки, кои се откриени во деведесеттите години од XX век од Иџима, претставуваат едnodимензионална (1D) форма на јаглерод, чии атоми се распоредени во мрежа од шестоаголници и петоаголници, слично како кај фулеренот. Графенот е откриен релативно неодамна, во 2003 година од страна на Геим и Новоселов, со користење на едноставен метод со микромеханичко раслојување на графит. Тој претставува дводимензионална (2D) форма на јаглеродот, односно рамнина (слој) во кој атомите се распоредени во облик на шестоаголници. Графенот претставува основна морфолошка единица од која произлегуваат сите останати јаглеродни алотропи. Доколку графенската рамнина се превитка во форма на цилиндар, се добива јаглеродна наноцевка, а доколку пак се затвори во облик на сфера, се добива фулерен. Графитот претставува тродимензионална (3D) структура која ја сочинуваат голем број на графенски слоеви, чија дебелина излегува надвор од нанометарското подрачје. Сите овие разновидни форми на јаглеродот се можни благодарение на уникатната способност на елементот за хибридизација.

3.2.1. Графен

Графенот претставува дводимензионален (2D) кристален материјал составен од монослој на sp^2 -хибридизирани јаглеродни атоми распоредени во хексагонална решетка налик на структура на саќе (Сл. 6). Неговата исклучителна структура се карактеризира со дебелина од само еден јаглероден атом, што му дава статус на најтенок познат материјал [114]. Секој јаглероден атом во решетката на графенот е ковалентно поврзан

со три соседни атоми преку силни σ -врски, додека четвртиот валентен електрон формира делокализирана π -врска ориентирана нормално на рамнината во која се наоѓа. Растојанието помеѓу соседните јаглеродни атоми изнесува 0,142 nm, создавајќи високо симетрична и стабилна кристална решетка [115].



Слика 6. Хексагонална структура на графен (G) т.н. саќе.

Од структурна перспектива, графенот може да се смета за основен градежен блок на другите јаглеродни алотропски модификации – може да се спакува во нулти-димензионални (0D) фулерени, да се свитка во едноразмерни (1D) јаглеродни нанотруби или повеќе негови слоеви да формираат тродимензионален (3D) графит. Иако теоретски се опишува како идеална структура, реалните примероци на графен најчесто содржат различни структурни дефекти, вклучувајќи вакансии (празнини), дисторзии на решетката и присуство на хетероатоми^{††}, кои значително влијаат врз неговите физичко-хемијски својства.

Од аспект на електрични својства, графенот покажува исклучителни карактеристики поради присуството на делокализираните π -електрони кои формираат π -врски над и под рамнината на графенската решетка. Овие електрони се одговорни за неговата извонредна електрична спроводливост која достигнува до 10^6 S/cm, што го прави еден од најдобрите електрични спроводници познати во науката. Дополнително, графенот покажува амбиполарен^{‡‡} карактер, овозможувајќи континуирано подесување на типот и концентрацијата на носители на полнеж преку примена на електрично поле, што е од исклучително значење за неговата примена во електрохемијските сензори.

Графенот, исто така, се карактеризира и со извонредни механички својства. Со Јунгов модул од околу 1 TPa и јачина од 130 GPa, тој е еден од најцврстите познати материјали, надминувајќи ги по јачина дијамантот и челикот [116]. Овие карактеристики, комбинирани со неговата флексибилност и можноста за еластична деформација, го прават графенот идеален кандидат за модификација на електродни површини во сензорски апликации кои бараат механичка отпорност.

Технички, графенот е неметал, но многу често се нарекува квази-метал поради сличните својства со полупроводниците кои ги пројавува. Како таков, поседува многу уникатни својства, кои не се среќаваат кај другите неметали. Едно од повпечатливите негови својства е термичката спроводливост од околу 5000 W/mK, што е значително повисока од повеќето метали и други материјали.

Оптичките својства на графенот се уникатни поради неговата атомска дебелина. Апсорбира околу 2,3 % од видливата светлина, обезбедувајќи оптичка транспарентност која е важна за развој на транспарентни електроди и оптоелектронски уреди. Претставува силен апсорбент на светлина од сите видливи бранови должини, па оттаму доаѓа и неговата црна боја. Дополнително, покажува висока специфична површина од 2630 m²/g, што овозможува значително зголемување на активната површина на графен-модифицираните електроди и подобрен електрохемијски одговор кон аналитите.

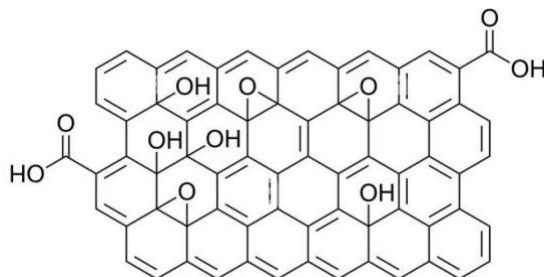
^{††} Хетероатом – атом што се разликува од другите атоми во структурата.

^{‡‡} Амбиполарност – поседување и на позитивни и на негативни носители на полнеж.

Хемиските својства на графенот, особено неговата реактивност, се тесно поврзани со π -електронскиот систем и присуството на дефекти во кристалната решетка. Површината на графенот може да се функционализира преку различни хемиски реакции, овозможувајќи воведување на специфични функционални групи кои ја подобруваат неговата растворливост, дисперзибилност и интеракција со аналитите. Во контекст на електрохемиските сензори, функционализацијата на графенот овозможува таргетирана модификација на површината за селективна детекција на специфични соединенија, вклучувајќи фармацевтски молекули.

3.2.2. Графен оксид

Графен оксидот (GO) претставува хемиски модифициран дериват на графенот кој се карактеризира со зголемено присуство на структурни дефекти и разновидни кислородни функционални групи. Структурата на GO, прикажана на Сл. 7, се состои од јаглероден скелет составен од sp^2 и sp^3 хибридувани домени, при што sp^3 хибридуваните области содржат различни кислородни функционални групи, вклучувајќи епоксидни (C–O–C) и хидроксилни (C–OH) групи лоцирани во базната рамнина, како и карбоксилни (COOH) и карбонилни (C=O) групи главно локализирани на рабовите на GO [117]. Оваа хетерогена структура богата со кислородни функционални групи предизвикува нарушување на sp^2 хибридуваната хексагонална графенска мрежа и доведува до значителни промени во физичко-хемиските својства на материјалот [118].



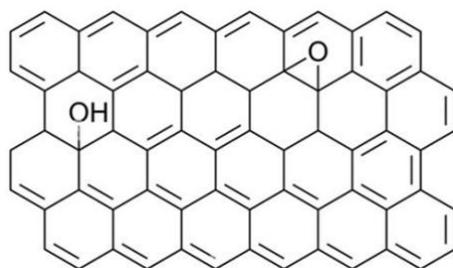
Слика 7. Структура на графен оксид (GO)

За разлика од графенот, графен оксидот покажува значително послаба електрична спроводливост поради присуството на sp^3 хибридувани јаглеродни атоми кои ја нарушуваат делокализацијата на π -електроните и формираат области на изолација во рамките на структурата. Кислородните функционални групи ја ограничуваат мобилноста на електроните, трансформирајќи го GO од електричен спроводник во материјал со значително зголемен електричен отпор кој во одредени услови може да се однесува како изолатор. Просечното растојание помеѓу слојевите на GO изнесува $\sim 0,8$ nm, што е значително поголемо од растојанието помеѓу слојевите на графитот ($\sim 0,34$ nm), како резултат на присуството на кислородни функционални групи и интеркалирани молекули на вода.

И покрај намалената електрична спроводливост, GO поседува неколку предности кои се искористуваат во конструкцијата на сензорите. Присуството на различни кислородни функционални групи овозможува лесна функционализација на површината со специфични хемиски групи, биомолекули или наночестички, обезбедувајќи платформа за селективна интеракција со аналитите од интерес. Дополнително, хидрофилната природа на GO, која произлегува од кислородните функционални групи, го прави добро дисперзибилен во водени средини, што е значајно за подготовка на стабилни дисперзии за модификација на електроди. Кислородните групи служат како активни центри за електрохемиски реакции и обезбедуваат високо реактивна површина со зголемен афинитет кон различни органски молекули и биомолекули.

3.2.3. Редуциран графен оксид

Редуцираниот графен оксид (rGO) се добива преку хемиска, термичка, електрохемиска или фотокаталитичка редукција на GO, процес кој отстранува значителен дел од кислородните функционални групи и ја реконструира sp^2 хибридризираната јаглеродна мрежа. Структурата на rGO (Сл. 8) може да се опише како интермедијарна меѓу графен и графен оксид, со значително намалена, но не целосно елиминирана содржина на кислород. Редукцијата на GO до rGO резултира со парцијално обновување на sp^2 хибридризираниот јаглероден скелет, што води до формирање на „острови“ на sp^2 домени разделени со резидуални sp^3 хибридризирани области кои сè уште содржат кислородни функционални групи [119]. Степенот на редукција и резидуалната содржина на кислород во rGO значително варираат во зависност од методот и условите на редукција.



Слика 8. Структура на редуциран графен оксид (rGO)

Електричната спроводливост на rGO е значително подобрена во споредба со GO, како резултат на делумното обновување на sp^2 хибридризираната мрежа и враќањето на π -конјугираниот систем. Електричната спроводливост на rGO може да достигне вредности од 1 – 100 S/cm, што е значително повисоко од GO, но сепак пониско од електричната спроводливост на чистиот графен (10^6 S/cm). Оваа подобрена електрична спроводливост го прави rGO атрактивен материјал за модификација на електроди во електрохемиски сензори, обезбедувајќи забрзан електронски трансфер и подобрени електроаналитички својства.

Важна карактеристика на rGO е задржувањето на дел од кислородните функционални групи на GO, особено карбоксилните групи, кои овозможуваат понатамошна функционализација на површината. Комбинацијата на подобрена електрична спроводливост и присуство на функционални групи го прави rGO извонреден материјал за конструкција на електрохемиски сензори, обезбедувајќи истовремено ефикасен пренос на електрони и платформа за прикачување на селективни елементи за препознавање на анализите од интерес. Дополнително, rGO покажува подобрена електрокаталитичка активност во споредба со GO, што резултира со зголемени струи и намалени потенцијали на одделни електрохемиски реакции.

Термодинамичката стабилност на rGO е повисока од стабилноста на GO поради обновување на π -конјугираниот систем и намалување на структурните дефекти. Исто така, rGO покажува подобрена механичка јачина, термичка стабилност и хемиска отпорност во споредба со GO, што е од големо значење за долгорочната стабилност на сензорите. Морфологијата на rGO најчесто се карактеризира со набрани и згужвани листови, што придонесува за зголемена специфична површина и дополнително зголемување на бројот на достапни електроактивни центри за интеракција со анализите.

Комплементарните својства на GO и rGO овозможуваат дизајн на различни хибридни материјали со оптимизирани карактеристики за специфична електрохемиска примена. Дефектите и функционалните групи во нивната структура ја зголемуваат реактивноста [120] и го олеснуваат модифицирањето или функционализацијата на GO и rGO со различни молекули, овозможувајќи создавање на поразновидни структури во

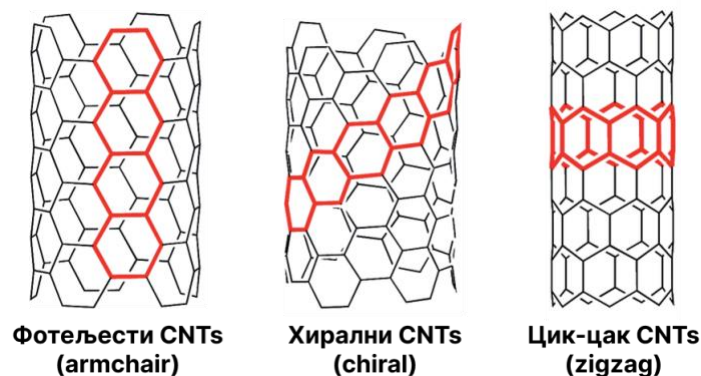
споредба со чистиот графен [121,122]. Комбинирањето на овие материјали со други функционални компоненти како што се метални наночестички, спроводливи полимери или биомолекули ја проширува нивната функционалност и отвора нови можности за развој на електрохемиски сензори со супериорни карактеристики.

3.2.4. Јаглеродни наноцевки

Јаглеродните наноцевки (CNT) претставуваат цилиндрични наноструктури составени од јаглеродни атоми организирани во хексагонална мрежа слична на графенот, но свиткана во форма на цевка. Овие наноструктури се карактеризираат со извонредни структурни, механички, електрични и термички својства кои ги прават исклучително значајни во полето на наноматеријалите и нивната примена во електрохемиските сензори.

Од структурна перспектива, јаглеродните наноцевки може да се класифицираат како едносидни јаглеродни наноцевки (англ. „*single-walled carbon nanotubes*”, SWCNTs) и повеќесидни јаглеродни наноцевки (англ. „*multi-walled carbon nanotubes*”, MWCNTs). SWCNTs се состојат од единечна графенска рамнина свиткана во цилиндрична форма со дијаметар од 0,4 до 2 nm, додека MWCNTs се составени од неколку концентрични графенски цевки со дијаметар кој може да достигне до 100 nm. Растојанието помеѓу соседните сидови во MWCNTs приближно изнесува 0,34 nm, што е слично на растојанието помеѓу слоевите во графитот, а слоевите се меѓусебно поврзани со помош на Ван дер Валсови сили [123,124].

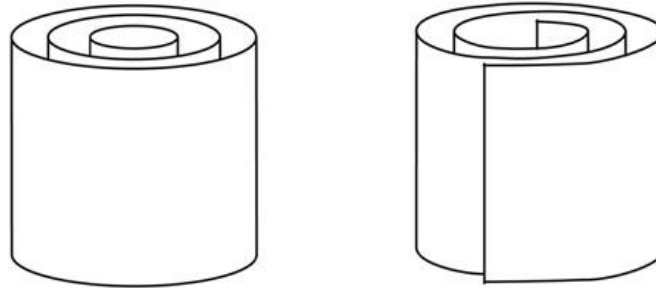
Јаглеродните атоми во наноцевките се sp^2 хибридувани и меѓусебно поврзани со ковалентни врски, формирајќи мрежа од шестоаголници. Во зависност од начинот на организација на шестоаголниците по должината на оската на цевката, т.е. хиралноста, SWCNT може да имаат три различни конфигурации: „фотелја” (англ. „*armchair*”), „цик – цак” (англ. „*zigzag*”) и хирални (Сл. 9). Хиралноста на наноцевките суштински влијае на нивните физички својства, пред сè на електричната спроводливост. Наноцевките со конфигурација „фотелја” покажуваат метално однесување, додека „цик – цак” и хиралните наноцевки можат да бидат метални или полупроводнички во зависност од нивната структура.



Слика 9. Конфигурации на SWCNTs

MWCNTs се состојат од повеќе графенски слоеви превиткани во вид на цевка, со заедничка централна оска. Може да се разгледуваат како збир од повеќе SWCNTs со различен дијаметар, должина и својства. Структурата на MWCNTs се опишува со помош на два модели наречени „руска кукла” (англ. „*Russian doll*”) и „пергамент” (англ. „*parchment*”) (Сл. 10). Кај првиот модел, превитканите графенски слоеви се распоредени во концентрични цилиндри, при што едносидните наноцевки со помал дијаметар се наоѓаат внатре во оние со поголем дијаметар. Според вториот модел, еден графенски лист е

повеќекратно замотан околу својата оска, па така добиената структура наликува на пергамент.



Слика 10. Модели на MWCNTs

Механичките својства на јаглеродните наноцевки се исклучително високи како резултат на силните хемиски врски помеѓу јаглеродните атоми. Со Јунгов модул од околу 1 ТПа и јачина која достигнува 100 GPa, CNTs претставуваат исклучителни влакна кои се опишуваат како едни од најцврстите познати материјали во светот [142]. Истовремено, поседуваат и извонредна флексибилност и еластичност, овозможувајќи им да издржат значителни деформации без структурно оштетување. Овие својства се особено значајни при конструкцијата на флексибилни електрохемиски сензори кои може да се применат на различни површини.

Електричните својства на CNT се исто така импресивни и директно зависат од нивната структура т.е. хиралноста, па така тие можат да бидат спроводници или полупроводници. Спроводливите CNTs покажуваат исклучително висока електрична спроводливост ($10^6 - 10^7$ S/m) која е споредлива со онаа на бакарот, додека полупроводливите пак имаат умерена спроводливост со енергетски процеп кој зависи од дијаметарот и хиралноста. Дополнително, структурните дефекти во рамките на наноцевките, како што се петоаголни или седмоаголни прстени наместо шестоаголни, можат да влијаат врз локалната електронска структура и да создадат реактивни центри за електрохемиски реакции [126].

Термичката спроводливост на јаглеродните наноцевки достигнува вредности од 3500 W/mK за SWCNTs, надминувајќи ги повеќето метали и природни материјали [127]. Оваа висока термичка спроводливост овозможува ефикасно распределување на топлината генерирана при електрохемиските реакции, придонесувајќи за термичката стабилност на електродите модифицирани со CNT. Јаглеродните наноцевки, исто така, покажуваат извонредна хемиска стабилност, но можат и да бидат функционализирани преку ковалентни и нековалентни модификации. Функционализацијата подразбира модификација на површината на наноцевките со различни функционални групи, како што се карбоксилни, хидроксилни, аминокиселински, или тиол групи. Ова може да се постигне преку оксидациони третмани или хемиски реакции кои воведуваат дефекти во графенската структура на ѕидовите, овозможувајќи прикачување на различни молекули. Функционализираните CNT покажуваат подобрена растворливост во вода и органски растворувачи, зголемена реактивност и специфичност кон аналитите, како и подобрени својства на дисперзија во различни матрици, што е од суштинско значење за нивната примена во електрохемиските сензори.

Големата специфична површина на CNT, која за SWCNTs теоретски достигнува до 1315 m²/g, обезбедува голем број на активни центри за интеракција со аналитите и придонесува за зголемена чувствителност на електрохемиските сензори [123]. Дополнително, електроактивната површина на електродите модифицирани со CNT е значително зголемена, што резултира со повисоки струи и подобрен сооднос сигнал/шум при електрохемиските мерења.

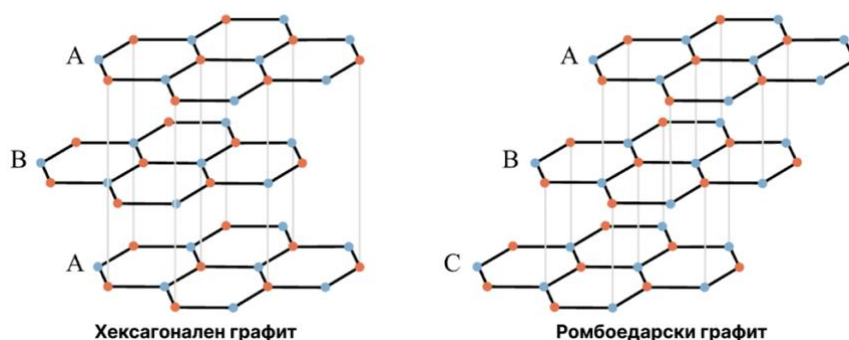
Електрокаталитичките својства на јаглеродните наноцевки, особено оние со структурни дефекти или функционални групи, се особено значајни за примена во сензори. Овие својства се манифестираат преку намалување на потенцијалот на редокс реакциите, забрзување на кинетиката на електронскиот трансфер и зголемување на чувствителноста кон аналитите од интерес. Дополнително, наноцевките можат да служат како носачи за други електрокаталитички активни материјали, како што се метални наночестички или ензими, создавајќи синергистички ефект кој дополнително ги подобрува сензорските перформанси.

3.2.5. Графит

Графитот претставува една од најстарите и најзначајните алотропски модификации на јаглеродот, која се карактеризира со слоевита структура и извонредни физички и хемиски својства. За разлика од другите јаглеродни наноструктури, графитот е природно присутен минерал, но може да се добие и синтетички под специфични услови. Неговата структура и својства играат клучна улога во разбирањето на современите јаглеродни наноматеријали како графен, јаглеродни наноцевки и нивната примена во електрохемиските сензори.

Од структурен аспект, графитот се состои од повеќе паралелни графенски слоеви (графенски рамнини), меѓусебно поврзани со релативно слаби Ван дер Валсови сили. Секој графенски слој е изграден од sp^2 -хибридизирани јаглеродни атоми распоредени во хексагонална решетка, при што секој јаглероден атом е ковалентно поврзан со три соседни атоми, формирајќи планарна (рамнинска) структура. Растојанието помеѓу соседните јаглеродни атоми во рамките на еден слој изнесува 0,142 nm, додека растојанието помеѓу соседните слоеви е значително поголемо и изнесува 0,335 nm. Ваквата структурна организација резултира со два различни типа хемиски врски: силни ковалентни врски во рамките на графенските слоеви и слаби Ван дер Валсови интеракции помеѓу соседните слоеви [128]. Ваквата структура е одговорна за анизотропијата^{§§} кај графитот.

Графитот може да постои во две основни кристалографски форми: хексагонален графит (α -графит) и ромбодарски графит (β -графит) (Сл. 11). Хексагоналниот графит е термодинамички постабилна форма и претставува најчестиот тип на графит во природата, каде графенските слоеви се организирани според редоследот АВАВАВ..., при што секој втор слој е точно над првиот. Во ромбодарскиот графит, слоевите следат распоред АВСАВС..., каде секој трет слој е позициониран над првиот. Ромбодарскиот графит е метастабилен и при загревање преминува во хексагонална форма.



Слика 11. Кристалографски форми на графит

Електронската структура на графитот е директно поврзана со sp^2 -хибридизацијата на јаглеродните атоми. Три од четирите валентни електрони формираат σ -врски во

^{§§} Анизотропија – појава на различни физички својства во различни насоки.

рамките на графенскиот слој, додека четвртиот електрон учествува во формирањето на делокализираните π -врски кои се протегаат над и под рамнината на графенскиот слој. Ваквата електронска конфигурација е одговорна за полуметалната природа на графитот и неговата анизотропна електрична спроводливост. Електричната спроводливост на графитот е значително поголема во рамките на графенските слоеви ($10^4 - 10^5$ S/m) во споредба со насоката нормална на слоевите ($10 - 100$ S/m), што е резултат на слободното движење на делокализираните π -електрони паралелно со графенските слоеви.

Механичките својства на графитот, исто така, покажуваат висок степен на анизотропија. Во рамките на графенските слоеви, графитот поседува исклучителна механичка јачина поради силните ковалентни врски, додека во правец нормален на слоевите, механичката јачина е значително помала поради слабите интеракции меѓу слоевите. Оваа карактеристика овозможува лесно одвојување на графенските слоеви (ексфолијација) и основа за добивање на графен и други наноструктури. Модулот на еластичност на графитот изнесува околу 1 ТПа во рамките на слоевите и 35 – 40 GPa во нормален правец.

Термичките својства на графитот исто така покажуваат анизотропија. Термичката спроводливост на графитот во рамките на графенските слоеви достигнува вредности од 2000 W/mK, додека вредноста нормално на слоевите е околу 10 W/mK. Оваа висока термичка спроводливост во рамнините на графенските слоеви се должи на ефикасниот фононски транспорт и овозможува примена на графитот во уреди кои бараат ефикасно управување со топлината. Графитот има висока температурна стабилност и може да издржи температури до 3000 °C во инертна атмосфера без значителна деградација.

Хемиските својства на графитот се тесно поврзани со неговата структура. Кај идеален графит, јаглеродните атоми во внатрешноста на графенските слоеви се хемиски инертни поради заситеноста на валентните електрони. Сепак, на рабовите на слоевите се наоѓаат незаситени јаглеродни атоми кои покажуваат зголемена хемиска реактивност. Дополнително, структурните дефекти и присуството на хетероатоми можат да создадат локализираните реактивни центри во рамките на графенските слоеви. Графитот е отпорен на голем број киселини, бази и органски растворувачи, но може да стапи во реакција со силни оксидациони средства формирајќи графит оксид. Интеркалацијата на различни јони, молекули или атоми помеѓу графенските слоеви е значајно својство на графитот, овозможувајќи формирање на графитни интеркалациони соединенија со модифицирани физички и електрохемиски својства.

Површинските својства на графитот се од особен интерес за електрохемиските апликации. Базната рамнина на графитот покажува слаба адсорпција и бавен електронски трансфер, додека рабовите на графенските слоеви се електрохемиски поактивни и обезбедуваат подобрен електронски трансфер. Оваа разлика во електрохемиските својства се должи на различната електронска густина и присуството на функционални групи на рабовите. Електрохемиската активност на графитот може дополнително да се модифицира преку оксидација, активација или функционализација, што доведува до зголемена реактивност и специфичност кон различни аналити.

Во контекст на електрохемиските сензори, графитот се применува во различни форми, вклучувајќи графитни прашоци, графитни пасти, експандиран графит и графитни нановлакна. Високо ориентируваниот пиролизички графит (англ. „*highly ordered pyrolytic graphite*”, HOPG) претставува синтетичка форма на графит со исклучително висок степен на ориентација на графенските слоеви, што резултира со зголемена електрична спроводливост и подобрени електрохемиски својства. Модификацијата на графитните електроди со метални наночестички, полимери или биомолекули овозможува развој на високо селективни и чувствителни сензори за детекција на различни биолошки и фармацевтски молекули.

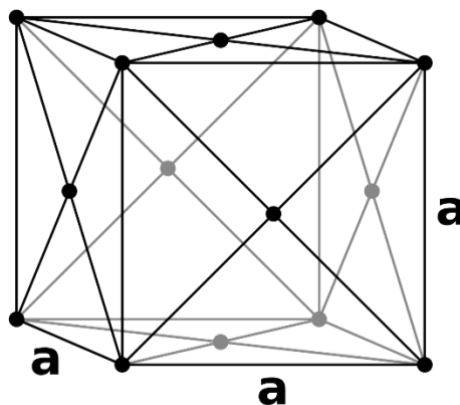
3.3. Метални материјали

Металните мастила често се користат за изработка на работни сензорски електроди и спроводливи контакти поради нивната висока електрична спроводливост во споредба со другите видови мастила. Овие мастила се составени од електрично спроводливи метални честички или наночестички суспендирани во течен медиум. Наночестичките што се користат за синтеза на металните мастила главно имаат големина во опсег од 1 до 100 nm. Најчесто користени метали за добивање на мастила се благородните метали – злато, сребро и платина, како и бакарот. Хемискиот состав на мастилата, односно изборот на металот, директно влијае врз електричните, материјалните и механичките својства на печатените електроди.

3.3.1. Злато и златни наночестички

Златните печатени електроди сè повеќе добиваат на значење во електрохемиските сензори поради нивните уникатни својства и разновидноста што ја нудат во различни аналитички примени. Како материјал за конверзија (англ. „*transducer*”), златото обезбедува одлична спроводливост, стабилност и висока каталитичка активност, што е клучно за подобрување на перформансите на сензорите [129]. Дополнително, самата технологија на ситопечатење овозможува брза и економична изработка на електроди што можат да се прилагодат за различни апликативни примени, вклучувајќи детекција во биомедицината, мониторинг на животната средина и безбедност на храна.

Златото кристализира во површински центрирана кубна решетка (ПЦ), која обезбедува одлична електрична спроводливост преку својот густо спакуван распоред на атоми (Сл. 12). Оваа кристална структура овозможува ефикасен транспорт на електрони, што е клучно за електрохемиската детекција и мониторинг. Златото во облик на наночестички ја задржува оваа ПЦ структура, иако може да покаже уникатни површински својства поради високиот удел на површински атоми.



Слика 12. Кристална решетка на злато

Електричните својства на златото како што се одличната електрична спроводливост со ред на големина од 10^7 S/m, инертноста и широкиот електрохемиски прозорец на потенцијали, го прават привлечен материјал за конструкција на сензори и други електронски уреди. Златото се одликува со висока стабилност и висока отпорност на оксидација и корозија во различни електролитни средини.

Површинската хемија на златните електроди е особено важна – златните површини можат лесно да се функционализираат и да формираат добро дефинирани самоорганизирани монослоевы преку градење на злато-тиол (Au-S) врски, создавајќи стабилни интерфејси за селективно детектирање на аналитите од интерес. Дополнително, функционализацијата на златната површина може да се направи и преку инкорпорирање на златни наночестички. Оваа злато-злато комбинација води до подобро

дефинирани оксидациски и редукциски пикови, што значително ја подобрува чувствителноста за детекција на електроактивни соединенија. Функционализацијата овозможува поефикасен пренос на полнежи и ја подобрува границата на детекција за целните аналити. Електронската структура на *d*-орбиталата на златото исто така придонесува за неговата уникатна површинска хемија и каталитички својства.

Кога златното мастило се суши за време на ситопечатењето на електродите, формира континуиран спроводлив филм со порозна микроструктура. Оваа микроструктура ја зголемува ефективната површина во споредба со макро-аналогот, подобрувајќи ја чувствителноста за електрохемиска детекција. Интеракцијата помеѓу златото и различните аналити често вклучува процеси на пренос на електрони олеснети од способноста на златото да стабилизира реакциски меѓупродукти на својата површина.

Со развојот на нанотехнологијата, металните наночестички привлекуваат значително внимание и играат важна улога во области како катализа, наносензори, биомедицина, микроелектроника итн. благодарение на нивните уникатни оптички, електрични, термички и каталитички својства. Супериорните карактеристики како што се големиот сооднос помеѓу површината и волуменот, високата електрична спроводливост, поволната биокомпатибилност, одличната каталитичка способност и површинската реактивност обезбедуваат огромни можности за подобрување на карактеристиките на сензорите при интегрирање на метални наночестички. Овие карактеристики ги прават металните наночестички исклучително важни во развојот на современи високочувствителни сензори, овозможувајќи детекција со ниски граници на детекција и висока специфичност кон аналитите од интерес [130].

Наночестичките од благородни метали, особено златните наночестички (AuNPs) и сребрените наночестички (AgNPs), привлекуваат огромен интерес кај истражувачите при развивањето на сензорските уреди, поради можноста за експлоатација на нивните својства во насока на подобрување на детекцијата на аналитите. Металните наночестички може да се користат самостојно или во комбинација со други наноструктури, со цел амплификација на струјниот сигнал, поголема чувствителност и значајни подобрувања во детекцијата и квантификацијата на различни биомолекули. Всушност, улогата на металните наночестички во биосензорите е директно поврзана со нивните физичко-хемиски својства и промените кои настануваат по адсорбирањето на аналитот на површината. Така, овие наночестички можат да се најдат во улога на платформа за имобилизација, да го забрзаат преносот на електрони или како катализатор на реакцијата помеѓу аналитот и супстратот.

Наночестичките поседуваат физички и хемиски својства кои се разликуваат од оние на материјалите од кои потекнуваат. На пример, металните наночестички имаат значително пониска точка на топење од металот-прекурсор за нивно добивање: AuNPs се топат на температура од околу 300 °C (за наночестички со големина од 2,5 nm), споредено со металното злато чија точка на топење е 1064 °C. Дури и апсорпцијата на сончевата радијација е супериорна кај наночестичките во споредба со тенките метални листови. AuNPs исто така формираат обоени раствори, од длабоко црвена до црна боја. Покрај тоа, металите се хемиски инертни во нивната макроскопска форма, додека на наноскала, нивните уникатни физичко-хемиски карактеристики се исклучително значајни. Наночестички од благородни метали (злато, сребро и платина) претставуваат најчесто користени метални честички при конструкција на биосензори, како терапевтски агенси, за испорака на лекови (англ. „drug delivery”) итн. [131].

3.4. Полимерни материјали

Благодарение на можноста за прилагодување на хемиските и физичките својства, употребата на полимерите наоѓа трајно место во конструкцијата на модерни електронски

уреди како што се сензорите. Полимерната модификација овозможува флексибилност и заштита на електродата, продолжувајќи го нејзиниот животен век. Со замената или дополнувањето на класичните сензорски материјали со полимерите се обезбедуваат подобри карактеристики од аспект на подобра селективност, стабилност и брзина на анализа. Присуството на различни функционални групи во структурата на полимерите овозможува услови за интеракција со молекулите од интерес. Примената на полимерите во сензорските платформи овозможува дизајнирање на уреди кои успешно можат да детектираат и следат аналити дури и при многу ниски концентрации.

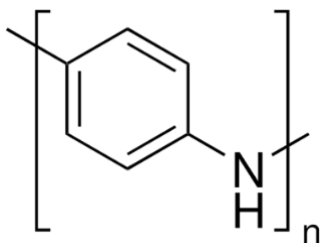
3.4.1. Поли(анилин)

Спроводливите полимери со конјугирана системска структура претставуваат класа на материјали кои генерираат електрична спроводливост преку делокализација на електроните по процесот на допингување (опримесување). Нивната уникатна електронска конфигурација овозможува транспорт на полнежи низ полимерната структура, креирајќи материјали кои ги комбинираат својствата на класичните полимери и електронските карактеристики на полупроводниците или металите.

Меѓу различните видови спроводливи полимери, поли(анилин)от (PANI) се издвојува како особено привлечен материјал за примена во хемиските сензори поради неговата едноставна синтеза, извонредната редокс чувствителност и високата електрична спроводливост која достигнува вредности до 10^3 S/cm. Оваа исклучителна редокс реактивност на PANI овозможува развој на сензори кои можат да детектираат аналити преку промени во бојата и/или електричните својства, обезбедувајќи двоен механизам за сигнализација и детекција. Можноста за функционализација со селективни елементи за препознавање на аналитите и високата електрокаталичка активност кон различни органски и неоргански соединенија се дополнителни негови предности кои се искористуваат во конструкцијата на сензорите.

Од структурен аспект, PANI е составен од алтернирачки редуцирани (бензоидни) и оксидирани (хинонидни) единици, поврзани преку азотни атоми. Основната хемиска структура на PANI може да се претстави како полимерен ланец составен од N-(4-аминофенил)-1,4-бензендиамин единици (Сл. 13). Во зависност од степенот на оксидација, PANI може да постои во три основни оксидациони состојби:

1. Леукоемалдин (целосно редуцирана форма (100 % редуцирани единици), составена исклучиво од бензоидни прстени);
2. Емералдин (полуоксидирана форма, со еднакви делови на редуцирани и оксидирани единици во сооднос 50:50);
3. Пернигранилин (целосно оксидирана форма (0 % редуцирани единици), составена претежно од хинонидни прстени).



Слика 13. Повторувачка единка на PANI

Покрај овие три, постојат уште две интермедијарни оксидирани состојби на PANI, познати како нигранилин (25 % редуцирани единици) и протоемералдин (75 % редуцирани единици). Кај целосно редуцираната форма на PANI, азотните атоми се во форма на амини, додека кај целосно оксидираната форма, во форма на имини [132].

Емералдинската состојба е електрохемиски најстабилна и најчесто користена форма на PANI. Дополнително, емералдинот може да постои во две форми: емералдинска база (неспроводлива) и емералдинска сол (спроводлива), која се добива преку протонација на азотните атоми во полимерната верига. Оваа протонација се постигнува преку третман со киселина, најчесто хлороводородна киселина (HCl), што доведува до формирање на поларони – носители на полнеж одговорни за електричната спроводливост на материјалот.

Електричните својства на PANI се директно поврзани со неговата електронска структура и степенот на допингување т.е. опримесување. Спроводливоста на PANI најмногу зависи од параметрите на синтеза како и третманот на полимерот после синтезирањето. На пример, кај PANI добиен со помош на електрохемиска синтеза, спроводливоста може да се зголеми преку намалување на рН вредноста на растворот и температурата на полимеризација [133]. Спроводливоста на PANI може да се модификува во широк опсег, од изолаторска ($\sim 10^{-10}$ S/cm за емералдинска база) до метална спроводливост ($\sim 10^3$ S/cm за протонирана емералдинска сол), што го прави исклучително приспособлив кон различни електрохемиски примени.

Механизмот на електричната спроводливост кај PANI се заснова на присуството на делокализирани π -електрони по должината на полимерната верига. При опримесувањето, азотните атоми од имино групите (=N-) прифаќаат протони, создавајќи позитивни полнежи во веригата. Овие позитивни полнежи се компензираат со анјони од киселината, формирајќи поларонска структура која овозможува ефикасен транспорт на полнежи преку два главни механизми: интраверижен транспорт (кој претставува движење на полнежи долж веригите преку конјугираниот π -систем) и интерверижно прескокнување (кој претставува пренос на полнежи помеѓу соседните вериги). Спроводливоста на PANI дополнително зависи и од молекулската маса, подреденоста на полимерните вериги, морфологијата, кристалноста и влажноста на околината.

Од аспект на оптичките својства, PANI покажува уникатност и електрохромизам – способност да ја менува бојата при промена на оксидациската состојба или степенот на опримесување. Различните оксидациски состојби на PANI се карактеризираат со различни бои и тоа: леукоемералдинската база е безбојна до бледо жолта, емералдинската база сина, емералдинската сол (допингувана) зелена, а пернигранилинската база виолетова. Овие промени во бојата се резултат на промените во електронската структура и енергетските нивоа на полимерот, што влијае на апсорпцијата на светлината во видливиот спектар. Електрохромните својства на PANI наоѓаат примена во електрохромни уреди, дисплеи и визуелни сензори.

Механичките својства на PANI зависат од начинот на подготовка, молекулската маса и степенот на кристалност. Генерално, PANI во форма на прав или филм покажува умерена механичка јачина и крутост. Полимерот е релативно крут поради присуството на ароматични прстени во неговата структура, со модул на еластичност во опсег од 0,5 до 3 GPa, во зависност од методот на синтеза.

Лимитирачки фактор за механичките својства на PANI е неговата ограничена растворливост и преработка, што го отежнува формирањето на хомогени филмови со висока механичка јачина. За да се надминат овие ограничувања, PANI често се комбинира со други полимери или наноматеријали, формирајќи композити со подобрени механички својства.

PANI покажува релативно добра термичка стабилност. Неговата термичка деградација настанува во неколку фази:

1. Отстранување на апсорбираната вода и растворувачи (до 120 °C)
2. Отстранување на допантот (120 – 300 °C)
3. Раскинување на полимерните вериги и деградација (300 – 600 °C)

Температурата на стаклосување (T_g) на PANI се движи во опсег од 180 до 250 °C, зависно од степенот на допингување и молекулската маса. PANI покажува задоволителна термичка стабилност за повеќето електрохемиски апликации, со почетна температура на деградација над 300 °C, во услови на инертна атмосфера [134].

Хемиските својства на PANI се тесно поврзани со присуството на активни функционални групи (амино и имино групи) во неговата структура. Овие функционални групи овозможуваат PANI да учествува во различни хемиски реакции. Хемиската реактивност на амино групите овозможува лесна функционализација и модификација на PANI со различни органски молекули, а протон-донорскиот и протон-акцепторскиот капацитет е особено важен за интеракција со аналитите преку градење на водородни врски. Понатаму, PANI покажува реверзибилни промени во спроводливоста и оптичките својства при промена на рН вредноста на средината. Неговата висока редокс активност овозможува реверзибилно преминување помеѓу различни оксидациски состојби [135].

Хемиската стабилност на PANI е задоволителна при нормални услови, покажувајќи отпорност на деградација при изложеност на атмосферски кислород и влага, што е предност во споредба со другите спроводливи полимери. Сепак, PANI е чувствителен на оксидирачки агенси и силни алкалии, кои можат да го променат степенот на оксидација или да ја нарушат структурата на полимерот.

Електрохемиските својства на PANI се од особена важност за неговата примена во сензорите. Полимерот покажува добро дефинирано електрохемиско однесување со реверзибилни редокс процеси кои се лесно видливи со волтаметрички техники. PANI покажува два главни редокс процеси: преминот леукоемалдин/емалдин и емералдин/пернигранилин, а потенцијалите на кои тие се јавуваат зависат од рН вредноста на средината. Дополнително, PANI поседува капацитет за складирање на полнежи и се одликува со висока електрокаталитичка активност која му дава способност да ја забрза кинетиката на одредени електрохемиски реакции.

Во однос на синтезата, PANI може да се добие преку хемиска или електрохемиска полимеризација на анилин. Хемиската синтеза типично вклучува оксидација на анилин во кисела средина со оксидирачки агенс како амониум персулфат. Електрохемиската полимеризација нуди прецизна контрола над дебелината на филмот и морфологијата, што ја прави претпочитана метода при конструкција на сензори.

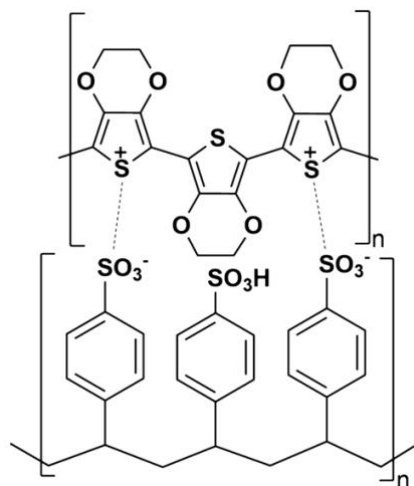
Својствата на PANI можат дополнително да се модифицираат преку кополимеризација со други мономери, добивање на композити со јаглеродни нано-материјали (јаглеродни наноцевки, графен) за подобрена спроводливост, допингување со различни допанти (органски киселини, комплексни анјони), како и контрола на морфологијата т.е. добивање на PANI во нанодимензии (наноцевки, нановлакна, наночестички).

3.4.2. Поли(3,4-етилendioкситиофен):поли(стирен сулфонат)

Поли(3,4-етилendioкситиофен):поли(стирен сулфонат) (PEDOT:PSS) претставува еден од најистражуваните и најчесто користените спроводливи кополимери во областа на органската електроника и електрохемиските сензори. Овој материјал се одликува со извонредна комбинација на електрична спроводливост, оптичка транспарентност, електрохемиска стабилност и преработливост, што го прави исклучително привлечен за апликативна примена.

PEDOT:PSS претставува полиелектролитен комплекс составен од два полимери: поли(3,4-етилendioкситиофен) (PEDOT) кој е позитивно наелектризиран (поликатијон) и поли(стирен сулфонат) (PSS) кој е негативно наелектризиран (полианијон) (Сл. 14). Структурата на PEDOT се заснова на 3,4-етилendioкситиофенски (EDOT) мономерни единици, поврзани преку $\alpha-\alpha'$ позициите на тиофенскиот прстен, формирајќи линеарна конјугирана полимерна верига. Етилендиокси групата поврзана на $\beta-\beta'$ позициите на

тиофенскиот прстен придонесува за стабилизација на позитивните полнежи на PEDOT и ја намалува енергијата на забранетата лента (процеп), што резултира со подобрена електрична спроводливост [136]. PSS, од друга страна, е изграден од стиренски единици со сулфонатни групи ($-\text{SO}_3^-$) прикачени на бензенските прстени. Овие сулфонатни групи се негативно наелектризирани и електростатски реагираат со позитивните полнежи од PEDOT веригите. Во PEDOT:PSS кополимерот, PSS служи како противјон за PEDOT и како матрица која го стабилизира комплексот во водена средина, создавајќи дисперзија на PEDOT:PSS честички со колоидни димензии.



Слика 14. Повторувачка единка на PEDOT:PSS кополимер – PEDOT (горе) и PSS (доле).

На молекуларно ниво, PEDOT:PSS има сложена структура каде што релативно кратки PEDOT сегменти (составени од 6 – 18 мономерни единици) се електростатски поврзани со значително подолги PSS вериги. Во водена дисперзија, PEDOT:PSS формира честички со структура јадро-обвивка (англ. „*core shell*”), каде што хидрофобните PEDOT вериги претежно се наоѓаат во јадрото, додека хидрофилните PSS вериги формираат обвивка што го стабилизира комплексот во водена средина. Оваа структурна организација е клучна за формирањето на стабилни водени дисперзии и овозможува лесна обработка на материјалот преку различни техники како обложување со спинување (англ. „*spin coating*”), инк-јет печатење, распрскување и потопување [137].

Електричните својства на PEDOT:PSS се директно поврзани со неговата електронска структура и морфологија. Високата спроводливост на PEDOT произлегува од присуството на делокализиран π -конјугиран систем долж полимерната верига, што овозможува ефикасен транспорт на полнежи. Во својата неутрална состојба, PEDOT е полупроводник, но при оксидација (опримесување) се формираат поларони и биполарони (носители на полнеж) кои ја зголемуваат неговата електрична спроводливост.

Во PEDOT:PSS комплексот, PSS делува како допант за PEDOT, предизвикувајќи негова оксидација. Сулфонатните групи на PSS прифаќаат електрони од PEDOT, создавајќи позитивни полнежи (поларони и биполарони) долж PEDOT веригите. Типичната електрична спроводливост на PEDOT:PSS се движи во опсег од 0,1 до 10 S/cm за комерцијални формулации, но може значително да се зголеми до 1000 – 4000 S/cm преку различни методи на третирање, како додавање на поларни растворувачи (етилен гликол, диметил сулфоксид), третман со киселини или јонски течности.

Механизмот на спроводливост во PEDOT:PSS вклучува два главни процеси: интраверижен транспорт на полнежи долж PEDOT сегментите и интерверижно прескокнување на полнежи помеѓу различни PEDOT домени. Морфологијата на материјалот, особено степенот на сегрегација помеѓу PEDOT и PSS и формирањето на спроводливи патишта, има значително влијание врз вкупната електрична спроводливост.

PEDOT:PSS покажува интересни оптички својства кои значително зависат од неговата оксидациона состојба. Во својата високо допингувана (оксидирана) состојба, PEDOT:PSS е оптички транспарентен во видливиот спектар, со апсорпциски максимум во блиската инфрацрвена област. Оваа транспарентност во комбинација со високата електрична спроводливост го прави PEDOT:PSS идеален материјал за транспарентни електроди и оптоелектронски уреди. Кога е делумно редуциран, PEDOT:PSS покажува електрохромно однесување – способност да ја менува својата боја при промена на оксидационата состојба. Во својата оксидирана состојба, PEDOT:PSS е светло син и транспарентен, додека во редуцирана состојба станува темно син до виолетов. Оваа промена во бојата е резултат на преминот од биполаронска (оксидирана) во неутрална (редуцирана) состојба, што го менува енергетскиот процеп и соодветно апсорпцискиот спектар на материјалот. Оптичката трансмисија на PEDOT:PSS филмови типично изнесува 80 – 90 % во видливиот спектар за филмови со дебелина од 100 nm, додека индексот на рефракција се движи од 1,4 до 1,6. Оптичките својства може да се модифицираат со промена на соодносот PEDOT:PSS или преку третмани кои влијаат на морфологијата на материјалот.

Електрохемиските својства на PEDOT:PSS се особено значајни за неговата примена во електрохемиските сензори. Материјалот покажува висока електрохемиска активност и реверзибилни редокс процеси, што овозможува ефикасен пренос на електрони и интеракција со различни аналити. PEDOT лесно се оксидира (допингува) и редуцира (дедопингува) при релативно ниски потенцијали, што резултира со добро дефинирани волтаметриски одговори. Електрохемиската стабилност на PEDOT:PSS е извонредна во споредба со повеќето други спроводливи полимери, со способност да издржи илјадници редокс циклуси без значителна деградација. Оваа стабилност се должи на присуството на етилендиокси групите кои ги стабилизираат позитивните полнежи и ја спречуваат деградацијата на β -позициите на тиофенскиот прстен. Дополнително, PEDOT:PSS поседува висок капацитет за складирање на полнеж (100 – 150 F/g), што заедно со неговата добра електрична спроводливост и електрохемиска стабилност го прави одличен кандидат за примена во суперкондензатори и батерии. Покрај ова, материјалот покажува мешана електронска и јонска спроводливост, овозможувајќи транспорт на електрони и јони, што е особено корисно за биоелектронска примена.

Физичките и механичките својства на PEDOT:PSS зависат од соодносот PEDOT:PSS, методот на подготовка и потенцијалните третмани по подготовката. Во цврста состојба, PEDOT:PSS формира филмови со различен степен на кристалност и морфологија, што влијае на неговите механички својства. Филмовите од PEDOT:PSS типично покажуваат модул на еластичност од 0,9 до 2,5 GPa и јачина на истегнување од 10 до 50 MPa, во зависност од составот и методот на подготовка. Материјалот може да покаже значителна флексибилност, особено кога е нанесен на флексибилни супстрати или кога е вградени во еластомерни матрици. Важно физичко својство на PEDOT:PSS е неговата хидрофилност, која произлегува главно од присуството на хидрофилни сулфонатни групи на PSS. Оваа хидрофилност овозможува добро мокрење на различни супстрати и добра адхезија, но исто така значи дека PEDOT:PSS може да апсорбира влага од околината, што потенцијално влијае на неговите електрични својства. Третмани со поларни растворувачи или вмрежувачки агенси може да се користат за намалување на оваа хидрофилност и подобрување на стабилноста на PEDOT:PSS во влажни услови.

PEDOT:PSS покажува добра термичка стабилност, задржувајќи ги своите електрични својства до температури од 200 °C во воздух и до 350 °C во инертна атмосфера. Оваа термичка стабилност е значително повисока од многу други спроводливи полимери и овозможува примена на материјалот во уреди кои работат на

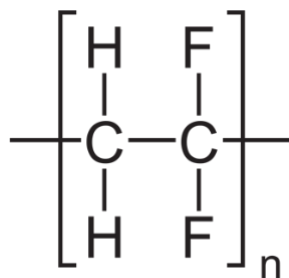
зголемени температури. Температурата на стаклосување (T_g) на PEDOT:PSS зависи од соодносот PEDOT:PSS и содржината на влага, но типично се движи од 80 до 120 °C. Коефициентот на термичка експанзија на PEDOT:PSS филмови е релативно низок (40 – 60 ppm/K), што придонесува за нивната димензионална стабилност при промени во температурата.

PEDOT:PSS наоѓа широка примена во електрохемиските сензори благодарение на неговите уникатни својства. Во овие апликации, PEDOT:PSS може да служи како електроактивна компонента, матрица за имобилизација на биомолекули или посредник за пренос на електрони. Како електроден материјал, PEDOT:PSS обезбедува висока електрична спроводливост, голема електроактивна површина и ниска електродна импеданса, што резултира со подобрен пренос на сигнали и намален шум. Материјалот е компатибилен со различни техники за нанесување, вклучувајќи инк-џет печатење, ситопечатење и обложување со спинување, што овозможува производство на флексибилни и минијатурни електрохемиски сензори.

3.4.3. Поли(винилиден флуорид)

Поли(винилиден флуорид)от (PVDF) претставува синтетички полимер кој привлекува значително внимание во областа на електрохемиските сензори поради своите извонредни физичко-хемиски својства и уникатните електрични карактеристики. Како семикристален термопластичен флуорополимер, PVDF комбинира својства кои го прават особено погоден за широк спектар на примени, од мембрани за сепарација до активни компоненти во електронски и сензорски уреди.

Структурно, PVDF е изграден од повторувачки единици на винилиден флуорид ($-\text{CH}_2-\text{CF}_2-$) (Сл. 15), при што наизменичното присуство на водородни и атоми на флуор по должината на полимерната верига е директно одговорно за неговите уникатни својства. Поради разликата во електронегативноста помеѓу водородот и флуорот, PVDF поседува природен диполен момент на молекуларно ниво, што резултира со интересни електрични својства. Може да кристализира во најмалку четири различни полиморфни фази (α , β , γ и δ), кои се разликуваат според конформацијата на полимерната верига и ориентацијата на диполните моменти. β -фазата претставува високо поларна фаза со транс конформација, каде што диполните моменти се подредени паралелно, што резултира со најсилни пиезо- и фeroелектрични својства. Фазниот состав на PVDF силно влијае врз неговите електрични, механички и термички својства, што овозможува прилагодување на материјалот за специфични апликации преку контролирана обработка и модификација [46].



Слика 15. Повторувачка единица на PVDF

Електричните својства на PVDF се од клучно значење за неговата примена во електрохемиските сензори. PVDF поседува исклучителни пиезоелектрични својства, особено во β -фазата, што му овозможува да генерира електричен потенцијал како одговор на механичка деформација и обратно. Пиезоелектричниот коефициент на PVDF може да достигне вредности до 30 pC/N, што е највисоко меѓу полимерните материјали. Покрај тоа, PVDF поседува и фeroелектрични својства, особено во β -фазата, што се

манифестира со спонтана електрична поларизација која може да се реориентира под дејство на надворешно електрично поле. Овие својства овозможуваат високо чувствителни одговори на електрични стимули и меморирање на електрични состојби. Материјалот поседува и пироелектрични својства, односно способност да генерира електрично поле при промена на температурата, што овозможува примена во термички сензори и инфрацрвени детектори. Во однос на диелектричните својства, PVDF покажува висока диелектрична константа ($\epsilon_r = 8 - 9,5$ за α -фаза и $12 - 14$ за β -фаза) и низок диелектричен губиток, што го прави одличен материјал за електрични изолатори и кондензатори. PVDF е високоотпорен материјал со специфична отпорност во опсег од $10^{13} - 10^{14} \Omega \text{ cm}$, што обезбедува добра електрична изолација. Сепак, при модификација со електроспроводноливи материјали, оваа отпорност може контролирано да се намали, овозможувајќи примена во различни електрохемиски системи [138].

Механичките својства на PVDF се исклучително важни за неговата примена во електрохемиските сензори, обезбедувајќи робустност и долгорочна стабилност. PVDF покажува висока јачина на истегнување ($35 - 55 \text{ MPa}$) која е супериорна во споредба со многу други полимери, обезбедувајќи механичка издржливост на електрохемиските сензори. Модулот на еластичност се движи во границите од $1 - 2,5 \text{ GPa}$, обезбедувајќи добар баланс помеѓу крутост и флексибилност, што е особено корисно за примена во флексибилни сензори. Материјалот покажува одлична отпорност на циклично механичко оптоварување, задржувајќи ги своите структурни и функционални својства дури и по многу циклуси на деформација. Дополнително, PVDF покажува умерено вискоеластично однесување, што му овозможува да апсорбира и троши енергија при механички напрегања.

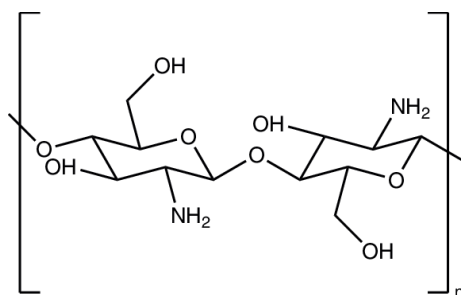
Хемиските својства на PVDF се особено значајни за неговата примена во агресивни средини и при контакт со биолошки течности. PVDF покажува извонредна отпорност кон широк спектар на хемиски агенси, вклучувајќи киселини, бази, оксидирачки агенси, халогени, како и ароматични и алифатични јаглеводороди. Оваа отпорност се должи на јаките C-F врски во полимерната верига и високата кристалност на материјалот. PVDF поседува одлична стабилност при изложеност на ултравиолетово зрачење, што го прави погоден за надворешни апликации и долготрајна употреба. Дополнително, PVDF е релативно биокомпатибилен полимер со ниска цитотоксичност, што овозможува негова примена во биомедицински сензори. Површината на PVDF може да се модифицира преку различни третмани, како плазма или различни хемиски методи, со цел да се воведат специфични функционални групи кои овозможуваат подобрена интеракција со анализите или прикачување на биомолекули. Ова придонесува за зголемена селективност и чувствителност на сензорските платформи базирани на PVDF.

Термичките карактеристики на PVDF значително придонесуваат за неговата применливост во различни услови на работа. PVDF задржува структурен и функционален интегритет во широк температурен опсег, со температура на топење од $165 - 170 \text{ }^\circ\text{C}$ и температура на деградација над $300 \text{ }^\circ\text{C}$. Температурата на стаклосување на PVDF е околу $-35 \text{ }^\circ\text{C}$, што обезбедува флексибилност при ниски температури и стабилност при амбиентални услови. Топлинската спроводливост на PVDF е релативно ниска ($0,17 - 0,19 \text{ W/m K}$), обезбедувајќи добра термичка изолација, но може да се зголеми со додавање на термички спроводливи полнила. Специфичниот топлински капацитет на PVDF е умерен ($1,2 - 1,5 \text{ J/g K}$), што влијае на неговата способност да апсорбира топлинска енергија без значителни промени во температурата. Оваа комбинација на термички својства го прави PVDF погоден за примена во широк опсег на температурни услови.

3.4.4. Хитозан

Хитозанот претставува природен биополимер добиен преку деацетилација на хитин, кој е широко распространет во природата како структурна компонента на клеточните ѕидови на габите и егзоскелетите на членконогите (ракови, инсекти). Во последните децении, хитозанот привлекува значително внимание во областа на електрохемиските сензори поради неговите структурни и функционални карактеристики, биокомпатибилност и еколошка прифатливост.

Хитозанот е линеарен полисахарид составен од случајно распоредени деацетилирани и ацетилирани глукозамински единици (Сл. 16). Неговата хемиска структура се одликува со присуство на amino ($-NH_2$) и хидроксилни ($-OH$) функционални групи на секоја мономерна единица, што му обезбедува уникатни хемиски и биолошки својства. Степенот на деацетилација е клучен структурен параметар кој се однесува на процентот на деацетилирани глукозамински единици во полимерот и типично се движи помеѓу 60 % и 95 % кај комерцијален хитозан [139].



Слика 16. Повторувачка единка на хитозан

Молекулската маса на хитозанот варира широко, што значително влијае врз неговите физички својства, како вискозитет, растворливост и способност за формирање филмови. Во цврста состојба, хитозанот формира семикристална структура со интра- и интермолекуларни водородни врски кои придонесуваат за неговата механичка стабилност и хемиска отпорност. Уникатната структурна карактеристика на хитозанот која го одделува од повеќето други природни полисахариди е присуството на amino групи кои му даваат поликатионски карактер во кисела средина. Кога amino групите се протонирани ($pH < 6,5$), хитозанот станува позитивно наелектризиран, што овозможува електростатски интеракции со негативно наелектризираны површини и молекули, вклучувајќи протеини, DNA, липиди и разни синтетички полимери.

Хемиските својства на хитозанот се директно поврзани со присуството на реактивни функционални групи во неговата структура. Amino групите му обезбедуваат уникатни хемиски својства и го прават еден од ретките природни поликатионски полимери. Овие amino групи поседуваат нуклеофилен карактер и можат да учествуваат во различни хемиски реакции, вклучувајќи N-ацилирање, N-карбоксилација, N-сулфонирање и Шифови бази, овозможувајќи разновидни хемиски модификации за специфични апликации.

Растворливоста на хитозанот е силно зависна од pH вредноста. Во кисела средина, amino групите се протонираат, што го прави хитозанот растворлив во водени раствори. Сепак, при повисоки pH вредности ($pH > 6,5$), amino групите се депротонираат, што доведува до намалена растворливост и потенцијално таложење на полимерот. Оваа pH-зависна растворливост се искористува во различни апликации, вклучувајќи контролирано ослободување на лекови и имобилизација на биомолекули.

Хитозанот има одлична способност за формирање филмови преку процес на испарување на растворуваачот. Добиените филмови се механички стабилни, транспарентни и флексибилни, со модул на еластичност кој типично се движи од 1 до 3 GPa и

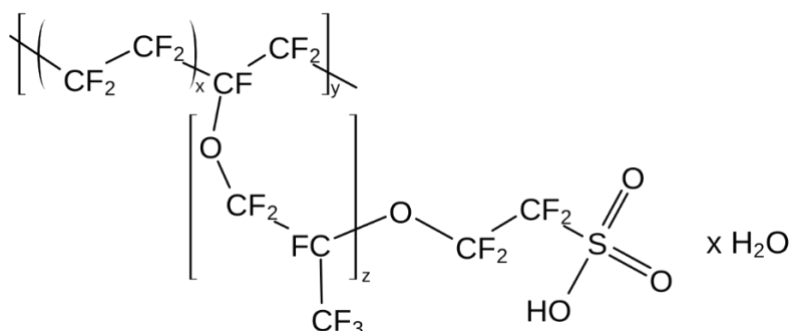
јачина на истегнување од 10 до 100 МРа, зависно од молекулската маса и условите на подготовка. Присуството на интра- и интермолекуларни водородни врски значително придонесува за механичката јачина на хитозанските филмови. Порозноста може да се контролира преку различни методи на подготовка, вклучувајќи лиофилизација (афинитет кон растворувач) и фазна сепарација, што овозможува создавање на материјали со различна морфологија – од густе филмови до високо порозни сунѓерести структури со голема специфична површина. Оваа својство е особено значајно за електрохемиските сензори, каде порозната структура може да обезбеди зголемена површина за имобилизација на биомолекули или електрокаталитички материјали. Дополнително, хитозанот покажува одлични адхезивни својства кон различни површини, вклучувајќи метали, керамика, стакло и полимери, што се должи на формирањето на водородни врски и електростатски интеракции преку неговите функционални групи. Оваа карактеристика е исклучително корисна при модификацијата на електродни површини во електрохемиските сензори [140].

Хитозанот наоѓа разновидна примена во електрохемиските сензори благодарение на својата способност за имобилизација на биомолекули, електрокаталитички материјали и наночестички. Филмовите од хитозан обезбедуваат погодна микрооколина за стабилизација на биомолекули како ензими, антитела и нуклеински киселини, задржувајќи ја нивната биолошка активност и подобрувајќи ја нивната ориентација на електродната површина. Позитивно наелектризираната природа на хитозанот во кисела средина овозможува формирање на електростатски комплекси со негативно наелектризираните биомолекули, обезбедувајќи ефикасна имобилизација без потреба од ковалентно поврзување.

Во развојот на електрохемиски сензори, хитозанот може да служи и како матрица за подготовка на модифицирани електроди преку различни техники како нанесување со капки, електрохемиска депозиција, обложување со спинување и потопување. Дополнително, хитозанот може да функционира како пермселективна мембрана, блокирајќи електрохемиски активни интерференти и овозможувајќи селективно пропуштање на анализот од интерес до електродната површина. Дополнително, рН-чувствителноста на хитозанот се искористува во развојот на рН-сензори и електрохемиски сензори чие функционирање е контролирано од промените во рН вредноста. Промените во рН вредноста предизвикуваат структурни промени во полимерот поради протонирање или депротонирање на аминокиселините, што влијае на пропустливоста на мембраната, капацитетот за врзување со анализот и електро-хемискиот одговор на сензорот.

3.4.5. Нафион

Нафионот претставува синтетички сулфониран тетрафлуороетиленски кополимер, кој припаѓа на класата на јоноизменувачки полимери. Развиен од страна на компанијата DuPont во доцните 1960-ти години, овој перфлуоросулфониран полимер се етаблирал како водечки материјал во различни електрохемиски апликации, особено при модификација на сензорски електроди и како полимерна матрица за дисперзија на наноматеријали. Структурно, нафионот се состои од перфлуориран јаглероден 'рбет (сличен на поли(тетрафлуороетилен), PTFE) на кој се прикачени странични вериги чија опашка завршува со сулфонатни групи ($-\text{SO}_3^-$) (Сл. 17). Оваа уникатна молекуларна структура му дава на нафионот двојна природа – хидрофобен перфлуориран 'рбет кој обезбедува механичка и хемиска стабилност и хидрофилни сулфонатни групи кои овозможуваат јонска спроводливост и интеракција со растворувачи и електроактивни соединенија [141].



Слика 17. Повторувачка единка на хитозан

Во цврста состојба, нафионот формира полутранспарентни филмови со значителна механичка јачина и издржливост. Модулот на еластичност на нафионските мембрани се движи од 100 до 300 МПа, во зависност од содржината на влага и температурата, додека јачината на истегнување достигнува вредности од 20 до 30 МПа. Нафионот поседува одлична димензионална стабилност, особено во суви услови, што овозможува формирање на стабилни и униформни филмови врз електродни површини.

Физичките својства на нафионот силно зависат од степенот на хидратација. Во сува состојба, материјалот е релативно крут и крт, но со апсорпција на вода или други поларни растворувачи, станува значително пофлексибилен поради ефектот на пластифицирање. Способноста на нафионот да апсорбира значителни количини на вода (15 – 25 % од својата маса) потекнува од хидрофилните сулфонатни групи, кои силно привлекуваат и задржуваат молекули на вода, формирајќи водородни врски. Сорпционите својства на нафионот играат клучна улога во неговата примена за модификација на електроди. Нафионот покажува селективна сорпција на различни органски и неоргански соединенија, особено оние со позитивен полнеж или јонизибилни групи. Механизмот на сорпција вклучува комбинација на електростатски интеракции, јонска размена, хидрофобни интеракции и водородни врски.

Нафионот демонстрира исклучителна термичка стабилност благодарение на својот перфлуориран 'рбет. Материјалот останува стабилен до температури од околу 280 °С, над кои започнува постепенa деградација. Температурата на стаклосување на нафионот варира во зависност од содржината на влага, но типично се движи од 110 до 150 °С во релативно суви услови. Оваа термичка стабилност овозможува примена на нафионот во широк температурен опсег, вклучувајќи високотемпературни електрохемиски процеси.

Електрохемиските својства на нафионот се особено значајни за неговата примена во сензорски платформи. Како јоноизменувачки полимер, нафионот поседува висока јонска спроводливост (0,01 – 0,1 S/cm во хидрирана состојба), што првенствено произлегува од миграцијата на протони или други катјони преку хидрофилните домени и канали. Оваа јонска спроводливост зависи од степенот на хидратација, температурата и видот на противјони присутни во полимерот [142].

Значајно електрохемиско својство на нафионот е неговата селективна пермеабилност. Поради присуството на негативно наелектризираны сулфонатни групи, нафионот покажува катјонска пермселективност – ги привлекува и однесува транспортот на позитивно наелектризираны јони, истовремено отфрлајќи ањони. Оваа селективност е особено корисна во електрохемиските сензори, бидејќи овозможува блокирање на ањонски интерференти како аскорбати и урати, кои често интерферираат со детекцијата на целните аналити. Покрај ова, нафионот поседува и значаен јоноизменувачки капацитет (типично 0,9 – 1,0 meq/g), што произлегува од присуството на сулфонатни групи. Овие групи можат да разменуваат протони со различни катјони во растворот, вклучувајќи Na^+ , K^+ , Li^+ , Ca^{2+} , и преодни метални јони, што влијае на физичко-хемиските

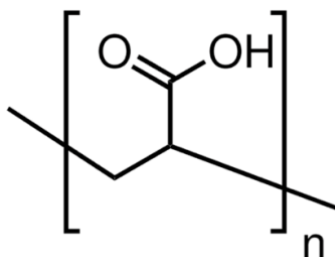
и транспортните својства на полимерот. Интересно е што сулфонатните групи формираат силни интеракции со поларни и наелектризираны молекулы, што овозможува прекоцентрирање на одредени аналити од растворот во нафионската матрица. Ова прекоцентрирање може да зголеми локална концентрација на аналитот за неколку реда на големина, што значително ја подобрува чувствителноста на електрохемиската детекција. Дополнително, нафионот често има каталитички ефект врз редокс процесите на одредени аналити, подобрувајќи ја кинетиката на електронскиот трансфер и модифицирајќи ги потенцијалите на оксидација/редукција.

Нафионот, иако не е електрично спроводлив сам по себе, претставува извонредна полимерна матрица за дисперзија и стабилизација на различни наноматеријали. Оваа способност произлегува од неговата уникатна амфифилна структура која овозможува истовремена интеракција со хидрофобни и хидрофилни компоненти на наноматеријалите. Дополнително, како матрица овозможува ефикасна дисперзија и стабилизација на овие материјали, спречувајќи нивна агрегација и обезбедувајќи голема активна површина за електрохемиски реакции.

Хемиската стабилност на нафионот е исклучителна и директно произлегува од неговата перфлуорирана структура. Материјалот е отпорен на оксидирачки и редуцирачки агенси, минерални киселини (дури и концентрирана сулфурна и азотна киселина), халогени, и повеќето органски растворувачи. Оваа хемиска инертност е особено значајна во агресивни електролитни средини, каде нафионот останува стабилен дури и при високи потенцијали и во присуство на електрохемиски генерирани реактивни видови.

3.4.6. Поли(акрилна киселина)

Поли(акрилната киселина) (РАА) е синтетички линеарен полимер добиен преку полимеризација на акрилна киселина ($\text{CH}_2=\text{CHCOOH}$). РАА се состои од линеарна јаглеродна верига со карбоксилни групи ($-\text{COOH}$) прикачени на секоја втора јаглеродна позиција (Сл. 18). Карбоксилните групи се одговорни за повеќето физичко-хемиски својства на РАА и овозможуваат различни интеракции со други молекулы и јони. Може да се синтетизира во широк опсег на молекулски маси (од неколку илјади до милиони g/mol), што влијае на механичките својства, вискозитетот и растворливоста [143].



Слика 18. Повторувачка единка на РАА

РАА е класичен пример за полиелектролит чија конформација и степен на јонизација силно зависат од рН вредноста на средината. При ниски рН вредности (кисела средина), карбоксилните групи остануваат протонирани ($-\text{COOH}$), што резултира со свиткување на полимерните вериги поради водородни врски и хидрофобни интеракции.

При повисоки рН вредности (неутрална до базна средина), карбоксилните групи се депротонираат ($-\text{COO}^-$), создавајќи негативни полнежи кои предизвикуваат електро-статско одбивање помеѓу сегментите на веригата, што доведува до експанзија на полимерот и формирање на произдолжена конформација. рН-зависната конформација и степен на јонизација на РАА се користат за развој на електрохемиски рН сензори, каде

промените во рН вредноста предизвикуваат мерливи промени во волтаметрискиот одговор или електрохемиската импеданса.

Поради присуството на карбоксилните групи, РАА е исклучително хидрофилна и може да апсорбира значителни количини вода, формирајќи хидрогелови со степен на бабрење кој зависи од рН вредноста, јонската јачина и степенот на вмрежување. Оваа способност за апсорпција на вода е особено корисна во апликации каде се бара задржување на влага или контролирано ослободување на супстанции. Карбоксилните групи на РАА исто така, можат да разменуваат протони со различни катјони во растворот, особено со метални јони, формирајќи комплекси. Овој јоноизменувачки капацитет е корисен за отстранување на тешки метали од водни раствори и за модификација на електроди во сензорски примени.

Дополнително, РАА е добро растворлива во вода и поларни органски растворувачи како етанол и метанол, особено при повисоки рН вредности кога карбоксилните групи се депротонирани. Растворливоста зависи од молекулската маса, каде пониските молекулски маси покажуваат подобра растворливост.

Во развојот на сензори, РАА се користи за модификација на електродите, обезбедувајќи функционален слој богат со карбоксилни групи кои служат како центри за прикачување на биомолекули (ензими, антитела) или наноматеријали. Полимерниот филм создава 3D матрица со голема површина, зголемувајќи го капацитетот на имобилизација на електродата. Дополнително, РАА служи како ефикасна матрица за дисперзија и стабилизација на различни наноматеријали. СООН групите реагираат со површината на наноматеријалите, спречувајќи нивна агрегација и овозможувајќи формирање на стабилни наноконпозити со подобрени електрокаталитички својства.

4. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Оваа докторска дисертација е фокусирана на развој и оптимизација на полимерни и полимер-композитни електрохемиски сензори за детекција на DOX, со акцент на синтеза на иновативен полимерен нанохибриден материјал. Истражувањето е структурирано околу три главни научни цели:

4.1. Синтеза на нанохибриден материјал базиран на редуциран графен оксид и златни наночестички

Примарната цел на овој сегмент од истражувањето е синтезата на напреден материјал кој значително ќе ги подобри електроаналитичките карактеристики на сензорските електроди при детекција на доксорубицин. По детално литературно истражување, фокусот е ставен на развој на хибрид од редуциран графен оксид декориран со златни наночестички (rGO/AuNPs). Синтезата е реализирана преку двофазен процес кој вклучува контролирана редукција на графен оксид, следена со декорација со златни наночестички во три различни концентрации (0,5, 2 и 4 wt. %). Компонентите на овој хибрид се селектирани поради нивните комплементарни својства кои синергистички ја зголемуваат ефикасноста на сензорот. Добиениот нанохибрид е целосно карактеризиран со примена на комплементарни аналитички техники како рендгенска дифракција, раманска и Фуриетрансформна инфрацрвена спектроскопија, скенирачка електронска микроскопија, диференцијална скенирачка калориметрија и термогравиметрија/деривативна термогравиметрија за утврдување на неговите структурни, морфолошки и термички својства.

4.1. Развој на методологии за полимерна модификација на печатени електроди

Втората цел опфаќа развој и примена на различни методологии за модификација на печатени електроди. Во рамките на оваа цел, истражени се неколку пристапи за површинска модификација. Синтетизируваниот rGO/AuNPs нанохибрид е инкорпориран во полимерна матрица од нафион за добивање на нанокомпозитно електроспроводливо мастило, користено за модификација на работните електроди. Дополнително, истражени се и други пристапи, вклучувајќи метод на капка, електрополимеризација и озрачување со бета-честички. За модификација се користени повеќе полимери: поли(анилин) (PANI), поли(винилиден флуорид) (PVDF), поли(3,4-етиленидиокситиофен):поли(стирен сулфонат) (PEDOT:PSS), поли(акрилна киселина) (PAA) и хитозан. Истражувањето опфаќа модификација на различни типови печатени електроди изработени од јаглерод, злато, платина, графен, јаглеродни наноцевки и PANI.

4.2. Евалуација и оптимизација на електроаналитичките карактеристики на модифицираните сензори

Третата цел на истражувањето опфаќа два последователни процеси: електрохемиска карактеризација и аналитичка валидација. Првично, спроведена е систематска евалуација и компаративна анализа на електрохемиските карактеристики на развиените електроди. Преку циклична волтаметрија, определени се и споредени клучните карактеристики, како чувствителност, кинетика, механизам на реакција и електрохемиски активна површина, со цел да се селектираат најперспективните кандидати. Финално, спроведена е компаративна аналитичка валидација на овие селектирани системи, каде фокусот е ставен на докажување на сигурноста на методот за детекција и анализа преку евалуација на параметрите како точност, прецизност, стабилност, селективност и робустност. Крајната цел на овој пристап е да се дефинира електродата со најдобри севкупни карактеристики и да се утврдат оптималните услови за нејзина практична примена во терапевтскиот мониторинг на доксорубицин.

5. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ

5.1. Синтеза на нанохибриден материјал базиран на редуциран графен оксид и златни наночестички

5.1.1. Користени материјали

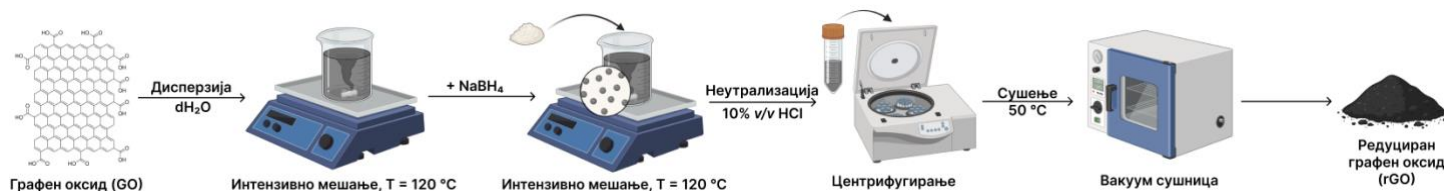
Нанохибрирот базиран на редуциран графен оксид и златни наночестички (rGO/AuNPs) е синтетизиран според двофазна постапка опишана од страна на Бехраван и соработниците [84]. Целата синтеза е направена во лабораториите при Институтот за вода на Универзитетот во Кранфилд, Велика Британија.

Првата фаза од синтезата подразбира редукција на графен оксид до редуциран графен оксид. Во оваа фаза користена е дисперзија на графен оксид во вода (4 mg/mL, Sigma-Aldrich) и дестилирана вода. Како редукциско средство е користен натриум борохидрид ($\geq 98\%$, Acros Organics). Неутрализацијата на дисперзијата е направена со хлороводородна киселина (37 % v/v, ACS grade, Sigma-Aldrich).

Во втората фаза од синтезата направена е декорација на редуцираниот графен оксид со златни наночестички. Редуцираниот графен оксид е диспергиран во N,N-диметил формаид ($\geq 99,8\%$, ACS grade, Sigma-Aldrich). Во 5 mL диспергиран раствор на редуциран графен оксид во N,N-диметил формаид се додадени златни наночестички (40 nm дијаметар, суспензија стабилизирана во 0,1 mol/L фосфатен пуферски раствор, Sigma-Aldrich) и натриум борохидрид (98+ %, Acros Organics).

5.1.2. Метод на подготовка

Илустративниот приказ на првиот чекор од синтезата на нанохибрирот, кој опфаќа постапка на редукција на графен оксид, е прикажан на Сл. 19. За таа цел, 25 mL од дисперзијата на GO се додаваат во 30 mL дестилирана вода. Добиената дисперзија се меша на магнетна мешалка во времетраење од 1,5 h, при константна температура од 120 °C. Потоа, во период од 45 min кон дисперзијата со континуирано мешање се додаваат 0,5 g натриум борохидрид (NaBH_4) како редукциско средство. По завршување на реакцијата, дисперзијата се префрла во центрифугирачки епрувети и се продолжува со центрифугирање во период од 2 h, при брзина на ротација од 3800 rpm (број на вртежи). По центрифугирањето, измерена е рН вредноста на дисперзијата која покажа алкален карактер (рН 9,6). Следно, извршена е неутрализација со 10 % v/v раствор на хлороводородна киселина (HCl) до постигнување на рН 7,0. Потоа, дисперзијата е промиена со дестилирана вода и повторно центрифугирана за целосно одвојување на водената од цврстата фаза. Добиениот талог е сушен на 50 °C во период од 12 часа, по што е добиен прашкаст редуциран графен оксид (rGO).



Слика 19. Илустративен приказ на редукција на графен оксид

Вториот чекор од постапката на синтеза на нанохибрирот, кој вклучува декорирањето на редуцираниот графен оксид со златни наночестички, е илустративно прикажан на Сл. 20. Во 20 mL N,N-диметил формаид (DMF) се диспергираат 0,2 g од претходно синтетизируваниот rGO. Дисперзијата интензивно се меша на магнетна мешалка приближно 30 min, по што следи сонификација на ултразвучна бања во период од 5 min, за деагломерација на честичките. Добиената дисперзија се разделува во епрувети од по 5 mL, при што во секоја епрувета се додава 0,03 g NaBH_4 и соодветен волумен на суспензија од златни наночестички, со цел добивање на нанохибриди со три

различни концентрации на златни наночестички (0,5, 2 и 4 % *wt.*). Волумените на суспендираните златни наночестички и соодветните концентрации се прикажани во Табела 1. Вијалите се третираат во ултразвучна бања во период од 2 h. Финално, добиените дисперзии се сушат во вакуум сушница при температура од 40 °C, резултирајќи со нанохбриди базирани на редуциран графен оксид и златни наночестички во три различни концентрации (0,5, 2 и 4 % *wt.*).

Табела 1. Додаден волумен на суспензија од AuNPs и крајна концентрација на AuNPs во нанохбридите

Додаден волумен / μL	Концентрација / % <i>wt.</i>	Добиен нанохбрид
50	0,5	rGO/0,5 % <i>wt.</i> AuNPs
200	2	rGO/2 % <i>wt.</i> AuNPs
400	4	rGO/4 % <i>wt.</i> AuNPs



Слика 20. Илустративен приказ на декорација на графен оксид со златни наночестички

5.1.3. Методи на испитување и инструментални параметри

Синтетизирианиот нанохбриден материјал е структурно карактеризиран со користење на повеќе техники и тоа: рендгенска дифракција од прашок (XRPD), раманска спектроскопија (Raman), Фуриетрансформна инфрацрвена спектроскопија (FTIR), скенирачка електронска микроскопија (SEM), диференцијална скенирачка калориметрија (DSC) и термогравиметрија/деривативна термогравиметрија (TG/DTG).

5.1.3.1. Рендгенска дифракција од прашок (XRPD)

Рендгенската дифракција од прашок (XRPD) е фундаментална техника за структурна анализа на кристални материјали, базирана на дифракција на рендгенски зраци при интеракција со кристалната решетка на примерокот. Според Бреговиот закон (Равенка 1),

$$n \lambda = 2 d \sin \theta \quad (1)$$

кога монохроматско рендгенско зрачење со бранова должина λ удира на кристален примерок под агол θ , дифракцијата се јавува само кога растојанието d помеѓу атомските рамнини ги задоволува условите за конструктивна интерференција. n претставува ред на дифракција, кој за повеќето анализи во прав, особено за (00 l) рефлексите има вредност 1. Добиениот дифрактограм содржи пикови чии позиции (агли) и интензитети се карактеристични за специфичната кристална структура, овозможувајќи идентификација на кристалните фази, нивната ориентација и параметрите на кристалната решетка. Оваа техника овозможува идентификација на карактеристичните дифракциски максимуми на златните наночестички и го потврдува присуството на кристалните рамнини на графенот.

Покрај овие фундаментални информации, XRPD овозможува и проценка на просечната големина на кристалитите (D), што е особено значајно при карактеризација на наноматеријали. Оваа информација се добива од анализата на проширувањето на дифракционите пикови, при што се користи Шереровата равенка (англ. „Scherrer equation“). Равенката го поврзува инструментално коригирано проширување на пикот со димензиите на кохерентно дифрактирачките домени, изразена преку Равенка 2:

$$D = \frac{K \lambda}{\beta \cos(\theta)} \quad (2)$$

каде што:

K – бездимензионален фактор на облик (Шерерова константа), кој најчесто има вредност околу 0,9, во зависност од обликот на кристалитите;

λ – бранова должина на употребените X-зраци;

β – ширина на полувисина (англ. „*Full Width at Half Maximum*”, FWHM), изразена во радијани, и коригирана за инструменталното проширување;

θ – Бреговиот агол на дифракција, изразен во радијани при пресметката на $\cos(\theta)$.

Рендгенската анализа е извршена со Rigaku Miniflex дифрактометар (Јапонија), со $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$). Дифракционите податоци се детектирани во при константна брзина од $4 \text{ }^\circ/\text{min}$, во 2θ подрачје $1 - 90 \text{ }^\circ$, со чекор $0,01 \text{ }^\circ$, користејќи D/teX Ultra брз детектор. Снимањата се направени при јачината на струја од 15 mA и напон од 40 kV , на собна температура.

5.1.3.2. Раманска спектроскопија (Raman)

Раманската спектроскопија е неdestructивна аналитичка техника што се заснова на нееластично расејување на монохроматска светлина, обично од ласерски извор, при интеракција со молекуларните вибрации во примерокот. При Рамановото расејување, фотоните го менуваат својот енергетски потенцијал при интеракција со молекулите, обезбедувајќи информации за вибрационите, ротационите и другите нискофреквентни премини во системот. За јаглеродни материјали, раманската спектроскопија е особено важна бидејќи овозможува идентификација на карактеристичните G ($\sim 1580 \text{ cm}^{-1}$) и D-ленти ($\sim 1350 \text{ cm}^{-1}$), кои соодветно произлегуваат од вибрациите на sp^2 јаглеродните атоми и присуството на структурни дефекти. Односот на интензитетите на овие ленти (I_D/I_G) е директен показател за степенот на дефекти во графенската структура и обезбедува квантитативна мерка за квалитетот на материјалот.

Анализата на примероците е направена на собна температура, со користење на Horiba Jobin Yvon LabRam 300 Infinity (Јапонија) микро-рамански спектрофотометар опремен со Olympus MPlanN конфокален микроскоп. Користен е објектив со зголемување од 100 пати. Рамановиот ефект е постигнат со Nd:YAG ласер на 532 nm , во опсег на бранови броеви од $100 - 2000 \text{ cm}^{-1}$.

5.1.3.3. Фуриетрансформна инфрацрвена спектроскопија (FTIR)

Инфрацрвената спектроскопија е една од најзначајните спектроскопски методи за анализа и идентификација на органските и неорганските соединенија. Оваа аналитичка техника базира на интеракцијата на инфрацрвената светлина со молекулите од примерокот, при што различните функционални групи апсорбираат светлина на специфични фреквенции. За разлика од конвенционалните дисперзивни IR инструменти, FTIR користи интерферометриски пристап и математичка Фурие-трансформација за симултано собирање податоци за целиот опсег на фреквенции, што резултира со подобар однос сигнал – шум и повисока прецизност. Вибрациите на различните хемиски врски создаваат карактеристични апсорпциски пикови во IR спектарот, овозможувајќи идентификација на специфични функционални групи присутни во примерокот. Ова ја прави FTIR моќна алатка за структурна карактеризација на материјали и следење на хемиски промени е редукацијата на графен оксид и интеракцијата со металните нано-честички.

Инфрацрвените спектри на примероците се снимени со Bruker Vertex 70 спектрофотометар (Bruker Optik GmbH, Етлинген, Германија) со користење на Bruker Platinum ATR додаток со дијамантски кристал. Снимањата се направени во средното инфрацрвено подрачје при бранова должина од $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$.

5.1.3.4. Скенирачка електронска микроскопија со енергетско- дисперзивна спектроскопија (SEM-EDS)

Скенирачката електронска микроскопија (SEM) е напредна техника за визуелизација што користи високоенергетски електронски сноп за генерирање слики со висока резолуција на површината на примерокот. Кога фокусираниот електронски сноп скенира преку примерокот, тој произведува различни сигнали како резултат на интеракциите со атомите на различни длабочини, вклучувајќи секундарни електрони (кои обезбедуваат топографски информации), повратно расеани електрони (кои даваат контраст базиран на атомски број) и карактеристични рендгенски зраци. Токму анализата на енергетскиот спектар на овие карактеристични рендгенски зраци, позната како енергетско-дисперзивна спектроскопија (англ. „*energy-dispersive spectroscopy*”, EDS), овозможува квалитативна и квантитативна елементарна анализа на микроволумени од примерокот, давајќи информации за неговиот хемиски состав и дистрибуцијата на елементите. Современите SEM инструменти можат да постигнат резолуција до неколку нанометри, овозможувајќи директно набљудување на наноструктури како и добивање на податоци за површинската морфологија, големината и дистрибуцијата на честичките во графенските слоеви.

Микроскопските испитувања се направени на JSM-IT210 електронски микроскоп (JEOL, Токио, Јапонија), со користење на детектор со секундарни електрони и забрзувачки напон од 30 kV, при висок вакуум. Инструментот е опремен и со EDS детектор кој е користен за линиско одредување на елементарниот состав на избрани региони од примероците, на растојание од 10 nm во однос на примерокот.

5.1.3.5. Диференцијална скенирачка калориметрија (DSC)

Диференцијалната скенирачка калориметрија (DSC) е термоаналитичка техника која го мери протокот на топлина кон или од примерокот во споредба со инертен референтен материјал, при контролирана температура. Принципот на работа се заснова на детекција на разликата во енергијата потребна за одржување на иста температура помеѓу примерокот и референтот, или разликата во нивните температури кога се загреваат со ист проток на топлина. Добиениот термограм го прикажува протокот на топлина како функција од температурата или времето. Оваа техника овозможува идентификација и квантификација на физичките транзиции (како топење, кристализација, стаклосување) и хемиските реакции (како оксидација, разложување, полимеризација) кои вклучуваат апсорпција (ендотермни процеси) или ослободување (егзотермни процеси) на топлина. Со помош на DSC се добиваат важни информации за топлинскиот капацитет, енталпијата на транзициите, термичката стабилност и кинетиката на реакциите, што е клучно за карактеризација на термодинамичките својства на материјалите.

Диференцијалната скенирачка калориметрија е изведена симултано со термогравиметријата анализа (TGA) со користење на Setaram Themys One (Лион, Франција) комбиниран TGA/DSC инструмент. Сите мерења се изведени во температурен опсег од 25 до 800 °C со брзина на загревање од 20 K/min, во инертна атмосфера на азот (проток 30 mL/min).

5.1.3.6. Термогравиметрија/дериwативна термогравиметрија (TG/DTG)

Термогравиметријата (TG) е техника која ја мери промената на масата на примерокот при контролирано загревање или ладење во специфична атмосфера. Примерокот се става на прецизна вага во печка и се загрева според дефинирана температурна програма, при што се следи промената на масата во функција од температурата или времето. Загубата на маса може да се поврзе со процеси како што се испарување на растворувачи, елиминација на функционални групи, деградација на органски

соединенија или оксидација. Деривативната термогравиметрија (DTG) го покажува првиот извод (англ. „*first derivative*“) на TG кривата во однос на температурата (или времето). Во суштина, DTG кривата ја покажува брзината (стапката) на промена на масата како функција од температурата. Со помош на TG/DTG се обезбедуваат информации за термичкото однесување на материјалите, нивната стабилност и составот, што е од суштинско значење за разбирање на нивното однесување при различни работни температури и за оптимизација на процесите на синтеза и примена.

TG/DTG анализата е направена со користење на Setaram Themys One (Лион, Франција) комбиниран TGA/DSC инструмент, а примероците се анализирани во отворени садови од алуминиум оксид (Al_2O_3). Сите мерења се изведени во температурен опсег од 25 до 800 °C со брзина на загревање од 20 K/min, во инертна атмосфера на азот (проток 30 mL/min).

5.2. Развој на методологии за полимерна модификација на печатени електроди

5.2.1. Електроспроводно мастило базирано на rGO/AuNPs и модификација на електроди

5.2.1.1. Користени материјали

Главна компонента во електроспроводливото мастило е синтетизируваниот rGO/2 % wt. AuNPs нанохибрид, кој е инкорпориран во полимерна матрица од нафион. Синтезата на мастилото, како и понатамошната модификација на електродите се направени во Институтот за технички науки при Српската академија на науки и уметности, во Белград, Србија. За подготовка на мастилото е користен раствор на нафион (5 % wt., Ion Power, USA) како врзувач, активен јаглен (Vulcan XC-72R, Cabot Corporation, USA), етанол (96 % v/v, Merck, Germany) и дестилирана вода. Со цел согледување на електроспроводливоста, подготвено е и контролно мастило во истиот состав како и претходно, со исклучок на активен јаглен.

Како електрохемиски супстрат во оваа фаза се користени неколку ситопечатени електроди (Dropsens, Spain) со работни електроди изработени од јаглерод (carbon, модел DS110), високопорозно злато (Au BT, модел DS220) и платина (Pt, модел DS550). Дијаметарот на работната електрода на користените SPE изнесува 4 mm. Покрај печатените, користен е и конвенционален три-електроден систем кој вклучува чиста или модифицирана стаклеста јаглеродна електрода (англ. „*glassy carbon electrode*“, GCE) како работна електрода со дијаметар 4 mm, заситена каломелова електрода (Ag/AgCl , 3 mol/L KCl) како референтна електрода и платинска плочка како спротивна електрода.

5.2.1.2. Метод на подготовка

Мастилото базирано на rGO/2 % wt. AuNPs е подготвено во четири различни формулации. Основниот состав на мастилото вклучува 40 μL 5 % wt. раствор на нафион, 225 μL етанол и 225 μL дестилирана вода. Овие компоненти се комбинирани во епендорф епрувета и добро измешани користејќи вортекс мешалка. Четирите формулации се разликуваат според составот на функционалната компонента:

- Две формулации содржат само rGO/2 % wt. AuNPs нанохибрид.
- Две формулации содржат комбинација на rGO/2 % wt. AuNPs нанохибрид и Vulcan XC-72R активен јаглен.

Точните количини на rGO/AuNPs и Vulcan XC-72R активниот јаглен за секоја формулација се дадени во Табела 2. Масениот удел на активниот јаглен изнесува 10 % wt. од масата на нанохибридот.

Табела 2. Маса на rGO/2 % wt. AuNPs и Vulcan XC-72R активен јаглен во формулација на електроспроводливи мастила

Ознака	rGO/AuNPs / mg	Активен јаглен / mg
ФХ-1	10	–
ФХ-2	1,5	–
ФХЈ-1	10	1
ФХЈ-2	1,5	0,15

*Ознаката на формулациите означува: **Ф** – формулација; **Х** – додаток на хибрид; **Ј** – додаток на активен јаглен. Бројот во ознаката означува **1** – висока или **2** – ниска концентрација на хибридниот материјал.

Сите формулации на мастило се хомогенизирани со помош на вортекс мешалка во времетраење од 3 min, а потоа се сонифицирани на ултразвучна бања во времетраење од 1 h. Хомогенизацијата е направена за да се обезбеди униформна дисперзија на функционалните компоненти. Илустративниот приказ на постапката на подготовка на мастилото е прикажана на Сл. 21.



Слика 21. Илустративен приказ на подготовка на мастило базирано на rGO/AuNPs

5.2.1.3. Модификација на електроди со електроспроводно мастило базирано на rGO/AuNPs

Модификацијата на SPE и GCE електродите со електроспроводливото мастило базирано на rGO/2 % wt. AuNPs е реализирана преку метод на директна депозиција на мастилото врз работната електрода. Непосредно пред нанесувањето, мастилото е хомогенизирано на ултразвучна бања во времетраење од 15 min, за обезбедување на униформна дисперзија. Пред нанесување на модификација, површината на GCE електродата е чистена со абразивна хартија и дестилирана вода. По хомогенизацијата, користејќи микропипета земено се по 3 μL од соодветната формулација и истите се нанесени директно врз површината на работната SPE и GCE електрода. Модифицираните електроди потоа се сушени под инфрацрвена светлина во времетраење од 3 min. Овој метод на сушење овозможува брзо и целосно исушување на мастилото, обезбедувајќи формирање на стабилен филм кој цврсто се прилепува за површината на електродата и не се одвојува во текот на електрохемиските мерења. Илустративен приказ на постапката на модификација на електродите е прикажан на Сл. 22.



Слика 22. Илустративен приказ на модификација на SPE и GCE со rGO/AuNPs-базирано мастило

Со користење на четирите различни формулации на мастило, подготвени се вкупно седум модифицирани електроди (шест SPE и една GCE), чиј состав и ознаки се прикажани во Табела 3.

Табела 3. Преглед на модифицирани електроди со мастило базирано на rGO/2 % wt. AuNPs

Ознака на електрода	Тип на електрода		Формулација на мастило
	Мастило	Тип	
KM1	Carbon	SPE	ФК-2
KM2	Carbon		ФК-1
KM3	Pt		ФК-2
KM4	Au BT		ФКJ-2
KM5	Pt		ФКJ-2
KM6	Carbon		ФКJ-2
KM7	Carbon	GCE	ФК-2

*Ознаката на електродите означува: **KM** – композитно мастило.

5.2.2. Полимерна модификација на електроди преку метод на капка

5.2.2.1. Користени материјали

Во оваа фаза, фокусот на истражувањето е насочен кон полимерните материјали. За целите на истражувањето користени се биокompatибилен природен полимер – хитозан (разреден воден раствор, средна молекулска маса, Sigma-Aldrich), електроактивен полимер – поли(винилиден флуорид) (PVDF) (гранули, средна Mw ~275,000, средна Mn ~107,000, Sigma-Aldrich) и ањонски полимер – поли(акрилна киселина) (ПАА) (35 % wt. во вода, средна Mw ~100,000, Sigma-Aldrich). За растворање на полимерите користен е N,N-диметилформаид (DMF) ($\geq 99,8$ %, ACS grade, Sigma-Aldrich). Повеќесидни јаглеродни наноцевки (> 98 % содржина на јаглерод, прав, Sigma-Aldrich) се користени како компонента за дополнителна модификација на ПАА. Дополнително, за модификација на електродите е користен и поли(3,4-етилendioкситиофен):поли(стирен сулфонат) (PEDOT:PSS) спроводлив кополимер (CleviosTM PH 1000, водена дисперзија, Heraeus Eporio).

Како електрохемиски супстрат се користени три типа на ситопечатени електроди, со основа базирана на јаглерод, а потоа комерцијално модифицирани со графен (G/Carbon, модел 110GPH), јаглеродни наноцевки (CNT/Carbon, модел 110CNT) и поли(анилин) (PANI/Carbon, модел 110PANI). Дијаметарот на сите SPE изнесува 4 mm и истите се набавени од Dropsens, Шпанија.

5.2.2.2. Метод на подготовка

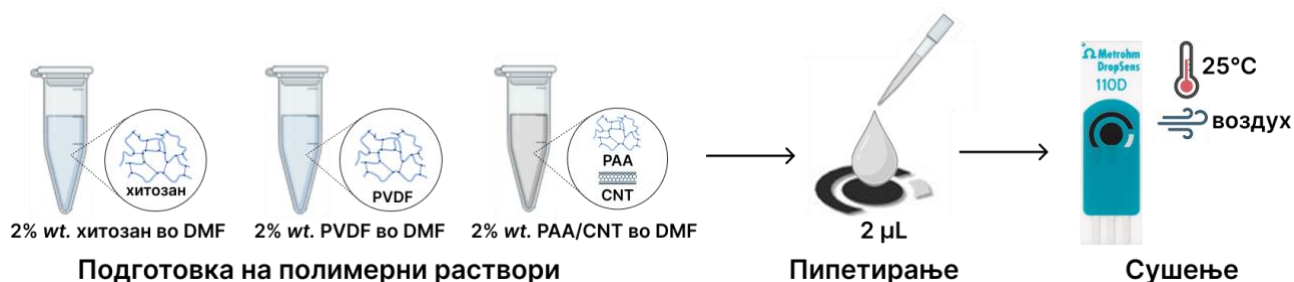
Подготовката на полимерните раствори е направена со нивно растворање во N,N-диметилформаид (DMF). Постапката на подготовка е идентична за сите три користени полимери – хитозан, PVDF и ПАА, со исклучок на PEDOT:PSS кој е користен во неговата комерцијална состојба без дополнително растворање т.е. во облик на водена дисперзија. Полимерите се растворени во DMF, при што се добиени поединечни раствори со масена концентрација од 2 % wt.

Растворите на хитозан и PVDF се користени како такви, без дополнителна модификација. Во приготвениот 2 % wt. раствор на ПАА, додадени се 0,2 % wt. јаглеродни наноцевки и смесата е рачно мешана 5 min, до добивање на хомогена дисперзија.

5.2.2.3. Модификација на електроди со полимери преку метод на капка

Модификацијата на електродите со хитозан, PVDF и ПАА е направена преку користење на методот на капка, илустративно прикажана на Сл. 23. Од секој од подготвените полимерни раствори нанесени се по 2 μ L врз површината на работните електроди. Електродите се сушени на собна температура од 25 °C, во период од седум

дена, за целосно сушење на нанесената модификација. На овој начин се модифицирани четири електроди, чија ознака е дадена во Табела 4.



Слика 23. Илустративен приказ на полимерна модификација на електроди преку метод на капка

Табела 4. Преглед на полимер-модифицирани електроди преку метод на капка

Ознака на електрода	Тип на електрода	Полимер за модификација
ПМ1	G/Carbon	хитозан
ПМ2	G/Carbon	PVDF
ПМ3	CNT/Carbon	PVDF
ПМ4	PANI/Carbon	PAA/CNT

*Ознаката на електродите означува: ПМ – полимерна модификација.

Модификацијата на електродите со PEDOT:PSS е направена на сличен принцип, преку користење на методот на капка. Водената дисперзија на PEDOT:PSS (Clevios PH1000) во волумен од 3 µL е нанесена врз работната електрода со помош на микропипета, по што електродата е сушена во сушница на температура од 100 °C, во времетраење од 1h. Илустративниот приказ на постапката за модификација е прикажан на Сл. 24, а прегледот на модифицираните електроди е даден во Табела 5.



Слика 24. Илустративен приказ на модификација на електроди со PEDOT:PSS преку метод на капка

Табела 5. Преглед на PEDOT:PSS-модифицирани електроди преку метод на капка

Ознака на електрода	Тип на електрода	Полимер за модификација
ПМ5	CNT/Carbon	PEDOT:PSS
ПМ6	G/Carbon	PEDOT:PSS

*Ознаката на електродите означува: ПМ – полимерна модификација.

5.2.2.4. Методи на испитување и инструментални параметри

Морфологијата на полимер-модифицираните електроди преку методот на капка е карактеризирана со помош на скенирачка електронска микроскопија (SEM).

5.2.2.4.1. Скенирачка електронска микроскопија (SEM)

Микрографиите на G/Carbon, CNT/Carbon, PANI/Carbon електродите се направени на JSM-IT210 електронски микроскоп (JEOL, Токио, Јапонија), со користење на детектор со секундарни електрони и забрзувачки напон од 20 и 30 kV, при висок вакуум.

5.2.3. Полимер и полимер-комполитна модификација на електроди преку електрохемиска полимеризација на анилин

5.2.3.1. Користени материјали

Електрополимеризацијата е користена како техника за директна модификација на површината на сензорските електроди. Истата е направена во лабораториите на Институтот за материјали при Универзитетот во Кранфилд, Велика Британија.

Како мономер погоден за електрополимеризација е избран анилин ($\geq 99,5\%$, ACS grade, Sigma-Aldrich). За директно добивање на филм од полимерен нанокмполит на површината на работните електроди е користена дисперзија на синтетизиранот rGO/2 % wt. AuNPs во анилин. Електрохемиското плакнење на електродите е направено со сулфурна киселина (H_2SO_4) ($> 95\%$, ACS grade, Fisher). После секое електрохемиско мерење, електродите се премивани со дестилирана вода.

За оваа модификација користени се четири типови на ситопечатени електроди базирани на високопорозно злато (Au BT, модел DS220), нископорозно злато (Au AT, модел 220AT), јаглерод (Carbon, модел DS110) и јаглеродна електрода комерцијално модифицирана со поли(анилин) (PANI/Carbon, модел 110PANI). Сите електроди се купени од Dropsens, Шпанија, со дијаметар од 4 mm.

5.2.3.2. Метод на подготовка

Стандардниот концентриран раствор за електрополимеризација е подготвен со додавање на 11,36 μL анилин во 5 mL H_2SO_4 со концентрација 0,25 mol/L. Од синтетизиранот хибриден материјал (rGO/2 % wt. AuNPs) е подготвена 5 % wt. стандардна дисперзија со додавање на 50 mg нанохбрид во 1 mL стандарден концентриран раствор на анилин. Од овој раствор направени се две последователни разредувања и тоа: 0,1 % wt. раствор добиен со диспергирање на 25 μL стандардна дисперзија во 475 μL стандарден концентриран раствор на анилин и 0,05 % wt. раствор добиен со диспергирање на 5 μL стандардна дисперзија во 475 μL стандарден концентриран раствор на анилин. За оптимизација на процесот, подготвен е и втор стандарден концентриран раствор со додавање на 9 μL анилин во 2 mL H_2SO_4 со концентрација 0,5 mol/L. На ист начин како и погоре, подготвена е 5 % wt. стандардна дисперзија и истата е разредена до 0,05 % wt. раствор на нанохбрид во 0,5 mol/L анилин.

Пред модификацијата на електродите со електрополимеризација, неопходно е истите да подлежат на повеќефазен пред-третман за подготовка, идентичен кај секоја електрода. Сите чекори од третманот на електродата пред и по електрополимеризацијата се прикажани во прилог:

Подготовка на електродата пред електрополимеризација:

1. Промивање на работната електрода со дестилирана вода.
2. Електрохемиско плакнење на работната електрода со 0,25 mol/L H_2SO_4 .
3. Промивање на работната електрода со дестилирана вода.

Електрополимеризација на електродата:

4. Електрополимеризација со 5 %, 0,1 % и 0,05 % wt. стандардна дисперзија на rGO/2 % wt. AuNPs во 0,25 и 0,5 mol/L анилин, преку циклична волтаметрија (CV).

Третман на електродата по електрополимеризација:

5. Промивање на работната електрода со дестилирана вода.
6. Сушење на собна температура.

Припремата на електродите пред електрополимеризацијата, процесот на електрополимеризација и третманот по истата се детално објаснети во понатамошниот текст од оваа докторска дисертација.

5.2.3.3. Припрема за електрополимеризација – електрохемиско плакнење на електроди со циклична волтамметрија

Цикличната волтамметрија е техника која се заснова на линеарна промена на потенцијалот со тек на времето. при што се генерира триаголен потенцијален бран, овозможувајќи циклично скенирање во определен опсег на потенцијали. При циклирањето, на работната електрода се одвиваат оксидациски и редукциски процеси што резултира со појава на карактеристични пикови во волтаммограмот. Интензитетот на струјните пикови е директно пропорционален со концентрацијата на електроактивниот аналит, што овозможува квантитативна анализа на примероците. Дополнително, положбата на пиковите и нивната форма обезбедуваат информации за кинетиката и механизмот на електродните процеси. Техниката е особено погодна за испитување на електрохемиската реверзибилност на редокс процесите и оценување на перформансите на модифицираните електроди.

Припремата на сензорските електроди за електрополимеризација најпрво вклучува физичко плакнење на електродите со дестилирана вода, а потоа и електрохемиско плакнење на истите со користење на циклична волтамметрија (CV) како електрохемиска техника. За електрохемиското плакнење е користен потенциостат/галваностат PalmSens4 (PalmSens BV, Холандија), контролиран преку матичен софтверски пакет PS Trace 5.9. Раствор на сулфурна киселина со концентрација 0,25 mol/L е користен за плакнење на електродите. Од него се нанесени 150 μ L врз површината на сензорската електрода. Инструменталните параметри за овој чекор се дадени во Табела 6.

Табела 6. Инструментални параметри за електрохемиско плакнење на електроди со CV

Параметар	Вредност
Опсег на потенцијали	-0,6 до 0,5 V
Брзина на снимање	0,05 V/s
Број на циклуси	3
Време за стабилизација	10 s

5.2.3.4. Електрохемиска полимеризација и инструментални параметри

Електрохемиската полимеризација (или електрополимеризација) претставува ефикасна и широко применета техника за синтеза на спроводливи полимерни филмови. Овој вид на полимеризација овозможува едноставна и контролирана подготовка на филмови со висока чистота, под дејство на електрична струја. Техниката базира на електрохемиска оксидација на мономери во протонирачки киселини при што се формираат катјонски радикали кои потоа реагираат и таложат на површината на работната електрода. Процесот може да се спроведе во различни електрохемиски услови, користејќи различни електроди, електролити и растворувачи, што овозможува контрола на морфологијата и функцијата на добиените полимерни филмови. Процесот на електрополимеризација главно се одвива на анодата и е поволен за мономери со ароматични структури како анилин, пирол и тиофен. Кај катодната полимеризација, реакцијата е поретка и многу помалку ефикасна. Овој метод на полимеризација е особено корисен за директна депозиција на полимерот врз електродата, овозможувајќи контрола на што дебелината на полимерниот филм и неговата спроводливост [144].

Историски гледано електрополимеризацијата како техника започнува да се користи во 1835 година, при оксидација на анилин до добивање на поли(анилин) познат како „црн анилин“ (англ. „*aniline black*“). Но, може да се каже дека техниката ја добива популарноста помеѓу 1968 и 1988 година кога повеќе истражувачи експериментираат со различни услови за синтеза на анилин. Денес, електрополимеризацијата е основна

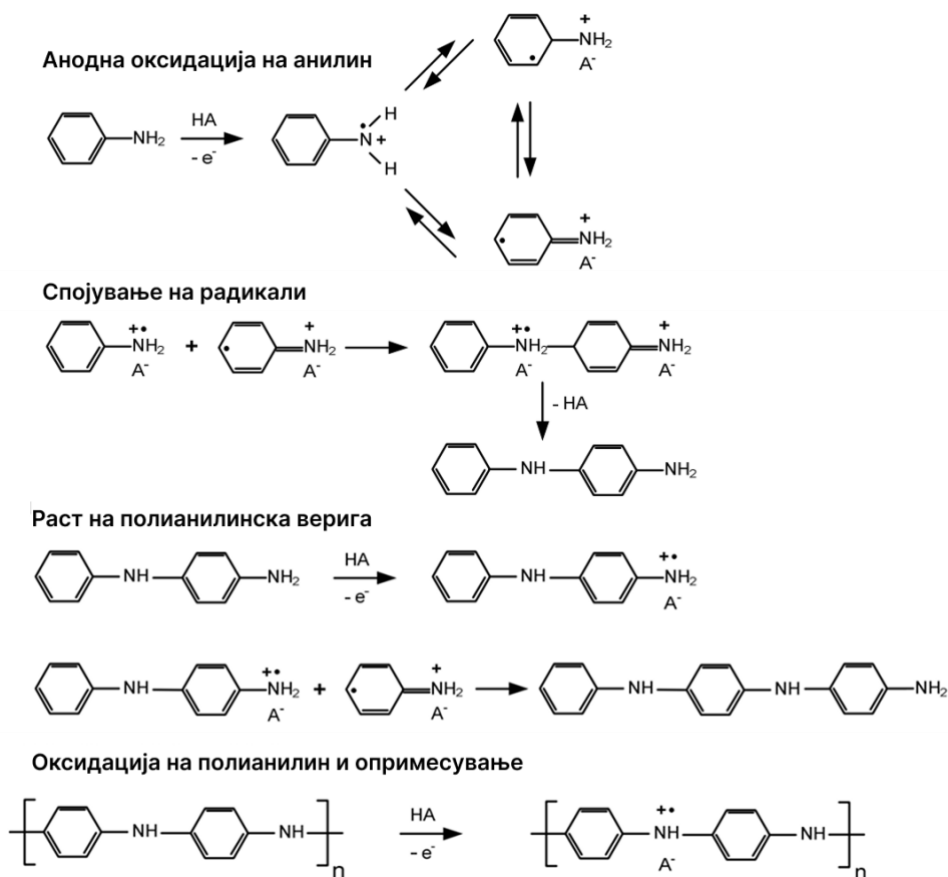
метода за синтеза на полимери и полимерни композити применливи во сензори, суперкондензатори, батерии и други електронски уреди. До ден денес, електрополимеризација на PANI и неговите деривати претставува најистражуван метод за електрохемиска синтеза помеѓу електроспроводливите полимери. Таквата популарност, како од теоретски така и од практични аспекти, се должи на неговите уникатни својства: постоење на различни оксидациони состојби, електрична и оптичка активност, ниска цена на мономерот, редокс реверзибилност, стабилност итн.

Електрохемиската, слично како и хемиската полимеризација на PANI се изведува само во кисел електролит, бидејќи повисока рН вредност води до формирање на олигомери со кратка конјугација кои имаат сосема поразлична природа. Иако не може да се воспостави општ механизам на електрополимеризација поради тоа што врз истата влијаат различни фактори, прифатено е дека првиот чекор од процесот на полимеризација на PANI вклучува формирање на анилински катјонски радикали, преку анодна оксидација на површината на електродата. Ова се смета за чекор што ја одредува брзината на реакцијата. Постоењето на анилинскиот катјонски радикал е експериментално потврдено со воведување молекули (резорцинол, хидрохинон, бензохинон итн.), способни да ја забават или дури и да ја запрат реакцијата, при што е докажан радикален механизам на полимеризација. Оксидацијата на анилинскиот мономер е иреверзибилен процес, кој се случува при повисоки позитивни потенцијали од редокс потенцијалот на PANI.

Следниот чекор зависи од бројни фактори како што се: составот на електролитот, густината на струјата на таложење или брзината на скенирање на потенцијалот, природата и состојбата на анодниот материјал, температурата итн. За успешна електрополимеризација потребна е релативно висока концентрација на катјонски радикали во близина на површината на електродата. Катјонските радикали, во зависност од реактивноста, можат да учествуваат во различни реакции. Доколку се стабилни, може да дифундираат во растворот и да реагираат со цел формирање на растворливи продукти со ниска молекулска маса. Од друга страна, ако се нестабилни, може брзо да реагираат со контра-анјонот од киселината или со растворувачот во близина на електродата и да формираат растворливи продукти со ниска молекулска маса. Во најдобриот случај, би дошло до спојување на анилиниумските катјонски радикали, проследено со елиминација на два протона и реароматизација на бензенскиот прстен, што води до формирање на димер (подоцна олигомер). Анилинскиот димер, или олигомер, понатаму се оксидира на анодата заедно со PANI. Пропагирањето на веригата се постигнува преку спојување на катјонските радикали на олигомерот со анилиниумскиот катјонски радикал. Конечно, контра-анјонот кој потекнува од киселината, а е присутен во електролитот, го опримува полимерот, исполнувајќи го барањето за електронеутралност [145]. Механизмот на електрополимеризација на PANI е шематски прикажан на Сл. 25. Електрополимеризацијата на PANI е автокаталитички процес. Забележано е дека струјата се зголемува со текот на времето при константни потенцијали повисоки од 0.80 V и дека потенцијалите на анодниот пик се поместуваат кон понегативни вредности со зголемување на бројот на циклуси. Генерално, тоа значи дека колку повеќе полимер се формира на анодата, толку е поголема брзината на електрополимеризацијата.

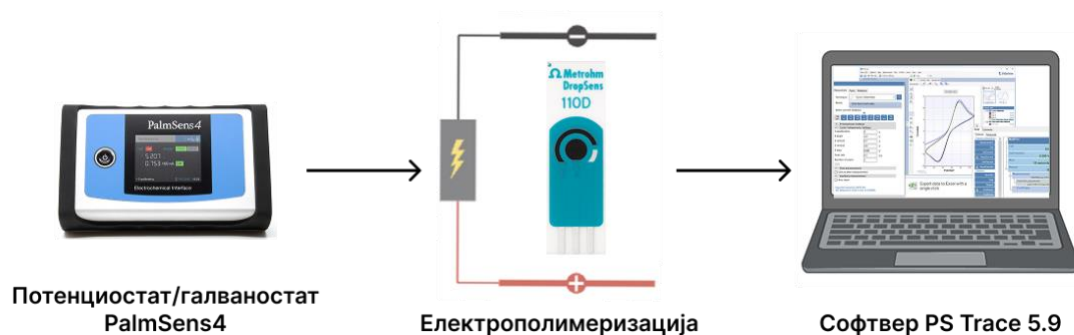
Електрохемиската синтеза на електроспроводливи полимери силно зависи од различни параметри, како што се: природата на допантниот анјон (влијае врз морфологијата и брзината на раст на полимерот), природата и составот на растворувачот (нуклеофилен растворувач би реагирал со катјонските радикали формирани преку оксидација на мономерот на анодата), материјалот на електродата (чија површинска енергија ја контролира леснотијата на посакуваната депозиција на полимерот), температурата на електрохемиската полимеризација итн. Електрополимеризацијата на

PANI, речиси секогаш се изведува во силно кисели водени електролити. Допантните анјони кои се вградуваат во веригата на PANI потекнуваат од киселината и ја претставуваат нејзината конјугирана база. Тие се вметнуваат во веригата за време на електрополимеризацијата исполнувајќи го барањето за електронеутралност, па затоа и нивното присуство има силно влијание врз морфологијата, спроводливоста и електрохемиската активност на PANI, како и врз самиот процес на полимеризација. Експериментално е потврдено дека PANI добиен во присуство на „големи анјони“, кои потекнуваат од хлороводородна киселина, сулфурна киселина, азотна киселина, р-толуен сулфонска киселина и сулфосалицилна киселина, го поттикнува формирањето на побабрен филм со поотворена структура, додека присуството на „мали анјони“ како што се ClO_4^- или BF_4^- , резултира со формирање на покомпактна структура. Дополнително, изборот на протонирачка киселина влијае на степенот на полимеризација на PANI. Највисок степен на полимеризација се постигнува при користење на сулфурна киселина.



Слика 25. Механизам на електрополимеризација на PANI [164]

За електрополимеризацијата е користен потенциостат/галваностат PalmSens4 (PalmSens BV, Холандија), контролиран преку матичен софтверски пакет PS Trace 5.9. Електрополимеризација е извршена преку циклична волтаметрија, со користење на 5 %, 0,1 % и 0,05 % wt. стандардна дисперзија на rGO/2 % wt. AuNPs во 0,25 и 0,5 mol/L анилин. Од овој раствор се нанесувани по 150 μL врз површината на сензорските електроди. Процесот на електрополимеризација е илустративно прикажан на Сл. 26. Добиените електроди и нивните ознаки се преставени во Табела 7. Инструменталните параметри за овој чекор се дадени во Табела 8.



Слика 26. Илустративен приказ на електрополимеризација

Табела 7. Преглед на електрополимеризирани електроди

Ознака на електрода	Тип на електрода	Полимер за модификација
ЕП1-0	Au AT	0,25 mol/L анилин
ЕП1-1	Au AT	5 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,25 mol/L анилин
ЕП1-2	Au AT	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,25 mol/L анилин
ЕП1-3	Au AT	0,1 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,25 mol/L анилин
ЕП2-0	Au AT	0,5 mol/L анилин
ЕП2-1	Au AT	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,5 mol/L анилин
ЕП3-0	Au BT	0,5 mol/L анилин
ЕП3-1	Au BT	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,5 mol/L анилин
ЕП4-0	Carbon	0,5 mol/L анилин
ЕП4-1	Carbon	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,5 mol/L анилин
ЕП5-0	PANI/Carbon	0,5 mol/L анилин
ЕП5-1	PANI/Carbon	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,5 mol/L анилин

*Ознаката на електродите означува: **ЕП** – електрополимеризација.

Табела 8. Инструментални параметри за електрополимеризација преку CV

Параметар	Вредност
Опсег на потенцијали	-0,6 до 0,8 V
Брзина на снимање	0,05 V/s
Број на циклуси	15
Време за стабилизација	10 s

5.2.4. Модификација на електроди преку озрачување со бета-честички

5.2.4.1. Користени материјали

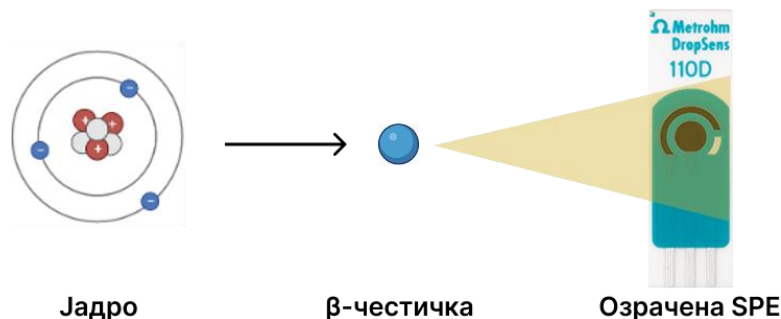
Модификацијата на електродите преку озрачување со бета-честички е направена на јаглеродни електроди, комерцијално модифицирани со поли(анилин) (PANI/Carbon, модел 110PANI) и јаглеродни наноцевки (CNT/Carbon, модел 110CNT). Електродите, со дијаметар од 4 mm, се купени од Dropsens, Шпанија.

5.2.4.2. Метод на подготовка

Комерцијалните електроди се модифицирани преку озрачување со бета-честички*** без претходна подготовка. Работните електроди се изложени на зрачење од сноп од електрони со енергија 6 MeV, генерирано од линеарен акцелератор ELU-6 Екма, Русија. Вкупната доза на зрачењето е калибрирана на 100 Gy/s и истата е утврдена преку протокол В3000 за тестирање на униформноста на зрачењето. Дозиметрите користени за

*** Бета-честички – Субатомски честички со електричен полнеж, кои настануваат во јадрото, при премин на неутрон во протон или обратно.

тестот на униформност (GEX B3WINdose) се изработени од радиохромен^{†††} полимерен филм кој е чувствителен на ултравиолетова светлина, температура, влажност и физички онечистувања како отпечатоци од прсти. Тестот потврдува вкупна апсорбирана доза кај работните електроди од 50 kGy. Илустративниот приказ на постапката за модификација е прикажан на Сл. 27, а прегледот на модифицираните електроди е даден во Табела 9.



Слика 27. Илустративен приказ на модификација преку озрачување со бета-честички

Табела 9. Преглед на електроди модифицирани преку озрачување со бета-честички

Ознака на електрода	Тип на електрода	Модификација
OE1	PANI/Carbon	β -озрачување (50 kGy)
OE2	CNT/Carbon	β -озрачување (50 kGy)
OE0-1	PANI/Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
OE0-2	CNT/Carbon	Немодифицирана, контролна електрода

*Ознаката на електродите означува: **OE** – озрачена електрода.

5.2.4.3. Бета-честички

Бета (β) честичките претставуваат субатомски честички кои поседуваат голема енергија и во зависност од електричниот полнеж можат да бидат електрони (β^-) или позитрони (β^+). Честичките се создаваат преку процесот на радиоактивно распаѓање на јадрото наречен бета-распаѓање. Ова распаѓање најчесто настанува во јадрата кои имаат преголем број на неутрони за да постигнат стабилност. Вишокот неутрон во овој случај се трансформира во протон и електрон. Протонот останува, додека пак електронот се избива (англ. „sputtering“) од јадрото со голема брзина, споредлива до брзината на светлината. На овој начин се случува емисијата на негативно наелектризиран електрон т.е. β^- честички.

Поседуваат многу мала маса, која преставува една двеилјадитинка од масата на протонот. Нивната мала маса значи дека брзо губат енергија преку интеракција со материјата и имаат неправилна (хаотична) патека додека се движат низ воздух или други материјали. Бета-честичките се многу помалку јонизирачки отколку алфа-честичките и генерално предизвикуваат помала штета за дадена количина на депонирана енергија. Типично имаат дострел од десетици сантиметри во воздух (зависно од енергијата) и неколку милиметри во цврсти материјали.

Кога β^- јонизирачкото зрачење поминува низ цврсти материјали, стапува во интеракција со атомите и на атомско и на кристално ниво, што доведува до структурни промени во материјалот. Оваа интеракција примарно се манифестира како разни дефекти или нарушувања [146]. Во случајот на интеракција со јаглеродни наноцевки (CNT), може да настанат два главни процеси: формирање дефекти и графитизација [147–149]. Јонизирачкото зрачење може да ги раскине врските меѓу јаглеродните атоми и да предизвика избивање на атоми од површината, што резултира со создавање празнини (вакан-

^{†††} Радиохромен ефект – способност на материјалите за промена на бојата при озрачување со радиоактивно зрачење

ции). Овие празнини, заедно со интерстициските (вметнати) атоми, може да предизвикаат значајна реконструкција на јаглеродната мрежа, доведувајќи до нарушувања во рамнината, како што се формирање петоаголници или седмоаголници [150]. Понатаму, енергијата од јонизирачкото зрачење може да елиминира специфични функционални групи, овозможувајќи дополнителни јаглеродни атоми да се врзат на нивно место, формирајќи нови C–C или C=C врски [149]. Овој процес, познат како графитизација, ја зголемува кристалноста, ја подобрува термичката стабилност и ја зголемува електричната спроводливост на материјалите. Во случајот на поли(анилин) (PANI), јонизирачкото зрачење може да предизвика неколку ефекти. Еден од нив преставува интермолекуларното вмрежување, што ја зголемува термичката и механичката стабилност на полимерот. Понатаму, може да доведе до зголемување на кристалноста на полимерот и намалување на меѓурамнинското растојание (англ. „*d-spacing*”), што доведува до подобрена електрична спроводливост и финално, намалување на големината на кристалитите, што ја зголемува ефективната површина на работната електрода добиена од овој материјал [151]. Исто така, изложувањето на полимерен материјал како PANI на јонизирачки третман доведува до создавање на високо реактивни интермедиери, слободни радикали, јони и ексцитирани атоми [152].

5.2.4.4. Методи на испитување и инструментални параметри

Површината на озрачените електроди е карактеризирана преку скенирачка електронска микроскопија (SEM).

5.2.4.4.1. Скенирачка електронска микроскопија (SEM)

Микрографиите на CNT/Carbon и PANI/Carbon електродите се направени на JSM-IT210 електронски микроскоп (JEOL, Токио, Јапонија), со користење на детектор со секундарни електрони и забрзувачки напон од 20 и 30 kV, при висок вакуум.

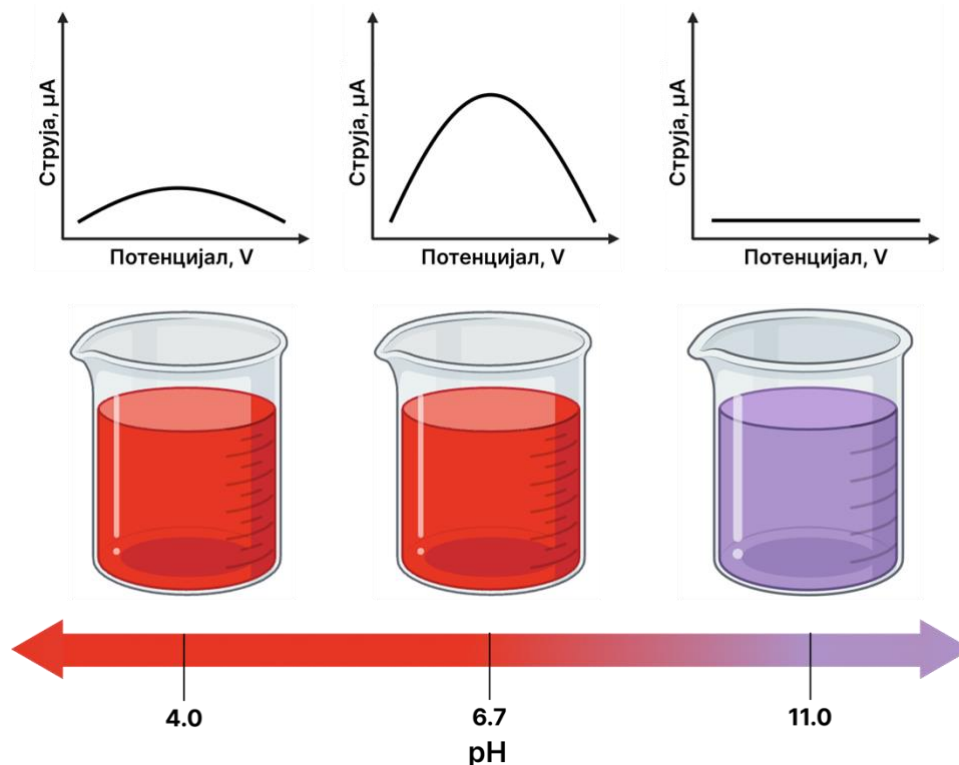
5.3. Евалуација и оптимизација на електроаналитичките карактеристики на модифицираните сензори

5.3.1. Користени материјали и метод на подготовка

Во овој дел од истражувањето анализирани се сите електроди кои претходно беа соодветно модифицирани. Покрај модифицираните, тестирани се и немодифицирани електроди за споредба на карактеристиките, а нивниот преглед е даден во Табела 10.

Како електролит за електрохемиските мерења е користен 0,1 mol/L фосфатен пуферски раствор (англ. „*phosphate buffer solution*, PBS) со pH 6,7. Оваа pH вредност е избрана поради две причини. Првата е поврзана со идејата за симулација на биолошка средина т.е. хуман серум кој има неутрална pH вредност од 6,7. Втората пак е поврзана со оптимизацијата на електрохемискиот метод. Пред започнување со тестирањето на електродите, во фазата на развој и оптимизација на методот, беше испитано влијанието на pH вредноста на пуферот врз електрохемискиот одговор на доксорубицинон (DOX). Анализирани се раствори на DOX во опсег на pH вредности од 4,0 (кисела) до 11,0 (алкална), а добиените резултати се визуелно прикажани на Сл. 28. При pH 4,0, забележан е намален одговор кон DOX, што укажува на помалку поволни услови за електрохемиска реакција. При pH 11,0, аналитичкиот сигнал целосно исчезнува, придружено со визуелна промена на бојата на растворот од црвена во виолетова. Оваа појава е јасен показател за иреверзибилната хемиска деградација на DOX преку хидролиза, процес кој е познато дека се одвива забрзано во силно алкална средина [197–199]. Ова сознание е од клучно значење, бидејќи покажува дека отсуството на сигнал не е резултат на неуспех на сензорот, туку на неговата способност точно да го регистрира отсуството на електроактивниот аналит во неговата оригинална форма. Со тоа се

дефинира горната граница на работниот опсег на аналитичкиот метод. Врз основа на добиените резултати (максимална струја и најдобра форма на пикот), рН 6,7 (неутрална) е избрана како оптимална за понатамошните испитувања.



Слика 28. Влијание на рН вредноста на пуферскиот раствор врз електрохемискиот одговор на DOX

Главниот пуферски раствор со рН вредност 6,7, е подготвен според рецептура дадена во Европска фармакопеја (Ph.Eur.) 11.0 (метод број 4014300). Постапката за подготовка на стандардниот пуферски раствор подразбира растворање на 15,6 g натриум дихидроген фосфат (Sigma-Aldrich) во вода, во колба од 1 L. Во друга колба од 1 L, растворени се 17,8 g динатриум хидроген фосфат дихидрат (Sigma-Aldrich) во истиот растворувач – вода. По мешање на двата раствора, рН вредноста на истиот е подесена до рН 6,7, со додавање на неколку капки разблажена хлороводородна киселина.

Киселиот пуфер со рН 3,5 е подготвен според метод број 4000700 од Ph.Eur. 11,0, со растворање на 68 g калиум дихидроген фосфат (Sigma-Aldrich) во вода, во колба од 1 L. рН вредноста на растворот е подесена до 3,5 со фосфорна киселина (Sigma-Aldrich).

Алкалниот пуфер со рН 11,3 е подготвен според метод број 4015400 од Ph.Eur. 11.0. Постапката подразбира растворање на 17,4 g дикалиум хидроген фосфат (Sigma-Aldrich) во 950 mL вода, подесување на рН вредноста до 11,3 со користење на раствор на калиум хидроксид со концентрација 100 g/L и разредување до 1000 mL со вода. Пуферот е филтриран низ мембрански филтер со големина на пори од 0,45 µm.

Доксорубицин хидрохлорид (DOX) е користен во облик на раствор за инјектирање (Ebewe a.d.) со концентрација од 2 mg/mL. Активната супстанца е директно додавана во електролитот, во соодветен волумен, без дополнително разредување. Квалитативната анализа на DOX со помош на модифицираните електроди е направена со додавање на 30 µL DOX во 25 mL 0,1 mol/L PBS, до добивање на финална концентрација на активната супстанца од 0,0024 mg/mL. Квантитативната анализа (статистичка анализа и валидација на метода) е направена со додавање на DOX во волуменски опсег од 10 до 150 µL во 25 mL 0,1 mol/L PBS, што одговара на линеарен концентрациски опсег од 1,5 до 22,1 µmol/L.

Табела 10. Преглед на електроди, тестирани во рамки на докторското истражување

Ознака на електрода	Тип на електрода	Полимер/комполит за модификација
КМ1	Carbon	rGO/AuNPs, ниска концентрација
КМ2	Carbon	rGO/AuNPs, висока концентрација
КМ3	Pt	rGO/AuNPs, висока концентрација
КМ4	Au BT	rGO/AuNPs + активен јаглен, ниска концентрација
КМ5	Pt	rGO/AuNPs + активен јаглен, ниска концентрација
КМ6	Carbon	rGO/AuNPs + активен јаглен, ниска концентрација
КМ7	Carbon* GCE	rGO/AuNPs мастило, висока концентрација
КМ0-8	Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
КМ0-9	Au BT	Немодифицирана, контролна електрода
КМ0-10	Pt	Немодифицирана, контролна електрода
Ознаката на формулациите означува: КМ – композитно мастило. Електродата означена како Carbon GCE се однесува на јаглеродна стаклеста електрода.		
ПМ1	G/Carbon	хитозан
ПМ2	G/Carbon	PVDF
ПМ3	CNT/Carbon	PVDF
ПМ4	PANI/Carbon	PAA/CNT
ПМ5	CNT/Carbon	PEDOT:PSS
ПМ6	G/Carbon	PEDOT:PSS
ПМ0-7	G/Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
ПМ0-8	CNT/Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
ПМ0-9	PANI/Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
*Ознаката на електродите означува: ПМ – полимерна модификација.		
ЕП1-0	Au AT	0,25 mol/L анилин
ЕП1-1	Au AT	5 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,25 mol/L анилин
ЕП1-2	Au AT	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,25 mol/L анилин
ЕП1-3	Au AT	0,1 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,25 mol/L анилин
ЕП2-0	Au AT	0,5 mol/L анилин
ЕП2-1	Au AT	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,5 mol/L анилин
ЕП3-0	Au BT	0,5 mol/L анилин
ЕП3-1	Au BT	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,5 mol/L анилин
ЕП4-0	Carbon	0,5 mol/L анилин
ЕП4-1	Carbon	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,5 mol/L анилин
ЕП5-0	PANI/Carbon	0,5 mol/L анилин
ЕП5-1	PANI/Carbon	0,05 % wt. rGO/2 % wt. AuNPs во 0,5 mol/L анилин
ЕП0-1	Au AT	Немодифицирана, контролна електрода
ЕП0-2	Au BT	Немодифицирана, контролна електрода
ЕП0-3	Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
ЕП0-4	PANI/Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
*Ознаката на електродите означува: ЕП – електрополимеризација.		
ОЕ1	PANI/Carbon	β -озрачување (50 kGy)
ОЕ2	CNT/Carbon	β -озрачување (50 kGy)
ОЕ0-1	PANI/Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
ОЕ0-2	CNT/Carbon	Немодифицирана, контролна електрода
*Ознаката на електродите означува: ОЕ – озрачена електрода.		

5.3.2. Спектрална карактеризација на електролит

Ултравioletова-видлива спектроскопија (UV-Vis) е користена за определување на струјните промени во електролитниот раствор, настанати за време на волтаметриските мерења.

5.3.2.1. Ултравioletова-видлива спектроскопија (UV-Vis)

Ултравioletовата-видлива спектроскопија (UV-Vis) е аналитичка техника што го мери интензитетот на светлината што поминува низ примерок (трансмисија) или се

апсорбира од примерок (апсорпција) во ултравиолетовиот и видливиот дел од електромагнетниот спектар (190 – 800 nm). Методот се заснова на интеракцијата на UV-Vis светлината со електроните во молекулите, предизвикувајќи премини од основната состојба во возбудена состојба. Овие премини се јавуваат на специфични бранови должини карактеристични за молекуларната структура и видот на електронски премини.

Според Ламберт–Беровиот закон, даден со Равенка 3,

$$A = \varepsilon * b * C \quad (3)$$

апсорбанцата (A) е пропорционална со концентрацијата (C) на примерокот, што ја прави UV-Vis спектроскопијата погодна за квантитативна анализа. Параметарот ε ја претставува моларната апсорптивност (моларен коефициент на апсорпција) и има единица L/mol cm, додека пак параметарот b ја претставува должината на патот што го поминува светлинскиот сноп, изразена во cm. Во контекст на електрохемиските испитувања, UV-Vis е особено корисна за следење на промените во електролитниот раствор пред и по електрохемиските процеси, кои настануваат како резултат на струјниот ефект за време на волтаметриските мерења.

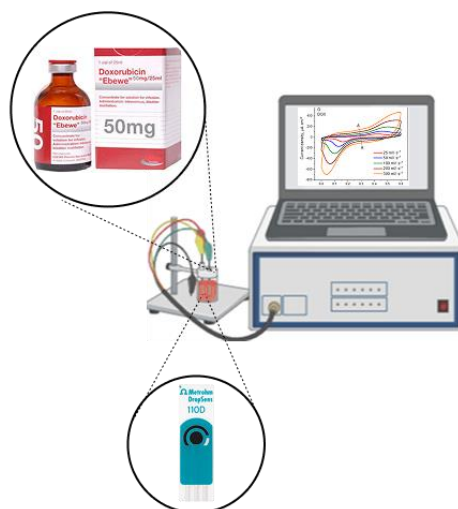
UV-Vis мерењата се направени на Spectroquant Prove 600 спектрофотометар, при опсег на бранови должини од 200 до 800 nm, во трипликати.

5.3.3. Електрохемиска евалуација и инструментални параметри

Електрохемиската евалуација на модифицираните и немодифицираните електроди е спроведена преку циклична волтаметрија (CV), како главна електрохемиска техника. Експериментите се изведени на собна температура, користејќи потенциостат/галваностат Spelec Dropsens (Шпанија) за мерењата направени на Технолошко – металуршки факултет во Скопје, Северна Македонија и Ivium Vertex One (Холандија) за мерењата направени во Институтот за технички науки при Српската академија на науки и уметности во Белград, Србија. Инструменталните параметри се дадени во Табела 11, експерименталниот приказ на електрохемиските мерења е прикажан на Сл. 29.

Табела 11. Инструментални параметри за CV при електрохемиска евалуација на SPE

Параметар	Вредност
Опсег на потенцијали	–0,05 до 0,6 V
Брзина на снимање	0,05 V/s
Број на циклуси	3
Јачина на струја	автоматска



Слика 29. Експериментален приказ на електрохемиските мерења на тестираните електроди

Од снимените волтаммограми кои ја прикажуваат зависноста на струјата од потенцијалот, се добиваат податоци за вредноста на анодната ($I_{p,a}$) и катодната ($I_{p,c}$) струја, како и анодниот ($E_{p,a}$) и катодниот ($E_{p,c}$) потенцијал. Анодната струја и потенцијал се параметри кои се однесуваат на анодниот пик, кој се јавува во директна насока, при промена на потенцијалот од негативни кон позитивни вредности. Катодната струја и потенцијал пак, се однесуваат на катодниот пик, кој се јавува во повратна насока, при промена на потенцијалот од позитивни кон негативни вредности.

Користејќи ги добиените податоци, може да се пресмета односот помеѓу интензитетот на анодната ($I_{p,a}$) и катодната ($I_{p,c}$) струја ($I_{p,a}/I_{p,c}$), кој е важен параметар за кинетичка анализа на испитуваниот систем.

Разликата помеѓу анодниот и катодниот потенцијал изразена во mV ја дава вредноста на потенцијалот на раздвојување на анодниот и катодниот пик (ΔE_p), како што е прикажано со Равенка 4:

$$\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c} \quad (4)$$

Потенцијалот на полупик ($E_{1/2}$) претставува среден потенцијал кој се наоѓа на средина помеѓу анодниот и катодниот пик и се пресметува согласно Равенка 5:

$$E_{1/2} = \frac{E_{p,a} + E_{p,c}}{2} \quad (5)$$

Овие параметри се важни при обработката на цикличните волтаммограми, бидејќи ја определуваат електрохемиската реверзибилност на процесот кој се одвива, а во случајот тоа претставува детекција на аналит – DOX, со помош на печатени електроди. За еден систем да се дефинира како електрохемиски реверзибилен, потребно е да протекува електрохемиска реакција која вклучува премин на електрони т.е. реакции на оксидација и редукција, од аналитот во растворот. Притоа, двете редокс форми на аналитот е потребно да бидат целосно растворливи во користениот растворувач. Доколку брзината на размена на електрони помеѓу молекулите од аналитот и работната електрода е многу голема, а притоа не постојат значителни енергетски бариери при процесот на размена на електрони, велиме дека системот е електрохемиски реверзибилен. Во случај кога брзината на размена на електрони помеѓу работната електрода и редокс формите на аналитот е многу поголема од брзината на процесот на дифузија кој се однесува на трансферот на маса на молекулите од аналитот кон електродата, велиме дека ваквата реакција е електрохемиски реверзибилна [153].

Постојат два критериуми според кои се евалуира електрохемиската реверзибилност на системите [153–156]. Првиот критериум се однесува на односот од интензитетите помеѓу анодната и катодната струја $I_{p,a}/I_{p,c}$, кој треба да биде еднаков на 1 или многу блиску до 1 ($I_{p,a}/I_{p,c} = 1$), дури и при големи брзини на промена на потенцијалот. Оваа вредност укажува дека аналитот кој е оксидиран при директното скенирање, целосно и стабилно се редуцира при повратното скенирање (или обратно), без никаква значајна загуба поради протекување на споредни реакции (на пр., хемиско разградување на молекулата) или бавна кинетика.

Вториот критериум се однесува на потенцијалот на раздвојување на анодниот и катодниот пик (ΔE_p), чија вредност треба да биде константна и не треба да зависи од брзината на скенирање. Потенцијалот на раздвојување на пиковите при температура од 25 °C или 298 K треба да има вредност:

$$\Delta E_p = |E_{p,a} - E_{p,c}| = 2,22 \frac{RT}{nF} \approx 57/n \text{ mV} \quad (6)$$

каде n претставува број на разменети електрони во дадениот редокс процес [200]. Симболите во Равенка 6 одговараат на:

R – универзална гасна константа ($R = 8,314 \text{ J/mol K}$);

T – температура, изразена во келвини ($T = 298 \text{ K}$);

n – број на разменети електрони помеѓу работната електрода и аналитот од интерес;
 F – Фарадеева константа ($F = 96\,485\text{ C/mol}$).

Добиената вредност (57 mV) се однесува на систем кој вклучува размена на еден електрон помеѓу површината на работната електрода и аналитот од интерес. Оваа вредност произлегува директно од Нернстовата равенка (Равенка 7) според која јонската концентрацијата (c) на редокс формите од аналитот (Ox и Red) на електродата е во рамнотежа со применетиот електроден потенцијал (E):

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{c(\text{Ox})_{x=0}}{c(\text{Red})_{x=0}} \quad (7)$$

Останатите симболи во Нернстовата равенка преставуваат:

E° – стандарден потенцијал на редокс парот (Ox/Red);

$x = 0$ – ознака за концентрации на работната површина на електродите.

Постои и дополнителен критериум за реверзибилност кој се однесува на потенцијалот на полупик ($E_{1/2}$) кој треба да биде приближно еднаков на формалниот потенцијал (E°) на редокс парот (Равенка 8). Формалниот потенцијал преставува потенцијал на редокс парот измерен под специфични, но нестандартни, експериментални услови кои се однесуваат на растворот (на пр., рН вредност или јонска сила на растворот), во систем каде вкупните концентрации на оксидираната и редуцираната форма се еднакви. Оваа корелација рефлектира состојба блиска до термодинамичка рамнотежа.

$$E_{1/2} = \frac{E_{p,a} + E_{p,c}}{2} \approx E^{\circ} \quad (8)$$

Кога цикличните волтаммограми на аналитот од интерес покажуваат отстапувања од претходно наведените критериуми за електрохемиска реверзибилност, тоа значи дека процесот не е идеално реверзибилен. Ова најчесто е последица на бавен пренос на електрони помеѓу електродата и аналитот [153]. Електрохемиските реакции кои демонстрираат вакви отстапувања, без разлика дали се должат на бавната кинетика на пренос на електрони или на други пропратни процеси, се дефинираат како квази-реверзибилни или иреверзибилни.

Електрохемиски системи кои покажуваат реверзибилно однесување се карактеризираат со предвидливи математички односи меѓу измерените струјни одговори и својствата на аналитот. Кога електрохемискиот процес е термодинамички реверзибилен и процесот на трансфер на маса на молекулите од аналитот е контролиран од брзината на дифузија, тогаш интензитетот на струјата на анодни и катодни пикови (I_p) од волтаммограмите може да се поврзе со концентрацијата на аналитот од интерес (C), користејќи ја Рандалс–Шевчиковата равенка (Равенка 9):

$$I_p = 0,4463 n F A C \left(\frac{nFvD}{RT} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (9)$$

каде:

I_p – интензитет на струја на анодни и катодни пикови;

n – број на разменети електрони помеѓу работната електрода и аналитот од интерес;

F – Фарадеева константа ($F = 96\,485\text{ C/mol}$);

A – активна површина на работната електрода (cm^2);

C – концентрација на аналитот од интерес (mol/cm^3);

v – брзина на промена на потенцијал (V/s) во дадениот експеримент;

D – коефициент на дифузија на електроактивните форми од аналитот (cm^2/s);

R – универзална гасна константа ($R = 8,314\text{ J/mol K}$);

T – температура, изразена во келвини ($T = 298\text{ K}$).

Директната пропорционалност на интензитетот на струјните пикови од концентрацијата на анализот овозможува прецизна квантитативна анализа на испитуваниот анализ. Дополнително, Рандалс–Шевчиковата равенка покажува линеарна зависност помеѓу струјниот пик (I_p) од квадратниот корен на брзината на скенирање ($v^{1/2}$). Оваа пропорционалност потврдува дека процесот е контролиран од дифузија, што е карактеристично за системи со брза кинетика на електронски трансфер, односно реверзибилни системи. Оваа зависност служи како корисна алатка за карактеризација на електрохемиските системи и овозможува разликување меѓу процеси контролирани од дифузија и други механизми на масен транспорт или кинетички лимитирани процеси, што е од суштинско значење за развој на сензори со висока аналитичка прецизност.

За подетална анализа на кинетиката на пренос на електрони помеѓу DOX и површината на електродата, пресметана е хетерогената константа на брзина (k^0) со помош на методот предложен од Николсон [201,202]. За квази-реверзибилен процес, овој метод вклучува два чекори.

Прво, бездимензионалниот кинетички параметар ψ се проценува со помош на Равенка 10 развиена од Свадл [202]:

$$\ln \Psi = 3,69 - 1,16 \ln(\Delta E_p [mV] - 59) \quad (10)$$

каде ΔE_p е разликата помеѓу анодниот и катодниот потенцијал, изразена во милivolти. Последователно, хетерогената константа на брзина (k^0) се пресметува од ψ со помош на Равенка 11:

$$\Psi = \frac{k^0}{\left[\pi D v \left(\frac{F}{RT} \right) \right]^{\frac{1}{2}}} \gamma^{\frac{\alpha}{2}} \quad (11)$$

каде:

D – коефициент на дифузија на DOX. Во дисертацијата се користи литературна вредност од $3,4 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ [203];

n – број на разменети електрони во редокс процесот;

v – брзина на скенирање (V/s);

F – Фарадеева константа ($F = 96\,485 \text{ C/mol}$);

R – универзална гасна константа ($R = 8,314 \text{ J/mol K}$);

T – температура, изразена во келвини ($T = 298 \text{ K}$).

γ – однос на коефициентите на дифузија за оксидираната и редуцираната форма;

α – коефициент на пренос на полнеж.

Оваа равенка е поедноставена форма која претпоставува дека γ е еднаков на 1, како и дека α е 0,5, што е честа апроксимација за квази-реверзибилни системи.

Покрај катодната и анодната струја, друг важен параметар кој се користи при евалуација на цикличните волтаммограми претставува густината на струјата (j_{\max}) Густината на струјата се пресметува според Равенка 12:

$$j_{\max} = \phi * C_r * \sqrt{v} \quad (12)$$

каде C_r е концентрација на реактантите (анализот) во реакцијата која се одвива врз електродната површина (mol/dm^3), v е брзина на промена на потенцијалот (mV/s), а ϕ претставува функција која зависи од видот на реакцијата.

Зависноста меѓу густината на струјата од даден потенцијал помага за определување на електроаналитичките параметри поврзани со редокс процеси на DOX, како што се чекорот кој ја определува брзината на реакцијата (атсорпција или дифузија), електрохемискиот механизам (Тафелов наклон, коефициент на пренос на полнеж и број на разменети електрони), вкупниот капацитет и капацитетот на двојниот слој.

За подетална кинетичка анализа на процесот на оксидација на DOX, особено за идентификација на чекорот кој ја контролира брзината, се користат волтаммограми снимени при различни брзини на скенирање (v). Анализата на зависноста на густината на анодната струја (струја по единица површина, $j_{p,a}$) од брзината на скенирање служи како клучен критериум за да се утврди дали бавниот чекор (оној што ја одредува вкупната брзина) на оксидацијата на DOX е контролиран од процес на адсорпција на реактантите на површината на електродата или од процес на нивна дифузија од растворот кон електродата. Со зголемување на брзината на скенирање, густината на струјата на сите пикови се зголемува. Истовремено, се забележува поместување на потенцијалите на анодните (оксидациски) пикови кон попозитивни (анодни) вредности, додека катодните (редукциски) пикови се поместуваат кон понегативни (катодни) вредности.

За прецизно одредување на контролниот механизам, се анализираат зависностите $j_{p,a}$ наспроти v , $j_{p,a}$ наспроти $v^{1/2}$, а особено информативна е логаритамската зависност $\log(j_{p,a})$ наспроти $\log(v)$ [157,158]. Вредноста на наклонот (англ. „slope”) на линеарниот дел од графикот $\log(j_{p,a})$ vs. $\log(v)$ претставува директен критериум: наклон со вредност приближно 0,5 укажува дека процесот е контролиран од дифузија (аналитот мора да допатува од растворот до површината), додека вредност приближно 1,0 укажува на контрола преку адсорпција (аналитот е веќе присутен и акумулиран на површината) [157,168].

Понатаму, од анализата на волтаммограми снимени при различни брзини на скенирање, може да се добијат информации за електрохемискиот механизам. Конкретно, линеарната зависност помеѓу анодниот потенцијал ($E_{p,a}$) и логаритамот од брзината на скенирање ($\log(v)$) се користи за одредување на кинетичките параметри како што се Тафеловиот наклон (b) и, последователно, бројот на разменети електрони (n) во чекорот што ја одредува брзината. Тафеловиот наклон (b) е величина која е поврзана со енергијата на активација на реакцијата, која ја претставува минималната енергија потребна за протекување на хемиска реакција. Во текот на една хемиска реакција кога молекулите на реактантите се доближуваат едни до други, хемиските врски помеѓу нив се издолжуваат, се раскинуваат и се формираат нови кои ги формираат продуктите. При овој процес енергијата на системот го достигнува својот максимум, а потоа опаѓа до вредност која одговара на енергијата на формираните продукти. Енергијата на активација е всушност разликата помеѓу енергијата при максимумот и енергијата на реактантите, односно таа е еднаква на енергетската бариера која треба да се совлада за да може да протече хемиската реакција. Тафеловиот наклон дава увид во кинетиката на реакцијата. Поголема вредност на наклонот (пострмен наклон) укажува на повисока енергија на активација потребна за одвивање на реакцијата, што соодветно резултира со помала брзина на реакцијата. Ова го поврзува емпириски добиениот наклон (пресметан од графичката зависност помеѓу $E_{p,a}$ и $\log(v)$) со фундаменталниот концепт на енергија на активација. За целосно иреверзибилни системи, како што често се среќаваат кај комплексни органски молекули, оваа зависност е опишана со теоријата на Лавирон. Според оваа теорија, потенцијалот на пикот се поместува кон позитивни (за анодни процеси) или негативни (за катодни процеси) вредности со зголемување на брзината на скенирање. Оваа графичка зависност може да се опише со равенката на Лавирон (13) [159,160]:

$$E_{p,a} = \frac{b}{2} * \log(v) + const. \quad (13)$$

каде b го претставува Тафеловиот наклон. Тафеловиот наклон е фундаментален кинетички параметар кој ја опишува зависноста на брзината на реакцијата од примениот потенцијал. Физички, тој ја претставува промената на потенцијалот потребна за брзината на реакцијата да се промени за еден ред на големина. Помала вредност на Тафеловиот

наклон укажува на побрза кинетика на пренос на електрони, односно на помала енергетска бариера за реакцијата.

Наклонот на линеарниот дел од графикот $E_{p,a}$ vs. $\log(v)$ е еднаков на $b/2$. Од тука, Тафеловиот наклон се пресметува како:

$$\frac{dE_{p,a}}{d\log(v)} = \frac{b}{2} \rightarrow b = 2 * \frac{dE_{p,a}}{d\log(v)} \quad (14)$$

Константата во Равенка 11 е интеграциона константа и нема директно физичко значење во оваа пресметка. Равенка 12 го претставува наклонот во диференцијална форма и е клучна за пресметување на Тафеловиот наклон.

Тафеловиот наклон е директно поврзан со два клучни кинетички параметри: бројот на разменети електрони (n) и коефициентот на пренос на полнеж (α), според равенката на Батлер–Волмер. Бројот на разменети електрони (n) може да се определи според реакцијата на електрохемиска оксидација на реактантот или да се пресмета според Равенка 15 [161]:

$$n = \frac{2,303RT}{b\alpha F} \quad (15)$$

каде:

R – универзална гасна константа ($R = 8,314 \text{ J/mol K}$);

T – температура, изразена во келвини ($T = 298 \text{ K}$);

F – Фарадеева константа ($F = 96\,485 \text{ C/mol}$);

b – Тафелов наклон (mV/dec).

Коефициентот α претставува коефициентот на пренос на полнеж и истиот пресметува користејќи го Тафеловиот наклон преку Равенка 16 [162]:

$$\alpha = \frac{2,303RT}{bF} \quad (16)$$

Помала вредност на α (што води до поголем наклон b) често се толкува како транзициона состојба која е помалку слична на реактантите, што може да корелира со повисока енергија на активација, но врската не е секогаш директна и едноставна. Генерално, α ја опишува симетријата на енергетската бариера, па според тоа вредност блиска до 0,5 укажува на симетрична бариера и е карактеристика на кинетички поефикасни системи. Сепак, генерално поголем Тафелов наклон посочува процес кој е кинетички помалку поволен т.е. побавен при даден пренапон.

Капацитетот на електрохемискиот двоен слој (C_{dl}) претставува суштинска карактеристика на границата помеѓу електродата и електролитот. Тој е директен показател за електрохемиски активната површина (англ. „*Electrochemically Active Surface Area*”, EASA) т.е. реалната површина на електродата која е во контакт со електролитот и е достапна за електрохемиски реакции. Неговата вредност може да се одреди преку анализа на волтаммограми снимени при различни брзини на скенирање, фокусирајќи се на регионот на потенцијали каде доминираат нефарадејски процеси, односно полнењето и празнењето на двојниот слој (регион во кој нема редокс реакции). Во оваа област, просечната капацитативна густина на струја (j_{cap}), пресметана како аритметичка средина од апсолутните вредности на анодната и катодната струја при избран потенцијал, прикажано со Равенка 17, покажува линеарна зависност од брзината на скенирање.

$$j_{cap} = \frac{|j_{p,a}| + |j_{p,c}|}{2} \quad (17)$$

Наклонот на оваа линеарна релација директно го дава капацитетот на двојниот слој, прикажано со Равенка 18 [162,163]:

$$C_{dl} = \frac{dj_{cap}}{d\left(\frac{\partial E}{\partial t}\right)} = \frac{dj_{cap}}{dv} \quad (18)$$

каде:

E – потенцијал;

t – време;

v – брзина на скенирање.

Определувањето на C_{dl} е особено корисно за проценка на факторот на рапавост на електроодната површина. Факторот на рапавост е бездимензионална вредност која квантитативно опишува колку пати е поголема реалната, микроскопска површина на електродата во споредба со нејзината идеална, макроскопска геометриска површина.

За да се направи оваа споредба, потребна е референтна вредност, за која се зема специфичниот капацитет на идеално рамна површина од истиот или сличен материјал, означен како C_s^* . Вредноста за C_s^* се зема од литературата и за јаглеродни материјали најчесто се движи во опсег од 20 – 40 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$, од 10 – 20 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ за метали или 60 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ за некои оксидни површини [164].

Факторот на рапавост се пресметува како однос помеѓу експериментално одредениот капацитет и оваа референтна вредност, според Равенка 19:

$$RF = \frac{C_{dl} \text{ (експериментален)}}{C_s^* \text{ (референтен)}} \quad (19)$$

Следствено, повисока вредност на C_{dl} генерално подразбира поразвиена порапава т.е. поголема ефективна површина на електродата, што може значајно да влијае на нејзините електрокаталитички својства и сензорски перформанси.

Додека факторот на рапавост е релативна мерка, електрохемиски активната површина (EASA) ја дава апсолутната вредност на реалната површина во единици како cm^2 . Таа се пресметува со нормализација на вкупниот капацитет на електродата со референтната вредност за специфичен капацитет (C_s^*), според Равенка 20:

$$EASA = \frac{C_{dl} A}{C_s^*} \quad (20)$$

каде A е познатата геометриска површина на работната електрода, изразена во cm^2 . Ситопечатените електроди користени во оваа докторска дисертација имаат дијаметар од 4 mm, па следствено, нивната геометриска површина има вредност од 0,12566 cm^2 .

Со пресметката на овие два параметри, можно е да се направи директна квантитативна споредба на ефектот на различни модификации врз физичката морфологија на електроодната површина, што е клучно за разбирање на подобрените сензорски перформанси.

5.3.4. Статистичка анализа

Електрохемиските мерења, како што се волтаметриските, подразбираат сеопфатна анализа која опфаќа серија на последователни мерења за секој анализиран примерок, како и повеќекратни повторувања на целокупната експериментална постапка. Ваквата стратегија на прибирање податоци е важна за минимизирање на влијанието на случајните варијации и за потврдување на конзистентноста на добиените електрохемиски сигнали, односно на квантитативните вредности на целните аналити. Овој пристап на анализа овозможува не само детекција на мерните карактеристики или концентрациите на аналитите, туку и проценка на варијабилноста и прецизноста на самиот метод. Последователната статистичка анализа на добиениот сет на податоци се фокусира на неколку основни статистички параметри, објаснети во продолжение.

Најосновниот статистички параметар што се одредува е средната вредност, позната и како просек (англ. „average”, Av). Средната вредност ја претставува централната тенденција на измерените вредности, односно вредноста околу која најмногу се групираат поединечните резултати. Во случај кога имаме поголем број мерења на исто својство, при исти експериментални услови, со пресметување на средната вредност се добива репрезентативна вредност за испитуваното својство или концентрација на анализот. Средната вредност се пресметува според Равенка 21:

$$Av = \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (21)$$

каде:

x_i – поединечни измерени вредности на испитуваното својство;

n – број на вкупни мерења на исто својство, направени во рамки на експериментот.

Иако експериментално пресметаната средна вредност на испитуваното својство е блиска до вистинската вредност на истото, не секогаш овие две вредности кореспондираат меѓусебно. Причината за тоа се отстапките во мерењата кои се манифестираат во вид на систематски грешки кои често се појавуваат. Овие грешки настануваат во текот на подготовката на експериментот (подготовка на раствори, електроди итн.), но можат да настанат и во текот на самиот процес на мерење.

За да се процени колку поединечните мерења отстапуваат од вака добиената средна вредност, се пресметува стандардната девијација (англ. „standard deviation”, SD). Овој параметар е мерка за дисперзијата, односно расејувањето (отстапување) на измерените вредностите околу средната вредност на испитуваното својство. Помала вредност на стандардната девијација укажува на тоа дека мерењата се поконзистентни и поблиску до просекот, што посочува поголема прецизност на експерименталната постапка. Стандардната девијација се изразува во истите единици како и мерното својство. Пресметката на стандардната девијација која опфаќа серија последователни мерења направени при идентични експериментални услови, е дадена со Равенка 22:

$$SD = \sigma = \sqrt{\frac{\sum |x_i - \bar{x}|^2}{n}} \quad (22)$$

каде:

x_i – поединечни измерени вредности на испитуваното својство;

\bar{x} – средна вредност на испитуваното својство;

n – број на вкупни мерења на исто својство, направени во рамки на експериментот.

Честопати, за подобра споредба на варијабилноста, особено кога се анализираат податоци со различни средни вредности или различни мерни единици, се користи релативната стандардна девијација (англ. „relative standard deviation”, RSD), која исто така се нарекува и коефициент на варијација (англ. „coefficient of variation”, CV). Релативната стандардна девијација е тесно поврзан параметар со стандардната девијација и се дефинира како однос од стандардната девијација и средната вредност, прикажано со Равенка 23:

$$RSD [\%] = \left[\frac{SD}{\bar{x}} \right] * 100 \quad (23)$$

RSD ја изразува стандардната девијација како процент од средната вредност и покажува колкаво е процентуалното отстапување на испитуваното својство од неговата средната вредност.

5.3.5. Валидациони параметри и експериментални услови

При развојот на електрохемиски сензори, валидацијата на аналитичките методи е клучен чекор кој обезбедува доверба во добиените резултати. Валидационите параметри претставуваат сет од карактеристики кои ја дефинираат способноста на методот да обезбеди веродостојни, прецизни и точни резултати при определени услови. Сите овие параметри се дефинирани согласно Водичот за валидација на аналитички процедури – ICH Q2R1 (англ. „*Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*”) издаден од ICH (англ. „*International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*”), а имплементиран во 2005 година [204].

Еден од првите и најважни чекори во валидацијата на аналитичкиот метод е испитувањето на линеарноста (англ. „*linearity*”). Линеарноста ја опишува способноста на методот да даде резултати (на пр. мерен сигнал) кои се директно пропорционални на концентрацијата на аналитот во примерокот, во рамките на определен опсег на концентрации. За да се утврди линеарноста, се подготвуваат серија на стандардни раствори со познати и растечки концентрации на аналитот, кои потоа се анализираат со помош на методот. Добиените струјни сигнали се нанесуваат на график наспроти соодветните концентрации, со што се добива калибрациона крива. Идеално, оваа крива треба да биде права линија, опишана со равенката на линеарна регресија т.е. права (24):

$$y = ax + b \quad (24)$$

каде:

- y – интензитет на струја на катоден/аноден пик;
- x – концентрација на аналитот;
- a – наклон на правата, кој исто така ја претставува и чувствителноста на методот;
- b – отсечок на у-оската.

Степенот на линеарност најчесто се изразува преку коефициентот на корелација (англ. „*coefficient of correlation*”, r) или, уште почесто, преку коефициентот на определување (англ. „*coefficient of determination*”, R^2). Коефициентот на определување може да има вредности помеѓу 0 и 1, при што вредност блиска до 1 (на пр., $\geq 0,995$ или $\geq 0,990$) укажува на силна линеарна поврзаност помеѓу сигналот и концентрацијата, што е клучно за прецизно квантитативно одредување. Критериумот на прифатливост на методот за детекција се однесува на R^2 чија вредност треба да биде $\geq 0,990$.

Линеарноста на електродите е определена во концентрациски опсег на DOX од 1,5 до 22,1 $\mu\text{mol/L}$ кој одговара на волумен од 10 до 150 μL DOX додадени во 25 mL 0,1 mol/L PBS.

Границата на детекција (англ. „*Limit of Detection*”, LOD) претставува најмалата концентрација или количина на аналитот во примерокот која може со сигурност да се детектира, но не мора да може прецизно да се квантифицира, со дадениот аналитички метод. Со други зборови, тоа е точката каде што можеме да кажеме дека аналитот е присутен, иако не можеме со голема точност да кажеме колку точно го има. LOD е важен показател за чувствителноста на методот. Постојат неколку начини за нејзино определување, а еден од најчестите пристапи се базира на стандардната девијација на отсечокот на калибрационата крива (чувствителноста), прикажано со Равенка 25:

$$LOD = \frac{(3 * \sigma)}{S} \quad (25)$$

каде:

- σ – стандардна девијација на струјниот сигнал т.е. одговорот на електродата;
- S – наклон (чувствителност) на калибрационата крива;
- Фактор 3 – (или понекогаш 3,3) произлегува од дефиницијата за одреден однос сигнал – шум (англ. „*Signal-to-Noise*”, $S/N \approx 3$).

Границата на квантификација (англ. „*Limit of Quantification*”, LOQ) ја претставува најмалата концентрација или количина на анализот во примерокот која може да биде одредена со прифатлива прецизност и точност, користејќи го дадениот аналитички метод. За разлика од LOD, каде што само се потврдува присуството на анализот, LOQ дефинира најниска концентрација која може веродостојно да се измери. Оваа вредност е клучна за дефинирање на долната граница на работниот опсег на методот т.е. елек-тродата. Слично како и LOD, и LOQ може да се определи на неколку начини, најчесто врз основа на стандардната девијација на отсечокот на калибрационата крива, прикажано со Равенка 26:

$$LOQ = \frac{(10 * \sigma)}{S} \quad (26)$$

каде:

σ – стандардна девијација на струјниот сигнал т.е. одговорот на електродата;

S – наклон (чувствителност) на калибрационата крива.

Фактор 10 – одговара на однос сигнал – шум ($S/N \approx 10$), што се смета за доволно за квантитативно определување со задоволителна сигурност.

Границите на детекција и квантификација во рамки на докторското истражување се пресметани од калибрационите прави добиени од зависноста на анодната струја од концентрацијата на анализот. Критериумот на прифатливост на методот произлегува од вредностите на LOD и LOQ. Понишки вредности укажуваат на подобри сензорски карактеристики, односно на поголема чувствителност на сензорот.

Точноста (англ. „*accuracy*”) на еден аналитички метод ја претставува блискоста на согласување помеѓу средната вредност добиена од голема серија на мерења и прифатената референтна (вистинска) вредност на анализот. Со други зборови, точноста покажува колку резултатите од мерењето се блиску до вистинската вредност, односно дали методот дава резултати без систематска грешка (пристрасност). Точноста обично се проценува преку анализа на сертифицирани референтни материјали (англ. „*Certified Reference Materials*”, CRM) со позната концентрација на анализот, или преку експерименти на аналитички принос (англ. „*recovery*”) кој преставува процент на најден аналит. Кај експериментите со аналитички принос, позната количина на аналит се додава (спајкува) во примерок кој или не го содржи анализот (слепа проба) или содржи позната почетна концентрација, по што се мери вкупната најдена количина. Точноста најчесто се изразува како процент на аналитички принос, пресметан како однос помеѓу добиената и теоретската вредност (Равенка 27):

$$Recovery [\%] = \frac{\text{Измерена концентрација}}{\text{Позната (додадена) концентрација}} * 100 \quad (27)$$

Критериумот на прифатливост за точноста на методата изнесува 90 – 110 % за прифатлива точност и 95 – 105 % за идеална точност, од референтната концентрација.

Точноста на електродите во докторското истражување е проценета преку определување на аналитичкиот принос т.е. процентот на најден аналит (recovery). Спроведениот експеримент подразбира најпрво снимање на слепа проба, која претставува чист пуферски раствор (0,1 mol/L PBS со pH 6,7), со цел да се потврди отсуството на сигнал кој би потекнувал од матрицата во потенцијалниот опсег каде се детектира DOX. Потоа, во волумен од 25 mL од истиот пуферски раствор е додавана (спајкувана) позната концентрација на стандарден раствор на DOX. Точноста е определена преку снимање на три концентрациски нивоа на DOX: 0,0008 mg/mL, 0,0024 mg/mL и 0,004 mg/mL. За секое концентрациско ниво се извршени по три независни мерења, со по три циклуси снимања.

Прецизноста (англ. „*precision*”) на еден аналитички метод го претставува степенот на блискост, односно на согласување меѓу поединечните резултати кога методот се применува последователно на повеќе индивидуално земени примероци од ист хомоген материјал. Таа е мерка за случајните грешки при мерењето и не е поврзана со вистинската вредност на анализот. Високата прецизност значи дека повторените мерења даваат многу слични резултати, односно има мало расејување на податоците. Прецизноста може да се разгледува на неколку нивоа, кои опишуваат различни извори на варијабилност.

Првото ниво ја претставува повторливоста (англ. „*repeatability*”), која понекогаш се нарекува и прецизност на системот или интра-дневна (англ. „*intra-day*”) прецизност. Оваа прецизност се однесува на варијабилноста на резултатите добиени кога анализите се изведуваат под најконстантни можни услови: ист аналитичар, во иста лабораторија, користејќи иста опрема и исти реагенси, врз идентични примероци од ист хомоген материјал, и сето тоа во многу краток временски интервал, најчесто во рамките на иста аналитичка серија или во текот на еден ист работен ден. Повторливоста го одразува минималното расејување што може да се очекува од методот и е показател за конзистентноста на самиот мерен систем и непосредната техника на аналитичарот. Се проценува со повеќекратно инјектирање на ист примерок (6 – 10 пати) и изразување на расејувањето преку стандардна девијација (SD) и релативна стандардна девијација (RSD) во проценти. Пониска вредност на RSD укажува на поголема повторливост.

Повторливоста на електродите во истражувањето е проценета преку снимање на десет последователни волтаметрички мерења на ист раствор на DOX со концентрација 0,0024 mol/L, подготвен во 0,1 mol/L PBS како електролит. Секое од десетте мерења вклучува три циклуси снимања, направени при идентични експериментални услови.

Следно, може да се разгледува прецизноста на методата. Овој термин понекогаш се користи слично на повторливоста, но може да има и пошироко значење, опфаќајќи ја варијабилноста на целиот аналитички процес, вклучувајќи ги и чекорите на подготовка на примерокот, доколку тие се повторуваат за секој поединечен примерок за анализа. Додека прецизноста на системот може да се тестира со повеќекратно инјектирање на ист веќе подготвен раствор, прецизноста на методата вклучува инјектирање (земање) на повеќе поединечни примероци од еден ист материјал и нивна индивидуална обработка низ целата процедура, под услови на повторливост (ист ден, аналитичар, опрема). Ова дава поцелосна слика за прецизноста на целокупната аналитичка постапка.

Прецизноста на методата во докторското истражување е проценета преку снимање на десет последователни волтаметрички мерења, направени на десет поединечни раствори на DOX со концентрација 0,0024 mol/L, подготвени во 0,1 mol/L PBS како електролит. Секое мерење на поединечните раствори вклучува три циклуси снимања, направени при идентични експериментални услови.

Интермедиерната прецизност (англ. „*intermediate precision*”) претставува варијабилност на резултатите добиени во рамките на иста лабораторија, но кога некои од условите намерно се менуваат. Овие промени може да вклучуваат изведување на анализите во различни денови (што се нарекува интер-дневна (англ. „*inter-day*”) прецизност), од страна на различни аналитичари, или со користење на различна опрема (доколку лабораторијата поседува повеќе идентични или слични инструменти). Целта е да се процени колку методот е конзистентен кога се користи рутински во рамките на една лабораторија во подолг временски период и под влијание на овие очекувани варијации. Интермедиерната прецизност дава пореален преглед во перформансите на методот отколку само повторливоста. Важно е јасно да се документира кои фактори се менувале при испитувањето на интермедиерната прецизност.

Интермедиерната прецизност во докторското истражување е проценета преку снимање на пет волтаметриски мерења, направени во текот на пет последователни дена, на пет поединечни раствори на DOX со концентрација 0,0024 mol/L, подготвени во 0,1 mol/L PBS како електролит. Со други зборови, правена е една анализа на ден, на свежо подготвен раствор, во период од пет дена. Секое мерење на поединечните раствори вклучува три циклуси снимања, направени при идентични експериментални услови.

Најширокиот концепт на прецизност е репродукцибилноста (англ. „*reproducibility*”). Оваа прецизност се однесува на степенот на согласување помеѓу резултатите добиени кога ист метод се применува на идентични примероци, но во различни лаборатории. Репродуцибилноста вклучува варијации кои произлегуваат од различни аналитичари, различна опрема, различни лабораториски услови, па дури и различни серии на реагенси (иако тие би требало да бидат специфицирани со методот). Ова е најстрогиот тест за прецизноста и е клучен за стандардизација на методите и за обезбедување на споредливост на резултатите помеѓу различни институции.

Репродуцибилноста во докторското истражување е проценета преку снимање на три волтаметриски мерења на два поединечни раствори на DOX со концентрација 0,0024 mol/L, подготвени во 0,1 mol/L PBS како електролит, направени во две лаборатории – првата на Технолошко – металуршки факултет во Скопје, втората на Институтот на технички науки при Српската академија на науки и уметност во Белград. Дополнително, користени се два различни електрохемиски инструменти: Spelec Dropsens (Шпанија) и Ivium Vertex One (Холандија). Секое мерење на поединечните раствори вклучува пет циклуси снимања, направени при идентични експериментални услови.

Стабилноста (англ. „*stability*”) на аналитот во дадена матрица е важен параметар кој покажува колку долго аналитот ги задржува своите почетни карактеристики (на пр. концентрација) непроменети, во рамките на дефинирани толеранции, кога е изложен на различни услови во текот на чувањето или обработката на примероците. Испитувањето на стабилноста е клучно за да се обезбеди дека измерените вредности се репрезентативни за вистинската содржина на аналитот во моментот на земање на примерокот, а не резултат на негова деградација или промена. Стабилноста обично се проценува со анализа на примероци кои се чуваат под различни услови (на пр. различни температури, изложеност на светлина, различно време на чување) и споредување на резултатите со оние од свежо подготвени примероци или со почетните вредности. Резултатите од студиите за стабилност често се изразуваат како процент на преостанат аналит или процент на аналитички принос т.е. „*recovery*” во однос на почетната концентрација, со цел да се дефинираат оптималните услови и максималното време за чување на примероците пред анализа.

Стабилноста на електродите во докторското истражување е проценета преку снимање на три последователни волтаметриски мерења во период од пет дена. Користени се електроди со иста модификација, кои се чувани во различни услови – една електрода е чувана и сушена на воздух, друга во ексикатор. После секое мерење електродите се премивани со дестилирана вода. Мерењата се извршени во електролитен раствор на DOX со концентрација 0,0024 mol/L, подготвен во 0,1 mol/L PBS.

Робустноста (англ. „*robustness*”) на еден аналитички метод ја претставува неговата способност да остане релативно непроменет од мали, но намерни варијации во параметрите на методот, што може да се случат при рутинска употреба. Испитувањето на робустноста дава информација за доверливоста на методот при секојдневна работа и помага да се идентификуваат критичните параметри кои мораат строго да се контролираат. За да се процени робустноста, се воведуваат мали, однапред дефинирани промени во експерименталните услови, како на пример мала промена на рН вредноста на пуферот, температурата на анализа, времето на реакција, или мали варијации во

концентрацијата на реагенсите. Потоа се набљудува влијанието на овие промени врз резултатите од анализата (на пр. врз интензитетот на сигналот, пресметаната концентрација). Ако методот е робустен, малите варијации во овие параметри не би требало значајно да влијаат на крајниот резултат.

Робушноста на електродите во докторското истражување е проценета преку користење на две брзини на снимање на електрохемиските мерења кои директно влијаат на времето на анализа – стандардна брзина од 50 mV/s која обезбедува побрза анализа и брзина од 25 mV/s која обезбедува поспора анализа. Мерењата се извршени во раствор на DOX со концентрација 0,0024 mol/L, подготвен во 0,1 mol/L PBS.

Специфичноста (англ. „*specificity*”) или селективноста (англ. „*selectivity*”) на еден аналитички метод ја претставува неговата способност недвосмислено да го мери аналитот од интерес, во случајов DOX, во присуство на други компоненти за кои може да се очекува дека ќе бидат присутни во примерокот. Овие компоненти може да вклучуваат нечистотии, производи на разградување, компоненти на самата матрица (како што се компонентите на хуманиот серум или составните делови на фосфатниот пуфер), или други супстанции кои не се предмет на анализа. Високата специфичност/селективност е од суштинско значење бидејќи гарантира дека добиениот аналитички сигнал потекнува исклучиво или претежно од аналитот, со што се избегнуваат неточни квантитативни резултати поради можни интерференции.

За волтаметриските методи меѓу кои и користените во ова истражување, специфичноста најпрво се проценува со анализа на слепи проби на матрицата (фосфатен пуфер без додаден DOX). Ова се прави со цел да се потврди отсуството на било каков електрохемиски сигнал на работниот потенцијал или во опсегот на потенцијали каде што се очекува сигналот од DOX. Понатаму, доколку постојат познати или очекувани потенцијални интерференти, нивното влијание може да се испита со нивно додавање во растворот на DOX и следење дали доаѓа до промена на карактеристичниот сигнал на DOX (на пр., промена на висината на пикот, поместување на потенцијалот на пикот) или генерираат сигнали кои се преклопуваат и го отежнуваат неговото недвосмислено мерење. Успешното демонстрирање на специфичноста/селективноста обезбедува висока доверба дека развиениот метод прецизно го одразува присуството и количеството на целниот аналит, DOX, во испитуваната симулирана биолошка матрица.

За определување на специфичноста, односно селективноста на електродите, како потенцијални интерференти беа избрани следните супстанции, кои се познати компоненти на хуманиот серум: аскорбинска киселина (Sigma-Aldrich), натриум хлорид (како извор на Na^+ и Cl^- јони) (Sigma-Aldrich), калиум хлорид (како извор на K^+ јони) (Sigma-Aldrich), уреа (Fluka) и гликоза (Sigma-Aldrich). За секоја од овие супстанции се подготвени стандардни раствори со концентрација од 1 mmol/L. Растворите се подготвени со растворање на точно одмерени количества: 17,61 mg аскорбинска киселина, 5,844 mg натриум хлорид, 7,455 mg калиум хлорид, 6,006 mg уреа и 18,016 mg гликоза, секој во 100 mL дестилирана вода. Експерименталната постапка за проценка на специфичноста вклучува анализа на DOX во присуство на секој поединечен потенцијален интерферент. Во електролитниот раствор, кој претставува 0,1 mol/L PBS со волумен од 25 mL, додавана е еднаква количина на DOX и секој од интерферентите во волумен од 30 μL .

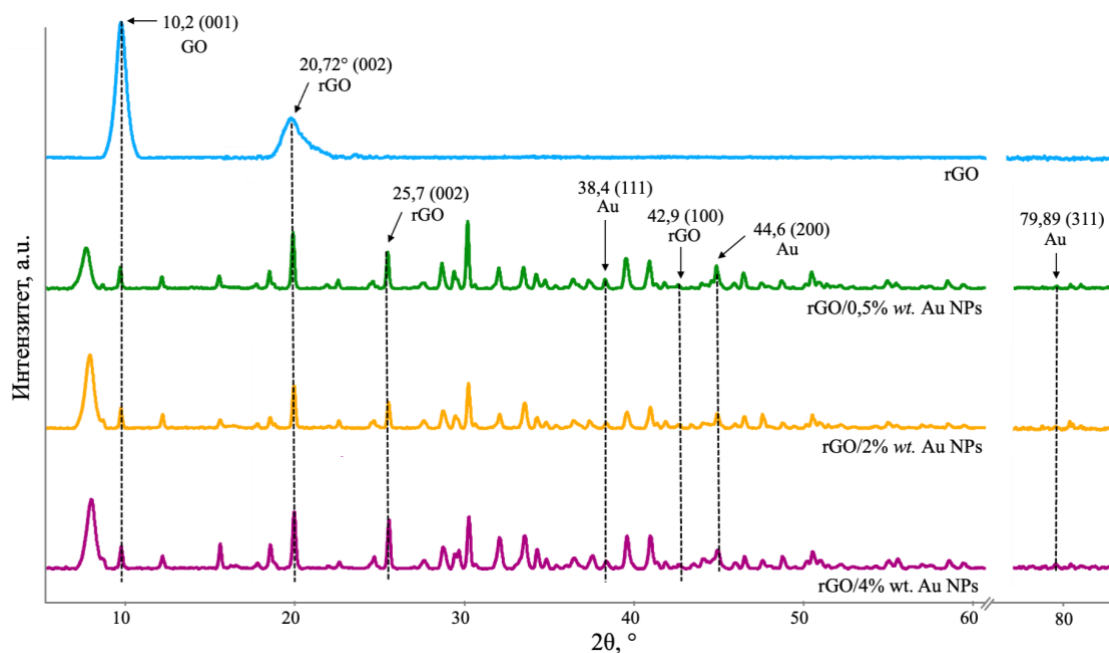
6. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

6.1. Физичко-хемишка карактеризација на синтетизиран нанохибриден материјал базиран на редуциран графен оксид и златни наночестички

6.1.1. Рендгенска дифракција од прашок (XRPD)

Рендгенската дифракциона анализа од прашок (XRPD) е применета со цел карактеризирање на кристалната структура, меѓурамнинското растојание и просечната големина на кристалитите на почетниот редуциран графен оксид (rGO) и синтетизираните нанохибридни GO/AuNPs структури. XRPD дифрактограмите на анализираните примероци се прикажани на Сл. 30. Меѓурамнинското растојание (d) е пресметано користејќи ја Бреговата равенка (Равенка 1). Брановата должина на употребените X-зраци ($CuK\alpha$) изнесува $\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$. Големината на кристалитите (D) е проценета со помош на Шереровата равенка (Равенка 2) ($K = 0,9$ за сферични кристалити со кубична симетрија, како што е златото), користејќи ја измерената ширина на полувисина (FWHM) без корекција за инструментално проширување. Сите релевантни параметри добиени од XRPD анализата сумирани во Табела 12.

Дифрактограмот на почетниот rGO, прикажан со светло сина крива, покажува два главни карактеристични пикови. Доминантен е интензивниот и остар дифракционен пик кој се јавува при $2\theta = 10,2^\circ$, кој карактеристично одговара на (001) рефлексивата на GO [165,166]. Пресметаното меѓурамнинско растојание (d_{001}) за овој пик изнесува $0,867 \text{ nm}$, што укажува на присуство на слоеви со големо меѓурамнинско растојание поради кислородните групи, со проценета големина на кристалитите од околу $11,6 \text{ nm}$. Покрај овој пик, на истиот дифрактограм се забележува и широк, помалку интензивен пик на $2\theta = 20,72^\circ$. Овој широк пик е карактеристичен за (002) рефлексивата на rGO [84,165], со меѓурамнинско растојание (d_{002}) од $0,429 \text{ nm}$ и проценета големина на кристалитите од околу $4,4 \text{ nm}$. Истовременото присуство на овие два пика силно укажува дека почетниот rGO материјал е хетероген т.е. хибриден материјал кој претставува нецелосно редуциран GO.



Слика 30. XRPD дифрактограми означени со различна боја на крива: редуциран графен оксид (rGO) — сина, rGO/0,5 % wt. AuNPs — зелена, rGO/2 % wt. AuNPs — жолта и rGO/4 % wt. AuNPs — виолетова

Табела 12. XRPD параметри за анализираните примероци ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$, $K = 0,9$).

Примерок	Фаза	(<i>hkl</i>)	$2\theta / ^\circ$	<i>d</i> / nm	FWHM	<i>D</i> / nm
rGO	GO	(001)	10,2	0,867	0,690	11,6
	rGO	(002)	20,72	0,429	1,859	4,4
rGO/0,5 % wt. AuNPs	rGO	(002)	25,7	0,347	0,164	49,5
	Au	(111)	38,4	0,234	0,207	40,8
rGO/2 % wt. AuNPs	rGO	(002)	25,7	0,347	0,174	46,7
	Au	(111)	38,4	0,234	0,199	42,4
rGO/4 % wt. AuNPs	rGO	(002)	25,7	0,347	0,166	48,9
	Au	(111)	38,4	0,234	0,270	31,2

*Големината на кристалитите (*D*) е проценета без корекција за инструментално проширување.

XRPD дифрактограмите на хибридните наноструктури – rGO/0,5 % wt. AuNPs (зелена крива), rGO/2 % wt. AuNPs (портокалова крива) и rGO/4 % wt. AuNPs (виолетова крива) – покажуваат натамошни структурни промени. Кај сите три хибриди, интензивниот пик на $10,2^\circ$ (карактеристичен за GO) се јавува со значително намален интензитет. Во случај на целосна редукција на GO, овој пик целосно исчезнува. Дополнително, во дифрактограмите на сите три хибридни материјали се јавува пик при $2\theta = 25,7^\circ$, кој се припишува на (002) рефлексивата на rGO. Присуството на овие два пика во примероците ја потврдува хибридната јаглеродна структура, која е составена од мешавина на GO и rGO. За пикот на $25,7^\circ$, меѓурамнинското растојание (d_{002}) изнесува 0,347 nm кај сите хибриди, што е значително помало во споредба со GO (0,867 nm) и rGO во почетниот материјал (0,429 nm), укажувајќи на формирање на поуредена структура која е слична на графитот. Ова сугерира на дополнителна редукција на преостанатите кислородни групи која се случува за време на декорирањето на хибридните со AuNPs, најверојатно под дејство на преостанатиот натриум борат. Просечната големина на кристалитите за rGO (002) кај хибридните е проценета на $\sim 49,5$ nm (0,5 % wt. Au), $\sim 46,7$ nm (2 % wt. Au) и $\sim 48,9$ nm (4 % wt. Au), што се значително поголеми вредности во споредба со rGO во почетниот материјал ($\sim 4,4$ nm), сугерирајќи подобро структурирање и/или раст на rGO домените при понатамошната редукција. Ваквото зголемување на дифрактирачките домени е очекуван резултат од отстранувањето на кислородните функционални групи, што овозможува поблиско пакување на графенските листови и формирање на поуредени структури со сличност на графит, кои имаат поголема дебелина [171]. Дополнително, кај сите хибриди се забележува и послаб пик на $2\theta = 42,9^\circ$, кој одговара на (100) рефлексивата на rGO.

Покрај пиковите од rGO, кај сите три хибридни материјали јасно се детектираат и дифракционите пикови од кристални AuNPs, со кои е направена декорацијата. Најистакната е (111) рефлексивата на површински центрирана златна кубична решетка (англ. „Face-Centered Cubic”, FCC) на $2\theta = 38,4^\circ$, со меѓурамнинско растојание од 0,234 nm. Просечната големина на AuNPs, проценета од овој пик со помош на Шереровата равенка, изнесува околу 40,8 nm за хибридот со 0,5 % wt. Au, 42,4 nm за 2 % wt. Au, и 31,2 nm за 4 % wt. Au. Овие пресметани вредности се во добра согласност со номиналната големина на користените златни наночестички (40 nm), особено за примероците со 0,5 % и 2 % wt. Au. Делумно пониската пресметана вредност за примерокот со 4 % wt. Au (31,2 nm) може да се должи на неколку фактори, како што се потенцијално поголемо микронапрегање во кристалната решетка на наночестичките при повисока концентрација, или на ограничувања на Шереровата равенка. Во дифрактограмите е присутна и (200) рефлексивата на Au на $2\theta = 44,6^\circ$. Дополнително, кај сите декорирани хибридни примероци се забележува и слаб пик околу $79,89^\circ$ кој соодветствува на (311) рефлексивата на Au [84,165,167–169]. Иако (311) рефлексивата на FCC Au типично се јавува околу $77,5^\circ$, позицијата на овој пик во добиените дифрактограми сугерира дека тој

може да се припише на (311) рефлексивата од златните наночестички, потенцијално со мало поместување поради наноголемината или напрегањето во материјалот. Интензитетот на сите овие пикови од злато видливо се зголемува со зголемување на масениот удел на AuNPs во хибридите. Очекуваната (220) рефлексива на FCC Au на $2\theta \approx 64,6^\circ$ [84,165,167–169] не се појавува јасно во добиените дифрактограми или, доколку е присутна, нејзиниот интензитет е многу слаб и маскиран од шумот во таа област, што го прави нејзиното прецизно идентификување тешко.

Покрај ова, кај сите три хибриди се забележуваат и повеќе други, релативно остри дифракциони пикови со помал интензитет, кои најверојатно потекнуваат од кристални остатоци од редуцентот, натриум борат (NaBH_4), или негови продукти на хидролиза како што се натриум метаборат (NaBO_2), борна киселина (H_3BO_3), или хидрирани натриумови борати (на пр., боракс). Формирањето на вакви соединенија како резултат на хидролиза или нецелосна реакција на NaBH_4 во водени или алкохолни средини се среќава во литературата, а нивното кристализирање при сушење на примероците може да доведе до појава на карактеристични XRD пикови [185].

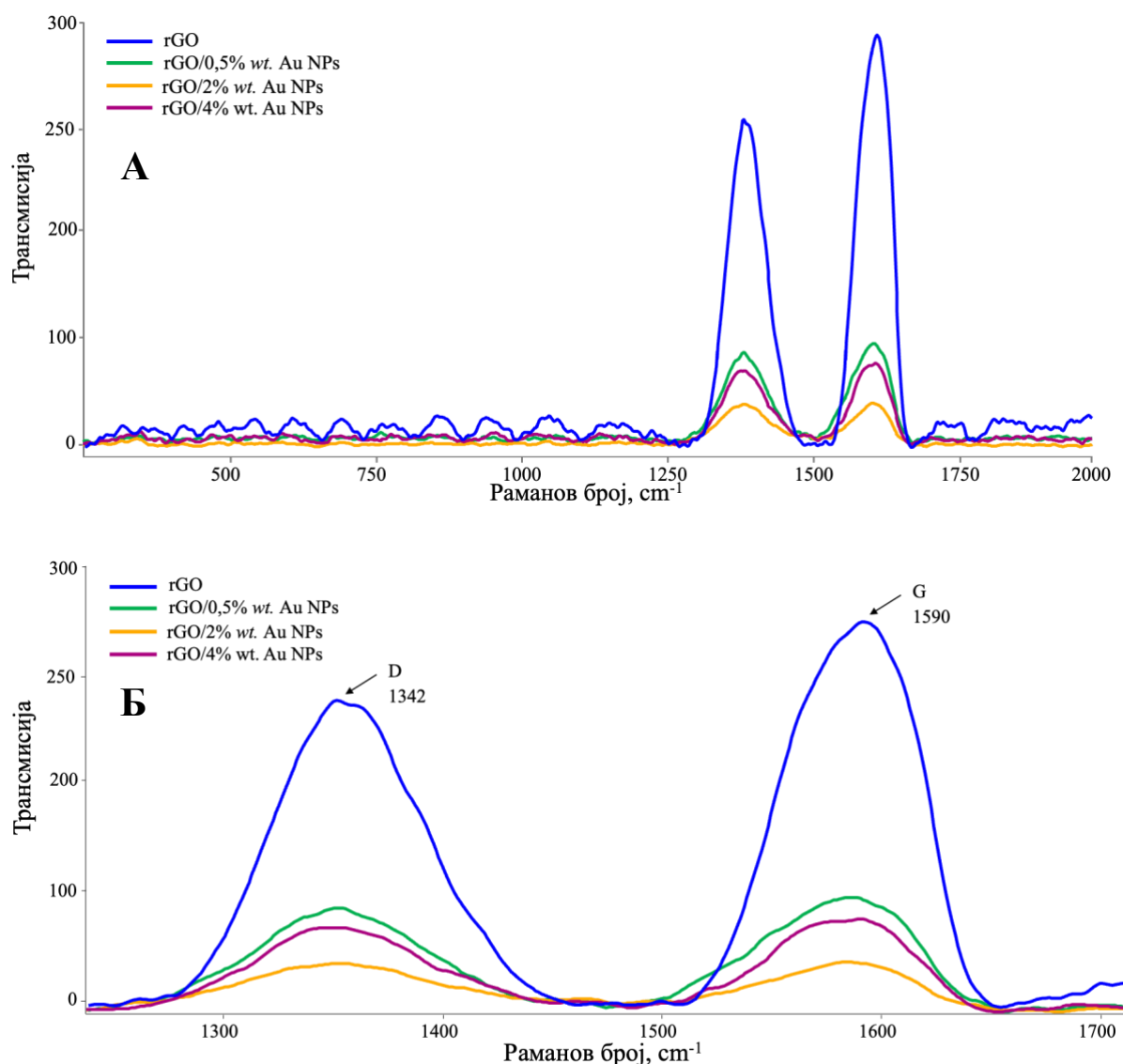
XRPD анализата открива дека почетниот rGO е хетероген материјал. За време на синтезата на rGO/AuNPs хибридите, доаѓа до понатамошна редукција на графенската структура, што резултира со помало меѓурамнинско растојание и поголеми rGO кристали, истовремено со декорирањето со кристални златни наночестички чија проценета големина е во согласност со очекуваната.

6.1.2. Раманска спектроскопија (Raman)

Структурната промена во хибриодот настаната при редукцијата на графен оксидот и декорацијата со златните наночестички е следена преку раманска спектроскопија (Raman). Раманските спектри на rGO и неговите хибриди со различен масен удел на AuNPs (0,5 %, 2 % и 4 % *wt.* AuNPs) се прикажани на Сл. 31.

Раманските спектри на примероците од rGO (сина крива) и rGO декориран со 0,5 % *wt.* (зелена крива), 2 % *wt.* (жолта крива) и 4 % *wt.* (виолетова крива) AuNPs покажуваат два карактеристични пикови. Првиот пик одговара на карактеристичниот D-пик, кој во Раманските спектри на јаглеродните наноструктури типично се јавува околу 1350 cm^{-1} . Овој пик претставува клучен показател за степенот на структурна неуреденост или присуството на дефекти во рамките на sp^2 хибридираната јаглеродна мрежа. Неговата појава е директна последица на нарушувањето на совршената паралелна симетрија на кристалната решетка. Ова нарушување може да настане од повеќе причини, вклучувајќи формирање на sp^3 хибридирани јаглеродни атоми на сметка на доминантната sp^2 хибридирана структура, каде дел од јаглеродните атоми формираат sp^3 врски. Исто така, неговата појава може да биде резултат на различни структурни дефекти како што се вакансии, односно празни места каде што недостасува јаглероден атом, рабови на графенските слоеви кои претставуваат прекин на периодичноста, како и дислокации, зрнести граници или присуство на не-шестатомски прстени во структурата. Понатаму, хемиската функционализација, односно воведувањето на различни функционални групи како оксидни, карбоксилни или амински групи на површината или рабовите на јаглеродниот материјал, исто така придонесува за појавата на D-пикот, бидејќи овие групи често вклучуваат sp^3 хибридиран јаглерод на местото на врзување или ја нарушуваат локалната sp^2 електронска структура. Интензитетот на D-пикот е директно поврзан со концентрацијата на овие дефекти, при што поголем интензитет укажува на повисок степен на структурна неуреденост и поголем број на дефекти во материјалот. D-пикот произлегува од симетричната скелетна вибрација на ароматичните бензенски прстени и станува Раман-активен само во присуство на дефекти кои ги нарушуваат селекционите правила.

Вториот карактеристичен пик кој се јавува при бранов број од околу 1580 cm^{-1} е познат како G-пик. Тој е фундаментален за сите sp^2 хибридувани јаглеродни материјали и се јавува како резултат на вибрациите на истегнување на C–C врските во графенската рамнина. Интензитетот на G-пикот може да се поврзе со количината на sp^2 јаглерод, па така, генерално, поизразен G-пик може да укаже на поголема содржина на sp^2 хибридувани домени, а со тоа и на повисок степен на кристалност или среденост во материјалот. За подетална проценка на структурната среденост, особено во однос на присуството на дефекти кои го активираат претходно опишаниот D-пик, се користи односот на интензитетите на овие два пика (I_D/I_G). Овој сооднос служи како важен параметар, при што колку е помала неговата вредност, толку е поголема среденост на структурата и помала концентрацијата на дефекти во јаглеродниот наноматеријал.



Слика 31. Рамански спектри означени со различна боја на крива: редуциран графен оксид (rGO) – сина, rGO/0,5 % wt. AuNPs – зелена, rGO/2 % wt. AuNPs – жолта и rGO/4 % wt. AuNPs – виолетова, генерално (А) и детално прикажани (Б) со поместување на у-оската за подобра визуелизација

Сите снимени спектри јасно ги покажуваат двата карактеристични пика за јаглеродните материјали: D-пикот, лоциран на околу 1342 cm^{-1} , и G-пикот, центриран во опсег од 1587 до 1593 cm^{-1} . Овие позиции се во согласност со литературните податоци за rGO [165,170], а минималното поместување на брановата должина може да го

покажува типот на опримесување на материјалот или пак да се должи на неговите механички карактеристики. За подетална анализа, пиковите се фитувани за да се одредат нивните точни позиции, ширина на полувисина (FWHM) и односот на интензитетите I_D/I_G . Сите податоци се дадени во Табела 13.

Кај чистиот rGO, D-пикот е лоциран на 1342 cm^{-1} , додека G-пикот се јавува на 1593 cm^{-1} . Пресметаниот I_D/I_G однос изнесува 0,73. Оваа вредност, која е најниска меѓу сите анализирани примероци, укажува на релативно помала густина на структурни дефекти во споредба со хибридните, иако дефектите се секако присутни како резултат на процесот на хемиска редукција на GO (како што беше потврдено и со XRD анализата која покажа присуство на GO компонента во почетниот rGO примерок), вклучувајќи останати кислородни групи, ваканции или нарушувања во sp^2 решетката. Ширината на полувисина D-пикот ($FWHM_D$) за чистиот rGO изнесува 92 cm^{-1} , додека ширината на полувисина на G-пикот ($FWHM_G$) е 81 cm^{-1} .

Табела 13. Позиција, ширина на полувисина (FWHM) и I_D/I_G однос на пикови од рамански спектри

Примерок	Позиција / cm^{-1}		FWHM / cm^{-1}		Интензитет		I_D/I_G
	D	G	D	G	D	G	
rGO	1342	1593	92	81	199,33	272,7	0,73
rGO/0,5 % wt. AuNPs	1342	1589	85	76	57,61	63,17	0,91
rGO/2 % wt. AuNPs	1342	1592	84	62	50,39	57,61	0,874
rGO/4 % wt. AuNPs	1342	1587	81	68	29,83	29,27	1,01

Анализата на спектрите на хибридните материјали базирани на rGO/AuNPs, открива промени во I_D/I_G односот и другите параметри на пиковите, што укажува на влијанието на златните наночестички врз структурата на rGO.

За rGO/0,5 % wt. AuNPs, односот I_D/I_G значително се зголемува на 0,91 во споредба со чистиот rGO. Ова зголемување, иако традиционално може да се протолкува како зголемување на густината на дефектите, во контекст на понатамошна редукција на rGO (како што сугерира XRPD анализата дека се случува за време на синтезата на хибридните) може да се објасни со моделот каде што отстранувањето на кислородните групи и обновата на sp^2 структурата доведува до формирање на поголем број на помали, нанокристални sp^2 домени. Бидејќи D-пикот е чувствителен на рабовите на овие домени, зголемувањето на нивниот број може да резултира со зголемен I_D/I_G однос, дури и при подобрување на вкупната графитизација [171,172]. Интересно е што и ширините на полувисините на D-пикот ($FWHM_D = 85\text{ cm}^{-1}$) и G-пикот ($FWHM_G = 76\text{ cm}^{-1}$) се намалуваат во споредба со чистиот rGO. Ваквото стеснување на пиковите, и покрај зголемениот број на дефекти, би можело да сугерира дека новосоздадените или модифицираните дефектни места се од поуниформен тип, или дека доаѓа до формирање на sp^2 домени со помала дисперзија на структурните параметри. G-пикот е благо поместен на пониска бранова вредност од 1589 cm^{-1} .

Кај rGO/2 % wt. AuNPs, I_D/I_G односот изнесува 0,874. Оваа вредност е повисока од онаа кај чистиот rGO, потврдувајќи го зголемувањето на дефектите, но е малку пониска во споредба со примерокот со 0,5 % wt. AuNPs. Ова може да укажува на нелинеарна зависност на формирањето на дефекти од концентрацијата на златните наночестички, што потенцијално се должи на различните механизми на интеракција помеѓу наночестичките и rGO при различни концентрации. За овој примерок, ширината на полувисината на D-пикот ($FWHM_D = 84\text{ cm}^{-1}$) е слична како кај 0,5 % примерокот, додека ширината на полувисината на G-пикот ($FWHM_G = 62\text{ cm}^{-1}$) е најмала од сите анализирани примероци. Ваквото стеснување на G-пикот силно сугерира зголемување на просечната големина на sp^2 домените или подобрување на локалната кристална

подреденост и покрај зголемениот I_D/I_G однос во споредба со чистиот rGO. G-пикот се јавува на 1592 cm^{-1} , слично како кај чистиот rGO.

За rGO/4 % wt. AuNPs, се забележува највисока вредност на I_D/I_G односот од 1,01. Ова јасно покажува дека со највисоката употребена концентрација на златни наночестички доаѓа до најголемо воведување на структурни дефекти во rGO. Ширината на полувисина на D-пикот ($\text{FWHM}_D = 81\text{ cm}^{-1}$) е најмала од сите примероци, додека ширината на полувисина на G-пикот ($\text{FWHM}_G = 68\text{ cm}^{-1}$) е исто така релативно ниска. Слично на примерокот со 0,5 % wt. AuNPs, и овде потесните пикови заедно со високиот I_D/I_G сугерираат дека иако има голем број дефекти, тие веројатно придонесуваат кон формирање на подефинирани, иако помали или поизолирани, sp^2 домени. G-пикот кај овој примерок е најзначајно поместен на пониска бранова вредност (1587 cm^{-1}).

Генерално, трендот на зголемување на I_D/I_G односот кај сите хибриди во споредба со чистиот rGO (со исклучок на малото намалување кај 2 % во однос на 0,5 %) (кој и самиот беше нецелосно редуциран) е конзистентен со процесот на понатамошна редукција и реорганизација на sp^2 јаглеродната структура за време на синтезата на хибридните, што доведува до формирање на поголем број на помали sp^2 домени [171,173]. Ова зголемување на дефектите може да биде и резултат на интеракцијата на интерфејсот Au-rGO, што предизвикува локално нарушување на sp^2 јаглеродната решетка, како и на самиот процес на декорација кој може да индуцира дефекти.

Промените во FWHM даваат дополнителен увид во структурата на примероците. Намалувањето на FWHM_D и FWHM_G кај повеќето хибриди во споредба со чистиот rGO (особено FWHM_G кај 2 % и 4 % wt. AuNPs) отвора интересна дискусија. И покрај генералното зголемување на I_D/I_G односот кај хибридните, забележаното стеснување на пиковите, особено FWHM_G (Табела 13), сугерира дека новоформираните или модифицирани sp^2 домени и/или дефектните места се од поуниформен тип или со помала дисперзија на структурните параметри во споредба со чистиот rGO. Особено стеснувањето на G-пикот (кај 2 % и 4 % wt. AuNPs) може да укаже на зголемување на просечната големина или подобрување на подреденоста на sp^2 кластерите.

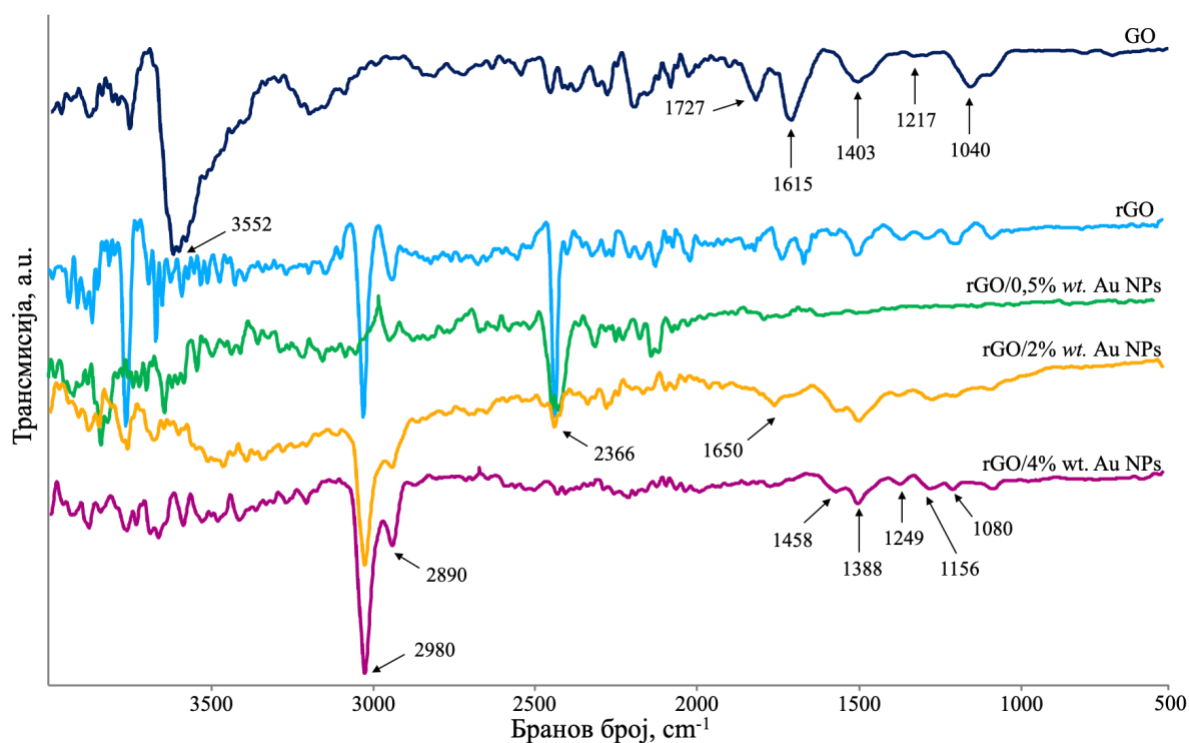
Поместување на G-пикот кон пониски бранови броеви (црвено поместување или „red shift“), кое се забележува кај примероците со 0,5 % wt. AuNPs (до 1589 cm^{-1} , поместување од -4 cm^{-1}), и особено кај 4 % wt. AuNPs (до 1587 cm^{-1} , поместување од -6 cm^{-1} во однос на rGO на 1593 cm^{-1}), е исто така значајно. Ваквите поместувања, иако релативно мали, често се интерпретираат како индикација за *n*-тип на опримесување (допингување) на rGO од страна на златните наночестички. Теоријата сугерира дека при *n*-тип допингување, донирањето на електрони во спроводливата лента на rGO (во овој случај, потенцијално од AuNPs) доведува до зголемување на електронската густина, што предизвикува благо продолжување и слабеење на C–C sp^2 врските [191]. Ова резултира со намалување на нивната вибрациона фреквенција и, следствено, со црвено поместување на G-пикот. Сепак, важно е да се напомене дека и промените во механичкото напрегање (англ. „strain“) во rGO слоевите, индуцирани од присуството на наночестичките, исто така можат да предизвикаат поместување на G-пикот.

Сумирано, рамановата спектроскопија покажува дека декорацијата на rGO со AuNPs значително ја модифицира неговата структура. rGO/4 % wt. AuNPs се издвојува со највисок степен на структурни дефекти (највисок I_D/I_G) и најзначајно поместување на G-пикот, што укажува на најсилна интеракција (потенцијално електронска) со rGO матрицата. Од друга страна, rGO/2 % wt. AuNPs покажува најтесен G-пик, што може да сугерира најголемо локално подредување на sp^2 домените, и покрај зголемениот број на дефекти во споредба со чистиот rGO. Овие различни структурни карактеристики укажуваат дека концентрацијата на AuNPs игра клучна улога во финото подесување на структурата на хибрирот, што пак влијае врз неговите финални функционални својства.

6.1.3. Фуриетрансформна инфрацрвена спектроскопија (FTIR)

За да се добие увид во хемискиот состав и да се потврдат структурните модификации на материјалите во текот на синтезата, беше извршена анализа со FTIR. Оваа анализа е особено корисна за следење на промените во кислородните функционални групи карактеристични за GO, нивното отстранување при редукцијата до rGO, како и за детектирање на евентуални интеракции или нови врски настанати при формирањето на хибриди со златни наночестички (rGO/AuNPs). Добиените FTIR спектри за сите анализирани примероци се прикажани на Сл. 32. Важно е да се истакне дека сите анализирани примероци се базираат на јаглеродот, па токму затоа и се одликуваат со карактеристична црна боја. Јаглеродните материјали се познати по тоа што силно апсорбираат инфрацрвено зрачење, што може да доведе до понизок сооднос сигнал – шум. Како резултат на ова, спектрите, особено оние на rGO и rGO/0,5 % *wt.* AuNPs, покажуваат значително ниво на шум. Во некои региони на сите спектри, може да се забележат и помали, остри флукуации кои не соодветствуваат на познати вибрации на функционални групи и најверојатно претставуваат артефакти настанати поради високиот шум или инструментални ефекти при мерење на високоапсорбирачки примероци. И покрај овие ограничувања, главните вибрациони ленти кои се од интерес за докторското истражување се доволно препознатливи за квалитативна анализа.

FTIR спектарот на почетниот GO, прикажан на Сл. 32 со темно сина крива, открива присуство на повеќе карактеристични вибрациони ленти кои го идентификуваат GO и ја потврдуваат неговата структура која се карактеризира со изобилство на кислородни функционални групи. Највпечатлива е широката и интензивна лента на истегнување која се јавува околу 3552 cm^{-1} . Оваа лента се должи на валентните вибрации на хидроксилните групи (-OH истегнување), ковалентно врзани за јаглеродната решетка на GO, така и од молекулите на вода адсорбирани на површината на материјалот. Ширината на оваа лента е последица на формирањето на водородни врски. Во регионот на карбонилните групи, се забележува остар пик на 1727 cm^{-1} . Овој пик е карактеристичен за валентните C-O вибрации на истегнување на C=O врската, најчесто од карбоксилните киселини (-COOH) кои се формираат на рабовите или дефектните места на графенските листови, а може да вклучува и кетонски или алдехидни групи. Пикот кој се појавува на 1615 cm^{-1} може да се припише на неколку функционални групи. Примарно, тој се поврзува со скелетните вибрации на неоксидираните $\text{sp}^2\text{ C=C}$ врски во ароматичната јаглеродна решетка, што укажува на зачувување на одредени графитни домени. Дополнително, во овој регион можат да се појават и деформациони вибрации на свиткување на O-H групите кои потекнуваат од адсорбираната вода, кои можат да се преклопуваат со сигналот од C=C врските. Пикот на 1403 cm^{-1} може да има двојна природа, потекнувајќи како од вибрациите на истегнување на ароматичните C=C врски во рамките на sp^2 јаглеродните домени, така и од деформационите вибрации на -OH групите (на пример, од C-O-H во карбоксилни или фенолни групи) и/или вибрации на истегнување на C-O во комбинација со O-H свиткување, што го прави веројатно преклопувањето на повеќе вибрациони модови. Интензивниот пик на 1217 cm^{-1} се припишува на C-O-C деформациона вибрација од епоксидните (етерски) групи, кои се едни од главните кислородни функционалности на GO. Крајно, пикот забележан на 1040 cm^{-1} одговара на вибрациите на истегнување на C-O врските од алкокси или хидроксилни групи врзани за јаглеродната структура. Присуството на сите овие карактеристични пикови јасно ја идентификува и потврдува структурата на GO со висок степен на функционализација со различни кислородни групи. Овие групи се одговорни за хидрофилноста на GO и за неговата способност да се диспергира во вода, но исто така претставуваат и реактивни места за понатамошни модификации, како што е редукцијата и декорацијата со наночестички [165].



Слика 32. FTIR спектри означени со различни бои на крива: графен оксид (GO) – темно сина, редуциран GO (rGO) – светло сина, rGO/0,5 % wt. AuNPs – зелена, rGO/2 % wt. AuNPs – жолта и rGO/4 % wt. AuNPs – виолетова

Постапката на редукција на GO има за цел отстранување на голем дел од овие кислородни функционални групи и делумно враќање на sp^2 хибридризираната јаглеродна структура. FTIR спектарот на добиениот rGO, прикажан со светло сина крива на Сл. 32, јасно ги илустрира овие хемиски промени, што е во согласност со литературните податоци [84,165,174–177]. Најзначајните промени вклучуваат: пикот на 1727 cm^{-1} (C=O), кој кај GO е јасно изразен, речиси целосно исчезнува во спектарот на rGO, што е силен показател за успешна редукција на карбонилните функционални групи. Слично, интензивниот пик на 1217 cm^{-1} (C–O–C) исто така целосно исчезнува во rGO спектарот, укажувајќи на ефективно отворање или отстранување на епоксидните прстени. Пикот кој кај GO се наоѓа на 1040 cm^{-1} (C–O истегнување) претрпува промена во спектарот на rGO; неговиот интензитет е значително намален, а позицијата е благо поместена на повисока бранова вредност, околу 1075 cm^{-1} . Ова поместување и промената на обликот на лентата може да се должат на промена на природата на преостанатите C–O врски или на формирање на нов тип на C–O вибрации со помала концентрација. Некои студии сугерираат дека редукцијата на C=O во C–OH може да доведе до зајакнување или појава на пик околу 1100 cm^{-1} [165], што би можело делумно да го објасни интензитетот на пикот на 1075 cm^{-1} во rGO, иако доминантно е вкупното намалување на кислородните групи. Пикот на 1615 cm^{-1} , кој одговара на скелетните вибрации на неоксидираните sp^2 C=C врски, останува присутен во спектарот на rGO, што е очекувано бидејќи основната јаглеродна структура се задржува. Сепак, кај rGO, овој пик се јавува со намален релативен интензитет и е поместен кон повисоки бранови броеви, околу 1650 cm^{-1} . Намалувањето на интензитетот може да биде последица на промени во диполниот момент на овие вибрации поради отстранувањето на соседните поларни кислородни групи или поради промени во вкупната структура и електронска густина. Поместувањето кон повисоки бранови броеви (т.н. сино поместување или „blue shift“) по редукцијата, понекогаш се припишува на реконструкција на посредени sp^2 домени и зголемување на јачината на C=C врските во новосоздадените региони. Пикот детектиран на 1403 cm^{-1} кај

GO, кој може да потекнува од C=C ароматични вибрации и/или O–H деформации, кај rGO се јавува со намален интензитет, но со поостра и подобро дефинирана форма. Намалувањето на интензитетот е во согласност со редукцијата на кислородните групи, додека задржувањето на пикот со поостра форма укажува на релативно поизразен придонес од C=C ароматичните вибрации. Интересно е што овој пик е јасно видлив и присутен кај сите хибридни примероци, но е карактеристично поместен на пониска бранова вредност, околу 1388 cm^{-1} . Ова црвено поместување на пикот со C=C ароматичен карактер сугерира електронска интеракција помеѓу AuNPs и rGO, потенцијално како резултат на *n*-тип допингување. Покрај ова, некои студии за хибриди на база на графен оксид и злато сугерираат дека пикови во сличен регион (на пр., околу 1365 cm^{-1}) можат да потекнуваат од вибрации на карбоксилатни групи (COO^-) кои се комплексирани со златни наночестички [178]. Иако во нашиот случај, FTIR анализата на rGO покажа значителна редукција на карбоксилните групи (исчезнување на пикот на 1727 cm^{-1}), не може целосно да се исклучи можноста дека мал број преостанати карбоксилни групи на rGO стапуваат во интеракција со AuNPs, што би можело да даде дополнителен придонес кон сигналот на 1388 cm^{-1} .

FTIR спектарот на rGO/0,5 % wt. AuNPs хибрирот, прикажан со зелената крива на Сл. 32, покажува значително поинакво однесување во споредба со чистиот rGO и другите хибриди. Имено, во овој спектар, не се забележуваат јасни вибрациони ленти, со исклучок на единствениот пик кој се детектира на 2366 cm^{-1} . Овој пик е карактеристичен за вибрациите на истегнување на атмосферскиот јаглерод диоксид (CO_2) и често се појавува како артефакт во FTIR спектрите доколку не е целосно компензиран со позадинскиот референтен спектар (англ. „background”) или доколку има флукуации на CO_2 во околината за време на мерењето. Отсуството на други карактеристични пикови за rGO во спектарот на rGO/0,5 % wt. AuNPs најверојатно се должи на силното апсорбирање на инфрацрвеното зрачење од страна на конкретната хибридна модификација. Иако и другите примероци на база на rGO се темни, можно е оваа конкретна концентрација и морфологија на AuNPs на rGO да доведува до уште поизразена апсорпција или расејување на IR зрачењето, што резултира со многу низок сооднос сигнал – шум и неможност за детектирање на послабите вибрациони ленти на самиот материјал. Во такви случаи, сигналот од материјалот може да биде целосно „изгубен” во шумот или во основната линија, оставајќи ги само артефактите како CO_2 пикот видливи. Поради ова, од FTIR спектарот на rGO/0,5 % wt. AuNPs не може да се извлечат информации поврзани со структурата на материјалот.

За разлика од примерокот со 0,5 % wt. AuNPs, FTIR спектрите на хибридите со повисока концентрација на златни наночестички, 2 % и 4 % wt. (прикажани со жолта и виолетова крива на Сл. 32, соодветно) покажуваат повеќе карактеристични вибрациони ленти, иако и кај нив е присутен одреден шум поради природата на материјалите. Овие два спектри покажуваат слични пикови, со одредени разлики во нивните релативни интензитети и благи поместувања. Кај двата хибриди (rGO/2 % wt. и rGO/4 % wt. AuNPs), се детектираат пикови околу 2980 cm^{-1} и 2890 cm^{-1} . Овие пикови се карактеристични за симетричните и асиметричните вибрации на истегнување на C–H врските во метил ($-\text{CH}_3$) и метилен ($-\text{CH}_2$) групи. Присуството на овие пикови, кои не се јасно видливи или доминантни кај чистиот GO или rGO, може да укажува на остатоци од органски растворувачи или реагенси користени во текот на декорација на rGO со златните наночестички, кои не се целосно отстранети. Потоа, се забележува пик околу 1650 cm^{-1} . Кај примерокот со 2 % wt. AuNPs, овој пик има забележителен интензитет, додека кај rGO/4 % wt. AuNPs неговиот интензитет е многу мал, речиси неизразен. Пикот во овој регион е поврзан со пикот кој кај GO и rGO се јавува околу $1615\text{--}1625\text{ cm}^{-1}$. Како и претходно, овој пик може да произлегува од скелетните вибрации на $\text{sp}^2\text{ C=C}$ врските, или од O–H деформационите

вибрации на адсорбирана вода. Разликата во интензитетот помеѓу хибридите со 2 % и 4 % Au е значајна и може да укажува на различни степени на обнова или нарушување на sp^2 структурата, или различно количество на адсорбирана вода. Во регионот кој се нарекува „отпечатокот на прст“ (англ. „*fingerprint region*“) се јавуваат неколку ленти. Првиот пик се јавува околу 1458 cm^{-1} и истиот е присутен и кај чистиот rGO, како и кај двата хибриди (2 % и 4 % *wt.* AuNPs). Неговата природа може да биде поврзана со ароматични C=C вибрации на истегнување или со деформациони вибрации на CH_2/CH_3 групи. Понатаму, на 1388 cm^{-1} се јавува лента која е видлива и кај rGO и кај двата хибрида (2 % и 4 % *wt.* AuNPs). Овој пик, како што беше претходно дискутирано, е поместен од 1403 cm^{-1} кај GO, кон пониски бранови должини. Неговото присуство и поместувањето кај хибридите сугерираат електронска интеракција и потенцијално *n*-тип допингување, со примарен придонес од C=C ароматични вибрации. На 1249 cm^{-1} се јавува лента исто така присутна кај rGO и двата хибриди, која најверојатно потекнува од C–O вибрации на истегнување, можеби од преостанати епоксидни групи или од фенолни C–O–H групи. Во литературата, пикови околу $1150\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$ понекогаш се припишуваат на C–O од епоксидни или етерски групи [179]. Присутен кај rGO и двата хибриди, пикот на 1156 cm^{-1} исто така се наоѓа во регионот на C–O вибрации на истегнување и истиот може да потекнува од различни типови на C–O врски, вклучувајќи алкокси групи или C–O–C етерски врски. Последниот пик се јавува околу 1080 cm^{-1} и како што претходно беше коментарирано за rGO (каде се јавува околу 1075 cm^{-1}), овој пик е присутен и кај хибридите, но со многу мал, дури и незначаен интензитет. Лентата најверојатно претставува остатоци од C–O вибрации од алкокси или хидроксилни групи.

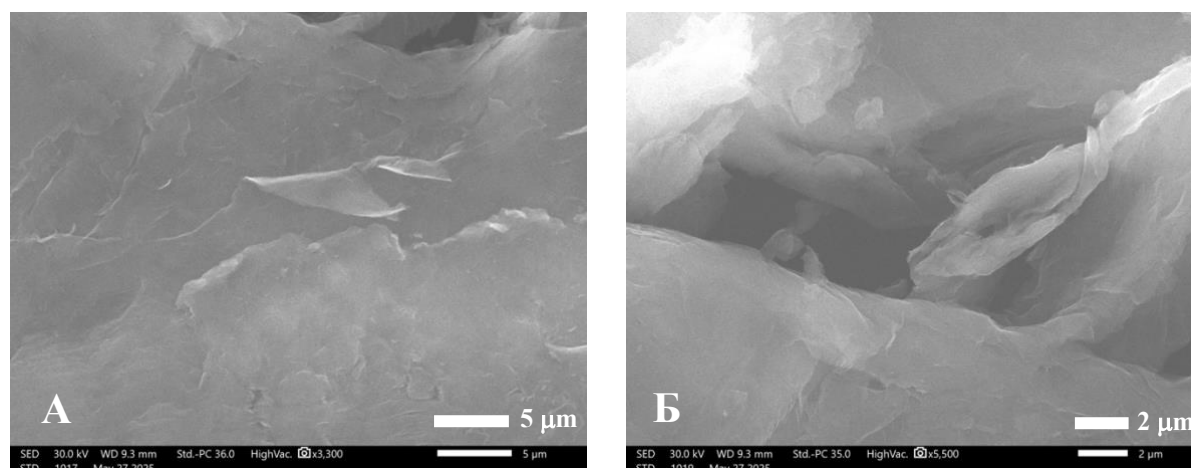
Во литературата постојат податоци дека зголемувањето на интензитетот и синото поместување на карактеристичните ленти во FTIR спектарот на rGO/AuNPs илустрира успешна формација на златни наночестички врз rGO [179]. При обработката на податоците од добиените спектри, се забележува поместување на пикот од $\sim 1615\text{ cm}^{-1}$ (кај GO) на $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ (кај 2 % *wt.* AuNPs), што претставува сино поместување. Исто така, пикот од 1040 cm^{-1} (кај GO) се поместува на $\sim 1075\text{--}1080\text{ cm}^{-1}$ (кај rGO и хибридите), што е исто така сино поместување. Овие согледувања се интерпретираат во согласност со литературната референца како доказ за интеракција и формирање на хибрирот.

FTIR анализата спроведена во рамки на ова докторско истражување ја потврдува успешната синтеза и модификација на материјалите. Спектарот на GO покажува изобилство на карактеристични кислородни функционални групи (O–H, C=O, C–O–C, C–O). По редукцијата, кај rGO е забележано значително намалување или исчезнување на овие кислородни пикови, што укажува на ефективно отстранување на функционалните групи. Овие промени се клучни за враќање на електричната спроводливост и другите својства поврзани со sp^2 јаглеродната структура. Кај хибридите базирани на rGO/AuNPs, особено кај примероците со 2 % и 4 % *wt.* AuNPs, забележани се клучни промени: појава на C–H вибрации (околу $2980/2890\text{ cm}^{-1}$) и карактеристично поместување на пикот со C=C ароматичен карактер на $\sim 1388\text{ cm}^{-1}$. Ова поместување, заедно со другите суптилни промени во спектрите, силно сугерира структурна и електронска интеракција помеѓу златните наночестички и rGO матрицата, потенцијално преку *n*-тип допингување.

6.1.4. Скенирачка електронска микроскопија со енергетско-дисперзивна спектроскопија (SEM-EDS)

Морфологијата на површината на GO, rGO и rGO/AuNPs (2 % и 4 % *wt.* Au) е анализирана со помош на скенирачка електронска микроскопија (SEM), а нивниот елементарен состав е определен преку енергетско-дисперзивна спектроскопија (EDS). Репрезентативните микрографии за GO се прикажани на Сл. 33.

На SEM микрографиите на GO (Сл. 33 А и Б) се забележува карактеристична морфологија која се состои од големи, тенки и често просирни графенски слоеви или снегулки (*англ. „flakes”*) кои се делумно преклопени или агломерирани. Површината на овие слоеви од GO покажува очекувано мазни површини со карактеристични набори и превиткани региони. Овие морфолошки карактеристики се во согласност со литературата и можат да се припишат на присуството на sp^3 хибридизирани јаглеродни атоми и формирањето на кислородни функционални групи на површината на графенските слоеви, како и на различните структурни дефекти во рамките на структурата на GO [177,180]. На Сл. 33 А, при зголемување од $\times 3300$, се забележува релативно мазната површина на графенските слоеви, додека на Сл. 33 Б, при поголемо зголемување од $\times 5500$, појасно се воочуваат рабовите на индивидуалните листови и нивната слоевита природа. Оваа морфологија е типична за GO добиен со методи на оксидација и ексфолијација на графит.

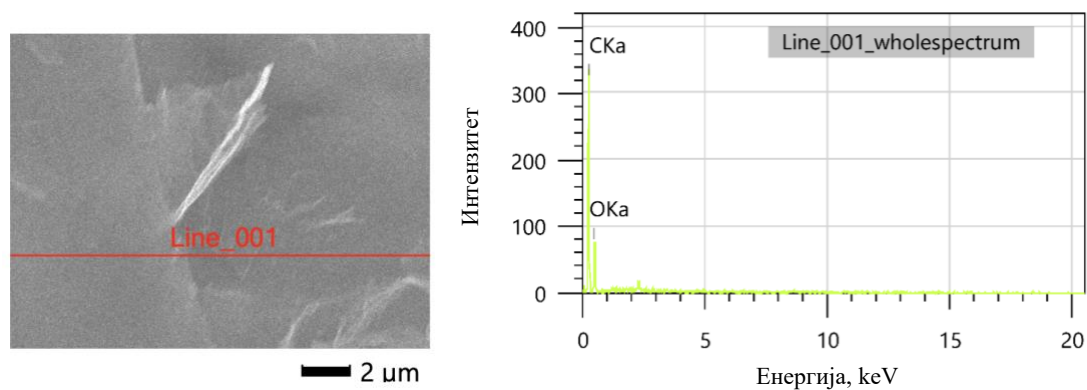


Слика 33. SEM микрографии на GO направени при зголемување од А – $\times 3300$ и Б – $\times 5500$

За да се потврди елементарниот состав на материјалот и присуството на кислородни функционални групи сугерирано од морфологијата, извршена е и EDS анализа. Квантитативните резултати за елементарниот состав на примерокот од GO се дадени во Табела 14, а репрезентативниот EDS спектар е прикажан на Сл. 34. EDS анализата направена на GO јасно покажува доминантно присуство на јаглерод (C) и кислород (O) во хемискиот состав на примерокот. Високиот процент на кислород, како што е наведено во Табела 14 е директен доказ за екстензивната оксидација на графитот и инкорпорирањето на голем број кислородни функционални групи во структурата на GO. Овие резултати се во целосна согласност со SEM набљудувањата за морфологијата. Присуството на само јаглерод и кислород дополнително ја потврдува релативната чистота на добиениот GO.

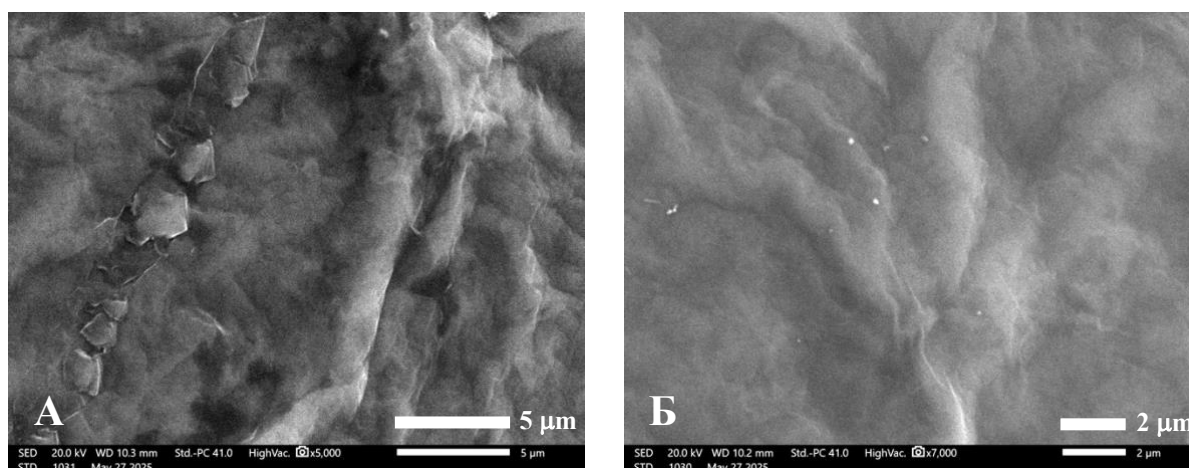
Табела 14. Квантитативни резултати од EDS анализа на GO

Елемент	Линија	Маса / %	Атоми / %
Јаглерод (C)	K	$61,06 \pm 0,77$	$67,62 \pm 0,85$
Кислород (O)	K	$38,94 \pm 1,81$	$32,38 \pm 1,50$
Вкупно		100,00	100,00



Слика 34. Линиска EDS анализа на GO

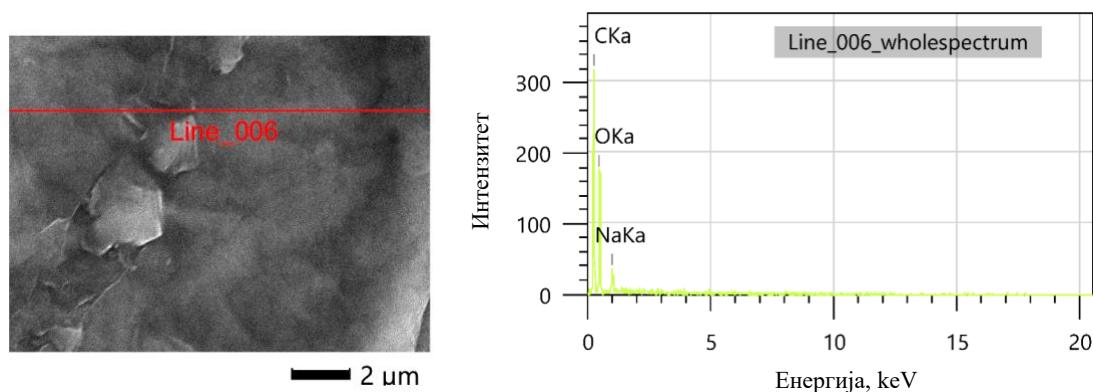
Постапката на хемиска редуција на GO доведува до промени во морфологијата, како што е прикажано на SEM микрографиите на rGO прикажани на Сл. 35. Во споредба со релативно мазните и добро дефинирани листови на GO, површината на rGO (Сл. 35 Б) се карактеризира со присуство на карактеристични тенки, раслоени и често испреплетени слоеви кои формираат неуредена, агломерирана структура, типична за хемиски редуциран GO. Оваа морфологија со „набрчкани тенки листови“ (англ. „*crumpled thin sheets*“) е типична за rGO добиен со хемиска редуција [177] и е последица на отстранувањето на кислородните функционални групи. Со намалувањето на бројот на овие групи, кои кај GO предизвикуваат електростатско одбивање и одржуваат поголемо растојание помеѓу листовите, кај rGO доаѓа до зголемена тенденција за агрегација и групирање на поединечните графенски листови. Ова се должи на обновувањето на $\pi - \pi$ интеракциите и Ван дер Валсовите сили помеѓу sp^2 хибридризираните јаглеродни површини [180]. Како резултат на тоа, rGO често формира покомпактни и помалку ексфолирани структури во споредба со GO.



Слика 35. SEM микрографии на rGO направени при зголемување од А – x5000 и Б – x7000

На микрографијата прикажана на Сл. 35 А, покрај очекуваната раслоена rGO морфологија, јасно се забележуваат и поизразени, делумно плочести или кристални честички со појасни рабови, кои се наоѓаат на површината или се вклопени во rGO агрегатите. За да се идентификува природата на овие специфични честички, како и општиот елементарен состав на rGO, направена е EDS анализата директно врз една од овие видливи кристални честички (Сл. 36). Хемиската анализа покажува присуство на јаглерод (C), кислород (O) и натриум (Na). Квантитативните резултати прикажани во Табела 15 покажуваат масен удел од 50,76 % C, 46,28 % O и 2,97 % Na во анализираниот линиски регион. Присуството на значајна количина на натриум и висок удел на кислород

во овие изолирани кристални честички силно сугерира дека тие претставуваат неоргански остатоци од редукциското средство, натриум борат (NaBH_4), или негови кислородни нуспродукти. Овие резултати се во согласност со XRD анализата, која во дифрактограмот на rGO покажуваше присуство на GO (пик на $10,2^\circ$) и rGO (пик на $20,72^\circ$), укажувајќи на нецелосна редукција. Дополнителните, неидентификувани пикови во XRD спектрите на хибридите исто така беа припишани на вакви остатоци. Според тоа, SEM-EDS анализата директно ги поврзува видливите кристални структури на површината на rGO со овие неоргански соединенија. Општиот елементарен состав на rGO, земајќи ги предвид и графенската компонента и овие неоргански остатоци, укажува на тоа дека иако веројатно дошло до одредена редукција на GO, материјалот е хетероген и содржи и нередуцирани GO домени и одредена количина на неоргански примеси.



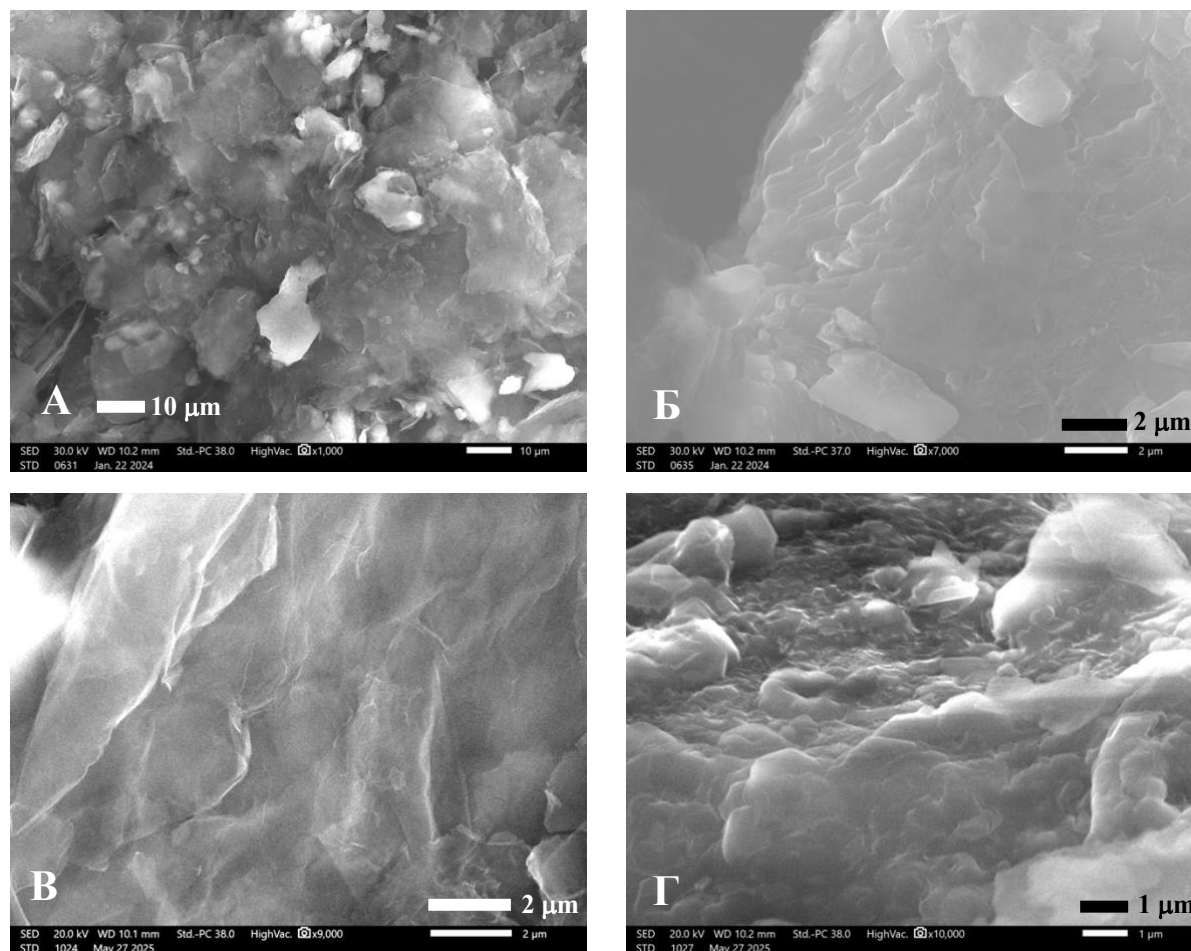
Слика 36. Линиска EDS анализа на rGO

Табела 15. Квантитативни резултати од EDS анализа на rGO

Елемент	Линија	Маса / %	Атоми / %
Јаглерод (C)	K	$50,76 \pm 0,67$	$58,31 \pm 0,77$
Кислород (O)	K	$46,28 \pm 1,40$	$39,91 \pm 1,21$
Натриум (Na)	K	$2,97 \pm 0,29$	$1,78 \pm 0,17$
Вкупно		100,00	100,00

Понатаму, анализирана е морфологијата на rGO/2 % wt. AuNPs и rGO/4 % wt. AuNPs хибридни материјали (Сл. 37). За примерокот кој содржи 4 % wt. AuNPs истовремено е направена и EDS анализа. Кај двата хибрида, rGO/2 % wt. AuNPs (Сл. 37 А и Б) и rGO/4 % wt. AuNPs (Сл. 37 В и Г) основната морфологија ја задржува карактеристичната структура на rGO. Се забележуваат тенки, флексибилни и набрани rGO листови кои формираат агломерирана, слоевита структура. Овие резултати се во согласност со XRD резултатите кои укажуваат на продолжена редукција кај примероците во текот на процесот на декорирање со златни наночестички.

При внимателно набљудување на површината на rGO слоевите кај двата хибрида, директна визуелизација на индивидуални AuNPs како посебни точки со висок контраст не е јасно евидентирана на прикажаните SEM микрографии. Ова може да се должи на повеќе фактори, како што се малата големина и фината дисперзија на AuNPs или нивно делумно вклопување во rGO структурата.

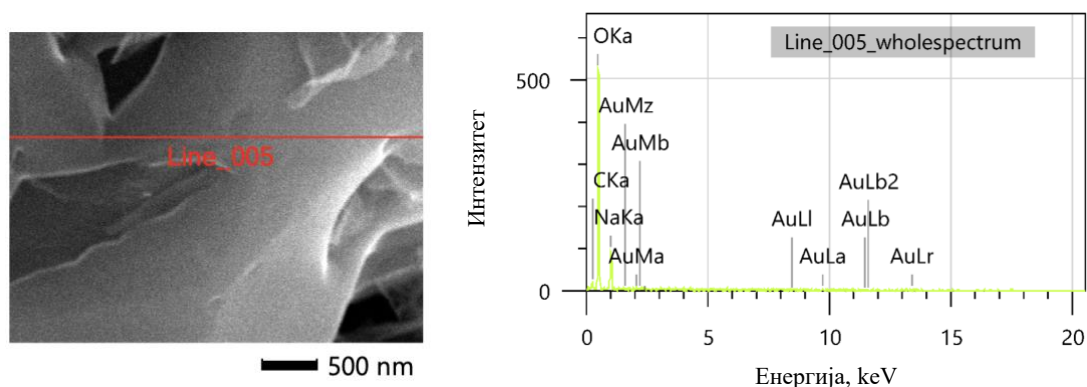


Слика 37. SEM микрографији на rGO/2 % wt. AuNPs направени при зголемување од А – x1000 и Б – x7000 и rGO/4 % wt. AuNPs направени при зголемување од В – x9000 и Г – x10000

Но, EDS анализата направена на rGO/4 % wt. AuNPs примерокот (Сл. 38) недвосмислено го потврдува присуството на елементарно злато (Au), покрај доминантните јаглерод и кислород од rGO матрицата, со детектиран масен удел на злато од 1,41 %. Квантитативните EDS податоци за овој примерок се прикажани во Табела 16. Овие резултати, заедно со јасните дифракциони пикови од злато во XRD дифрактограмите на сите хибридни примероци, дефинитивно сугерираат успешно инкорпорирање на AuNPs во rGO, и покрај тешкотиите за нивна директна SEM визуелизација при користените услови. Слично како кај rGO, и на микрографиите на двата хибриди (rGO/2 % и rGO/4 % wt. AuNPs) се забележуваат поизразени, делумно плочести или кристални структури диспергирани на површината на rGO или помеѓу неговите листови. Овие структури наликуваат на оние кои кај чистиот rGO беа идентификувани како остатоци од соединенија на натриум и бор. Ова сугерира дека и покрај процесот на формирање на хибрирот, одредена количина на овие неоргански нуспродукти од редукциското средство натриум борат сè уште е присутна во материјалите.

Табела 16. Квантитативни резултати од EDS анализа на rGO/4 % wt. AuNPs

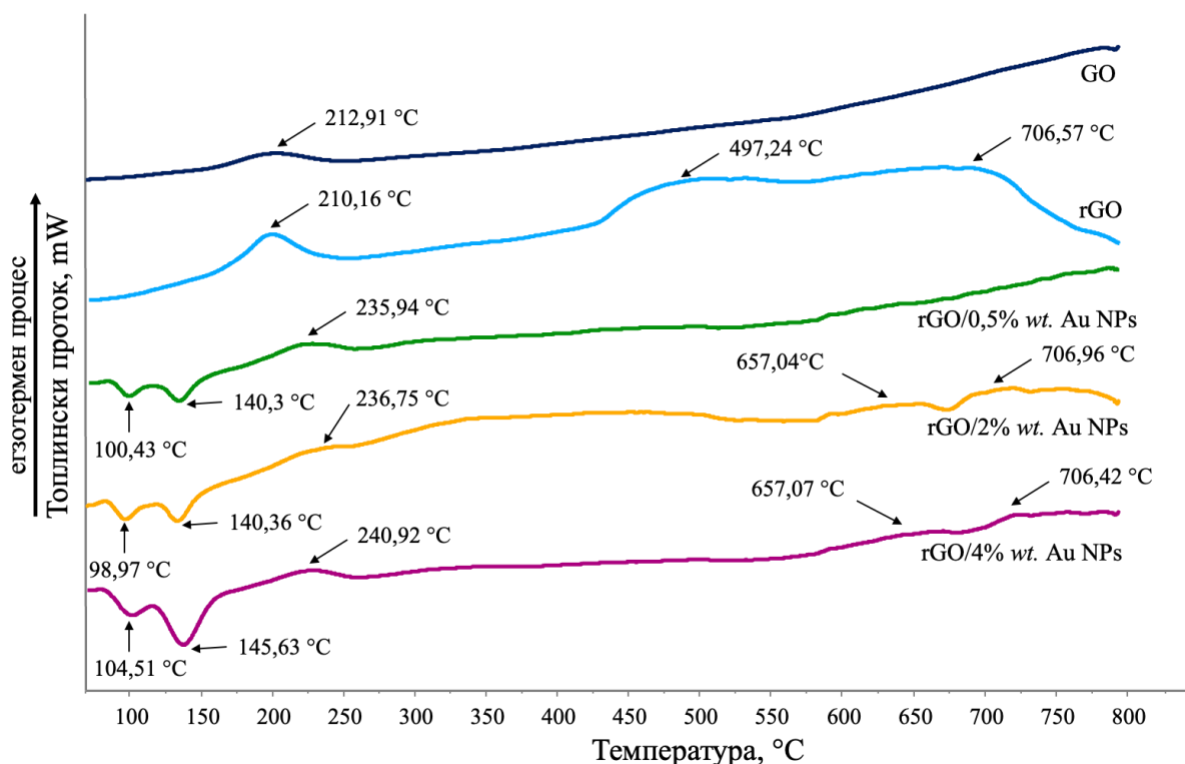
Елемент	Линија	Маса / %	Атоми / %
Јаглерод (C)	K	50,76 ± 0,67	58,31 ± 0,77
Кислород (O)	K	46,28 ± 1,40	39,91 ± 1,21
Натриум (Na)	K	2,97 ± 0,29	1,78 ± 0,17
Злато (Au)	M	1,41 ± 0,40	0,12 ± 0,03
Вкупно		100,00	100,00



Слика 38. Линиска EDS анализа на rGO/4 % wt. AuNPs

6.1.4. Диференцијална скенирачка калориметрија (DSC)

Термичките својства на синтетизираните материјали се испитани со помош на диференцијална скенирачка калориметрија (DSC), изведена симултано со TGA анализата. DSC кривите, кои го прикажуваат протокот на топлина во функција од температурата, се дадени на Сл. 39. Егзотермните процеси се прикажани со пикови насочени нагоре. Квантитативните податоци за температурите на пиковите и соодветните промени на енталпијата (ΔH) се прикажани во Табела 17.



Слика 39. DSC криви означени со различни бои: GO – темно сина, rGO – светло сина, rGO/0,5 % wt. AuNPs – зелена, rGO/2 % wt. AuNPs – жолта и rGO/4 % wt. AuNPs – виолетова

DSC кривата на GO покажува карактеристичен широк ендотермен пад под 150 °C кој се должи на десорпција на адсорбирана и интеркалирана вода, проследен со доминантен егзотермен пик на 212,91 °C со енталпија од $\Delta H = -459,12$ J/g. Овој пик се припишува на ослободувањето на CO и CO₂ при термичкото разградување и деоксигенацијата на нестабилните кислородни функционални групи (како хидроксилни (-OH), епоксидни (-O-), карбоксилни (-COOH)) [176,166,181,183,184].

Табела 17. Термички карактеристики на примероците определени со DSC анализа

Примерок	Термички ефект	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{max}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J/g}$
GO	Разградување на О-групи	170,37	212,91	-459,117
rGO	Разградување на преостанати О-групи по редукцијата	177,89	210,16	-1259,659
	Разградување/Преуредување	450,63	497,24	-1875,173
	Преуредување на С скелет	628,32	706,57	-781,527
rGO/0,5 % wt. AuNPs	Фазна трансформација на NaBH_4	89,87	100,43	20,97
	Разградување на NaBH_4	127,16	140,3	37,444
	Разградување на преостанати О-групи по редукцијата	200,98	235,94	-65,327
rGO/2 % wt. AuNPs	Фазна трансформација на NaBH_4	87,96	98,97	25,854
	Разградување на NaBH_4	126,93	140,36	34,509
	Разградување на преостанати О-групи по редукцијата	212,20	236,75	-15,559
	Графитизација	600,48	647,382	-61,273
	Преуредување на С скелет	696,73	706,963	-35,55
rGO/4 % wt. AuNPs	Фазна трансформација на NaBH_4	89,17	104,51	76,083
	Разградување на NaBH_4	127	145,63	273,281
	Разградување на преостанати О-групи по редукцијата	209,23	240,92	-70,347
	Графитизација	602,03	657,07	-92,021
	Преуредување на С скелет	698,21	706,42	-47,762

Кај rGO ендотермниот ефект од десорпција на вода е значително намален. Сепак, присуството на јасен егзотермен пик на 210,16 °C ($\Delta H = -1259,66 \text{ J/g}$), укажува на разградување на преостанатите кислородни групи и потврдува дека почетната редукција не била целосна, што е во согласност со XRD резултатите. Апсолутната вредност на енталпијата за овој процес кај rGO е значително поголема отколку кај GO, што може да сугерира дека иако има помалку кислородни групи, нивното разградување кај rGO ослободува повеќе енергија по единица маса, или пак дека овој пик кај rGO вклучува и други егзотермни процеси на преуредување кои не се толку изразени кај GO на таа температура. Дополнително, се забележува и поширок егзотермен пик на повисока температура, околу 497,24 °C ($\Delta H = -1875,17 \text{ J/g}$), кој во инертна атмосфера на азот најверојатно се поврзува со разградување на постабилни кислородни групи кои останале по редукцијата (карбонилни ($-\text{C}=\text{O}$), етерски ($\text{R}-\text{O}-\text{R}'$), фенолни) или со структурно преуредување и понатамошна графитизација на rGO, придружено со значително ослободување на енергија. На уште повисоки температури, се детектира егзотермен пик на 706,57 °C ($\Delta H = -781,53 \text{ J/g}$), кој најверојатно одговара на понатамошно бавно термичко разложување на многу стабилни јаглеродни структури или остатоци, и/или финални процеси на графитизација.

Кај rGO/AuNPs хибридите се забележуваат неколку карактеристични термички ефекти. Прво, се појавува ендотермен пик на пониски температури, во опсегот од 99 – 105 °C. За rGO/0,5 % wt. AuNPs, овој пик е на 100,43 °C ($\Delta H = +20,97 \text{ J/g}$), за rGO/2 % wt. AuNPs на 98,97 °C ($\Delta H = +25,85 \text{ J/g}$), додека за rGO/4 % wt. AuNPs е на 104,51 °C ($\Delta H = +76,08 \text{ J/g}$). Според литературата [182], овој ендотермен пик се должи на фазна трансформација на кристалната решетка од орторомбичен во хексагонална систем на вишокот NaBH_4 , кој останал непрореагиран во примероците по процесот на редукција и декорирање на хибридите.

Веднаш по овој ендотермен ефект, кај сите хибриди се појавува втор, исто така ендотермен пик и тоа на кај 0,5 % wt. Au на 140,3 °C ($\Delta H = +37,44 \text{ J/g}$), кај 2 % wt. Au на 140,36 °C ($\Delta H = +34,51 \text{ J/g}$) и кај 4 % wt. Au на 145,63 °C ($\Delta H = +273,28 \text{ J/g}$). Потеклото на овие ендотермни пикови може да биде повеќекратно. Една можна хипотеза, базирана

на литературни податоци за други метални борхидриди, е дека овие пикови можат да бидат поврзани со термичко разградување на остатоци од NaBH_4 или негови комплексни нуспродукти формирани во присуство на AuNPs и/или rGO. На пример, забележано е дека разложувањето на манган борхидрид се случува со ендотермен ефект во сличен температурен опсег (околу 128 – 137 °C) [182]. Иако се работи за различен метален борхидрид, сличноста во температурата на транзиција и ендотермниот карактер сугерираат дека аналогни процеси на декомпозиција на некои борни соединенија би можеле да се одвиваат и во добиените хибриди. Значително повисоката енталпија кај примерокот со 4 % Au може да укажува на поголема количина на таков реактант или на поизразена интеракција со поголемата концентрација на злато. Други можни причини за овие ендотермни ефекти би можеле да бидат десорпција на посилено врзани адсорбирани соединенија или почеток на декомпозиција на органски остатоци.

Потоа, следи уште еден поширок егзотермен пик кај хибридите, кој се јавува на температури помеѓу 235 – 241 °C (235,94 °C за 0,5 % Au, 236,75 °C за 2 % Au, и 240,92 °C за 4 % Au). Овој пик е поместен на повисоки температури во споредба со главниот пик на разградување на чистиот rGO (~210 °C). Ова поместување може да укажува на тоа дека присуството на AuNPs ги стабилизира преостанатите кислородни групи или го менува механизмот на нивно разградување, барајќи повисока температура за нивна елиминација.

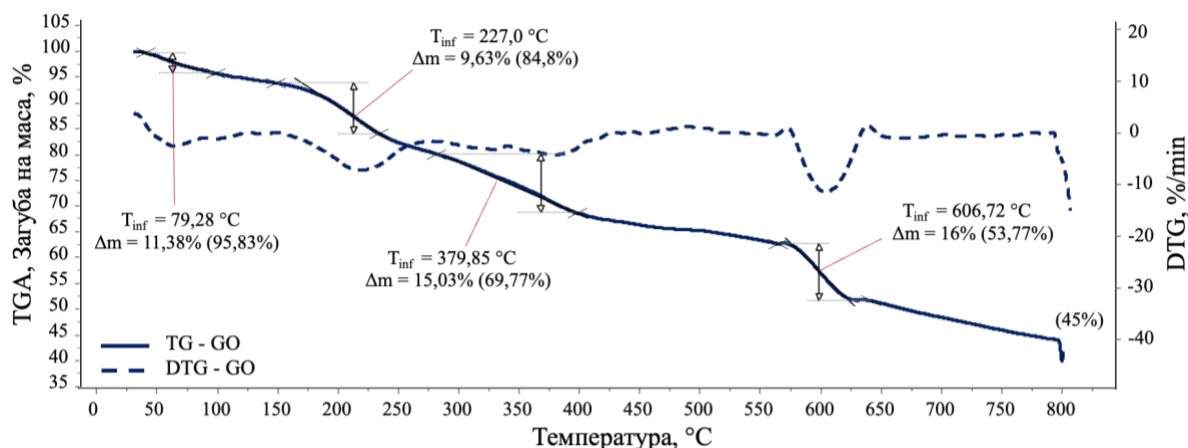
На највисоките температури, над ~600 – 650 °C, кај сите примероци (вклучувајќи ги и хибридите) се забележува нагорен тренд на DSC кривите (зголемена егзотермност), со означени максимуми на 706,57 °C (за rGO и rGO/2 % wt. Au), 657,07 °C и 733,76 °C (за rGO/4 % wt. Au). Овие егзотермни пикови на високи температури во инертна атмосфера најверојатно се поврзани со понатамошно бавно термичко разложување на многу стабилни јаглеродни структури или остатоци, структурни преуредувања во rGO со цел постигнување на поголема графитна подреденост (графитизација) или отстранување на дефекти.

6.1.5. Термогравиметрија/деривативна термогравиметрија (TG/DTG)

Термогравиметријата (TG/DTG) е спроведена со цел да се испита термичката стабилност и процесите на разградба на GO, rGO и синтетизираните rGO/AuNPs хибридни наноструктури. Мерењата се изведени во инертна атмосфера на азот, што овозможува следење на пиролизичките процеси без влијание на процесот на оксидација. Репрезентативните TG/DTG криви, заедно со деталите за загубата на маса во одредени температурни интервали, се прикажани на Сл. 40–41.

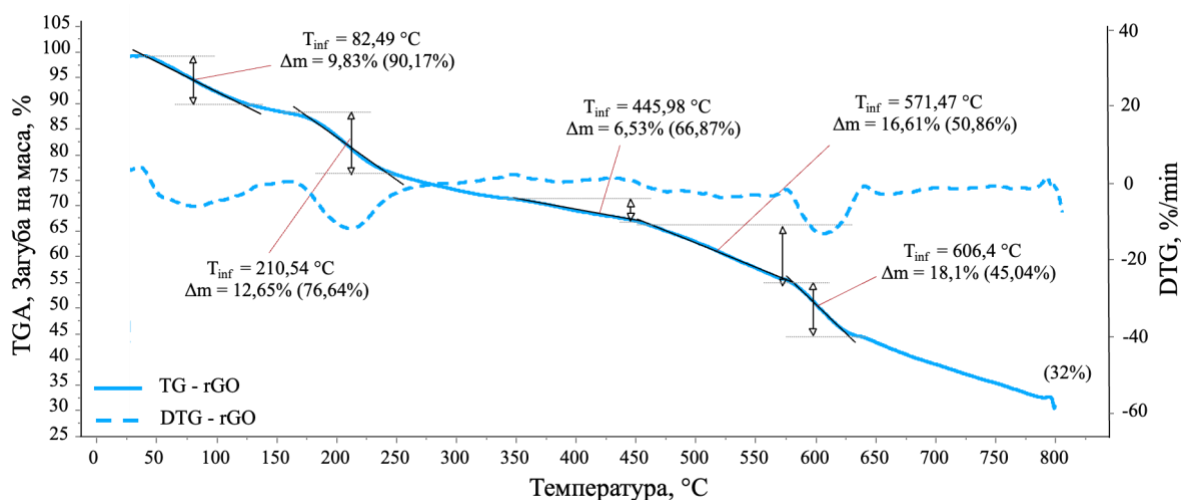
TG/DTG кривата на почетниот GO (Сл. 40) покажува неколку карактеристични чекори на загуба на маса. Првичната загуба на маса од 11,38 % (преостаната маса 88,62 %) е забележана до температура од околу 120 °C ($T_{\text{inf}} = 79,28$ °C), и се припишува на испарувањето на адсорбираната и интеркалираната вода [165,166,181,183]. Овој резултат е во согласност со широкиот ендотермен пад забележан во DSC кривата во истиот температурен опсег. Во температурниот опсег од ~150 °C до ~300 °C, се случува дополнителна загуба на маса од 9,63 % ($T_{\text{inf}} = 227,0$ °C). Ваквиот чекор е карактеристичен за термичкото разградување на нестабилните кислородни функционални групи (–OH, –O–, –COOH) со ослободување на CO, CO₂ и H₂O [176,166,181,183,184]. Загубата е во согласност со доминантниот егзотермен DSC пик на 212,91 °C ($\Delta H = -459,12$ J/g). На повисоки температури, до ~550 °C ($T_{\text{inf}} = 379,85$ °C), се губат уште 15,03 % од масата, што одговара на разградување на постабилни кислородни групи прикачени за јаглеродната верига (карбонилни (–C=O), етерски (R–O–R'), фенолни) и почеток на пиролиза на јаглеродниот скелет [186–188]. На температури над 550 °C ($T_{\text{inf}} = 606,72$ °C),

се забележува загуба од 16,00 % поради бавната пиролиза на преостанатата јаглеродна структура. Вкупниот остаток на маса за GO на 800 °C изнесува околу 45 %.



Слика 40. TG/DTG крива на GO

TG/DTG кривата на rGO (Сл. 41) покажува почетна загуба на маса од 9,83 % до ~130 °C ($T_{inf} = 82,49$ °C), која исто како и кај GO се препишува на отстанувањето на физички врзаната вода во јаглеродната структура. Главниот чекор на разградување на кислородните групи се случува при $T_{inf} = 219,54$ °C ($\Delta m = 12,63$ %), што се совпаѓа со изразениот егзотермен DSC пик на 210,16 °C ($\Delta H = -1259,66$ J/g). Понатамошните чекори на разградба на повисоки температури (T_{inf} на 445,98 °C, 571,47 °C и 606,4 °C, со загуби на маса од 6,33 %, 16,61 % и 18,10 %, соодветно) соодветствуваат со широките егзотермни DSC пикови на 497,24 °C ($\Delta H = -1875,17$ J/g) и 706,57 °C ($\Delta H = -781,53$ J/g), каде што се случува разградување на постабилни остатоци и структурно преуредување. Вкупниот остаток на маса на 800 °C изнесува ~32 %. Овој релативно низок остаток сугерира дека почетениот rGO примерок можеби има помала вкупна термичка стабилност или различна јаглеродна структура во споредба со анализираниот GO. Литературните податоци укажуваат дека rGO треба да покажува поголема термичка стабилност од GO, со почеток на значително распаѓање на јаглеродниот скелет на температури над 600 °C [181]. Несовпаѓањето на добиените резултати за rGO со овој тренд дополнително ја поддржува констатацијата за неговата нецелосна редукција и хетерогеност.



Слика 41. TG/DTG крива на rGO

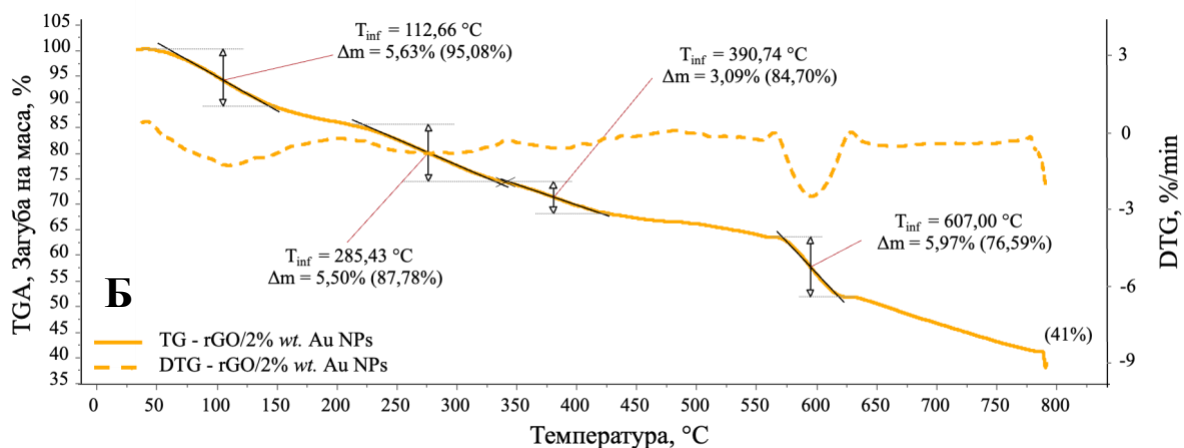
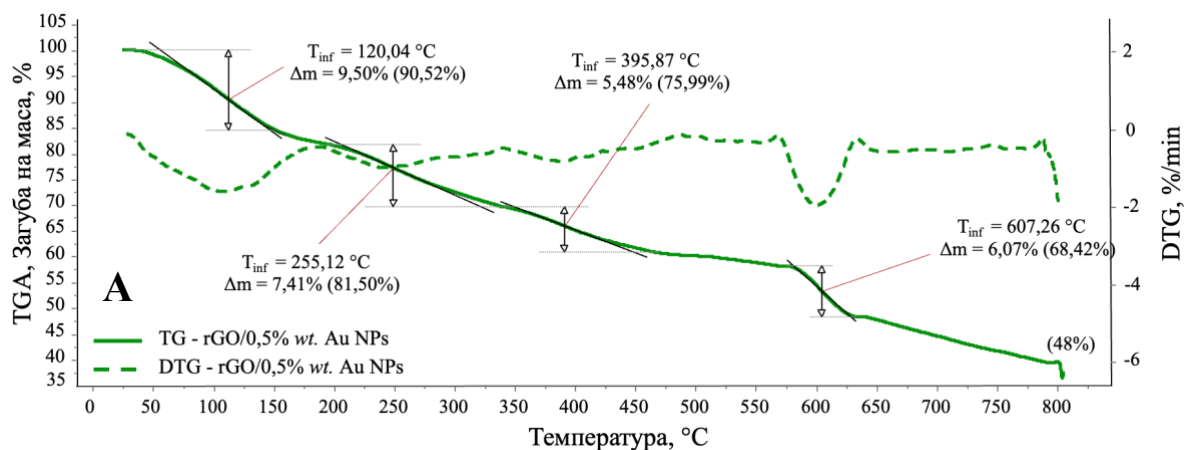
TG/DTG кривите на хибридните rGO/AuNPs материјали (Сл. 42 А, Б, В) покажуваат јасно влијание од процесот на декорација и понатамошната *in situ* редукција. Општо земено, се забележува дека rGO/AuNPs хибридните покажуваат поголема

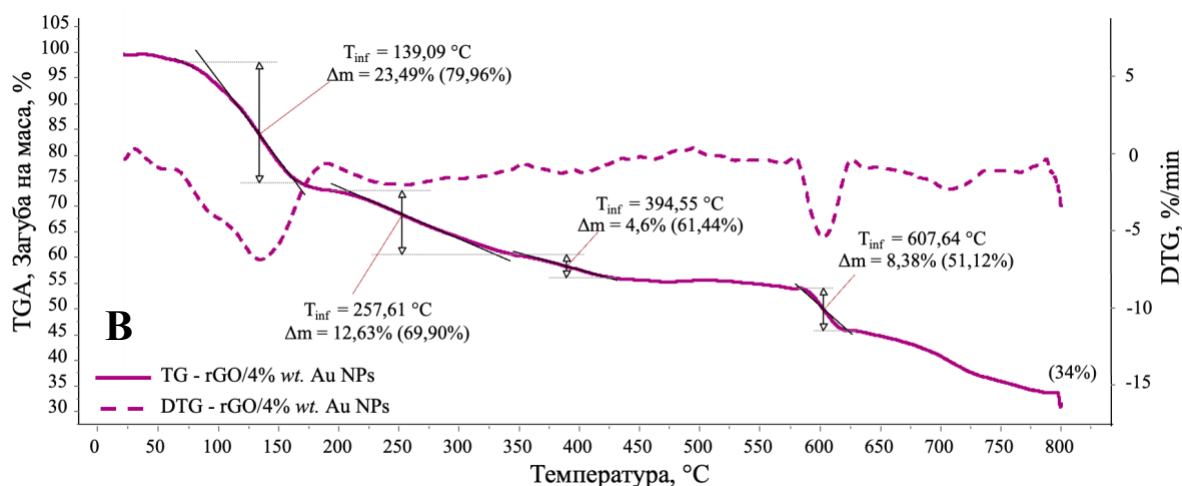
термичка стабилност во споредба со почетниот rGO, што е во согласност со литературните податоци кои сугерираат дека присуството на AuNPs може да ја зголеми термичката стабилност на rGO [166,177,183].

Кај rGO/0,5 % wt. AuNPs (Сл. 42 А), почетната загуба на маса од 9,50% до ~140 °C ($T_{inf} = 120,04$ °C) најверојатно вклучува десорпција на вода и делумно разградување на остатоците од NaBH₄. Потоа следи разградувањето на кислородните групи кое се случува на $T_{inf} = 255,12$ °C ($\Delta m = 7,41$ %). Оваа загуба на маса е помала од онаа кај почетниот rGO во сличниот температурен опсег, што укажува на поефикасна редукција, како што е забележано и во други истражувања за rGO-Au хибриди каде загубата на маса во овој регион се намалува по редукцијата [176,184]. Вкупниот остаток на маса на 800 °C за овој примерок изнесува околу 48 %.

За примерокот rGO/2 % wt. AuNPs (Сл. 42 Б), почетната загуба на маса од 5,63 % до ~130 °C ($T_{inf} = 112,66$ °C) е помала. Разложувањето на преостанатите кислородни групи се случува на $T_{inf} = 285,43$ °C ($\Delta m = 5,50$ %). Вкупниот остаток на маса на 750 °C е околу 40 %.

Кај rGO/4 % wt. AuNPs (Сл. 42 В), се забележува најголема почетна загуба на маса од 23,49 % до ~150 °C ($T_{inf} = 139,09$ °C), најверојатно поради разложување на поголема количина на остатоци од NaBH₄. Разложувањето на преостанатите кислородни групи се случува со $T_{inf} = 257,61$ °C ($\Delta m = 12,63$ %). Вкупниот остаток на маса за овој примерок на 800 °C е околу 34 %.





Слика 42. TG/DTG криви на: А – rGO/0,5 % wt. AuNPs, Б – rGO/2 % wt. AuNPs и В – rGO/4 % wt. AuNPs

На повисоки температури, над приближно 550 – 600 $^\circ\text{C}$, сите хибриди, како и rGO, покажуваат понатамошна загуба на маса која се припишува на пиролизата на јаглеродниот скелет [176,184]. Вкупниот остаток на маса кај хибридите на 800 $^\circ\text{C}$ е составен од преостанатиот јаглерод и термички стабилното метално злато, бидејќи температурата на топење на златото (1064 $^\circ\text{C}$) е значително повисока од максималната температура на анализата [189]. Споредбата на остатоците (48 % за 0,5 % Au, ~40 – 45 % за 2 % Au, 34 % за 4 % Au) со rGO (32 %) сугерира дека инкорпорирањето на AuNPs, заедно со поефикасната редукција, генерално ја подобрува термичката стабилност на материјалот во однос на задржување на маса на високи температури, иако ова е комплексно и зависи и од други фактори како што е количината на остатоци од NaBH₄. Интересно е што некои студии сугерираат дека температурата на која се случува значајна загуба на маса може да биде поврзана со степенот на кристалноста на јаглеродниот материјал, при што повисоко кристалниот јаглерод се разградува на повисоки температури (над 600 $^\circ\text{C}$) [190]. Иако во нашиот случај AuNPs не покажуваат значаен каталитички ефект врз температурата на оксидација/пиролиза на јаглеродниот скелет (не се забележува намалување на оваа температура со зголемување на процентот на злато, како што би се очекувало при катализа [190]), нивното присуство јасно влијае на целокупниот профил на разложување.

6.2. Електрохемиска карактеризација на електродни системи за детекција на доксорубицин

Целта на електрохемиската карактеризација е да се процени ефикасноста на развиените електродни системи за детекција и следење на доксорубицин (DOX), како и да се оптимизираат аналитичките услови за негово определување. Како електрохемиска техника е користена цикличната волтамметрија, која овозможува детално проучување на редокс-процесите што се одвиваат на површината на електродите.

Во рамките на ова поглавје, анализирани се четири групи на модифицирани електроди: со композитно мастило (КМ), со нанесен полимер (ПМ), со електрополимеризиран полимер (ЕП) и озрачени со бета-честички (ОЕ). Секоја група е систематски евалуирана со цел да се утврдат клучните аналитички перформанси, како што се редокс-потенцијалите, електроаналитичките параметри, линеарниот опсег на одговор, чувствителноста кон DOX и границите на детекција и квантификација.

Сите електрохемиски мерења се изведени во фосфатен пуферски раствор (0,1 mol/L, pH 6,7) на собна температура. Деталните инструментални параметри за цикличната волтамметрија (потенцијален опсег, брзина на скенирање) се веќе опишани во поглавје 5.3.3. Квалитативната анализа на сите електроди е извршена во раствор на DOX со концентрација од 0,0024 mg/mL. Квантитативната анализа пак, е спроведена во раствори со концентрациски опсег од 1,5 до 22,1 $\mu\text{mol/L}$. Резултатите од оваа компаративна анализа служат како основа за селекција на најперспективните електродни системи, кои потоа се подложени на детална валидација.

6.2.1. Електрохемиска карактеризација на електроди модифицирани со композитно мастило (КМ)

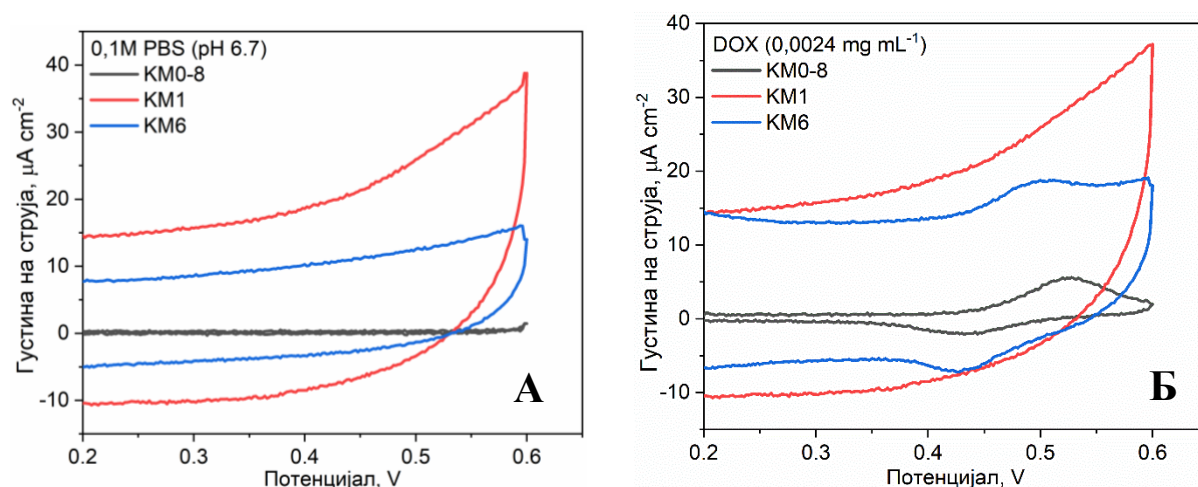
Во ова поглавје е презентирана анализата на првата група на модифицирани системи, базирани на нанокompозитно мастило (КМ). Анализата има двојна цел: прво, да се испита влијанието на основниот материјал на електродата, и второ, да се идентификува оптималниот состав на самото мастило. За таа цел, нанокompозитното мастило е нанесено на три различни типови на комерцијално достапни електроди: јаглеродни (Carbon), златни (Au) и платински (Pt).

Првичните тестирања се спроведени за да се оцени одговорот на сите три типови електроди (Carbon, Au, Pt) по модификацијата со КМ мастилото. Резултатите покажуваат дека и Carbon и Au електродите даваат јасно дефинирани и репродуцибилни редокс пикови за DOX. Спротивно на тоа, Pt електроди покажуваат целосно отсуство на аналитички сигнал и кај комерцијалната и кај модифицираната електрода. Ова укажува на несоодветност на овој материјал за детекција на DOX под дадените експериментални услови (pH, потенцијален опсег). Поради ова, Pt електродите се исклучени од понатамошната детална анализа. Следствено, ова поглавје се фокусира на деталната споредбена анализа на перформансите на јаглеродните и златните електроди модифицирани со композитното мастило, со цел да се избере најдобриот систем за финална валидација.

6.2.1.1. Споредбена анализа на КМ јаглеродни електроди со циклична волтамметрија

Првата анализирана група се јаглеродните електроди модифицирани со композитно мастило (КМ). Во рамките на оваа група се подготвени и иницијално евалуирани повеќе варијации на композитното мастило (прикажани во Табела 10) со цел да се идентификува влијанието на клучните компоненти. За да се илустрира ова, на Сл. 43 е прикажан споредбен електрохемиски одговор на најрепрезентативните јаглеродни системи: немодифицираната електрода (КМ0-8) и две модифицирани електроди – една подготвена со додавање на активен јаглен во мастилото (КМ6) и една без додаток на

активен јаглен (KM1). Испитувањата се изведени во чист пуферски раствор (0,1M PBS) и во раствор кој содржи 0,0024 mg/mL DOX.



Слика 43. Споредбени циклични волтаммограми за јаглеродни електроди: немодифицирана (KM0-8), модифицирана со мастило без активен јаглен (KM1) и со мастило со активен јаглен (KM6). Снимени во: А – 0,1 mol/L фосфатен пуфер (pH 6,7) и Б – пуфер со додаток на 0,0024 mg/mL DOX.

На волтаммограмите снимени во чист фосфатен пуферски раствор (Сл. 43А), очекувано, не се забележуваат редокс пикови, што потврдува дека самиот електролит т.е. пуферскиот раствор не е електроактивен во дадениот потенцијален опсег. Ова обезбедува стабилна почетна струја за мерење и овозможува јасна дистинкција помеѓу позадинскиот одговор и било кој електрохемиски сигнал што би се појавил по додавањето на анализот. Дополнително, со ова се потврдува дека електродите покажуваат минимална позадинска струја, што е предуслов за точни мерења.

Ситуацијата значително се менува по додавањето на DOX во електрохемиската ќелија (Сл. 43Б). За да се направи квантитативна споредба на перформансите, клучните електрохемиски параметри (аноден и катоден потенцијал, потенцијал на раздвојување на аноден и катоден пик, потенцијал на полупик, анодна и катодна струја, однос од интензитетите на анодната и катодната струја, како и анодна и катодна густина на струја) од волтаммограмите се сумирани и споредени во Табела 18.

Табела 18. Споредбени електрохемиски параметри за KM0-8 и KM6 јаглеродна електрода

Електрода	$E_{p,a}$ / mV	$E_{p,c}$ / mV	ΔE_p	$E_{1/2}$	$I_{p,a}$ / μA	$I_{p,c}$ / μA	$I_{p,a}/I_{p,c}$	$j_{p,a}$ / $\mu A/cm^2$	$j_{p,c}$ / $\mu A/cm^2$
KM0-8	524	441	83	482,5	0,714	-0,2518	2,835	5,683	-2,003
KM6	508	429	79	468,5	2,376	-0,901	2,637	18,912	-7,172

Немодифицираната KM0-8 електрода покажува слаб и недоволно дефиниран редокс одговор, што укажува на бавна кинетика на пренос на електрони. KM1 електродата модифицирана со мастило без активен јаглен не покажува никаков одговор кон DOX. Нејзиниот волтаммограм е речиси идентичен со оној во чист пуфер. Ова сугерира дека формулацијата на мастилото без активен јаглен создава неспроводлив, пасивизирачки слој кој ги блокира активните места на површината и го спречува пристапот на анализот до електродата, со што целосно го инхибира електрохемискиот процес. Поради ова, оваа електрода понатаму не е анализирана. Спротивно на тоа, на волтаммограмот на KM6 електродата модифицирана со активен јаглен, се регистрираат два јасно дефинирани струјни пика. Модифицираните електроди (KM1 и KM6) покажуваат повисока густина на струја во споредба со KM0-8, што посочува на промена на карактеристиките на површината по нанесувањето на мастилото.

Анализата на податоците од табелата овозможува разбирање на процесите кои се одвиваат на површината на електродите. Најочигледната разлика лежи во интензитетот

на струјниот одговор. Густината на струјата на анодниот пик ($j_{p,a}$) кај КМ6 електродата ($18,912 \mu\text{A}/\text{cm}^2$) е за 3,3 пати поголема од онаа кај КМ0-8 електрода ($5,683 \mu\text{A}/\text{cm}^2$). Ваквото значително засилување на сигналот директно се поврзува со подобрена чувствителност на сензорот, што е последица на промените на површината индуцирани од модификацијата. Овие промени најверојатно вклучуваат зголемување на ефективната електроактивна површина и создавање на нови активни места кои ја фаворизираат адсорпцијата и реакцијата на DOX.

Понатаму, разликата во потенцијалите на пиковите (ΔE_p), која е во директна корелација со брзината на пренос на електрони, дава преглед на кинетиката на процесот. Кај КМ6 електродата, оваа вредност изнесува 79 mV , што е пониско во споредба со немодифицираната електрода (83 mV). Иако во двата случаи вредноста е поголема од теоретската за целосно реверзибилен процес ($57/n \text{ mV}$), помалата разлика кај КМ6 јасно укажува на побрза кинетика на пренос на електрони.

За да се оцени реверзибилноста на редокс процесот, потребно е резултатите да се споредат со критериумите за идеален реверзибилен систем, дискутирани во поглавје 5.3.3. За идеален процес кој вклучува размена на n електрони, разликата во ΔE_p треба да изнесува приближно $57/n \text{ mV}$, додека односот на анодната и катодната струја ($I_{p,a}/I_{p,c}$) треба да биде еднаков на 1. Иако комплексната електрохемија на DOX ретко ги достигнува овие идеални вредности, тие служат како одличен критериум за споредба на релативните перформанси и кинетичката повољност на различните електродни системи.

Кај двете електроди, вредностите за ΔE_p (83 mV за КМ0-8 и 79 mV за КМ6) се повисоки од теоретската вредност ($\sim 28,5 \text{ mV}$ за процес со $n = 2$), додека односот на струите отстапува од 1. Ова јасно покажува дека процесот не е идеално реверзибилен, туку спаѓа во категоријата на квази-реверзибилни процеси. Сепак, значителното намалување на ΔE_p кај КМ6 електродата, заедно со приближувањето на односот на струите кон единица, потврдува дека модификацијата води кон кинетички поповолен и поефикасен квази-реверзибилен трансфер на електрони.

Ова е дополнително потврдено и со поместувањето на оксидациониот потенцијал ($E_{p,a}$) кон пониски вредности (508 mV наспроти 524 mV), што сугерира каталитички ефект на модифицираната површина, која ја намалува енергетската бариера за оксидација на DOX. Дополнителна потврда за ова е и поместувањето на потенцијалот на полупик ($E_{1/2}$) кон понегативни вредности, што посочува дека редокс процесот е термодинамички поповолен на КМ6 електродата.

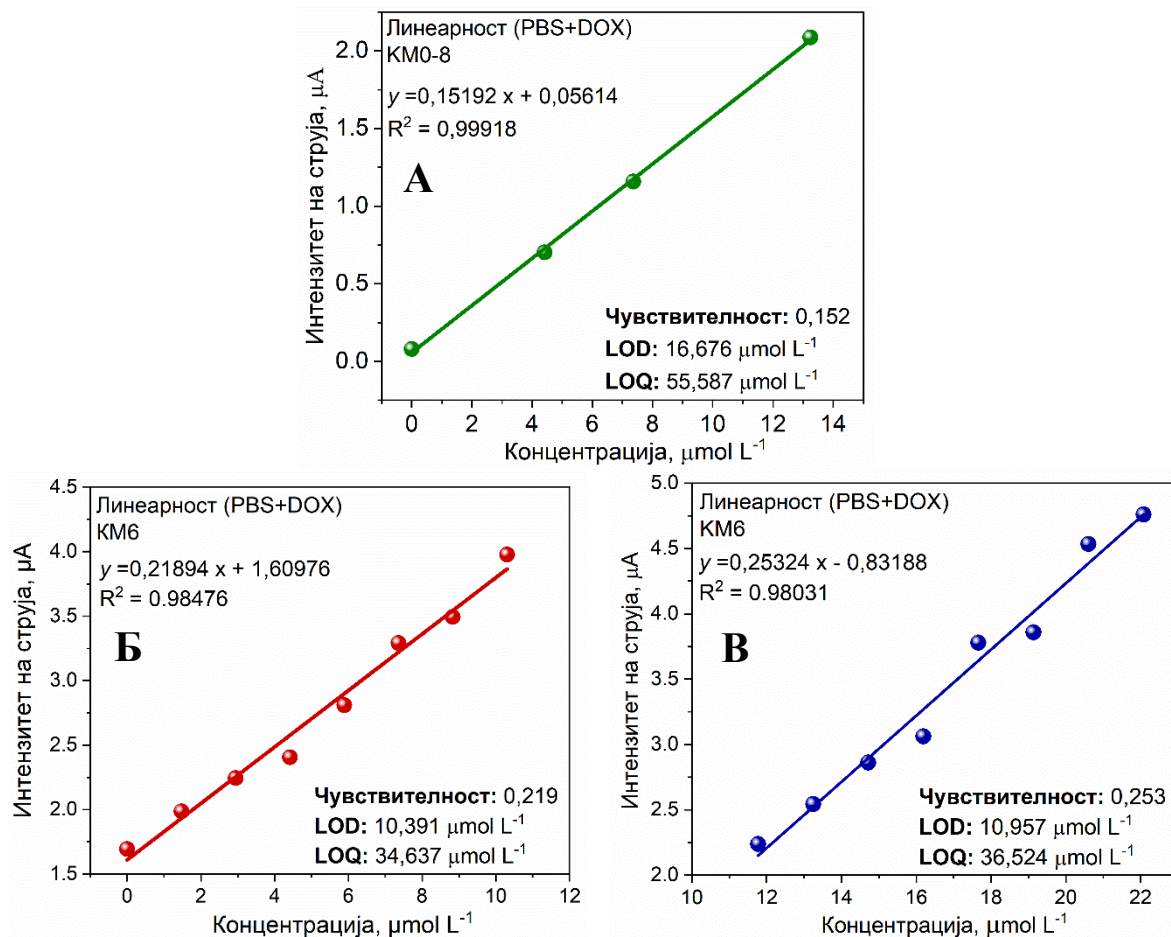
Односот на струјните пикови ($I_{p,a}/I_{p,c}$), кој за идеално реверзибилен процес треба да биде 1, овде изнесува 2,835 за КМ0-8 и 2,637 за КМ6. Овие вредности потврдуваат дека процесот е квази-реверзибилен. Сепак, фактот што овој однос е поблизок до единица кај КМ6 е уште еден показател за подобреното електрохемиско однесување, односно дека повратната реакција (редукцијата) е поизразена на модифицираната површина.

Сите анализирани параметри укажуваат дека КМ6 електродата, која содржи активен јаглен, покажува значително подобри електрохемиски карактеристики, кои се однесуваат на зголемена чувствителност, побрза кинетика и поповолна термодинамика на процесот. Врз основа на ова, електродата КМ6 е избрана како оптимален јаглероден систем за понатамошна детална карактеризација.

6.2.1.1.1. Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на јаглеродна КМ електрода

По иницијалната селекција на КМ6 како оптимална јаглеродна електрода, спроведена е детална квантитативна анализа со цел да се утврдат и споредат аналитичките карактеристики на модифицираната и немодифицираната електрода. Анализата

е направена преку конструкција на калибрациони криви, кои се добиени со нанесување на интензитетот на струјата на анодниот пик ($I_{p,a}$) во функција на соодветната концентрација на DOX за секоја од електродите. Резултатите од оваа анализа, вклучувајќи ги равенките на права, коефициентот на определување (R^2) и пресметаните аналитички параметри, се прикажани на Сл. 44.



Слика 44. Калибрациони криви за определување на DOX со помош на: **А** – KM0-8 и KM6 при **Б** – низок и **В** – висок линеарен концентрациски опсег

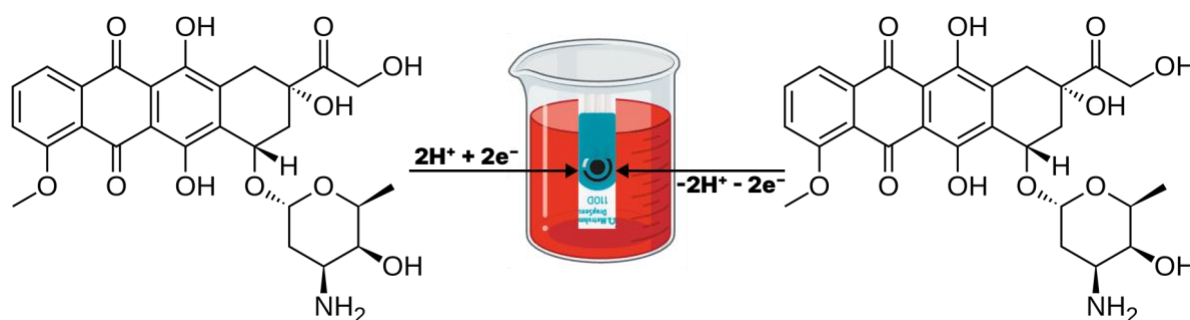
Анализата на калибрационата крива за KM0-8 електродата покажува одлична линеарност која се карактеризира со $R^2 = 0,9992$ во испитуваниот опсег, но со ограничени својства, вклучувајќи чувствителност од $0,152 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$ и граница на детекција од $16,676 \mu\text{mol L}^{-1}$.

При испитување на одговорот на KM6 електродата низ широк спектар на концентрации, воочено е дека зависноста на струјата од концентрацијата не следи една единствена линеарна функција. Затоа, со цел да се добие попрецизен модел на одговорот, целокупниот опсег е намерно поделен на два одвоени, но последователни концентрациски региони, за кои се конструирани посебни калибрациони криви. Првиот линеарен опсег кој опфаќа концентрации од $0,5 - 10,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, е аналитички најрелевантниот опсег за ниски концентрации. Сензорот покажува добра линеарност ($R^2 = 0,9848$) со чувствителност од $0,219 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$. Во овој опсег е постигната граница на детекција од $10,391 \mu\text{mol L}^{-1}$. Вториот линеарен опсег опфаќа концентрации од $11,8 - 21,2 \mu\text{mol L}^{-1}$. При повисоки концентрации, одговорот на модифицираната електрода е и понатаму е линеарен ($R^2 = 0,9803$), а чувствителноста е дури и повисока, достигнувајќи $0,253 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$.

Податоците ја докажуваат супериорноста на КМ6 електродата. Чувствителноста во првиот, аналитички најрелевантен опсег, е 1,44 пати поголема од онаа на немодифицираната електрода. Уште поважно, LOD е значително подобрена, намалувајќи се од $16,676 \mu\text{mol L}^{-1}$ на $10,391 \mu\text{mol L}^{-1}$. Ова подобрување од околу 38 % е од клучно значење за практичната примена на сензорот, овозможувајќи детекција на пониски концентрации на аналитот. Фактот што одговорот на сензорот може прецизно да се моделира со две линеарни равенки во различни концентрациски региони го проширува неговиот вкупен динамички опсег, правејќи го употреблив за поширок спектар на концентрации.

6.2.1.1.2. Механизам на електрохемиска реакција

Пред да се премине на детална кинетичка анализа, клучно е да се дефинира фундаменталната електрохемиска реакција која е основа за детекција на DOX. Електрохемискиот одговор на DOX се базира на реверзибилната оксидо-редукција на неговата хидрохинонска група, како што е илустрирано на Сл. 45.



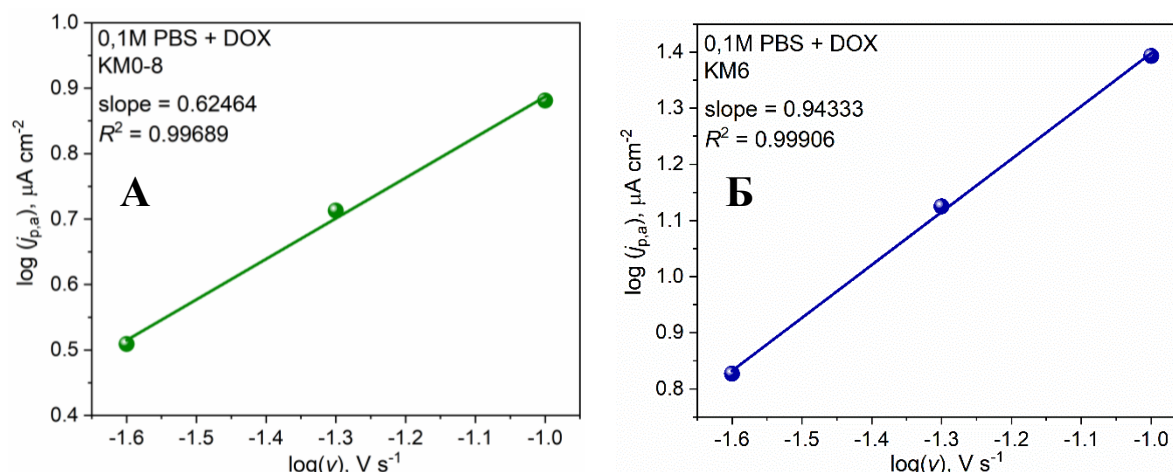
Слика 45. Шема на електрохемиската редокс реакција на DOX, која вклучува трансфер на два електрони (2e^-) и два протони (2H^+)

Како што е прикажано, анодниот пик кој се забележува на волтаммограмите одговара на оксидацијата на хидроксилените групи во хидрохинонскиот прстен до хинонска структура. Спротивно, катодниот пик ја претставува реверзибилната редукција назад во хидрохинонска форма. Овој процес вклучува вкупна размена на два електрони и два протони, што е во согласност со податоците од литературата [192,193]. Оваа вредност за бројот на разменети електрони ($n = 2$) ќе се користи во понатамошните пресметки на кинетичките параметри.

6.2.1.1.3. Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција

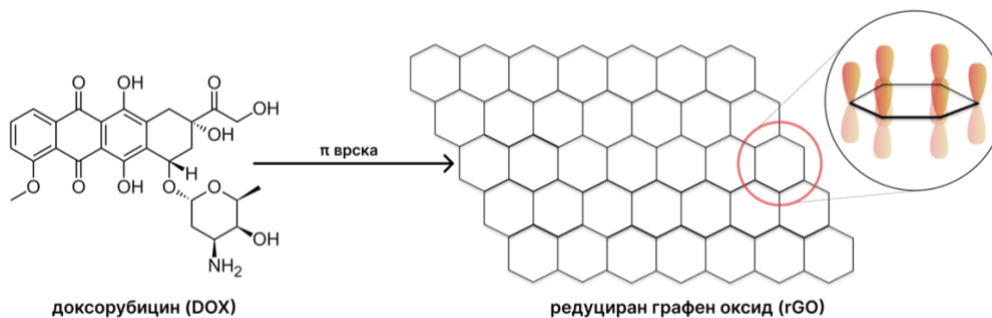
За да се определи доминантниот механизам кој ја контролира брзината на електрохемиската реакција на DOX, дали е тоа дифузија на аналитот до површината или атсорпција на самата површина, испитуван е одговорот на КМ0-8 и КМ6 електродите при различни брзини на скенирање (ν) од 25, 50 и 100 mV/s. Врз основа на овие мерења, конструирани се графички зависности помеѓу логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот ν ($\log(\nu)$), прикажани на Сл. 46. Наклонот на оваа линеарна зависност е клучен параметар за определување на механизмот.

Од графикот за КМ0-8 (Сл. 46 А), добиен е наклон од 0,6246. Бидејќи оваа вредност се наоѓа помеѓу теоретските вредности од 0,5 (за дифузионо-контролирани процеси) и 1,0 (за атсорпционо-контролирани процеси), може да се заклучи дека реакцијата на оваа површина е под мешана дифузионо-атсорпциона контрола.



Слика 46. Зависност на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$) за: А – KM0-8 и Б – KM6 електрода

Анализата на KM6 (Сл. 46 Б) дава поинаква слика. Добиениот наклон изнесува 0,9433, вредност која е многу блиску до теоретската вредност од 1,0. Ова претставува силен доказ дека по модификацијата, механизмот на реакција е променет и процесот станува доминантно контролиран од процесот на адсорпција. Промената во механизмот од мешана контрола кон доминантно адсорпциона е директна последица на уникатниот состав на наноконтролното мастило. Клучната интеракција која ја овозможува оваа ефикасна адсорпција се $\pi - \pi$ врските (англ. „stacking”) помеѓу ароматичните прстени на DOX и проширената sp^2 хибридизирана површина на rGO, прикажано на Сл. 47.



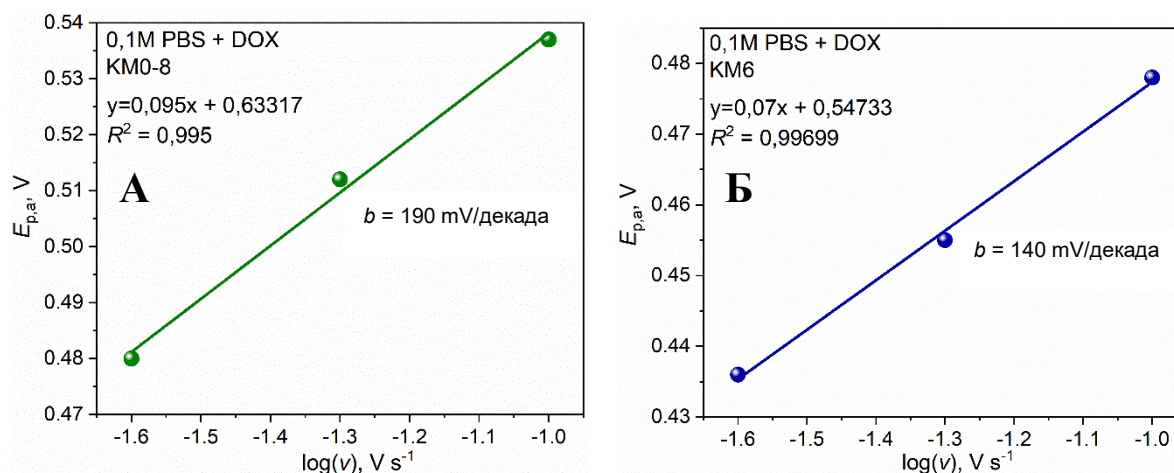
Слика 47. Шема на $\pi - \pi$ интеракција помеѓу DOX и rGO

Структурата на DOX овозможува тој да се „нареди” паралелно со графенските слоеви, формирајќи стабилни, нековалентни врски. Овој процес на пред-концентрација е главната причина зошто процесот станува контролиран од адсорпција; анализот е веќе присутен во големи количини на површината, елиминирајќи ја потребата да дифундира од растворот. Механизмот е дополнително засилен и од другите компоненти во наноконтролното мастило. Активниот јаглен исто како и rGO, обезбедува огромна површина за адсорпција, која делува како „сунѓер” кој физички ги адсорбира и заробува молекулите на DOX на површината на електродата. Златните наночестички имаат двојна улога. Прво, тие се извонредни катализатори кои го олеснуваат преносот на електрони, што е во согласност со претходно утврдениот помал ΔE_p . Второ, имаат висок афинитет кон амино групите во DOX, делувајќи како активни места кои дополнително ја подобруваат адсорпцијата и ориентацијата на молекулите. Полимерната матрица од Нафион, со своите негативно наелектризирани групи, електростатски го привлекува позитивно наелектризираните DOX при pH 6,7. Комбинацијата на овие ефекти, со доминантна улога на $\pi - \pi$ интеракциите, ја трансформира електродата во високо ефикасна платформа за детекција на анализот, што целосно ги објаснува супериорните резултати добиени со KM6 електродата.

6.2.1.1.4. Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина

За понатамошно, детално истражување на кинетиката на пренос на електрони, применета е Тафеловата анализа за определување на Тафеловиот наклон и коефициентот на пренос на полнеж, како и методот на Николсон за пресметка на хетерогената константа на брзината.

Најпрво, конструирани се дијаграми на зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$), прикажани на Сл. 48. Од наклоните на линеарните регресији т.е. равенките на права на овие дијаграми, пресметани се вредностите за Тафеловиот наклон (b). За КМ0-8 електродата (Сл. 48 А), Тафеловиот наклон изнесува 190 mV/декада, додека пак за КМ6 (Сл. 48 Б), истиот има вредност од 140 mV/декада.



Слика 48. Тафелови дијаграми за: А – КМ0-8 и Б – КМ6, кои ја покажуваат зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$)

За електрохемиската оксидација на DOX, познато е дека се работи за процес во кој се разменуваат два електрони и два протони ($n = 2$). Користејќи ја оваа вредност и Равенка 16 од експерименталниот дел, пресметан е коефициентот на пренос на полнеж (α) за двата система. Дополнително, користејќи ги вредностите за ΔE_p од Табела 18, пресметани се бездимензионалниот фактор (ψ) и хетерогената константа на брзина (k^0). Сите изведени кинетички параметри се сумирани во Табела 19.

Табела 19. Споредбени кинетички параметри за КМ0-8 и КМ6 електродите

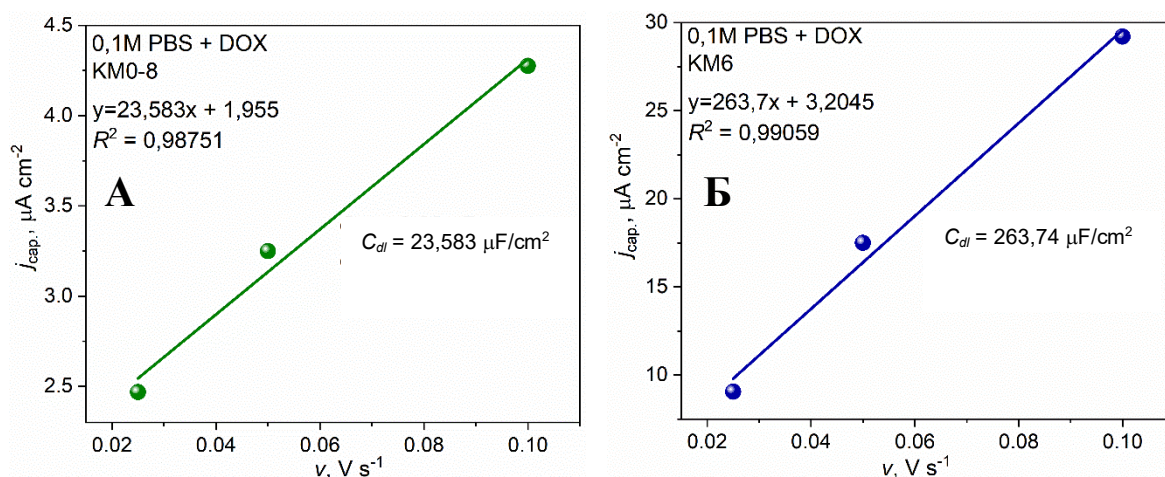
Електрода	Тафелов наклон, b / mV/декада	Коефициент на пренос на полнеж, α (при $n = 2$)	Бездимензионален параметар, ψ	Константа на брзина, k^0 / cm/s
КМ0-8	190	0,69	1,003	$2,08 \times 10^{-5}$
КМ6	140	0,58	1,240	$2,57 \times 10^{-5}$

Резултатите квантитативно ја потврдуваат супериорната кинетика на КМ6 електродата. Помалата вредност на Тафеловиот наклон и повисоката вредност на хетерогената константа на брзина кај КМ6 покажуваат дека процесот на пренос на електрони е кинетички многу поповолен и побрз на модифицираната површина отколку на немодифицирана. Ова не само што го потврдува претходниот заклучок донесен од анализата на ΔE_p , туку и квантитативно покажува дека кинетиката, иако не е моментална, е доволно брза за да овозможи ефикасна електрохемиска реакција. Дополнително, вредноста на α за КМ6 (0,58) е значително поблиску до идеалната вредност од 0,5 во споредба со онаа за КМ0-8 (0,69), што сугерира дека модифицираната површина овозможува посиметрична и помалку напрегната енергетска бариера за одвивање на реакцијата. Според ова, може да се заклучи дека нанокмпозитниот слој активно ја намалува активационата енергија за оксидација на DOX. Златните наночестички

делуваат како ефикасни каталитички центри, додека високата спроводливост на графенската матрица обезбедува брз транспорт на електроните, што заедно резултира со одлични кинетички перформанси.

6.2.1.1.5. Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој

За да се квантифицира влијанието на модификацијата врз реалната површина на електродите, определен е капацитетот на електрохемискиот двоен слој (C_{dl}), кој служи како директен показател за електрохемиски активната површина (EASA). Вредноста на C_{dl} е одредена од наклонот на линеарната зависност помеѓу капацитивната густина на струја (j_{cap}) и брзината на скенирање (ν). На Сл. 49 се прикажани соодветните графички зависимости за КМ0-8 и КМ6 електродата.



Слика 49. Зависност на капацитивната густина на струја (j_{cap}) од брзината на скенирање (ν): А – КМ0-8 и Б – КМ6

Наклонот на правите е еднаков на C_{dl} , кој за КМ0-8 електродата (Сл. 49 А) изнесува $23,58 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, додека пак за КМ6 електродата (Сл. 49 Б) има вредност од $263,74 \mu\text{F}/\text{cm}^2$. Овие резултати значително ја потенцираат важноста на модификацијата. Вредноста за КМ0-8 ($23,58 \mu\text{F}/\text{cm}^2$) е во очекуваниот опсег за стандардни јаглеродни материјали (околу $20 - 40 \mu\text{F}/\text{cm}^2$), меѓутоа, вредноста за КМ6 електрода е драстично поголема и изнесува $263,74 \mu\text{F}/\text{cm}^2$.

Врз основа на овие вредности, пресметани се и факторот на рапавост (RF) и EASA, користејќи референтна вредност за специфичниот капацитет на рамна јаглеродна површина од $C_s^* = 25 \mu\text{F}/\text{cm}^2$. Сите резултати се сумирани во Табела 20.

Табела 20. Споредбени параметри на површината за КМ0-8 и КМ6

Параметар	КМ0-8	КМ6	Фактор на подобрување
$C_{dl} / \mu\text{F}/\text{cm}^2$	23,58	263,74	
Фактор на рапавост (RF)	0,94	10,55	11,2
EASA / cm^2	0,119	1,33	

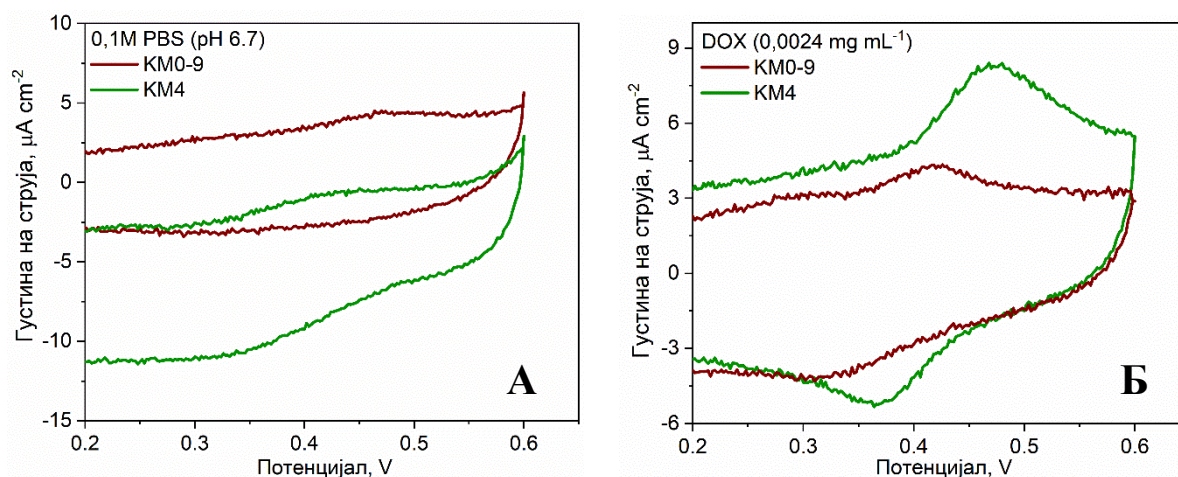
Добиените резултати даваат квантитативен увид во ефектот на модификацијата. КМ6 електродата поседува електрохемиски активна површина од $1,33 \text{ cm}^2$, што е за повеќе од 11 пати поголема од онаа на немодифицираната електрода ($0,119 \text{ cm}^2$). Покрај ова, резултатите ги поврзуваат и објаснуваат сите претходно добиени резултати. Од аспект на зголемената чувствителност, огромното зголемување на активната површина обезбедува многу повеќе активни места за реакција, што директно резултира со значително повисоки струи на пиковите и, следствено, со поголема чувствителност на сензорот. Од аспект на механизмот на реакција, токму оваа голема површина, обезбедена

од взаемното дејство на редуцираниот графен оксид и активниот јаглен, е причината за неговата промена од дифузија во адсорпција. Површината има толку голем капацитет за адсорпција што чекорот на дифузија станува ирелевантен, а процесот станува доминантно контролиран од адсорпција. Дополнително, поголемата површина обезбедува подобра дисперзија на каталитичките златни наночестички, со што се зголемува бројот на активни центри кои го олеснуваат преносот на електрони, што беше потврдено со помалата вредност на Тафеловиот наклон.

Капацитетот на двојниот слој служи како финален заклучок за супериорноста на КМ6 електродата чија модификација создава високоразвиена површина со супериорни адсорпциони и каталитички својства.

6.2.1.2. Споредбена анализа на КМ златни електроди со циклична волтамметрија

Врз основа на резултатите од јаглеродните системи, каде беше утврдена клучната улога на активниот јаглен, истражувањето продолжува со евалуација на влијанието на основниот материјал на електродата. За таа цел, оптималната формулација на нанокмозитното мастило (онаа која содржи активен јаглен) е применета и на златни електроди. Целта на ова испитување е да се утврди како златната подлога влијае на севкупните карактеристики. На Сл. 50 се прикажани споредбените волтаммограми на немодифицираната (КМ0-9) и модифицираната златна електрода (КМ4), снимени во пуферски раствор и раствор на DOX (0,0024 mg/mL).



Слика 50. Споредбени циклични волтаммограми за немодифицирана (КМ0-9) и модифицирана златна електрода (КМ4) снимени во А - 0,1 mol/L фосфатен пуфер (pH 6,7) и Б - истиот пуфер со додаток на 0,0024 mg/mL DOX

Во чистиот пуферски раствор (Сл. 50 А), со двете електроди, не се регистрираат струјни пикови. Волтаммограмите добиени во присуство на DOX (Сл. 50 Б) се карактеризираат со присуство на редокс пикови, кои сугерираат одвивање на реверзибилна реакција на површината на немодифицираната и модифицираната златна електрода. Немодифицираната КМ0-9 електрода покажува слаб одговор кон DOX. По нанесувањето на нанокмозитното мастило, модифицираната КМ4 златна електрода покажува значително подобрување, со појава на висок и јасно дефиниран аноден пик на потенцијал од околу 468 mV. Ова ја потврдува ефикасноста на модификацијата и на златната електрода. За да се направи детална квантитативна споредба, клучните електрохемиски параметри одредени од волтаммограмите се дадени во Табела 21.

Податоците од табелата го опишуваат ефектот на модификацијата. Густината на струјата на анодниот пик ($j_{p,a}$) кај КМ4 електродата (8,289 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$) е за 1,9 пати поголема од онаа кај КМ0-9 (4,363 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$), што квантитативно го потврдува зголемувањето на чувствителноста. Од аспект на кинетиката, разликата во ΔE_p е малку помала кај КМ4

(106 mV) во споредба со КМ0-9 (112 mV), што сугерира малку побрз пренос на електрони на модифицираната површина. И двете вредности за ΔE_p (112 mV и 106 mV) укажуваат на квази-реверзибилна кинетика. Сепак, клучно е да се забележи однесувањето на $I_{p,a}/I_{p,c}$. Кај немодифицираната КМ0-9 електрода, овој однос е речиси идеален (1,038), што укажува на ефикасен квази-реверзибилен процес. По модификацијата, кај КМ4 електродата, односот значително отстапува од идеалната вредност (1,586). Ова покажува дека, иако кинетиката е малку побрза (помал ΔE_p), целокупниот процес станува помалку реверзибилен, веројатно поради споредни реакции или побавна редукција на оксидираниот продукт на златната површина.

Табела 21. Споредбени електрохемиски параметри за КМ0-9 и КМ4 електрода

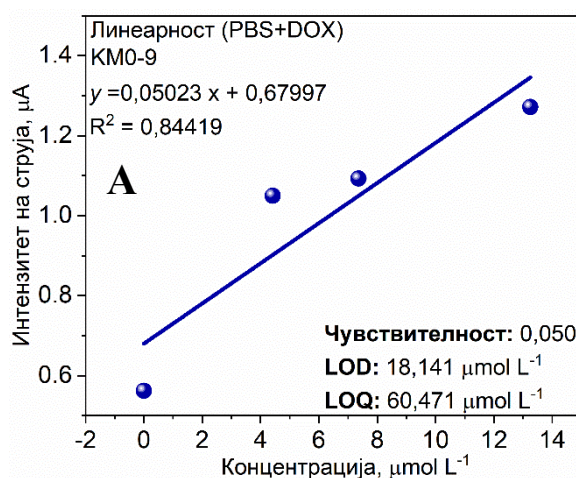
Електрода	$E_{p,a}$ / mV	$E_{p,c}$ / mV	ΔE_p	$E_{1/2}$	$I_{p,a}$ / μA	$I_{p,c}$ / μA	$I_{p,a}/I_{p,c}$	$j_{p,a}$ / $\mu A/cm^2$	$j_{p,c}$ / $\mu A/cm^2$
КМ0-9	425	313	112	369	0,548	-0,528	1,038	4,363	-4,198
КМ4	468	362	106	415	1,042	-0,657	1,586	8,289	-5,226

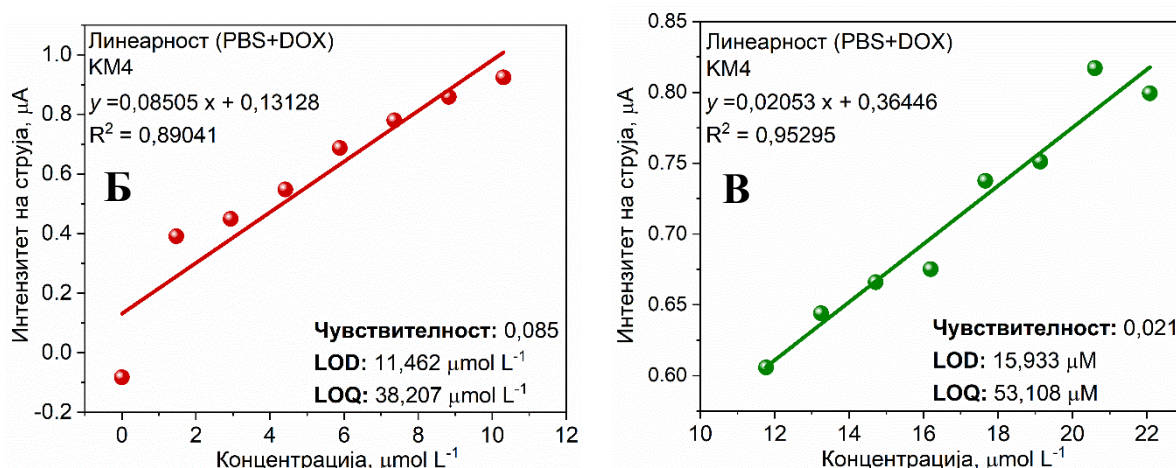
6.2.1.2.1. Квантитативна анализа и определување на аналитички перформанси на златна КМ електрода

За квантитативна евалуација на електрохемискиот одговор на златните електроди, конструирани се калибрациони криви со нанесување на интензитетот на струјата на анодниот пик ($I_{p,a}$) во функција на концентрацијата на DOX. Резултатите од оваа анализа, вклучувајќи ги равенките на линеарна регресија, коефициентите на определување (R^2) и пресметаните аналитички параметри, се прикажани на Сл. 51.

Анализата на КМ0-9 покажува слаби аналитички перформанси, со релативно ниска чувствителност од $0,050 \mu A/\mu mol L^{-1}$ и слаб коефициент на определување ($R^2 = 0,8442$), што укажува на значително отстапување од линеарноста. Кај КМ4 електродата, слично како и кај јаглеродната, може да се забележи дека одговорот може да се моделира со два одвоени линеарни опсега. Во првиот опсег, при пониски концентрации, се забележува подобрување на перформансите: чувствителноста се зголемува на $0,085 \mu A/\mu mol L^{-1}$, а границата на детекција се намалува на $11,462 \mu mol L^{-1}$. Во вториот опсег, при повисоки концентрации, чувствителноста опаѓа и има помала вредност и од немодифицираната електрода.

Ова покажува дека модификацијата нуди подобрување во регионот на ниски концентрации, каде што чувствителноста е поголема, а границата на детекција пониска. Сепак, комплексното однесување и значителното опаѓање на чувствителноста при повисоки концентрации ги ограничуваат нејзините аналитички перформанси, во споредба со јаглеродната електрода.

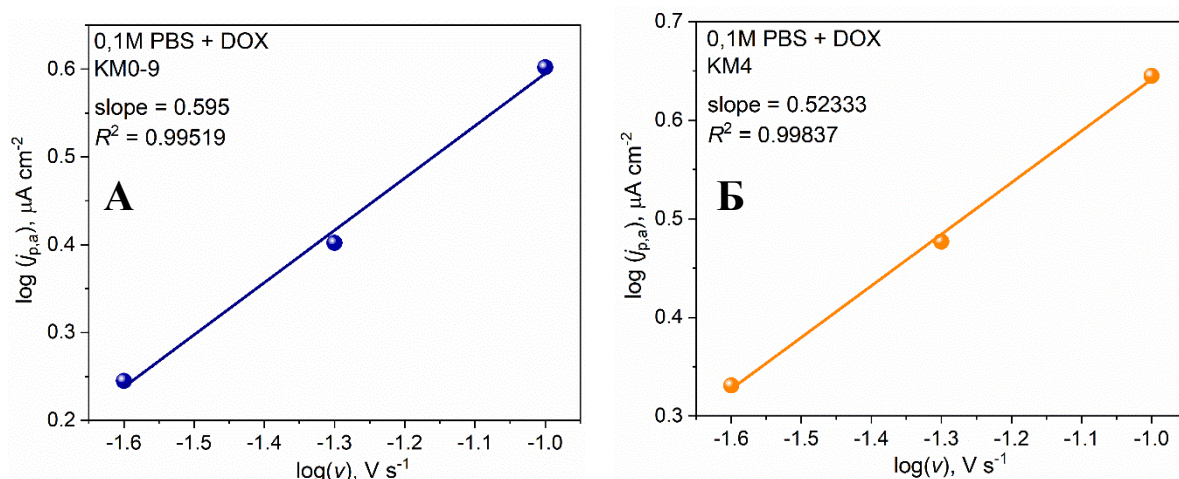




Слика 51. Калибрациони криви за определување на DOX со помош на: А – KM0-8 и KM6 при Б – низок и В – висок линеарен концентрациски опсег

6.2.1.2.2. Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција

Истиот пристап за определување на доминантниот механизам на реакција кај јаглеродните е применет и кај златните електроди. Врз основа на цикличните волтаммограми снимени при различни брзини на скенирање, конструирана е зависноста на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$), прикажана на Сл. 52.



Слика 52. Зависност на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$) за: А – KM0-9 и Б – KM4

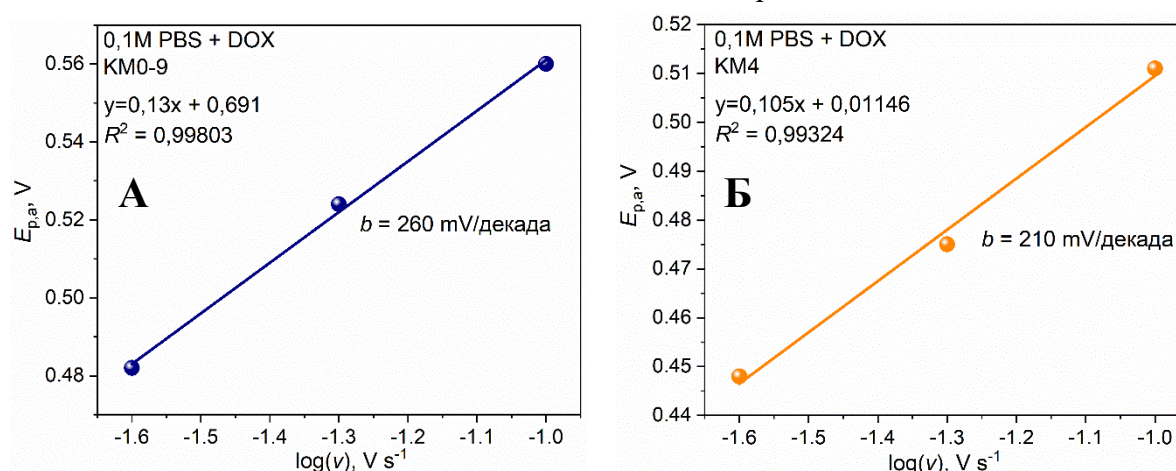
KM0-9 (Сл. 52 А), има наклон од 0,595, укажувајќи дека процесот на оваа површина е доминантно контролиран од дифузија. Анализата на KM4 (Сл. 52 Б) покажува слично однесување. Добиениот наклон изнесува 0,523, вредност која е многу блиска до теоретските 0,5 што потврдува дека и по модификацијата, реакцијата останува контролирана од дифузијата на аналитот до површината на електродата.

Овој резултат е спротивен на јаглеродната електрода, каде модификацијата предизвика промена на механизмот кон атсорпциона контрола. Кај златните електроди, иако модификацијата го подобрува струјниот одговор, не успева да воведо доминантни атсорпциони карактеристики кои би го смениле чекорот што ја одредува брзината на реакцијата. Разлика во механизмот се припишува на различната интеракција и квалитетот на филмот што нанокмпозитното мастило го формира на двете подлоги. На јаглеродната електрода, поради одличната адхезија и хемиска компатибилност, се формира високо порозна структура која ефикасно го заробува аналитот преку $\pi - \pi$

интеракции, со што механизмот станува адсорпционо-контролиран. На златната подлога, пак, послабата адхезија води до формирање на помалку хомоген филм кој делува како дифузиона бариера, поради што процесот останува контролиран од дифузија. Ова јасно покажува дека интеракцијата помеѓу материјалот за модификација и подлогата е од суштинско значење за финалните карактеристики на сензорот.

6.2.1.2.3. Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина

Тафеловата анализа е применета и на златните електроди за да се процени кинетиката на пренос на електрони. Конструираниите дијаграми на зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$), се прикажани на Сл. 53. Пресметаните вредности за Тафеловиот наклон (b) изнесуваат 260 mV/декада за КМ0-9 и 210 mV/декада за КМ4 електродата.



Слика 53. Тафелови дијаграми за: А – КМ0-9 и Б – КМ4, кои ја покажуваат зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$)

Користејќи ја вредноста $n = 2$, пресметан е и коефициентот на пренос на полнеж. (α). Дополнително, врз основа на вредностите за ΔE_p дадени во Табела 21, пресметани се и бездимензионалниот фактор (ψ) и константата на брзина (k^0). Квантитативните резултати се сумирани во Табела 22.

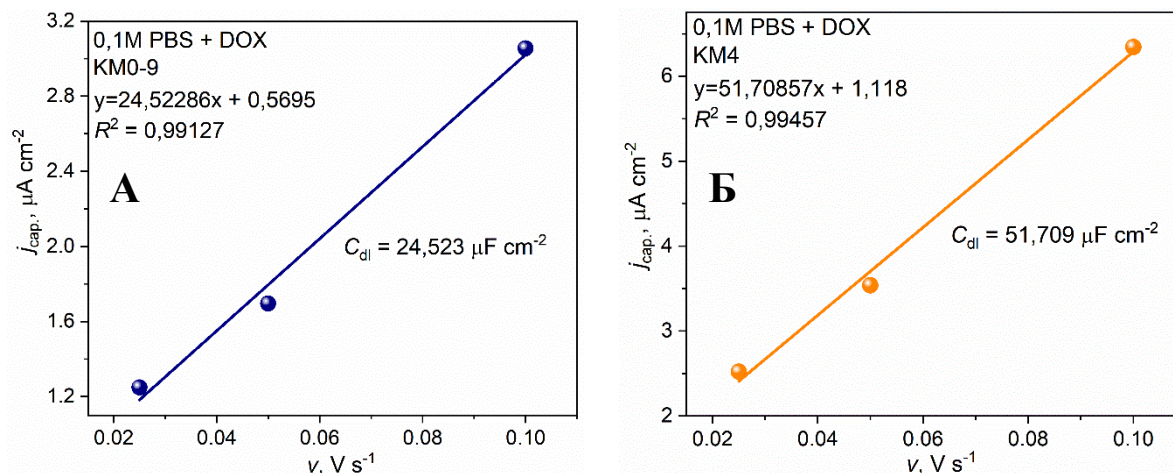
Табела 22. Споредбени кинетички параметри за КМ0-8 и КМ6

Електрода	Тафелов наклон, b / mV/декада	Коефициент на пренос на полнеж, α (при $n = 2$)	Бездимензионален параметар, ψ	Константа на брзина, k^0 / cm/s
КМ0-9	260	0,89	0,400	$8,29 \times 10^{-6}$
КМ4	210	0,86	0,460	$9,53 \times 10^{-6}$

Добиените резултати покажуваат дека, иако не толку значајно како кај јаглеродните системи, модификацијата ја подобрува кинетиката на златната електрода. Помалата вредност на b за КМ4 електродата (210 mV/декада) во споредба со немодифицираната (260 mV/декада), укажува на побрз пренос на електрони и помала енергија на активација за оксидација на DOX. Ова подобрување е квантитативно потврдено и со вредностите за k^0 , каде повисоката вредност на k^0 кај КМ4 јасно покажува дека процесот е кинетички поповолен на модифицираната површина. Ова е во согласност со претходните резултати за зголемената чувствителност, потврдувајќи дека нано-компонитниот филм успешно ги подобрува севкупните електрокаталитички својства и на златната подлога.

6.2.1.2.4. Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој

Проценката на електрохемиски активната површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој (C_{dl}) е направена и кај златните електрода. Вредноста на C_{dl} е одредена од наклонот на линеарната зависност помеѓу капацитивната густина на струја (j_{cap}) и брзината на скенирање (ν), прикажана на Сл. 54.



Слика 54. Зависност на капацитивната густина на струја (j_{cap}) од брзината на скенирање (ν):
А – KM0-9 и Б – KM4 електрода

Капацитетот на двојниот слој, добиен од линеарната регресија, изнесува $24,52 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ за KM0-9 и $51,71 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ за KM4 електродата. Врз основа на овие вредности, пресметани се и факторот на рапавост (RF) и електрохемиски активната површина (EASA), а резултатите се сумирани во Табела 23.

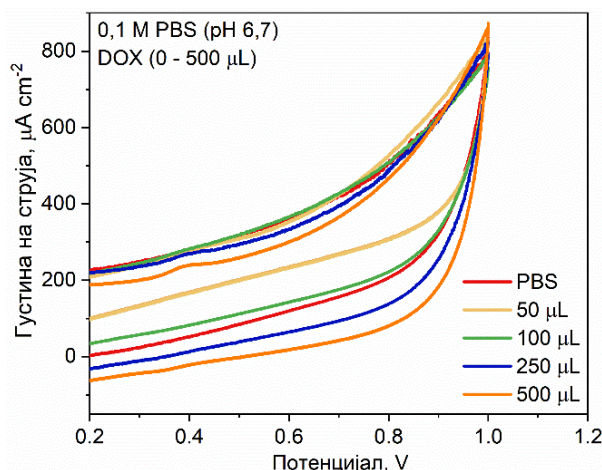
Табела 23. Споредбени параметри на површината за KM0-9 и KM4

Параметар	KM0-9	KM4	Фактор на подобрување
$C_{dl} / \mu\text{F}/\text{cm}^2$	24,52	51,71	
Фактор на рапавост (RF)	0,98	2,07	2,1
EASA / cm^2	0,123	0,260	

Добиените резултати покажуваат дека, иако модификацијата ја зголемува активната површина на златната електрода, подобрувањето е значително помало во споредба со она кај јаглеродната електрода. Факторот на зголемување на површината е само 2,1 пати, споредено со 11-кратното зголемување забележано кај KM6. Оваа разлика го потврдува заклучокот дека интеракцијата помеѓу нанокompatитното мастило и подлогата е од суштинско значење. На златната површина, веројатно поради послаба адхезија, не се формира истата високо развиена и порозна структура како кај јаглеродната електрода. Ова помало зголемување на површината е во согласност со претходниот резултат дека механизмот на реакција останува дифузионо-контролиран.

6.2.1.3. Споредбена анализа со традиционална електрода од стаклест јаглерод (GCE)

За проширување на контекстот на добиените резултати, а истовремена валидација на практичната предност на развиените ситопечатени електрода, направена е споредба на карактеристиките на најдобриот систем (KM6) со оние на традиционалната, конвенционална стаклеста јаглеродна електрода (GCE) модифицирана со истиот состав на мастило (KM7), во стандарден три-електроден систем. На Сл. 55 е прикажан одговорот на GCE при додавање на различни количини на DOX.



Слика 55. Цикличен волтаммограм за модифицирана електрода од стаклест јаглерод (KM7) во 0,1 mol/L PBS (pH 6,7) при различни концентрации на DOX.

Од волтаммограмот визуелно се забележува дека GCE покажува многу слаб одговор кон DOX. При релативни ниски концентрации (0,004 mg/mL и 0,008 mg/mL, концентрации кои одговараат на додаден DOX во количина од 50 и 100 µL, соодветно) не се забележува никаков дефиниран редокс пик, а сигналот е доминиран од високата позадинска струја. Дури по додавање на исклучително голема количина на анализот (250 µL, што одговара на концентрација од 0,02 mg/mL), почнува да се појавува слаб и недоволно дефиниран аноден пик. Овој резултат покажува дека супериорните карактеристики на модифицираната SPE платформа, резултираат со систем кој е значително почувствителен од конвенционалниот GCE систем. Причината за слабите перформанси на GCE лежи во нејзината релативно мала и инертна мазна површина, која нема способност за пред-концентрација на анализот, поради што целиот процес зависи од бавната дифузија.

Заклучно, во рамките на ова поглавје кое ги опфаќа KM електродите, системот KM6 е идентификуван не само како најуспешен меѓу сите тестирани варијации на композитни мастила и подлоги, туку и како супериорна алтернатива на традиционалните електродни системи. Ова ја потврдува успешноста на применетата стратегија на модификација и ја истакнува огромната предност на користењето на наменски дизајнирани, преносливи SPE сензори за оваа специфична примена.

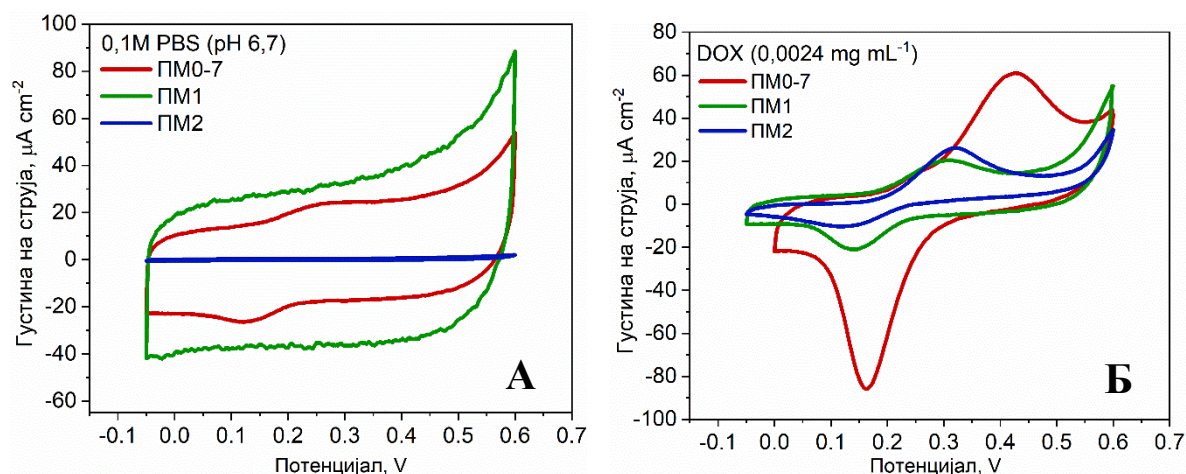
6.2.2. Електрохемиска карактеризација на електроди модифицирани со полимерно мастило (ПМ)

Наредното поглавје продолжува со анализа на втората група полимер-модифицирани системи (ПМ). Во оваа група опфаќа три типа на електроди со основа базирана на јаглерод комерцијално модифицирана со графен (G/Carbon), јаглеродни наноцевки (CNT/Carbon) и поли(анилин) (PANI/Carbon). Комерцијалните електроди се модифицирани со хитозан, поли(винилиден флуорид) (PVDF), поли(акрилна киселина) модифицирана со јаглеродни наноцевки (PAA-CNT) и поли(3,4-етилендиокситиофен):поли(стирен сулфонат) (PEDOT:PSS). Тестирањата се изведени на ист начин како и кај KM модифицираните системи.

Електродите модифицирани со PEDOT:PSS не даваат струен сигнал, па следствено се исклучени од понатамошна анализа.

6.2.2.1 Споредбена анализа на ПМ графенски електроди со циклична волтамметрија

Првата анализирана подгрупа во рамките на полимер-модифицираните системи се јаглеродните електроди комерцијално модифицирани со графен. На Сл. 56 е прикажан споредбениот електрохемиски одговор на немодифицираната графенска електрода (ПМ0-7), како и на електродите модифицирани со хитозан (ПМ1) и PVDF (ПМ2), додека во Табела 24 се сумирани клучните електрохемиски параметри.



Слика 56. Споредбени циклични волтаммограми за немодифицирана (ПМ0-7) и модифицирана графенска електрода со хитозан (ПМ1) и PVDF (ПМ2) снимени во **А** – 0,1 mol/L фосфатен пуфер (pH 6,7) и **Б** – истиот пуфер со додаток на 0,0024 mg/mL DOX

Табела 24. Споредбени електрохемиски параметри за ПМ0-7, ПМ1 и ПМ2

Електрода	$E_{p,a}$ / mV	$E_{p,c}$ / mV	ΔE_p	$E_{1/2}$	$I_{p,a}$ / μA	$I_{p,c}$ / μA	$I_{p,a}/I_{p,c}$	$j_{p,a}$ / $\mu A/cm^2$	$j_{p,c}$ / $\mu A/cm^2$
ПМ0-7	472	164	263	318	7,710	-10,723	0,719	61,358	-85,331
ПМ1	310	142	168	226	2,648	-2,646	1,001	21,070	-21,053
ПМ2	322	195	195	258,5	3,467	-1,340	2,587	27,589	-10,662

Немодифицираната ПМ0-7 електрода сама по себе покажува извонредна електрокаталитичка активност, со највисока густина на струја на анодниот пик ($61,358 \mu A/cm^2$). Ова се должи на супериорните својства на графенот.

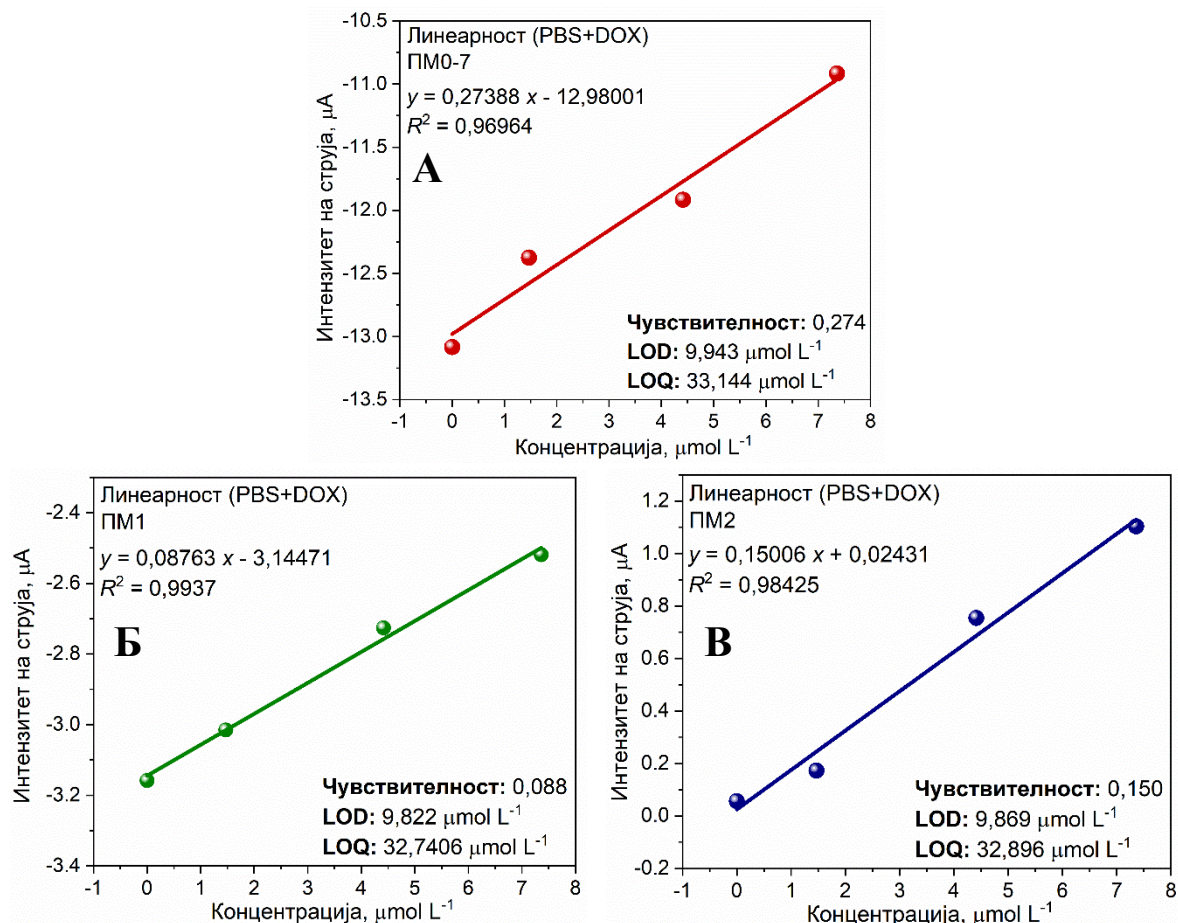
Иако двете полимерни модификации резултираат со понизок струен сигнал во споредба со немодифицираната ПМ0-7 електрода, истите ја подобруваат кинетиката на реакцијата. Анализата на ΔE_p и односот на струите покажува дека сите три системи се квази-реверзибилни, но со значителни разлики. ПМ1 покажува најдобри карактеристики, со ΔE_p од 168 mV и речиси идеален однос на струите (1,001), што ја дефинира како најефикасна квази-реверзибилна електрода од оваа група. Спротивно, немодифицираната ПМ0-7 ($\Delta E_p = 263$ mV, $I_{p,a}/I_{p,c} = 0,719$) и особено ПМ2 електродата ($I_{p,a}/I_{p,c} = 2,587$) покажуваат значително отстапување од идеалните вредности, што укажува на помалку ефикасни и повеќе комплексни процеси на пренос на електрони.

6.2.2.1.1. Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на графенски ПМ електроди

Калибрационите криви конструирани за квантитативна евалуација на графенските електроди се дадени на Сл. 57. Од изведените податоците е јасно дека ПМ0-7 покажува највисока чувствителност ($0,274 \mu A/\mu mol L^{-1}$), што е директна последица на одличниот струен одговор забележан и кај цикличната волтамметрија.

Иако полимерните модификации резултираат со намалена чувствителност, тие покажуваат други подобрувања. Хитозан-модифицираната електрода (ПМ1) се истакнува со најдобар коефициент на определување ($R^2 = 0,9937$), што укажува на најдобра линеарност на одговорот во испитуваниот опсег. Исто така, сите три системи покажуваат

слични и задоволителни граници на детекција (LOD), кои се движат во тесен опсег од 9,822 до 9,943 $\mu\text{mol/L}$.

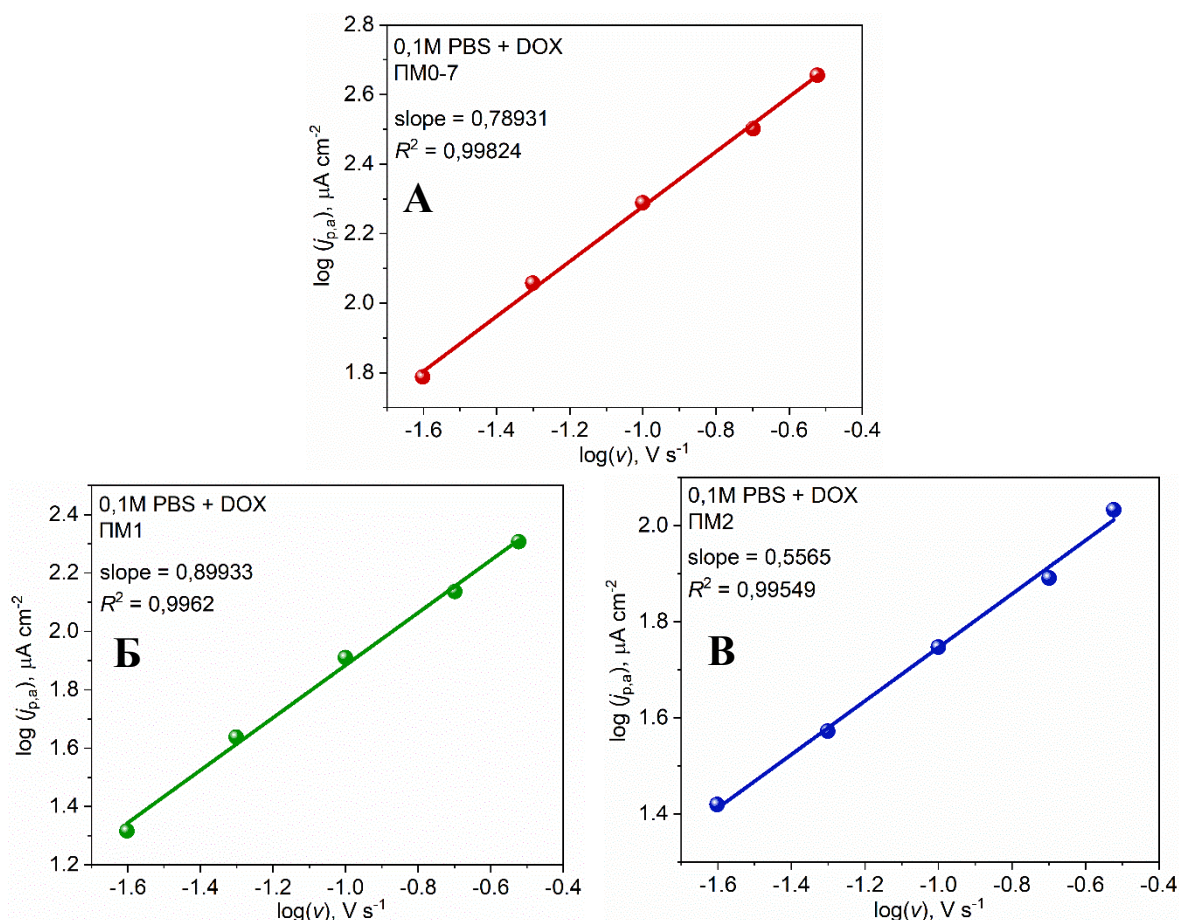


Слика 57. Калибрациони криви за определување на DOX со помош на: А – ПМ0-7, Б – ПМ1 и В – ПМ2

6.2.2.1.2. Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција

За да се определи доминантниот механизам на реакција, конструирани се графици на зависноста на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$), прикажани на Сл. 58.

ПМ0-7 електродата (Сл. 58 А) се карактеризира со наклон од 0,789, посочувајќи ја мешаната дифузионо-атсорпциона контрола на реакцијата, која се должи на високата специфична површина на самата графенска подлога. Спротивно на тоа, кај ПМ1 (Сл. 58 Б) наклонот изнесува 0,899, вредност која е многу блиска до 1,0, посочувајќи дека процесот станува доминантно контролиран од атсорпција, што се должи на способноста на функционалните групи на хитозанот ефикасно да го атсорбираат анализот. ПМ2 електродата (Сл. 58 В) поседува наклон од 0,557, кој јасно укажува дека процесот на оваа површина останува доминантно контролиран од дифузија. Овие резултати покажуваат дека избраниот полимер за модификација има клучно влијание врз механизмот на реакција. Хитозанот значително ги подобрува атсорпционите карактеристики на сензорот, додека PVDF делува како инертен слој кој не придонесува за атсорпција на анализот.



Слика 58. Зависност на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$) за: **A** – ПМ0-7, **Б** – ПМ1 и **В** – ПМ2

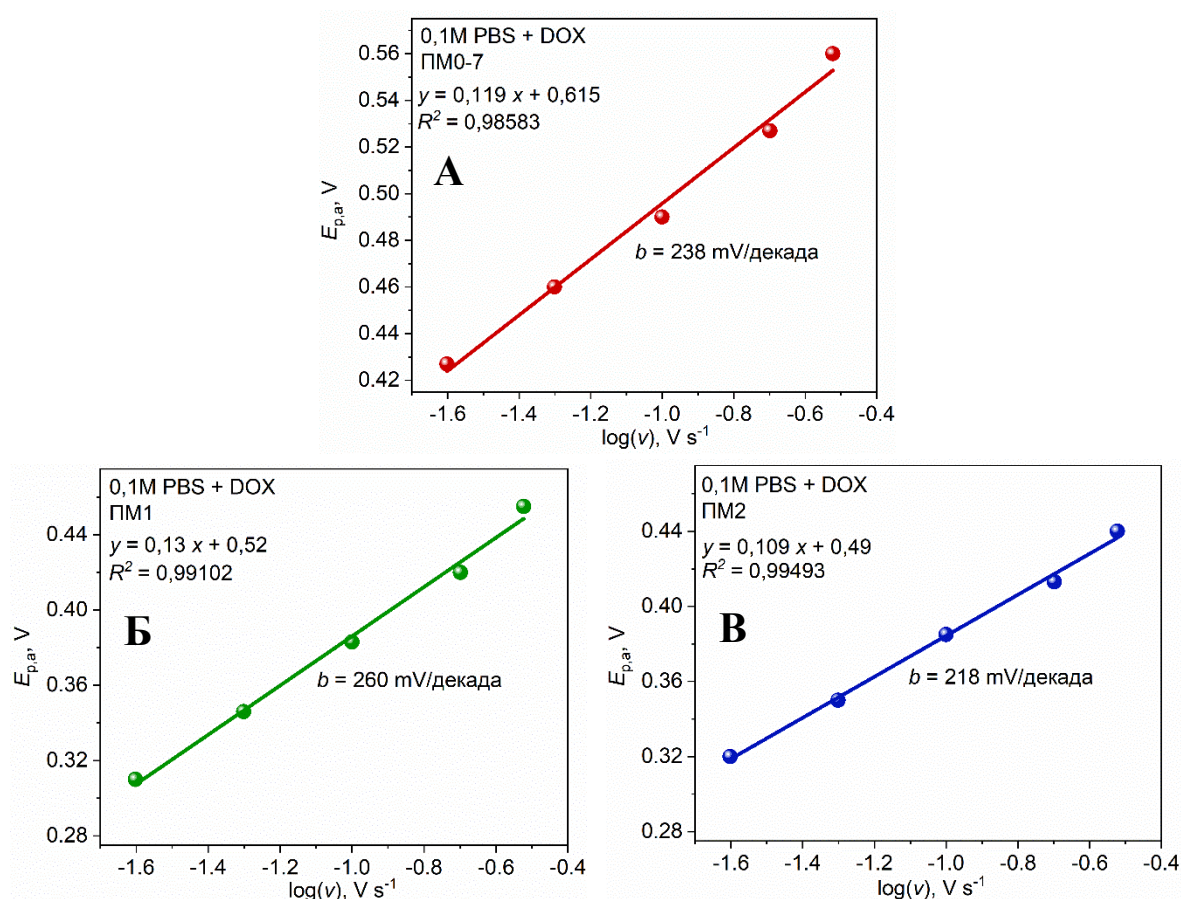
6.2.2.1.3. Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина

Кинетиката на пренос на електрони е дополнително истражена преку Тафелова анализа и методот на Николсон. Кинетички параметри се сумирани во Табела 25, а истите се изведени од Тафеловите дијаграми прикажани на Сл. 59.

Табела 25. Споредбени кинетички параметри за ПМ0-7, ПМ1 и ПМ2

Електрода	Тафелов наклон, b / mV/декада	Коефициент на пренос на полнеж, α (при $n = 2$)	Бездимензионален параметар, ψ	Константа на брзина, k^0 / cm/s
ПМ0-7	238	0,88	0,084	$1,71 \times 10^{-5}$
ПМ1	260	0,89	0,173	$3,54 \times 10^{-5}$
ПМ2	218	0,86	0,134	$2,74 \times 10^{-5}$

Резултатите покажуваат дека полимерните модификации имаат значајно влијание врз брзината на пренос на електрони. Хитозан-модифицираната електрода (ПМ1) покажува највисока вредност за константата на брзина (k^0) ($3,54 \times 10^{-5}$ cm/s), што ја прави кинетички најефикасна во оваа група. Овој резултат е во согласност со претходната анализа на ΔE_p (Табела 24), каде ПМ1 исто така покажува најповолна вредност (168 mV). Иако ПМ2 (PVDF) има најнизок Тафелов наклон, севкупната кинетика, најдобро опишана преку k^0 , е супериорна кај ПМ1. Вредностите на коефициентот на пренос на полнеж (α) се слични за сите три електроди, но најблиску до идеалната вредност од 0,5 е онаа кај ПМ2, што укажува на посиметрична енергетска бариера.



Слика 59. Тафелови дијаграми за: А – ПМ0-7, Б – ПМ1 и В – ПМ2, кои ја покажуваат зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$)

6.2.2.1.4. Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој

Финалната карактеризација на површината на графенските електрода е направена преку определување на капацитетот на двојниот слој (C_{dl}). На Сл. 60 се прикажани соодветните графици, а изведените параметри за површината се сумирани во Табела 26.

Табела 26. Споредбени параметри на површината за ПМ0-7, ПМ1 и ПМ2

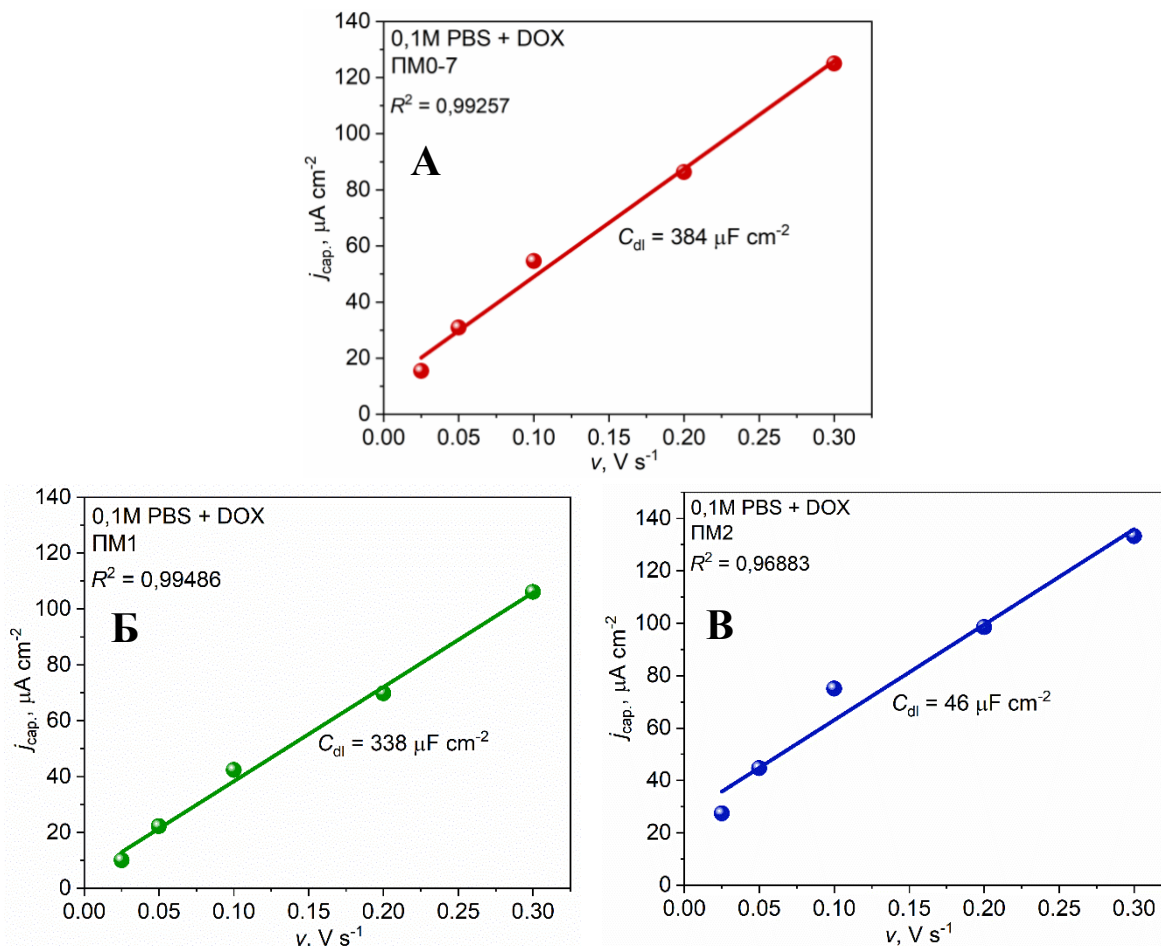
Параметар	ПМ0-7	ПМ1	ПМ2	Фактор на подобрување
$C_{dl} / \mu\text{F}/\text{cm}^2$	384	338	46	
Фактор на рапавост (RF)	15,36	13,52	1,84	/
EASA / cm^2	1,93	1,70	0,23	

Резултатите покажуваат дека немодифицираната ПМ0-7 електрода има исклучително висока вредност на C_{dl} ($384 \mu\text{F}/\text{cm}^2$), додека двете полимерни модификации ја намалуваат оваа вредност, особено кај ПМ2 ($46 \mu\text{F}/\text{cm}^2$).

За да се разбере причината за овие разлики и директно да се визуелизира ефектот на полимерната модификација врз морфологијата на површината, направена е SEM анализа, прикажана на Сл. 61.

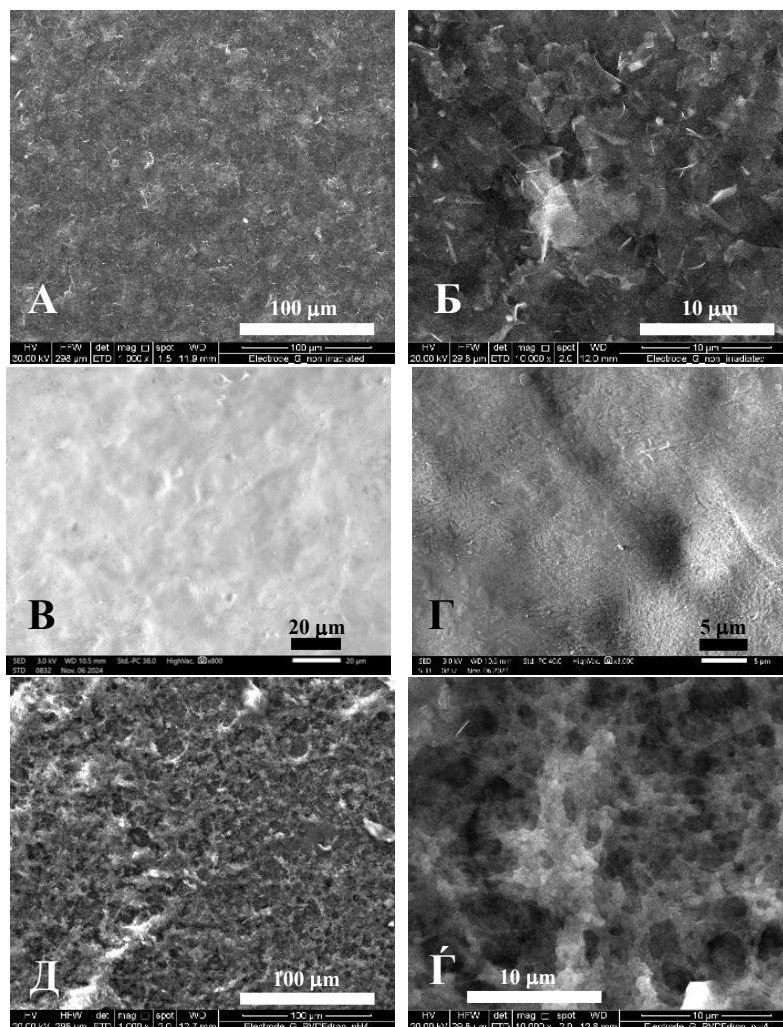
SEM микрографиите ги објаснуваат резултатите од капацитетот. Површината на ПМ0-7 електродата (Сл. 61 А и Б) покажува високо развиена, порозна структура типична за графенските материјали, што е причина за нејзиниот голем C_{dl} . Кај ПМ1 електродата (Сл. 61 В и Г), се забележува дека хитозанот формира релативно тенок и униформен филм кој ги покрива графенските листови, благо намалувајќи ја вкупната површина, но задржувајќи ја основната морфологија. Спротивно на тоа, кај ПМ2 електродата (Сл. 61

Д и Г), додавањето на PVDF резултира со видливо покривање на графенските слоеви со полимерни кластери во форма на сферични честички. Честичките го опкружуваат графенот, пополнувајќи ги празнините и со тоа значително ја намалуваат порозноста и рапавоста на површината. Ова директно блокирање на активните места е причината за значителното намалување на вредноста на C_{dl} .



Слика 60. Зависност на капацитивната густина на струја (j_{cap}) од брзината на скенирање (v) за: А – ПМ0-7, Б – ПМ1 и В – ПМ2

Анализата на полимер-модифицираните графенски електрооди открива сложен однос помеѓу чувствителноста, кинетиката и морфологијата на површината. Иако немодифицираната електроода ПМ0-7 дава најдобар струен одговор поради нејзината огромна специфична површина, хитозан-модифицираната електроода (ПМ1) се издвојува како најдобар севкупен кандидат. ПМ1 претставува оптимален компромис, каде што малото намалување на чувствителноста е повеќекратно надоместено со значително подобрена кинетика и реверзибилност на реакцијата, што се клучни параметри за развој на сигурен и репродуцибилен електрохемиски сензор.



Слика 61. SEM микрографији од површината на: А и Б – ПМ0-7, В и Г – ПМ1 и Д и Ѓ – ПМ2

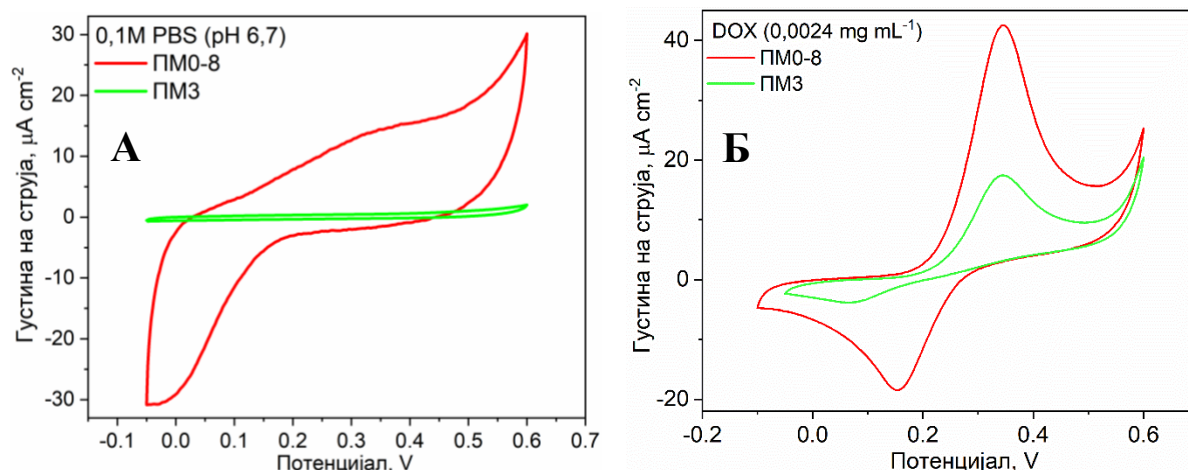
6.2.2.2. Споредбена анализа на ПМ електроди од јаглеродни наноцевки со циклична волтамметрија

Понатаму, направена е анализа на полимер-модифицираните системи базирани на јаглеродни електроди комерцијално модифицирани со јаглеродни наноцевки (CNT). На Сл. 62 е прикажан електрохемискиот профил на немодифицираната (ПМ0-8) и модифицираната (ПМ3) CNT електрода, а карактеристичните електрохемиски параметри се дадени во Табела 27.

Анализата на резултатите открива дека и двете електроди покажуваат квази-реверзибилно однесување, но со различни перформанси. Немодифицираната ПМ0-8 електрода поседува добри карактеристики, како што е висока густина на струја на анодниот пик ($42,5 \mu\text{A}/\text{cm}^2$) и релативно добра кинетика ($\Delta E_p = 192 \text{ mV}$), што е последица на развиената површина на јаглеродните наноцевки. Спротивно на тоа, модификацијата со PVDF (ПМ3) има изразено негативен ефект врз сите клучни параметри. Чувствителноста е значително намалена, со пад на густината на струјата за речиси три пати ($j_{p,a} = 17,634 \mu\text{A}/\text{cm}^2$). Истовремено, кинетиката на реакцијата е влошена, што се гледа од големото зголемување на разликата во ΔE_p од 192 mV на 287 mV , а односот на струите (4,826) целосно отстапува од идеалната вредност.

Овие резултати, како и кај графенските електроди, сугерираат дека PVDF филмот делува како пасивизирачки слој кој ја блокира специфичната површина на јаглеродните

наноцевки, со што го отежнува преносот на електрони и ја намалува вкупната ефикасност на сензорот, правејќи го несоодветен за оваа примена.



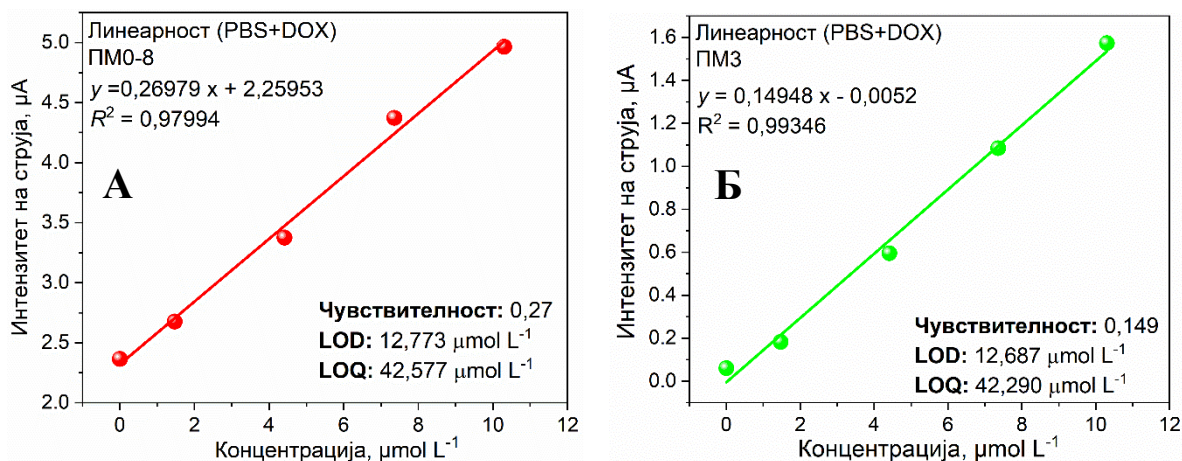
Слика 62. Споредбени циклични волтаммограми за немодифицирана (ПМ0-8) и модифицирана CNT електрода со PVDF (ПМ3) снимени во А – 0,1 mol/L фосфатен пуфер (рН 6,7) и Б – истиот пуфер со додаток на 0,0024 mg/mL DOX

Табела 27. Споредбени електрохемиски параметри за ПМ0-8 и ПМ3

Електрода	$E_{p,a}$ / mV	$E_{p,c}$ / mV	ΔE_p	$E_{1/2}$	$I_{p,a}$ / μA	$I_{p,c}$ / μA	$I_{p,a}/I_{p,c}$	$j_{p,a}$ / $\mu A/cm^2$	$j_{p,c}$ / $\mu A/cm^2$
ПМ0-8	346	154	192	250	5,340	-2,307	2,315	42,500	-18,360
ПМ3	345	58	287	201,5	2,215	-0,459	4,826	17,634	-3,656

6.2.2.2.1. Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на ПМ електроди од јаглеродни наноцевки

Квантификацијата на одговорот на CNT/Carbon електродите, е направена преку калибрациони криви кои се прикажани на Сл. 63.

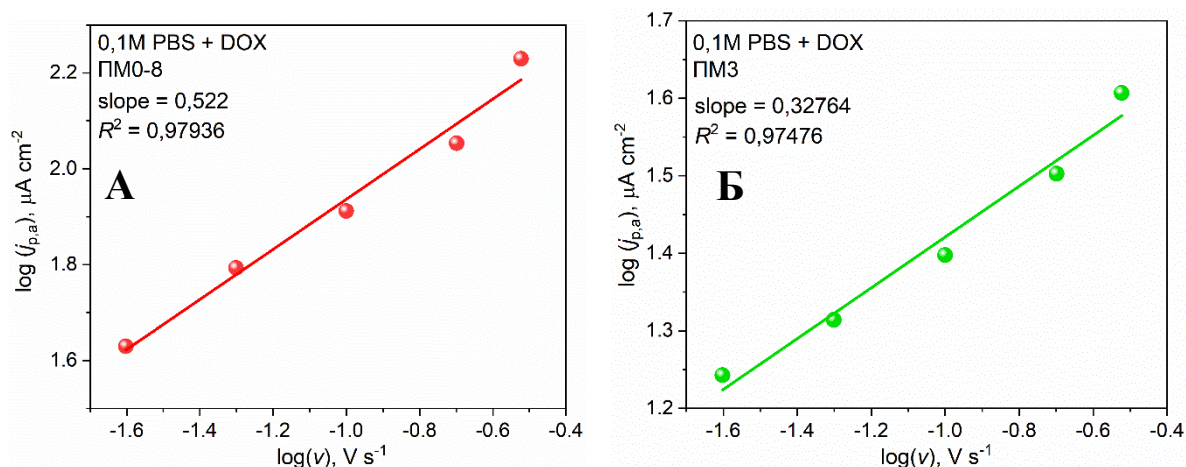


Слика 63. Калибрациони криви за определување на DOX со помош на: А – ПМ0-8 и Б – ПМ3

Добиените податоци од кривите го потврдуваат негативниот ефект на PVDF модификацијата врз аналитичките перформанси. Чувствителноста на ПМ0-8 електрода ($0,27 \mu A/\mu mol L^{-1}$) е речиси двојно поголема од онаа на ПМ3 ($0,149 \mu A/\mu mol L^{-1}$). LOD останува речиси непроменета за двата система. ПМ3 електродата покажува незначително подобра линеарност, која се одликува со повисок R^2 коефициент. Сепак, чувствителноста е примарен параметар за еден сензор, па според тоа може да се заклучи дека ПМ0-8 електродата поседува подобри севкупни карактеристики.

6.2.2.2.2. Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција

Механизмот на реакција за CNT-базираните системи е испитан преку анализа на зависноста на логаритамот на густината на струјата ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$), како што е прикажано на Сл. 64.

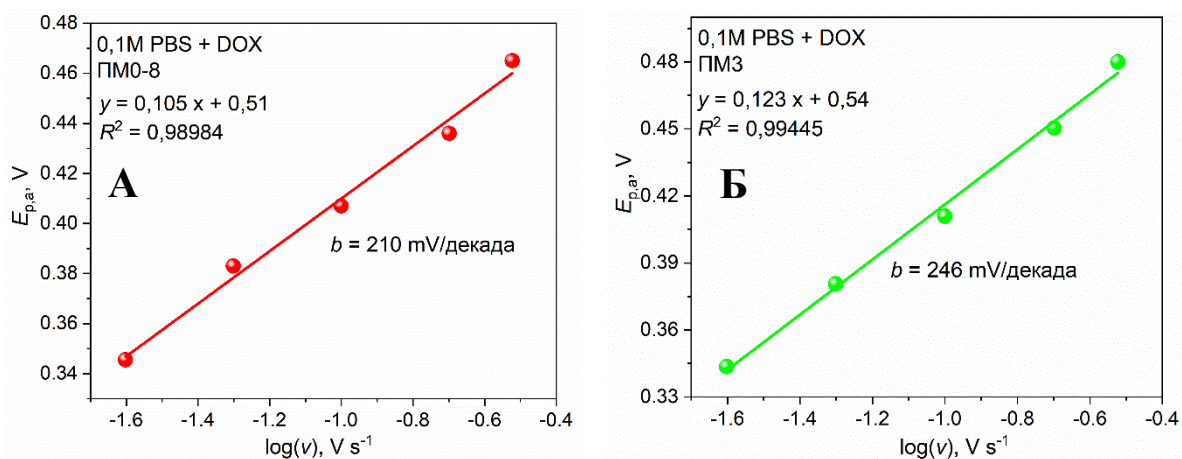


Слика 64. Зависност на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$) за: **А** – ПМ0-8 и **Б** – ПМ3

Реакциите на ПМ0-8 електродата (Сл. 64 А), чиј наклон на права изнесува 0,522, се доминантно контролирани од дифузија. Спротивно на тоа, ПМ3 електродата (Сл. 64 Б) покажува значително помал наклон од 0,328. Оваа вредност, која отстапува од идеалното дифузионо однесување, сугерира дека PVDF филмот делува како бариера. Полимерниот слој го попречува транспортот на маса и преносот на електрони, со што го нарушува целокупниот електрохемиски процес, што е во согласност со претходно забележаниот пад на чувствителноста и влошената кинетика.

6.2.2.2.3. Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина

Кинетиката на пренос на електрони е дополнително анализирана преку Тафелова анализа и методот на Николсон. Тафеловите дијаграми се прикажани на Сл. 65, а изведените кинетички параметри се дадени во Табела 28.



Слика 65. Тафелови дијаграми за: **А** – ПМ0-8 и **Б** – ПМ3, кои ја покажуваат зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$)

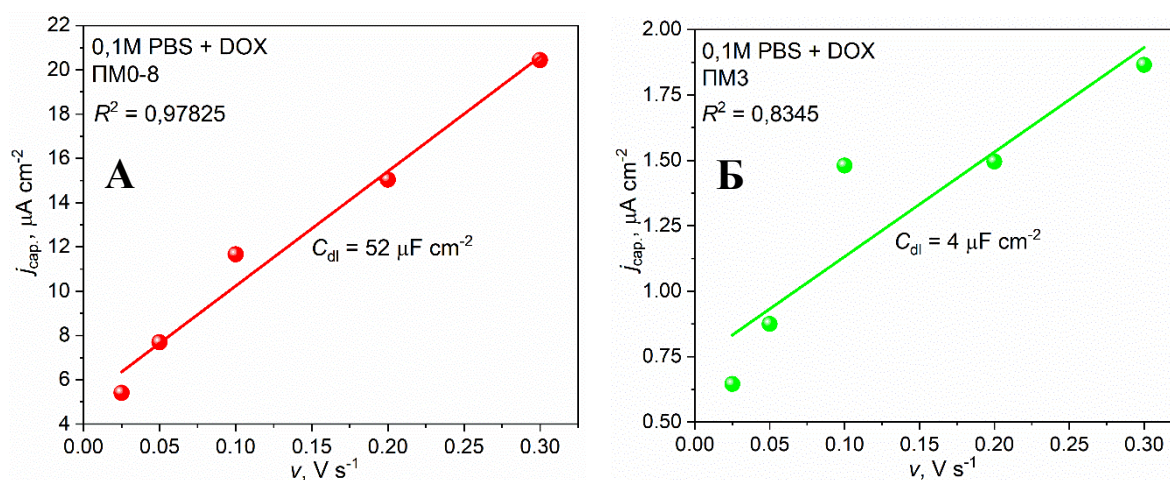
Табела 28. Споредбени кинетички параметри за ПМ0-8 и ПМ3

Електрода	Тафелов наклон, b / mV/декада	Коефициент на пренос на полнеж, α (при $n = 2$)	Бездимензионален параметар, ψ	Константа на брзина, k^0 / cm/s
ПМ0-8	210	0,86	0,138	$8,87 \times 10^{-6}$
ПМ3	264	0,89	0,074	$4,75 \times 10^{-6}$

Резултатите покажуваат дека ПМ0-8 електродата има понизок Тафелов наклон (b) (210 mV/декада) во споредба со ПМ3 (264 mV/декада), потврдувајќи дека кинетиката на пренос на електрони е побрза на немодифицираната површина. Како потврда на овој заклучок служи константата на брзина, чија вредност за ПМ0-8 е речиси двојно повисока од онаа за ПМ3. Повисоката вредност на b и пониската вредност за константата на брзина (k^0) кај ПМ3, се во согласност со претходните резултати дека PVDF филмот делува како бариера која го отежува електрохемискиот процес.

6.2.2.2.4. Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој

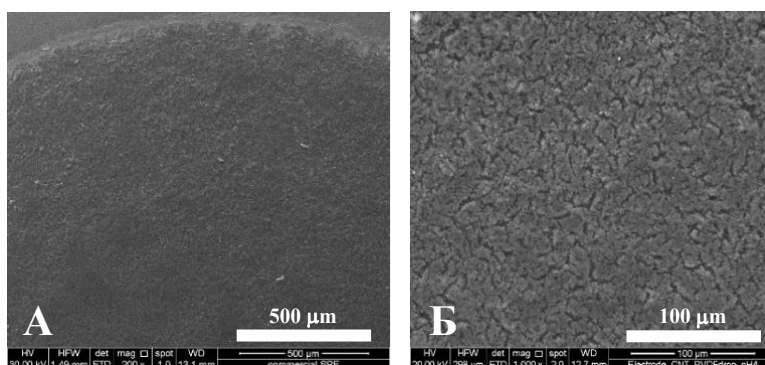
Завршната карактеризација на површината на CNT/Carbon електродите е направена преку определување на C_{dl} (Сл. 66) и SEM анализа (Сл. 67). Сите изведени параметри се сумирани во Табела 29.



Слика 66. Зависност на капацитивната густина на струја (j_{cap}) од брзината на скенирање (v) за: А – ПМ0-8 и Б – ПМ3

Табела 29. Споредбени параметри на површината за ПМ0-8 и ПМ3

Параметар	ПМ0-8	ПМ3	Фактор на подобрување
$C_{dl} / \mu F/cm^2$	52	4	
Фактор на рапавост (RF)	2,08	0,16	/
EASA / cm^2	0,261	0,020	



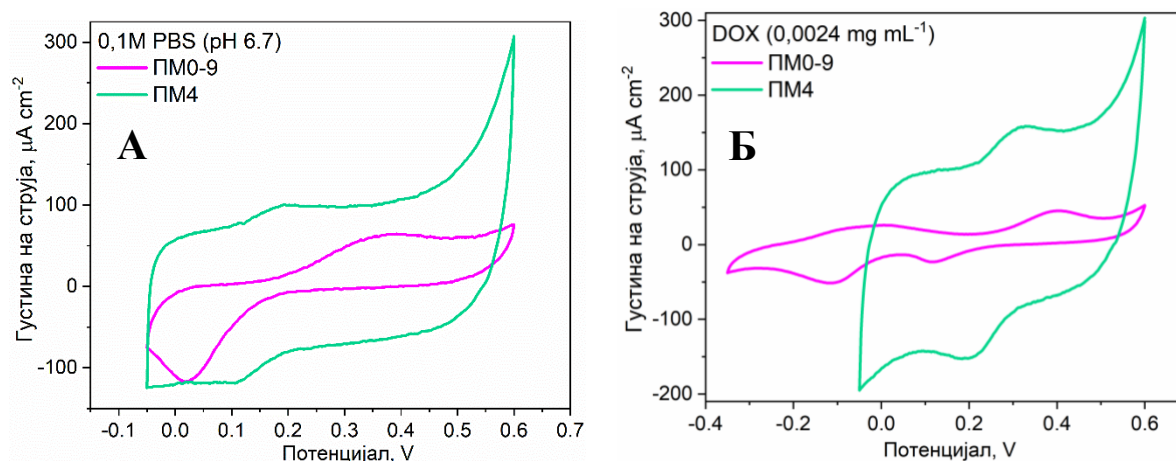
Слика 67. SEM микрографији од површината на: А – ПМ0-8 и Б – ПМ3

Немодифицираната ПМ0-8 електрода поседува релативно висока вредност на C_{dl} (52 $\mu F/cm^2$), што се должи на развиената специфична површина, видлива и на SEM снимката (Сл. 67 А). Спротивно, модификацијата со PVDF (ПМ3) предизвикува драстичен пад на активната површина за повеќе од 13 пати, со вредност на C_{dl} од само 4 $\mu F/cm^2$. Овој резултат е директно потврден со SEM анализата (Сл. 67 Б), која покажува

дека PVDF полимерот формира филм кој не ја следи морфологијата на специфичната површина на CNT. Комбинираната анализа потврдува дека PVDF модификацијата е контрапродуктивна за CNT системите, бидејќи води до пасивизација и губење на активната површина на електродата.

6.2.2.3. Споредбена анализа на ПМ поли(анилин)ски електроди со циклична волтамметрија

Последно анализирани системи од оваа група преставуваат ПМ јаглеродните електроди комерцијално модифицирани со поли(анилин) (PANI/Carbon). Нивниот електрохемиски одговор е прикажан на Сл. 68, а соодветните електрохемиски параметри се дадени во Табела 30.



Слика 68. Споредбени циклични волтаммограми за немодифицирана (ПМ0-9) и модифицирана PANI/Carbon електрода со PAA-CNT (ПМ4) снимени во А – 0,1 mol/L фосфатен пуфер (pH 6,7) и Б – истиот пуфер со додаток на 0,0024 mg/mL DOX

Табела 30. Споредбени електрохемиски параметри за ПМ0-9 и ПМ4

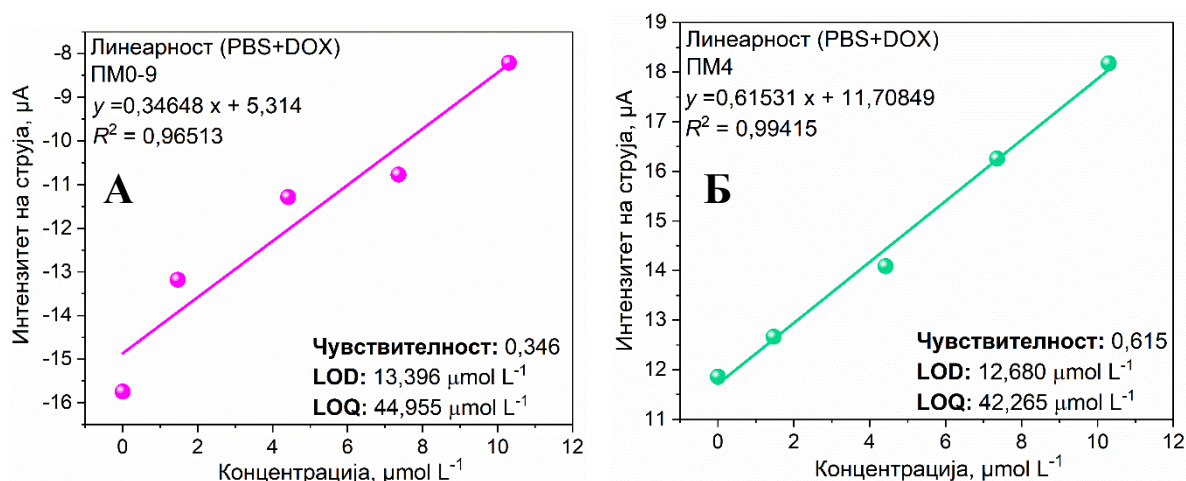
Електрода	$E_{p,a}$ / mV	$E_{p,c}$ / mV	ΔE_p	$E_{1/2}$	$I_{p,a}$ / μA	$I_{p,c}$ / μA	$I_{p,a}/I_{p,c}$	$j_{p,a}$ / $\mu A/cm^2$	$j_{p,c}$ / $\mu A/cm^2$
ПМ0-9	402	120	282	261	5,692	-2,920	1,949	45,297	-23,237
ПМ4	325	209	116	267	19,233	-15,715	1,224	159,474	-153,056

Анализата на резултатите покажува дека модификацијата со PAA-CNT ги подобрува карактеристиките на PANI електродата. Податоците во табелата покажуваат дека чувствителноста е значително зголемена. Густината на струјата на анодниот пик ($j_{p,a}$) кај ПМ4 електродата ($159,474 \mu A/cm^2$) е за 3,5 пати поголема од онаа кај ПМ0-9 ($45,297 \mu A/cm^2$). Уште позначајно е подобрувањето на кинетиката и реверзибилноста. Иако и двата система покажуваат квази-реверзибилно однесување, модификацијата со PAA-CNT го трансформира однесувањето кон значително поефикасен процес. Разликата во ΔE_p е намалена од 282 mV кај немодифицираната електрода на само 116 mV кај ПМ4, што укажува на многу побрз и поефикасен пренос на електрони. Ова е надополнето и со значително подобрување на реверзибилноста, каде $I_{p,a}/I_{p,c}$ се приближува кон идеалната вредност, менувајќи се од 1,949 на 1,224.

Добиените резултати се последица на синергијата помеѓу спроводливиот полимер (PANI) и спроводливата мрежа на јаглеродни наноцевки (PAA-CNT), кои заедно создаваат идеална платформа за брза и чувствителна детекција на DOX.

6.2.2.3.1. Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на ПМ поли(анилин)ски електроди

Квантификацијата на PANI/Carbon електроди е направена преку конструкција на калибрациони криви од односот на интензитетот на струјата на анодниот пик ($I_{p,a}$) и концентрацијата на DOX. Резултатите од оваа анализа се прикажани на Сл. 69.



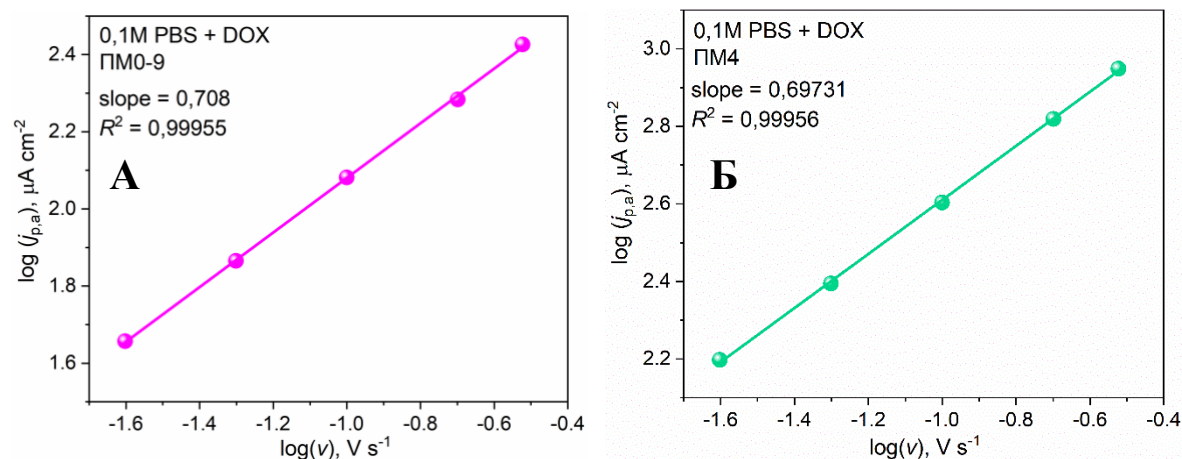
Слика 69. Калибрациони криви за определување на DOX со помош на: А – ПМ0-9 и Б – ПМ4

ПМ0-9 електродата (Сл. 69 А) покажува добра линеарност ($R^2 = 0,9651$), со чувствителност од $0,346 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$ и LOD од $13,396 \mu\text{mol L}^{-1}$. Модифицираната ПМ4 електрода (Сл. 69 Б) резултира со значително подобрување на сите аналитички перформанси. Чувствителноста се зголемува за 1,78 пати, достигнувајќи вредност од $0,615 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$, додека линеарноста е речиси идеална ($R^2 = 0,9941$). LOD е исто така незначително подобрена на $12,680 \mu\text{mol L}^{-1}$.

6.2.2.3.2. Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција

Механизмот на реакција за PANI електродите е определен преку анализа на зависноста на логаритамот на густината на струјата од логаритамот на брзината на скенирање. Графичките зависности се прикажани на Сл. 70.

Наклоните на кривите за немодифицираната ПМ0-9 (Сл. 70 А) и модифицираната ПМ4 (Сл. 70 Б) електрода, со вредност од 0,708 и 0,697 соодветно, укажуваат дека процесите на двете површини подлежат на мешана дифузионо-атсорпциона контрола.



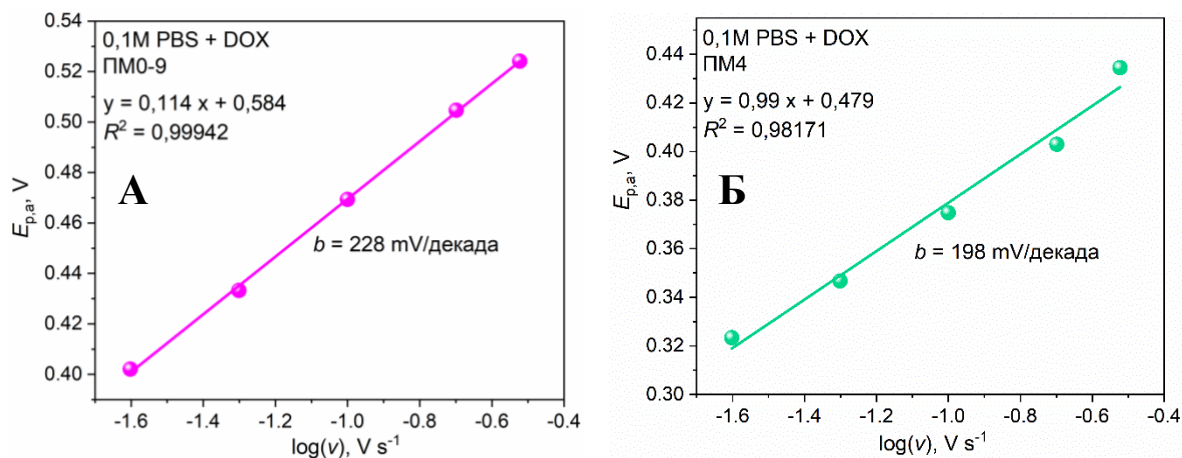
Слика 70. Зависност на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$) за: А – ПМ0-9 и Б – ПМ4

6.2.2.3.3. Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина

Кинетиката на пренос на електрони, како и до сега, е направена преку Тафеловата анализа (Сл. 71) и методот на Николсон. Кинетички параметри се дадени во Табела 31.

Добиените резултати го потврдуваат позитивното влијание на PAA-CNT модификацијата врз кинетиката на реакцијата. ПМ4 електродата покажува значително понизок Тафелов наклон (198 mV/декада) во споредба со немодифицираната ПМ0-9 (228 mV/декада). Ова, заедно со повеќе од петкратното зголемување на константата на брзина

(k^0), јасно укажува на многу побрз пренос на електрони и помала енергија за оксидација на DOX. Овој квантитативен доказ е во целосна согласност со ниската вредност на ΔE_p кај ПМ4 електродата.



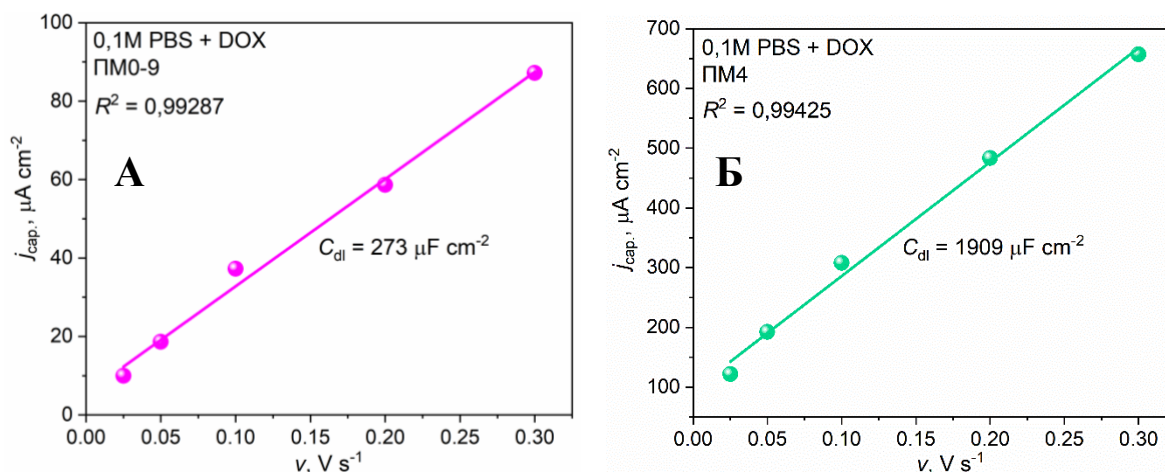
Слика 71. Тафелови дијаграми за: А – ПМ0-9 и Б – ПМ4, кои ја покажуваат зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$)

Табела 31. Споредбени кинетички параметри за ПМ0-8 и ПМ3

Електрода	Тафелов наклон, b / mV/декада	Коефициент на пренос на полнеж, α (при $n = 2$)	Бездимензионален параметар, ψ	Константа на брзина, k^0 / cm/s
ПМ0-9	228	0,87	0,069	$4,48 \times 10^{-6}$
ПМ4	198	0,85	0,380	$2,45 \times 10^{-5}$

6.2.2.3.4. Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој

Електрохемиски активната површина (EASA) на електродите е определена со цел да се направи финална карактеризација на PANI/Carbon електродите. За таа цел, определен е C_{dl} (Сл. 72), а површината е визуелизирана со SEM (Сл. 73). Сите параметри се дадени во Табела 32.



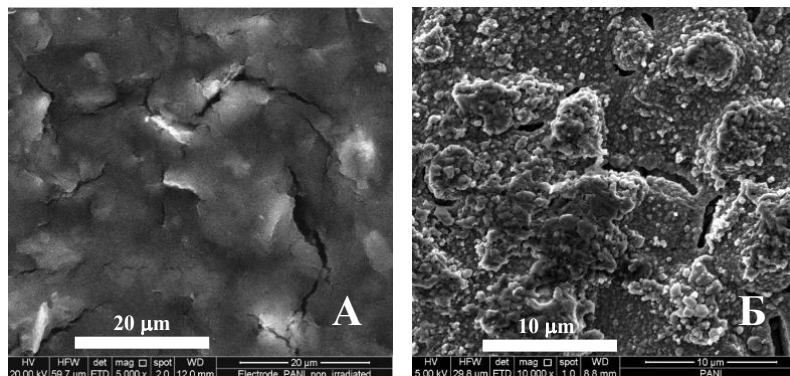
Слика 72. Зависност на капацитивната густина на струја (j_{cap}) од брзината на скенирање (v) за: А – ПМ0-9 и Б – ПМ4

Табела 32. Споредбени параметри на површината за ПМ0-9 и ПМ4

Параметар	ПМ0-9	ПМ4	Фактор на подобрување
C_{dl} / $\mu\text{F}/\text{cm}^2$	273	1909	
Фактор на рапавост (RF)	10,92	76,36	7,0
EASA / cm^2	1,37	6,60	

Резултатите покажуваат импресивно зголемување на активната површина по модификацијата со PAA-CNT. Вредноста на C_{dl} за ПМ4 електродата ($1909 \mu\text{F}/\text{cm}^2$) е за 7 пати поголема од онаа на веќе високо активната ПМ0-9 ($273 \mu\text{F}/\text{cm}^2$). Ова резултира со огромна електрохемиски активна површина од $9,60 \text{ cm}^2$.

Причината за овој експоненцијален раст на површината е видлива од SEM микрографиите. Додека немодифицираната ПМ0-9 електрода (Сл. 73 А) има релативно мазна морфологија, модифицираната ПМ4 површина (Сл. 73 Б) претрпува трансформација. Се формира нерамна тродимензионална структура која се карактеризира со квази-сферични рапави честички, кои поседуваат голема специфична површина. Оваа визуелна трансформација физички го прикажува зголемувањето на вредноста на C_{dl} . Создавањето на оваа структура, која е резултат на одличното совпаѓање и взаемно надополнување помеѓу спроводливиот PANI и јаглеродни наноцевки (PAA-CNT), е директната причина за извонредните карактеристики на ПМ4 системот. Токму оваа огромна, лесно достапна површина, во комбинација со одличната спроводливост на компонентите, овозможува ефикасна адсорпција и брз пренос на електрони, што резултира со висока чувствителност и одлична кинетика.



Слика 73. SEM микрографии од површината на: А – ПМ0-9 и Б – ПМ4

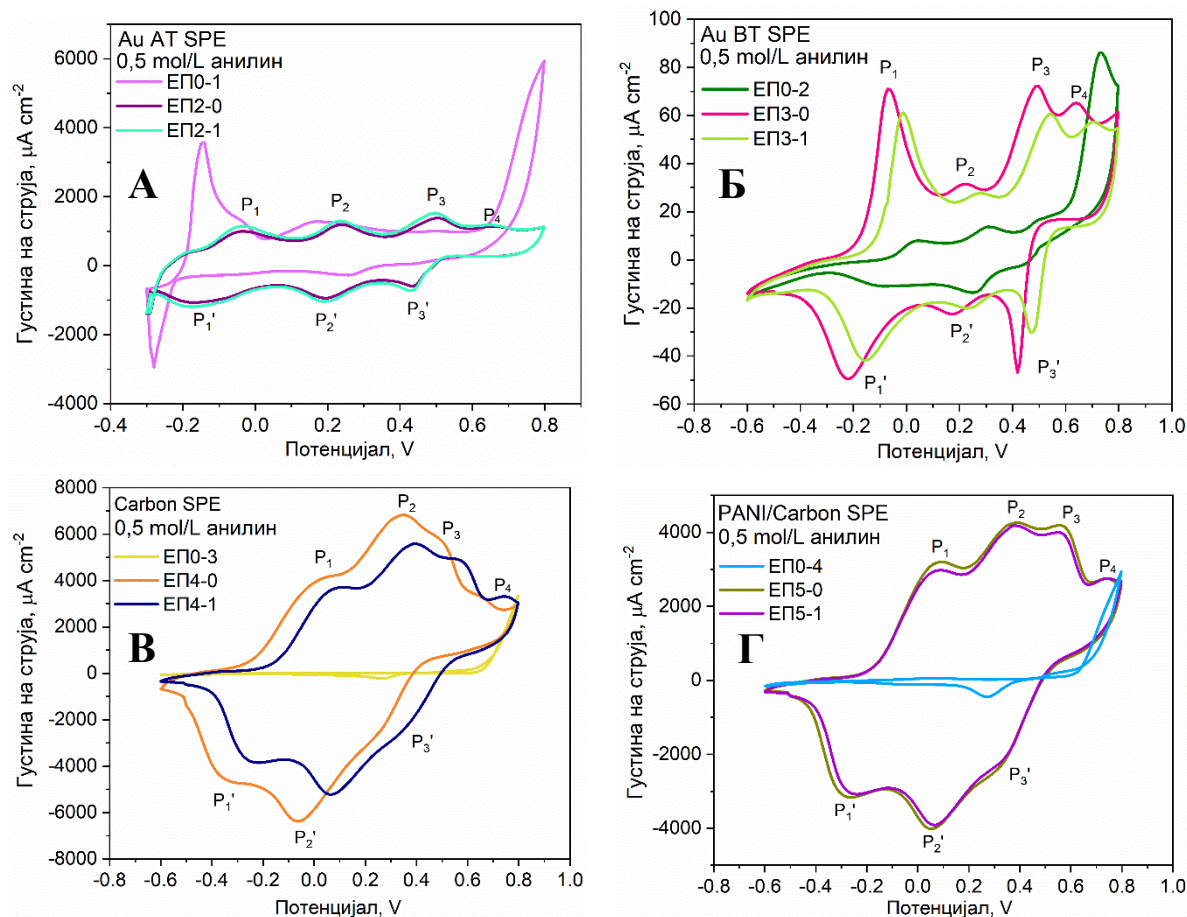
6.2.3. Електрохемиска карактеризација на електроди модифицирани со електрополимеризација (ЕП)

Третата група на анализирани системи се базира на модификација на електродите преку *in situ* електрополимеризација. Оваа техника овозможува контролиран раст на спроводлив полимерен филм директно на површината на електродата, со потенцијал за формирање на високо хомогени слоеви.

Во ова поглавје, фокусот е ставен на електрополимеризација на нанокмпозитен филм од поли(анилин) (PANI) со и без додаток на синтетизираниот нанохибрид, составен од редуциран графен оксид (rGO) и златни наночестички (AuNPs). Спроведена е детална оптимизација на составот на електролитот, при што е утврдено дека оптимални резултати се добиваат со електролит кој содржи 0,05 % *wt.* rGO и 2 % *wt.* AuNPs во 0,5 mol/L анилин. Оваа оптимална формулација е применета на четири различни подлоги: нископорозно злато (Au AT), високопорозно злато (Au BT), јаглеродни (Carbon) и јаглеродни електроди комерцијални модифицирани со поли(анилин) (PANI/Carbon).

6.2.3.1. Синтеза и карактеризација на електрополимеризираниот филм

Процесот на формирање на филмот е следен во реално време со помош на циклична волтаметрија. На Сл. 74 се прикажани финалните волтамограми од процесот на електрополимеризација. Споредбено се прикажани немодифицираните електроди, како и филмовите добиени од чист PANI и нанокмпозитниот електролит (PANI со rGO и AuNPs) на четирите различни електроди.



Слика 74. Циклични волтаммограми од процесот на електрополимеризација на А – Au AT, Б – Au BT, В – Carbon и Г – PANI/Carbon електрода

Карактеристичните парови на редокс пикови (P/P') кои се забележуваат на волтаммограмите се препишуваат на редокс трансформациите на PANI [132]. Првиот пар пикови, P_1/P_1' , се појавува на најниски потенцијали (околу 0,0 – 0,2 V) и одговара на првата редокс трансформација на PANI: оксидацијата на целосно редуцираната, изолаторска леукоемалдинска форма до полуоксидираната, спроводлива емералдинска форма и нејзината реверзибилна реакција. Ова е главната трансформација која е одговорна за спроводливоста на полимерот. Средниот пар пикови (P_2/P_2' и P_3/P_3') кои се појавуваат помеѓу главните трансформации, се поврзуваат со присуство на секундарни продукти или продукти на деградација. Парот P_2/P_2' најчесто се поврзува со редокс парот бензохинон/хидрохинон, кој настанува при преоксидација, додека P_3/P_3' се должи на трансформацијата на *p*-аминофенол во бензохинонимин. Нивното присуство укажува на тоа дека полимерниот филм не е целосно идеален и содржи одредени дефекти. Последниот оксидационски пик P_4 , кога е присутен на највисоки потенцијали, одговара на втората главна редокс трансформација на PANI, која ја претставува понатамошната оксидација на спроводливата емералдинска форма до целосно оксидираната, изолаторска пернигранилинска форма. Трансформацијата емералдин – пернигранилин е позната по тоа што е електрохемиски иреверзибилна или во најдобар случај квази-реверзибилна. Ова значи дека пернигранилинот, откако ќе се формира, многу тешко се редуцира назад во емералдин, а ова го објаснува отсуството на редукцискиот P_4' пик во волтаммограмите.

Од анализата на цикличните волтаммограми, може да се оцени квалитетот на електрополимеризираните филмови земајќи во предвид три клучни критериуми: чув-

ствителност, квалитет на филм (реверзибилност), и стабилност (отпорност на преоксидација).

Најважниот показател за успехот на полимеризацијата е интензитетот на главниот редокс пар (P_1/P_1'). Високите и јасно дефинирани густини на струја на овие пикови (Табела 33) директно укажуваат на формирање на големо количество на електроактивен т.е. чувствителен материјал на површината. Ова е предуслов за висока чувствителност, бидејќи поголема количина на активен материјал овозможува поголем број на места за интеракција со анализаторот.

Понатаму, присуството на средните пикови (P_2/P_2' и P_3/P_3') е исто така добар показател за квалитетот на филмот. Иако нивното појавување е често, нивниот мал интензитет во однос на главниот пик P_1 е знак за „чиста“ полимеризација со минимални споредни реакции и деградација. Филм со доминантни P_1/P_1' пикови и слаби средни пикови се смета за структурно похомоген и поквалитетен.

За сензор кој треба да биде реупотреблив, клучна е реверзибилноста на главната трансформација. Односот на интензитетите на струите на главниот пик пар ($I_{p,a}/I_{p,c}$ за пикот P_1) кој е блиску до идеалната вредност од 1, укажува на висока реверзибилност. Ова значи дека филмот може ефикасно и стабилно да преминува помеѓу своите редокс состојби низ повеќе циклуси без значителна деградација.

Финално, појавата на финалниот оксидациски пик (P_4), кој одговара на формирање на иреверзибилната и изолаторска пернигранилинска форма, е генерално непожелна. Добар електрополимеризиран филм, кога се користи во сензори, треба да работи во потенцијален опсег кој не ја предизвикува оваа трансформација. Затоа, системите каде што овој пик е помалку изразен или поместен кон повисоки потенцијали се сметаат за постабилни и посоодветни.

Врз основа на овие критериуми, може да се направи сеопфатна квантитативна евалуација и селекција на најперспективните системи за понатамошна примена. За таа цел, во Табела 33 се дадени максималните вредности на густината на струјата на струјните пикови и односот на интензитетите на струите на редокс парот (P_1/P_1') за различните ЕП електроди.

Табела 33. Споредбени вредности за густина на струја и однос на интензитетите на струјните пикови на редокс парот (P_1/P_1') за различните ЕП електроди

Електрода	Ознака	$j / \mu\text{A cm}^{-2}$							$I_{p,a}/I_{p,c}$ P_1/P_1'
		P_1	P_2	P_3	P_4	P_1'	P_2'	P_3'	
Au AT	ЕП2-0	1014,42	1170,06	1331,92	1114,04	-1058,57	-893,61	-495,19	0,911
	ЕП2-1	1207,41	1331,92	1549,80	1229,20	-1201,75	-1039,90	-713,07	0,982
Au BT	ЕП3-0	70,53	31,82	72,88	65,27	-49,63	-23,01	-45,92	1,081
	ЕП3-1	61,02	28,38	61,02	57,62	-41,17	-20,11	-29,85	1,059
Carbon	ЕП4-0	4052,07	6791,17	5709,11	3341,26	-4590,83	-6383,70	-2376,91	1,213
	ЕП4-1	3707,98	4559,31	4921,34	3368,42	-3771,36	-5247,31	-2272,78	1,101
PANI/Carbon	ЕП5-0	3206,00	4278,44	4210,53	2775,89	-3166,38	-4071,87	-2441,99	1,155
	ЕП5-1	3010,75	4210,53	3964,35	2739,11	-3033,39	-3890,78	-2325,97	1,099

Анализата на податоците од табелата, во комбинација со волтаммограмите (Сл. 74) и вредностите на густината на струјата (Табела 33), овозможуваат да се избере најперспективниот систем. Во однос на чувствителноста, убедливо највисоките густини на струја се постигнати кај јаглеродните електроди. Конкретно, ЕП4-0 електродата без додаток на нанокмпозит, покажува највисок струен одговор од сите тестираните системи, со максимална густина на струја на пикот P_1 од $4052 \mu\text{A/cm}^2$, потенцирајќи ја ефикасноста на подлогата за понатамошна модификација и/или детекција на анализаторот.

Филмовите базирани на Au AT електродите (ЕП2-0 и ЕП2-1) покажуваат најдобра реверзибилност, со однос $I_{p,a}/I_{p,c}$ најблиску до идеалната вредност од 1 (0,911 и 0,982, соодветно), посочувајќи на формирање на квалитетен филм со минимална деградација.

Клучна мерка за стабилноста е интензитетот на R_4 пикот, кој одговара на формирање на непожелната, изолаторска пернигранилинска форма. Пожелни се системи каде што овој пик е што е можно послаб во однос на главниот пик R_1 . Податоците во Табела 33, покажуваат дека филмовите електрополимеризирани врз Au VT и PANI/Carbon електродите покажуваат значително пониски струи за R_4 во споредба со Au AT и Carbon, што укажува на поголема отпорност кон иреверзибилна оксидација.

Дополнително, од волтаммограмите се забележува дека ефектот на додавање на rGO/AuNPs зависи од подлогата. Кај Au AT електродата, нанокмозитот (EP2-1) ги подобрува и струјата и реверзибилноста. Спротивно на тоа, кај Carbon електродата, нанокмозитот (EP4-1) ја подобрува реверзибилноста, но малку го намалува максималниот струен одговор во споредба со немодифицираната EP4-0.

При изборот на најдобар систем, мора да се направи компромис помеѓу овие три, понекогаш спротивставени, перформанси. EP2-1 Au AT електродата нуди најдобар квалитет, но нејзината чувствителност е умерена, а стабилноста кон преоксидација е слаба (висок R_4 пик). EP5-1 PANI/Carbon електродата нуди добра стабилност (умерен R_4 пик), нејзината чувствителност е значително пониска од онаа на јаглеродните системи. Според тоа, EP4-1 јаглеродната електрода се издвојува како најдобар севкупен кандидат, која претставува оптимален баланс помеѓу сите клучни карактеристики.

6.2.3.2. Евалуација на EP електроди за детекција на доксорубицин

По синтезата, EP електродите се тестирани со цел определување на нивната способност кон детекција на DOX. Меѓутоа, и покрај успешно формираниот полимерен филм, ниту еден од тестираните EP системи не покажува значителен или употреблив аналитички сигнал кон DOX. Отсуството на аналитичкиот сигнал најверојатно се должи на блокирање на површината (пасивизација), каде густоот полимерен филм го спречува пристапот на молекулата на DOX до активните центри. Поради тоа, EP системите се оценети како несоодветни за оваа специфична примена и не се предмет на понатамошна карактеризација.

6.2.4. Електрохемиска карактеризација на електроди модифицирани преку озрачување со бета честички (OE)

Последната група анализирани системи се електроди модифицирани преку озрачување со бета честички. Ова е високо-енергетска техника на модификација која има потенцијал да создаде дефекти и активни места на површината на материјалот, со што може да ги промени неговите електрокаталитички својства.

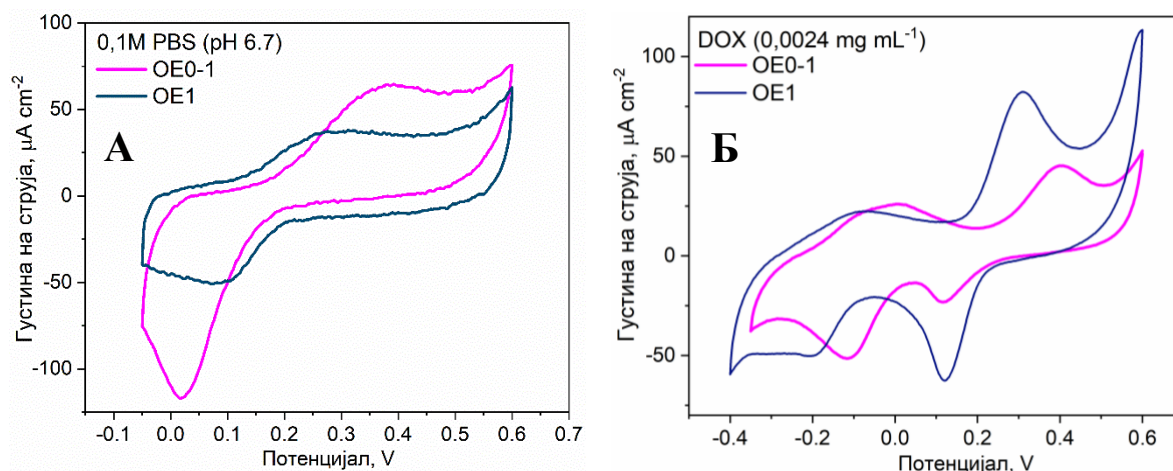
Во рамките на оваа група, анализирани се два система: комерцијална PANI/Carbon електрода и комерцијална CNT/Carbon електрода, при што карактеристиките на озрачените SPEs се споредени со нивните соодветни, неозрачени контролни електроди.

6.2.4.1. Споредбена анализа на PANI/Carbon OE електроди со циклична волтамметрија

Први системи од оваа група преставуваат OE PANI/Carbon електродите, чиј електрохемиски профил е преставен преку цикличните волтаммограми на Сл. 75. Соодветните електрохемиски параметри се прикажани во Табела 34.

Резултатите покажуваат дека озрачувањето со бета честички ги подобрува електрохемиските карактеристики на PANI/Carbon електродите. Од податоците во табелата се забележува е дека чувствителноста е значително зголемена. Густината на струјата на анодниот пик ($j_{p,a}$) кај озрачената OE1 електрода ($82,819 \mu\text{A}/\text{cm}^2$) е за 1,83 пати поголема од онаа кај неозрачената OE0-1 ($45,297 \mu\text{A}/\text{cm}^2$). Покрај ова, разликата во ΔE_p е значително намалена од 282 mV на само 189 mV, а односот на струите е подобрен од 1,949 на 1,348. Иако системот останува квази-реверзибилен, овие промени покажуваат дека озрачувањето води до кинетички поповолен процес, со побрз и

поефикасен пренос на електрони на озрачената површина. Квантитативните податоци сугерираат дека озрачувањето предизвикува промени во полимерните вериги од PANI филмот, кои создаваат нови, активни електрокаталитички места, подобрувајќи ги неговите сензорски карактеристики кон детекција на DOX.



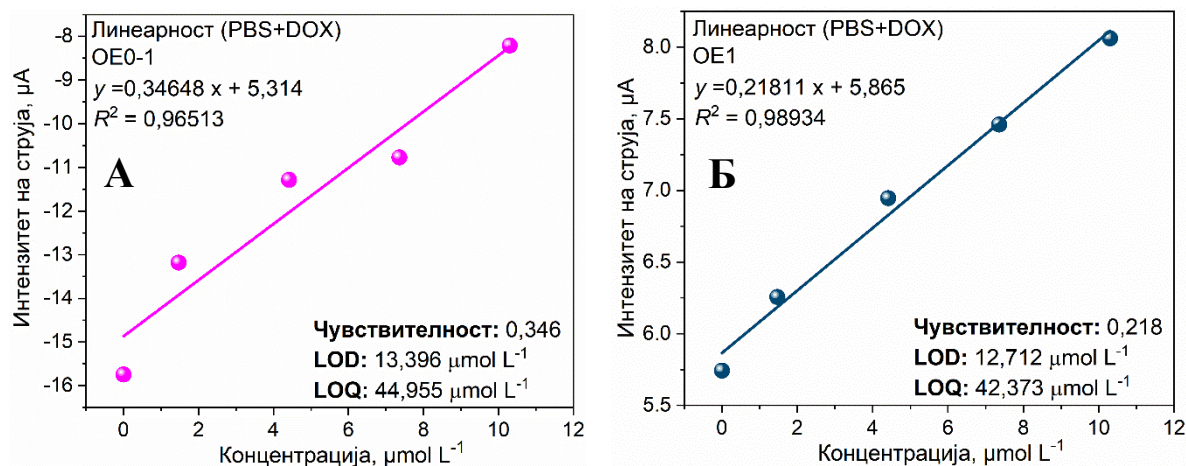
Слика 75. Споредбени циклични волтаммограми за неозрачена (OE0–1) и озрачена PANI/Carbon електрода (OE1) снимени во **А** – 0,1 mol/L фосфатен пуфер (pH 6,7) и **Б** – истиот пуфер со додаток на 0,0024 mg/mL DOX

Табела 34. Споредбени електрохемиски параметри за OE0–1 и OE1

Електрода	$E_{p,a}$ / mV	$E_{p,c}$ / mV	ΔE_p	$E_{1/2}$	$I_{p,a}$ / μA	$I_{p,c}$ / μA	$I_{p,a}/I_{p,c}$	$j_{p,a}$ / $\mu A/cm^2$	$j_{p,c}$ / $\mu A/cm^2$
OE0–1	402	120	282	261	5,692	-2,920	1,949	45,297	-23,237
OE1	309	120	189	214,5	10,407	-7,720	1,348	82,819	-61,437

6.2.4.1.1. Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на OE PANI/Carbon електроди

Калибрационите криви за квантитативната евалуација на PANI/Carbon електродите се прикажани на Сл. 76.

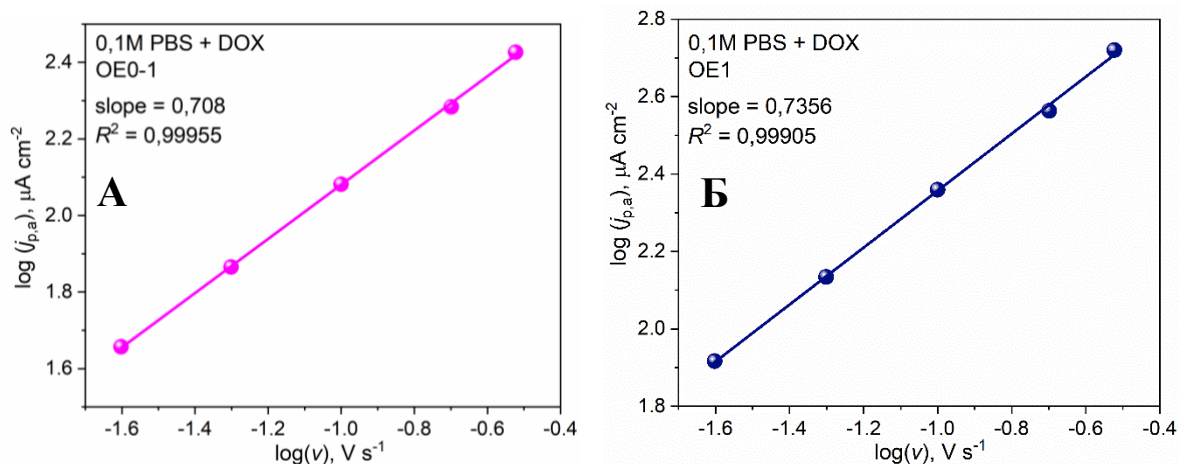


Слика 76. Калибрациони криви за определување на DOX со помош на: **А** – OE0–1 и **Б** – OE1

Иако претходно беше утврдено дека озрачената OE1 електрода дава значително повисока густина на струја, неозрачената OE0–1 електрода (Сл. 76 А) покажува повисока чувствителност ($0,346 \mu A/\mu mol L^{-1}$) во споредба со озрачената OE1 ($0,218 \mu A/\mu mol L^{-1}$). Сепак, озрачената OE1 електрода (Сл. 76 Б) се истакнува со подобра линеарност ($R^2 = 0,9893$) и пониска LOD ($12,712 \mu mol L^{-1}$), па поради тоа се издвојува како преферирана електрода за конструкција на електрохемиски сензор.

6.2.4.1.2. Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција

Механизмот на реакција за PANI/Carbon електродите е определен преку анализа на зависноста на логаритамот на густината на струјата од логаритамот на брзината на скенирање, како што е прикажано на Сл. 77.

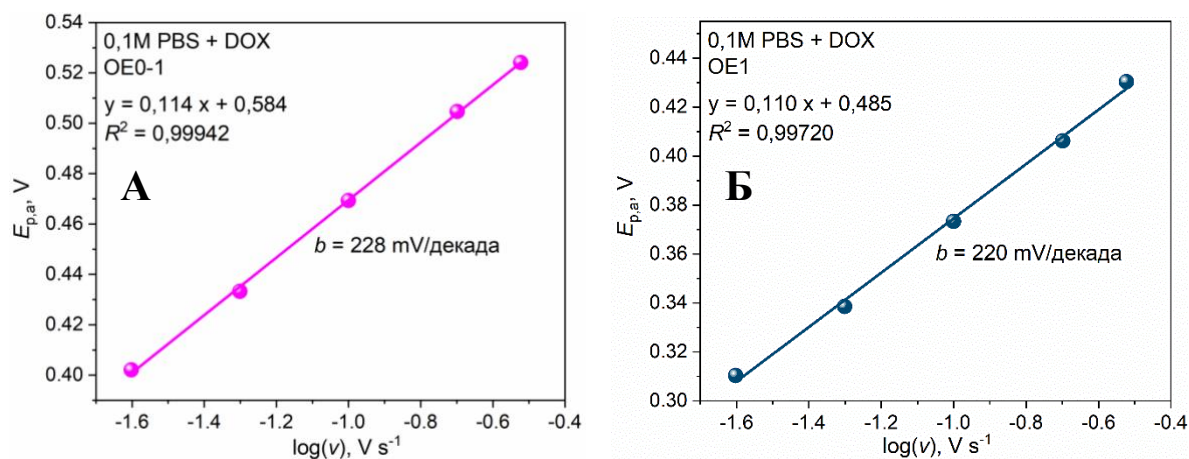


Слика 77. Зависност на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$) за: А – OE0-1 и Б – OE1

Неозрачената OE0-1 електрода (Сл. 77 А) е контролирана од мешан дифузионо-атсорпционен процес, а механизмот е определен од наклонот на правата кој изнесува 0,708. Озрачената OE1 електрода (Сл. 77 Б) покажува сличен механизам, со наклон од 0,736.

6.2.4.1.3. Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина

Тафеловата анализа е спроведена за анализа на кинетиката на пренос на електрони. На Сл. 78 се прикажани Тафеловите дијаграми за неозрачената и озрачената PANI/Carbon електрода, а кинетичките параметри, вклучувајќи ја и константата на брзина (k^0) пресметана според методот на Николсон, се дадени во Табела 35.



Слика 78. Тафелови дијаграми за: А – OE0-1 и Б – OE1, кои ја покажуваат зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$)

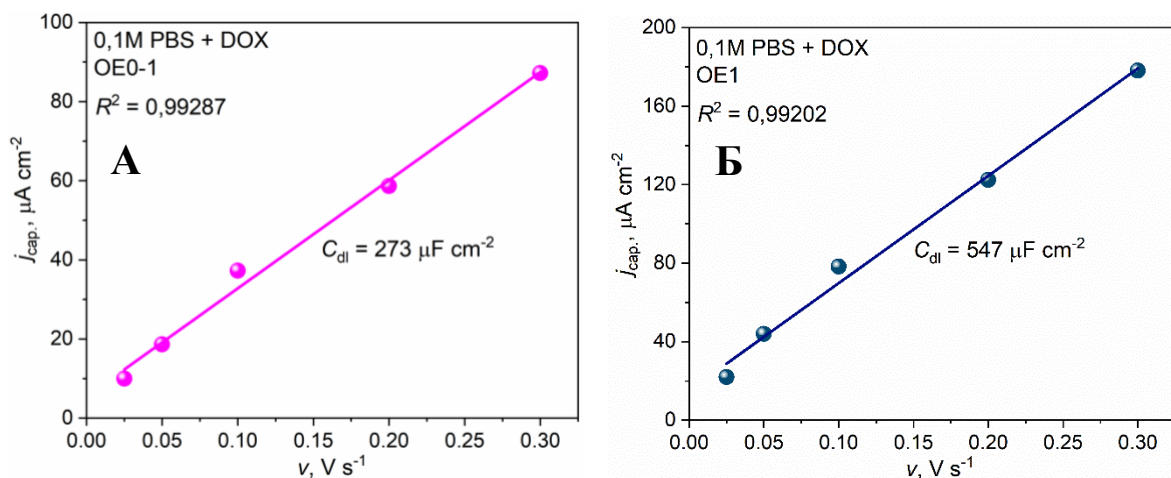
Табела 35. Споредбени кинетички параметри за OE0-1 и OE1

Електрода	Тафелов наклон, $b / \text{mV/декада}$	Коефициент на пренос на полнеж, α (при $n = 2$)	Бездимензионален параметар, ψ	Константа на брзина, $k^0 / \text{cm/s}$
OE0-1	228	0,87	0,069	$4,48 \times 10^{-6}$
OE1	220	0,87	0,143	$9,22 \times 10^{-6}$

ОЕ1 електродата (Сл. 78 Б) поседува незначително понизок Тафелов наклон (220 mV/декада) во споредба со ОЕ0-1 (228 mV/декада), прикажана на Сл. 78 А. Сепак, позначаен увид во кинетиката дава k^0 , која за ОЕ1 е повеќе од двојно поголема. Оваа квантитативна анализа потврдува дека кинетиката на пренос на електрони е значително побрза на озрачената површина. Резултатот е во целосна согласност со претходно забележаното намалување на ΔE_p , потврдувајќи дека озрачувањето успешно ги подобрува електрокаталитичките својства на PANI/Carbon системот.

6.2.4.1.4. Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој

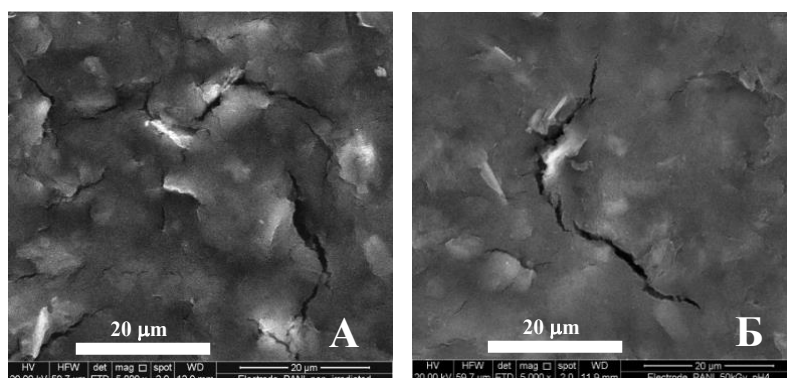
Како и претходно, определувањето на C_{dl} и анализата со SEM се искористени за финална карактеризација на површината на PANI/Carbon електродите. На Сл. 79 се прикажани графиците за определување на C_{dl} , додека на Сл. 80 се дадени SEM микрографиите. Сите изведени параметри се сумирани во Табела 36.



Слика 79. Зависност на капацитивната густина на струја (j_{cap}) од брзината на скенирање (v) за: А – ОЕ0-1 и Б – ОЕ1

Табела 36. Споредбени параметри на површината за ОЕ0-1 и ОЕ1

Параметар	ОЕ0-1	ОЕ1	Фактор на подобрување
$C_{dl} / \mu\text{F}/\text{cm}^2$	273	547	
Фактор на рапавост (RF)	10,92	21,88	2,0
EASA / cm^2	1,37	2,75	



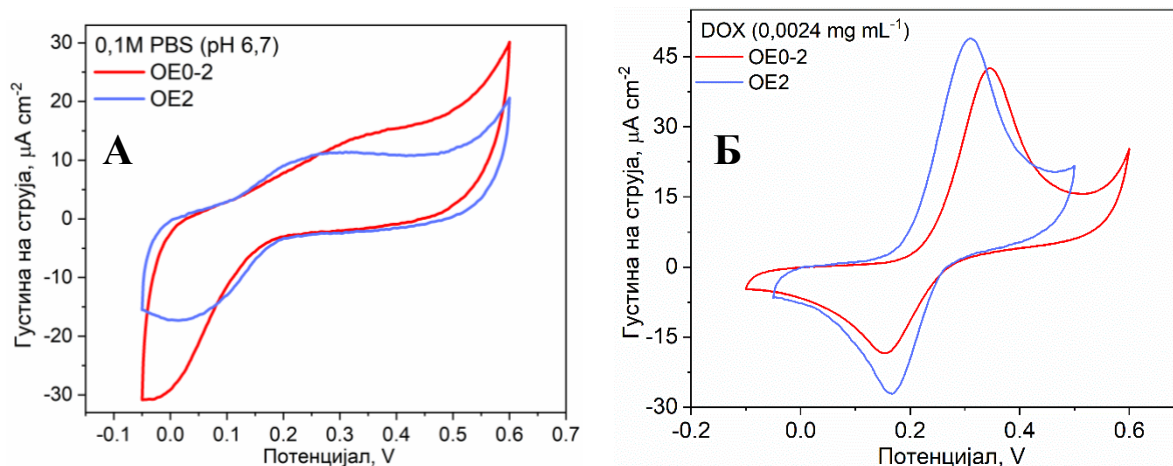
Слика 80. SEM микрографии од површината на: А – ОЕ0-1 и Б – ОЕ1

Добиените резултати покажуваат дека озрачувањето со бета честички двојно ја зголемува електрохемиски активната површина на PANI/Carbon електродите. Вредноста на C_{dl} расте од $273 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ кај неозрачената, на $547 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ кај озрачената ОЕ1 електрода. На SEM микрографиите не се забележуваат промени во морфологијата на електродите.

Големата активна површина е физичката основа која ги објаснува претходно забележаните подобрувања во чувствителноста и кинетиката на OE1 системот.

6.2.4.2. Споредбена анализа на CNT/Carbon OE електроди со циклична волтамметрија

Последно анализираниите системи од оваа докторска дисертација се јаглеродните електроди комерцијално модифицирани со јаглеродни наноцевки (CNT/Carbon). Волтаммограмите за неозрачената (OE0-2) и озрачената (OE2) електрода се прикажани на Сл. 81, а изведените електрохемиски параметри се дадени во Табела 37.



Слика 81. Споредбени циклични волтаммограми за неозрачена (OE0-2) и озрачена CNT/Carbon електрода (OE2) снимени во **А** – 0,1 mol/L фосфатен пуфер (pH 6,7) и **Б** – истиот пуфер со додаток на 0,0024 mg/mL DOX

Табела 37. Споредбени електрохемиски параметри за OE0-2 и OE2

Електрода	$E_{p,a}$ / mV	$E_{p,c}$ / mV	ΔE_p	$E_{1/2}$	$I_{p,a}$ / μA	$I_{p,c}$ / μA	$I_{p,a}/I_{p,c}$	$j_{p,a}$ / $\mu A/cm^2$	$j_{p,c}$ / $\mu A/cm^2$
OE0-2	346	154	192	250	5,340	-2,307	2,315	42,500	-18,360
OE2	309	166	143	237,5	6,128	-3,425	1,789	48,763	-27,258

Резултатите уште еднаш покажуваат дека озрачувањето со бета честички има севкупно позитивен ефект врз карактеристиките на CNT/Carbon и PANI/Carbon електродите, подобрувајќи ги и чувствителноста и кинетиката. Густината на струјата на анодниот пик кај озрачената OE2 електрода ($48,763 \mu A/cm^2$) е за околу 15 % поголема од онаа кај неозрачената OE0-2 ($42,500 \mu A/cm^2$). Истовремено, озрачувањето значително ја подобрува кинетиката на реакцијата, со намалување на ΔE_p од 192 mV на само 143 mV.

Овој позитивен ефект се припишува на создавањето на голем број на дефекти и активни електрокаталитички места на површината на јаглеродните наноцевки. Бета озрачувањето предизвикува раскинување на постоечките sp^2 врски и формирање на структурни дефекти кои делуваат како високореактивни центри за детекција на DOX.

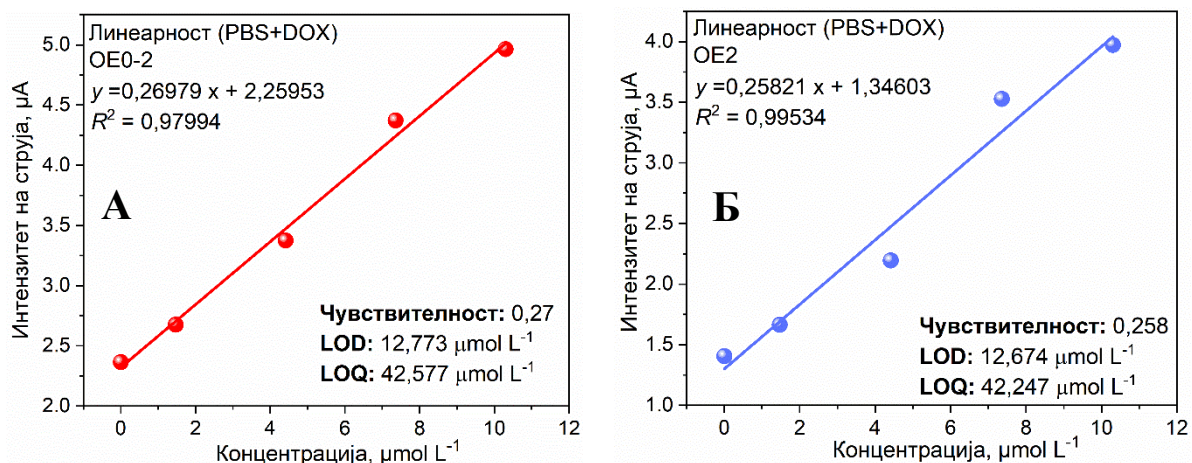
При споредба со претходно анализираниите озрачени PANI/Carbon електроди (OE1), озрачената CNT електрода (OE2), иако со помала чувствителност, се истакнува со убедливо најдобра кинетика ($\Delta E_p = 143$ mV) од сите тестирани озрачени системи.

6.2.4.2.1. Квантитативна анализа и определување на аналитичките перформанси на OE CNT/Carbon електроди

Калибрационите криви за квантификација на CNT/Carbon електродите се прикажани на Сл. 82.

Анализата на истите покажува дека двете електроди, неозрачената (OE0-2) и озрачената (OE2), имаат речиси идентични аналитички перформанси. Чувствителноста е минимално повисока кај неозрачената OE0-2 електрода ($0,27 \mu A/\mu mol L^{-1}$) во споредба со озрачената OE2 ($0,258 \mu A/\mu mol L^{-1}$). Од друга страна, озрачената OE2 електрода се

истакнува со подобра линеарност ($R^2 = 0,9953$) и релативно пониска граница на детекција ($12,674 \mu\text{mol L}^{-1}$). Иако озрачувањето ја подобрува кинетиката (како што беше видно од CV), овие резултати покажуваат дека таа промена не се преведува во значително подобрување на клучните аналитички параметри како чувствителноста и границата на детекција. Врз основа на овие податоци, може да се заклучи дека и двете електроди се високо ефикасни, но неозрачената OE0-2 електрода нуди благо повисока чувствителност, додека озрачената OE2 подобра прецизност и линеарност.

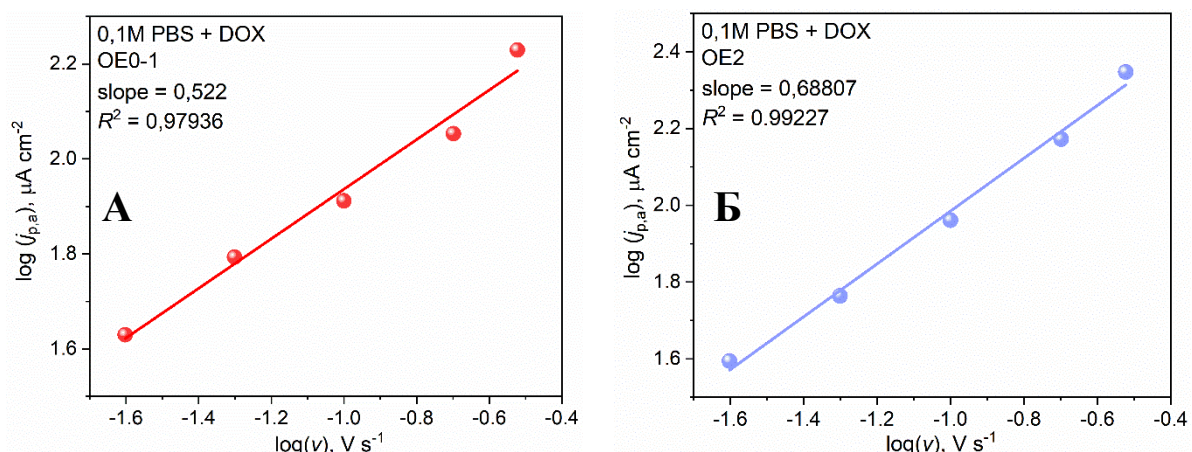


Слика 82. Калибрациони криви за определување на DOX со помош на: А – OE0-2 и Б – OE2

6.2.4.2.2. Кинетичка анализа и определување на механизам на реакција

Механизмот на реакција за CNT/Carbon електродите е определен преку анализа на зависноста на логаритамот на густината на струјата од логаритамот на брзината на скенирање, како што е прикажано на Сл. 83.

За OE0-1 (Сл. 83 А), наклонот на правата изнесува 0,522, што потврдува дека процесот на оваа електрода е контролиран од дифузија. По озрачувањето, кај OE2 електродата (Сл. 83 Б), наклонот се зголемува на 0,688, сугерирајќи на промена на механизмот кон мешана дифузионо-атсорпциона контрола. Ова сугерира дека озрачувањето на јаглеродните наноцевки ја менува нивната структура преку создавање на дефекти, кои ја зголемуваат способноста на електродата да го атсорбира аналитот, а со тоа атсорпцијата добива позначајна улога во целокупниот механизам на реакција.

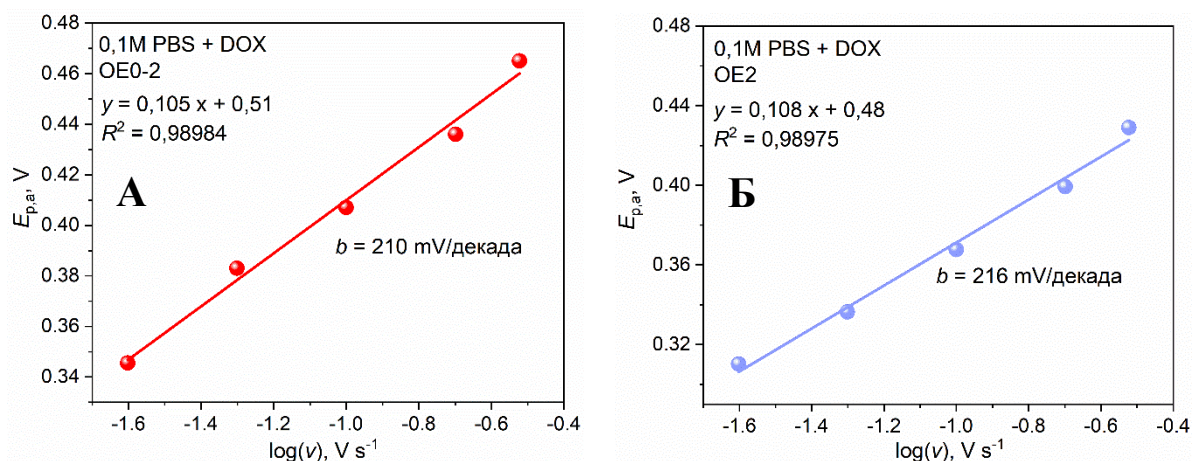


Слика 83. Зависност на логаритамот на густината на струјата на анодниот пик ($\log(j_{p,a})$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$) за: А – OE0-2 и Б – OE2

6.2.4.2.3. Определување на Тафелов наклон и хетерогена константа на брзина

Тафеловата анализа е направена со цел определување на кинетиката на пренос на електрони. За истата цел, определена е и хетерогената константа на брзина (k^0). Тафе-

ловите дијаграми се прикажани на Сл. 84, а соодветните кинетички параметри се дадени во Табела 38.



Слика 84. Тафелови дијаграми за: А – OE0-2 и Б – OE2, кои ја покажуваат зависноста на потенцијалот на анодниот пик ($E_{p,a}$) од логаритамот на брзината на скенирање ($\log(v)$)

Табела 38. Споредбени кинетички параметри за ПМ0-8 и ПМ3

Електрода	Тафелов наклон, b / mV/декада	Коефициент на пренос на полнеж, α (при $n = 2$)	Бездимензионален параметар, ψ	Константа на брзина, k^0 / cm/s
OE0-2	210	0,86	0,138	$8,87 \times 10^{-6}$
OE2	216	0,86	0,235	$1,51 \times 10^{-5}$

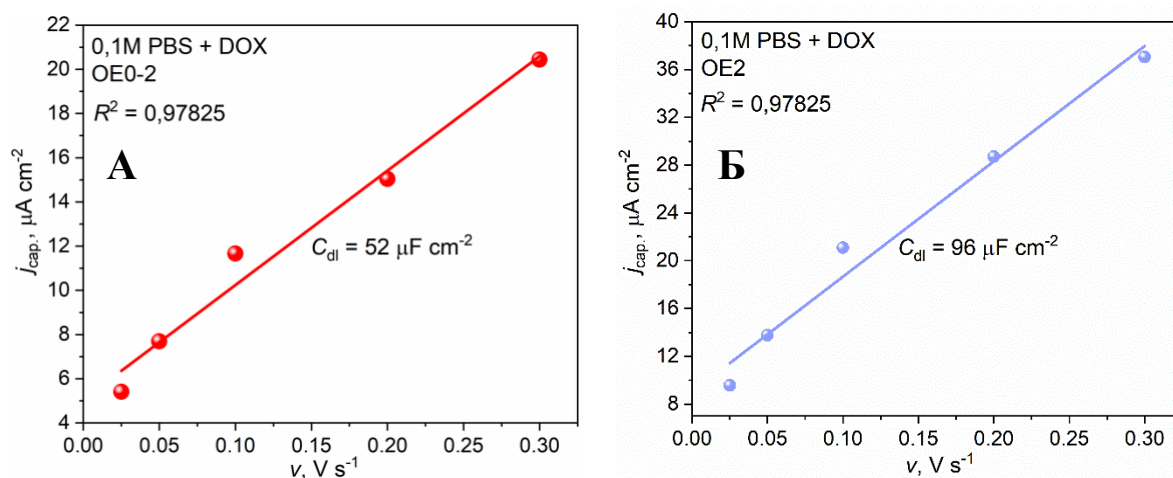
Според Тафеловата анализа, вредностите на Тафеловиот наклон (b) се речиси идентични за двете електроди, со благо зголемување кај озрачената OE2 електрода (216 mV/декада). Ова би сугерирало дека кинетиката не е значително подобрена. Сепак, овој резултат се противи на резултатите добиени од цикличната волтамметрија (Табела 37), каде беше забележано видно намалување на ΔE_p од 192 mV на 143 mV, покажувајќи ја значително подобрената кинетика. Оваа привидна спротивставеност се објаснува со природата на електродата. Квантитативната анализа преку k^0 ја потврдува анализата од ΔE_p , покажувајќи речиси двојно зголемување на брзината на реакцијата кај озрачената електрода. Бидејќи ΔE_p и k^0 се подиректни и посигурни мерки за кинетиката кај квази-реверзибилните системи, може со сигурност да се заклучи дека озрачувањето навистина ја подобрува кинетиката. Причината за малите промени во b лежи во комплексниот, мешан дифузионо-атсорпционен механизам, каде класичната Тафелова анализа (која е најпрецизна за целосно иреверзибилни системи) не може целосно да го опише процесот. Затоа, намалувањето на ΔE_p и зголемувањето на k^0 остануваат најзначајни показатели за подобрената кинетика.

6.2.4.2.4. Определување на електрохемиски активна површина (EASA) преку капацитетот на двојниот слој

Финалната карактеризација на површината на CNT/Carbon електродите, како и кај останатите електроди е направена преку определување на C_{dl} и анализа со SEM. На Сл. 85 е прикажано графичкото определување на C_{dl} , додека на Сл. 86 се дадени SEM микрографиите од површината на електродите. Изведените параметри за електродите се дадени во Табела 39.

Озрачувањето на електродата со бета честички доведува до речиси двојно зголемување на нејзината електрохемиски активната површина, при што вредноста на C_{dl} расте од $52 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ на $96 \mu\text{F}/\text{cm}^2$. SEM микрографиите служат како потврда на овој заклучок. Додека неозрачената површина (Сл. 86 А) покажува агломерирана и распространета мрежа од наночевки, озрачената површина (Сл. 86 Б) изгледа

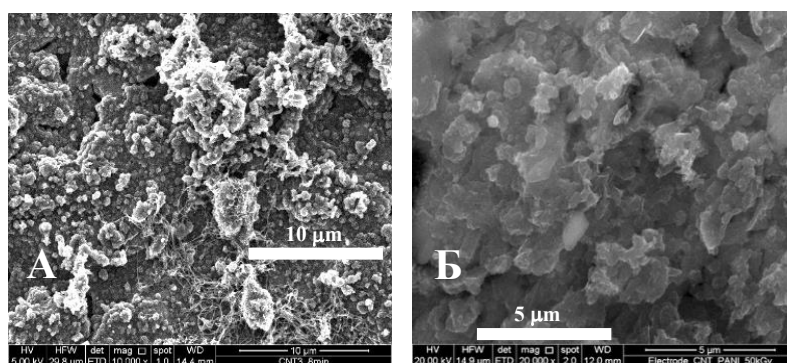
покомпактно и поинтегрирано. Се чини дека озрачувањето предизвикува одредено приближување на наноцевките. Ова создава покомпактна и поспроводлива структура која се манифестира преку зголемената вредност на C_{dl} .



Слика 85. Зависност на капацитивната густина на струја (j_{cap}) од брзината на скенирање (v) за: А – OE0-2 и Б – OE2

Табела 39. Споредбени параметри на површината за OE0-2 и OE-2

Параметар	OE0-2	OE2	Фактор на подобрување
$C_{dl} / \mu F/cm^2$	52	96	
Фактор на рапавост (RF)	2,08	3,84	1,85
EASA / cm^2	0,261	0,483	



Слика 86. SEM микрографии од површината на: А – OE0-2 и Б – OE2

6.2.5. Заклучок од резултатите добиени при електрохемиската карактеризација на електродите

Во рамките на ова поглавје, спроведена е сеопфатна и систематска електрохемиска карактеризација на четири групи модифицирани електроди (KM, PM, EP, OE) со цел да се идентификува системот со најдобри карактеристики за детекција на DOX. Анализата покажа дека електрополимеризираните (EP) системи, иако успешно синтетизирани, се несоодветни за оваа примена поради целосно отсуство на аналитички сигнал. Останатите три групи дадоа повеќе ветувачки кандидати, чии клучни перформанси се сумирани во Табела 40 за финална споредба. Во табелата се вклучени само најдобрите претставници од секоја релевантна подгрупа.

Од сеопфатната анализа на модифицираните системи, може да се извлечат неколку клучни заклучоци. Убедливо најдобри карактеристики во категориите на чувствителност и активна површина покажува системот ПМ4. Огромната активна површина ($9,60 \text{ cm}^2$) и највисоката чувствителност ($0,615 \mu A/\mu mol L^{-1}$) го прават

најмоќниот сензор развиен во рамките на оваа студија. Од областа на најдобра кинетика, најбрзиот пренос на електрони определен од најмалата разлика во потенцијалите на пиковите, е забележан кај системот КМ6 ($\Delta E_p = 79$ mV), веднаш следен од ПМ4 (116 mV). Во однос на механизмот на реакција, единствениот систем кој покажува речиси идеална адсорпциона контрола, што е високо посакувана карактеристика за пред-концентрација на аналитот, е системот КМ6. Последно, најниската граница на детекција меѓу модифицираните кандидати е постигнат со системот ПМ1.

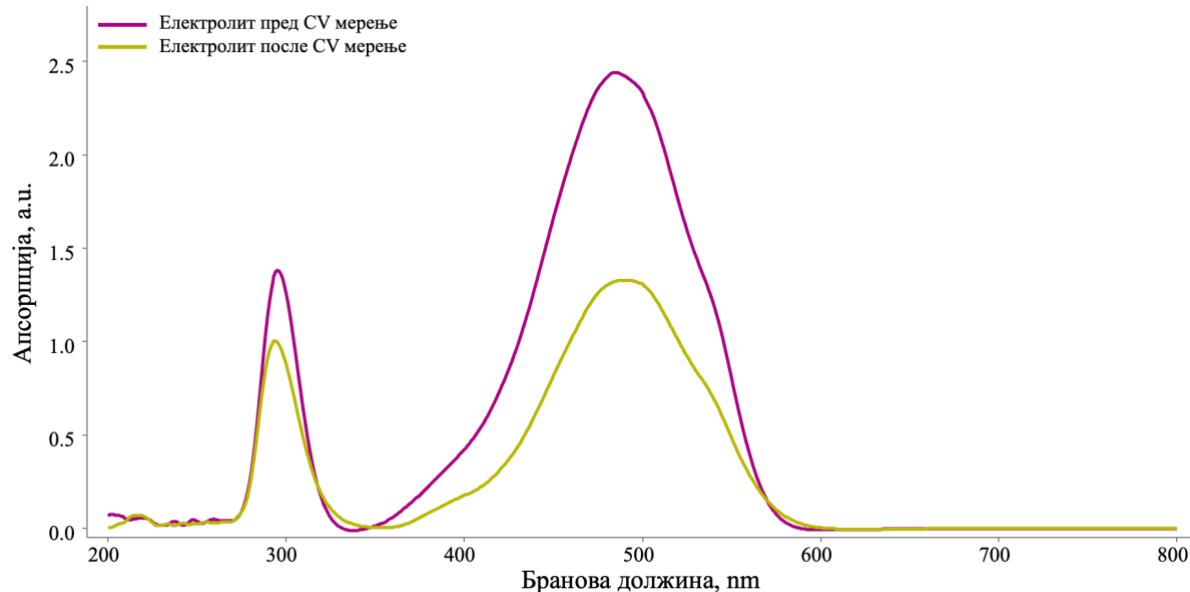
Табела 40. Споредба на аналитички и кинетички параметри на најперспективните електроди

Систем	Модификација	Чувствителност $\mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$	LOD / $\mu\text{mol/L}$	Кинетика, ΔE_p / mV	Механизам	EASA / cm^2
КМ6	rGO/AuNPs/Carbon	0,219 – 0,253	10,39	79	Адсорпција	1,33
ПМ1	Chitosan/G	0,088	9,82	168	Адсорпција	1,70
ПМ4	РАА-CNT/PANI	0,615	12,68	116	Мешан	9,60
ОЕ1	Озрачена PANI/Carbon	0,218	12,71	189	Мешан	2,75
ОЕ2	Озрачена CNT/Carbon	0,258	12,67	143	Мешан	0,483

Иако повеќе системи покажуваат извонредни карактеристики, системот ПМ4 се издвојува како севкупно најсупериорен кандидат, нудејќи најдобра комбинација од екстремно висока чувствителност и најбрза кинетика, кои се директна последица на огромната активна површина создадена преку успешната комбинација на спроводливиот PANI и спроводливите CNT распоредени во РАА матрица.

6.3. Спектрална карактеризација на електролит

Со цел да се испита стабилноста на електролитниот раствор и да се утврдат промените кои ги предизвикуваат електрохемиските мерења, направена е анализа со ултравиолетова-видлива (UV-Vis) спектроскопија. Спектрите на растворот од DOX (0,002 mg/mL во 0,1 mol/L PBS, pH 6,7) се снимени пред и по серија на последователни волтаметриски мерења. На Сл. 87 се прикажани споредбените UV-Vis спектри на електролитот, а квантитативните податоци се дадени во Табела 41.



Слика 87. UV-Vis спектар на електролит, пред (розева крива) и по (жолта крива) струјниот третман со CV

Табела 41. Споредбени вредности на брановите должини (λ) и апсорпцијата (A) на карактеристичните пикови на DOX пред и по електрохемискиот третман

Состојба	Пик 1		Пик 2	
	λ / nm	A / a.u.	λ / nm	A / a.u.
Пред CV мерење	294,75	1,388	485,35	2,446
По CV мерење	293,94	0,988	485,35	1,299

Анализата на спектрите сугерира дека електролитот претрпува промени предизвикани од струјата за време на електрохемиското мерење. Квантитативните податоци покажуваат дека доаѓа до значително опаѓање на апсорпцијата на двата карактеристични пика, особено на главниот пик на ~ 486 nm, каде апсорпцијата се намалува од 2,446 на 1,299. Иако DOX генерално подлегнува на реверзибилни редокс процеси (како што беше дискутирано во 6.2.), опаѓањето на апсорпцијата укажува на делумна или привремена атсорпција на DOX на површината на електродата, што резултира со намалување на неговата ефективна концентрација во растворот. Ова е во директна корелација со претходно утврдениот атсорпционо-контролиран механизам на реакција кај најдобрите електроди. Токму таа ефикасна атсорпција, која е пожелна за зголемување на чувствителноста на сензорот, е причината за намалувањето на концентрацијата на анализитот во околниот раствор. Дополнително, максималната апсорпција за двете редокс форми на DOX се јавува при λ од 485 nm за оксидираната и 480 – 490 nm за редуцираната форма, во зависност од условите во средината [194–196]. Максималната апсорпција забележана на Сл. 87 одговара на оксидираната (хинонска) форма на DOX, а не на неговиот продукт на редукција – доксорубицинол.

6.4. Компаративна валидација на најперспективните сензорски системи

6.4.1. Вовед во компаративната валидација

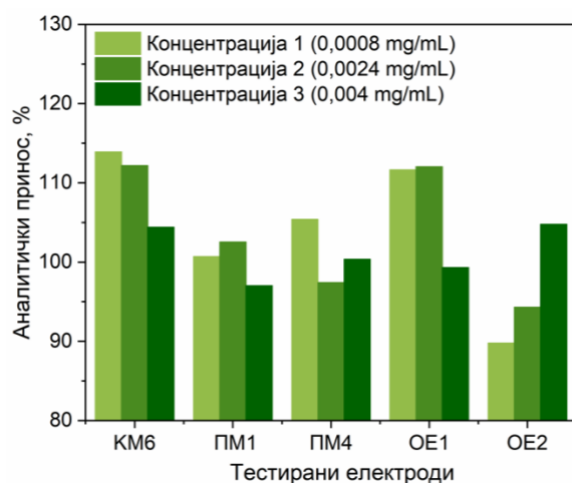
Во поглавје 6.2. од оваа докторска дисертација, преку детална електрохемиска карактеризација, идентификувани се неколку сензорски системи од различните групи на модификации кои се издвојуваат со одлични сензорски карактеристики. Како што е сумирано во Табела 40, системите КМ6, ПМ1, ПМ4, ОЕ1 и ОЕ2 покажаа извонредни карактеристики во различни аспекти, како што се чувствителност, кинетика или механизам на реакција.

Во последниот дел од докторското истражување спроведена е компаративна валидација на овие финални кандидати. Целта е да се утврди не само кој систем нуди не само одлични електрохемиски карактеристики, туку и најдобар баланс на прецизност, точност, селективност и стабилност за практична примена.

Параметрите како линеарност, како и граница на детекција и квантификација веќе беа детално утврдени и нема да бидат повторно анализирани. Фокусот на оваа валидација ќе биде ставен на клучните параметри кои ја дефинираат сигурноста на методот: точност, прецизност, стабилност, робустност и селективност.

6.4.2. Споредбена анализа на точноста на електродите

Точноста на секоја од електродите е определена преку студија на аналитички принос (англ. „*recovery*”). За секоја електрода, пресметан е процентот на аналитичкиот принос при три различни, познати концентрации на DOX (0,0008, 0,0024 и 0,004 mg/mL). Резултатите се прикажани на Сл. 88.



Слика 88. Споредбен приказ на процентот на аналитички принос на селектираните електроди на три различни концентрациски нивоа

Дијаграмот визуелно покажува дека повеќето од тестираните електроди се одликуваат со прифатлива точност, со вредности за аналитички принос кои се движат околу идеалниот опсег од 90 – 110 %.

Системите ПМ4 и ПМ1 покажуваат најконзистентна точност низ сите три концентрациски нивоа, со вредности кои се многу блиску до 100 %. Ова укажува на минимална систематска грешка и висока сигурност на овие методи. Спротивно на тоа, КМ6 и ОЕ1 покажуваат благо повисоки вредности на аналитички принос (особено на пониските концентрации), кои константно се над 110 %. Ова укажува на постоење на мала, позитивна систематска грешка, односно овие електроди имаат тенденција да даваат малку повисоки резултати од реалните. Системот ОЕ2, пак, покажува благо пониски вредности, што укажува на мала, негативна систематска грешка.

6.4.3. Споредбена анализа на прецизноста на електродите

Прецизноста, како мерка за согласувањето помеѓу серија на мерења, е евалуирана на неколку нивоа со цел да се добие целосна слика за варијабилноста на резултатите и сигурноста на секоја од селектираните електроди. Анализата опфаќа повторливост (интра-дневна прецизност), прецизност на методата, интермедиерна прецизност и репродуцибилност.

6.4.3.1. Повторливост (интра-дневна прецизност)

Првото ниво на евалуација, повторливоста, се однесува на варијабилноста на резултатите кога анализите се изведуваат при најконстантни можни услови. Овој параметар примарно ја проценува стабилноста на инструменталниот одговор. За таа цел, за секоја од петте селектирани електроди изведени се по десет последователни волтаметриски мерења на ист раствор од DOX со концентрација од 0,0024 mg/mL. Резултатите, изразени како средна вредност (\bar{x}), стандардна девијација (σ) и релативна стандардна девијација (RSD) на измерените струи на пикот, се сумирани во Табела 41.

Табела 41. Резултати од повторливоста (интра-дневна прецизност) за селектираните електроди

Ознака	Тип на модификација	\bar{x}	σ	RSD / %
KM6	rGO/AuNPs/Carbon	2,404	0,078	3,251
ПМ1	Chitosan/G	2,607	0,088	3,384
ПМ4	PAA-CNT/PANI	18,983	0,235	1,239
OE1	Озрачена PANI/Carbon	10,469	0,128	1,225
OE2	Озрачена CNT/Carbon	6,245	0,192	3,072

Резултатите од студијата за повторливост покажуваат одлична прецизност за сите пет селектирани сензорски системи. Добиените вредности за RSD се движат во многу тесен опсег, од 1,225 % до 3,384 % и се во рамки на границата на прифатливост (најчесто 2 – 5 %), што потврдува дека сите пет електроди имаат високо стабилен и конзистентен инструментален одговор. Најниската RSD вредност (најдобра прецизност) е забележана кај озрачената PANI/Carbon електрода (OE1), што укажува на исклучително стабилна површина по процесот на озрачување.

6.4.3.2. Прецизност на метода

Ова ниво на прецизност опфаќа поширок аспект, вклучувајќи ја и варијабилноста која произлегува од целокупниот аналитички процес, вклучувајќи ги и чекорите на подготовка на примерокот. За таа цел, подготвени се десет поединечни раствори на DOX (0,0024 mg/mL), и секој од нив е анализиран со секоја од петте електроди. Овој тест дава поцелосна слика за прецизноста на целокупната аналитичка постапка. Резултатите, изразени како \bar{x} , σ и RSD на измерените струи на пикот, се сумирани во Табела 42.

Табела 42. Резултати од прецизноста на методата за селектираните електроди

Ознака	Тип на модификација	\bar{x}	σ	RSD / %
KM6	rGO/AuNPs/Carbon	2,595	0,155	5,987
ПМ1	Chitosan/G	2,582	0,177	6,863
ПМ4	PAA-CNT/PANI	18,460	1,136	6,155
OE1	Озрачена PANI/Carbon	10,609	0,430	4,052
OE2	Озрачена CNT/Carbon	6,270	0,354	5,643

Очекувано, RSD вредностите за прецизноста на методот се благо повисоки од оние за повторливоста, бидејќи ја вклучуваат и варијабилноста од подготовката на растворите. Сепак, сите вредности се движат околу 5 %, што потврдува дека целокупната аналитичка постапка, вклучувајќи ја и подготовката, е високо прецизна и репродуцибилна.

Електродите OE1 и OE2 покажуваат одлични резултати, укажувајќи на тоа дека нивната површина е стабилна и не е подложна на варијации во експерименталната процедура, што ги прави исклучително робустни и сигурни за рутинска употреба.

6.4.3.3. Интермедиерна прецизност

Интермедиерната прецизност дава увид во перформансите на методот кога тој се користи во подолг временски период, под влијание на очекувани варијации како што се различни денови на анализа. За таа цел, беше правена по една анализа на ден, на свежо подготвен раствор, во период од пет последователни дена. Добиените резултати, изразени како \bar{x} , σ и RSD на измерените струи на пикот, се сумирани во Табела 43.

Табела 43. Резултати од интермедиерната прецизност на селектираните електроди

Ознака	Тип на модификација	\bar{x}	σ	RSD / %
KM6	rGO/AuNPs/Carbon	2,284	0,168	7,364
PM1	Chitosan/G	2,512	0,207	8,226
PM4	PAA-CNT/PANI	18,608	1,515	8,140
OE1	Озрачена PANI/Carbon	10,584	0,754	7,121
OE2	Озрачена CNT/Carbon	6,320	0,554	8,760

Резултатите од студијата за интермедиерна прецизност покажуваат дека сите системи задржуваат задоволителна прецизност и при мерења изведени низ различни денови, со RSD вредности кои се движат од 7,121 % до 8,760 %. Овие вредности се во рамките на прифатливите граници за ваков тип на анализа (најчесто до 10 – 15 %) и се клучен показател за стабилноста и сигурноста на сензорите за рутинска примена.

Најдобра интермедиерна прецизност која се манифестира преку најниска RSD вредност, покажува озрачената PANI/Carbon електрода (OE1), што сугерира дека овој систем е најмалку подложен на варијации кои произлегуваат од дневните промени во експерименталните услови.

6.4.3.4. Репродуцибилност

Репродуцибилноста е најстрогиот тест за прецизност и ја оценува согласноста на резултатите кога методот се применува во различни лаборатории, со различна опрема. За таа цел, беа направени по три мерења на два поединечни раствори во две лаборатории: на Технолошко – металуршкиот факултет во Скопје (со Spelec Dropsens инструмент) и на Институтот за технички науки во Белград (со Ivium Vertex One инструмент). Добиените резултати од двете лаборатории, изразени како \bar{x} , σ и RSD на измерените струи на пикот, се сумирани во Табела 44.

Табела 44. Резултати од репродуцибилноста на селектираните електроди

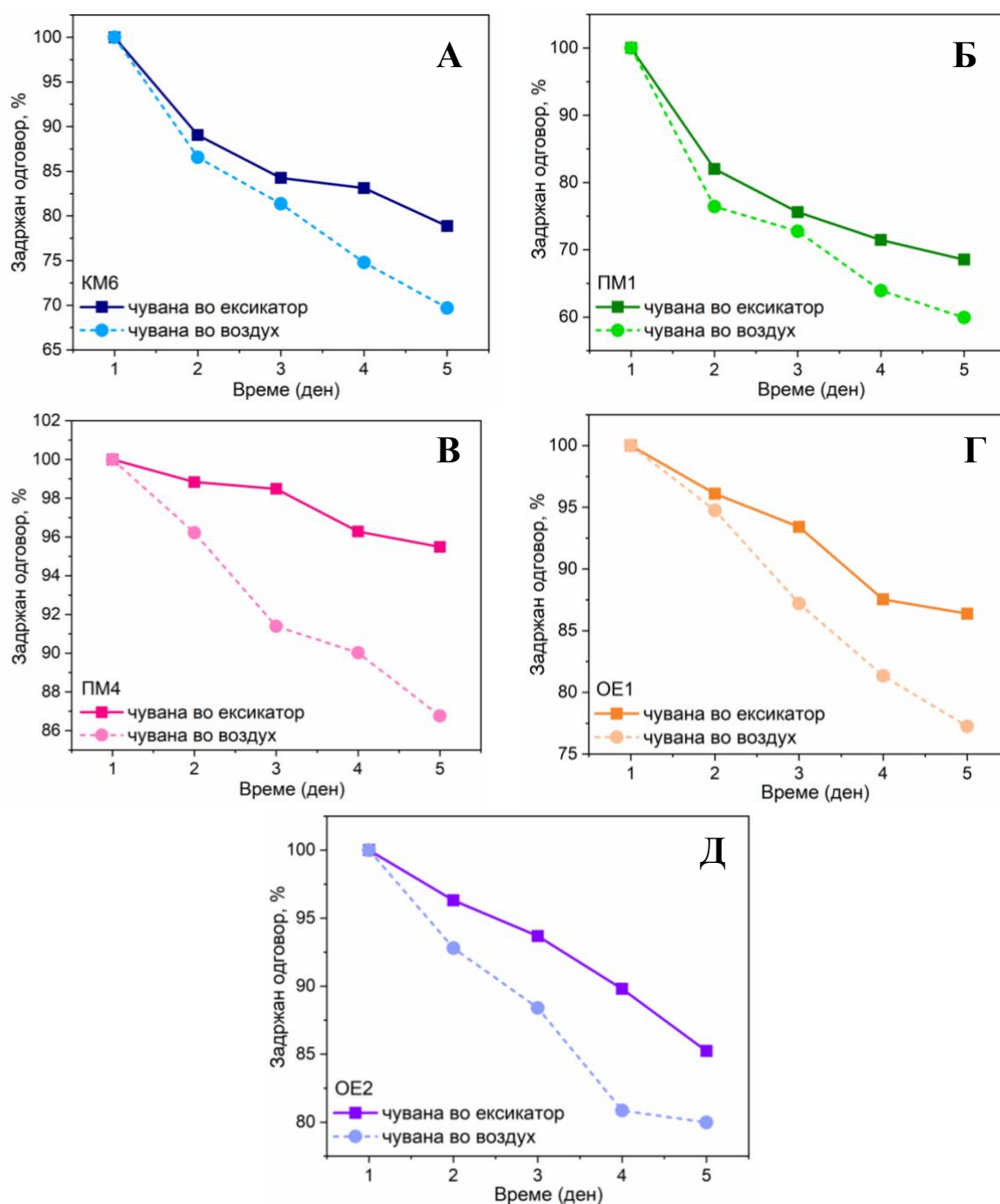
Ознака	Тип на модификација	Лабораторија Скопје			Лабораторија Белград			Разлика / %
		\bar{x}	σ	RSD / %	\bar{x}	σ	RSD / %	
KM6	rGO/AuNPs/Carbon	2,414	0,108	4,479	3,008	0,163	5,410	21,91
PM1	Chitosan/G	2,593	0,120	4,632	3,326	0,191	5,733	24,77
PM4	PAA-CNT/PANI	18,899	0,263	1,389	17,966	0,423	2,354	5,06
OE1	Озрачена PANI/Carbon	10,489	0,174	1,661	10,522	0,467	4,438	0,31
OE2	Озрачена CNT/Carbon	6,284	0,254	4,042	6,184	0,359	5,806	1,60

Резултатите покажуваат дека прецизноста во рамките на секоја поединечна лабораторија е на задоволително ниво. При споредба на резултатите помеѓу двете лаборатории, се забележуваат разлики во средните вредности, кои се очекувани и се должат на употребата на различни инструменти и минимални разлики во експерименталните услови (подготовка на пуфер, собна температура итн.).

Најмала разлика, а со тоа и одлична репродуцибилност, е забележана кај системот ОЕ1 електродата, со разлика од само 0,31 %. ОЕ2 (1,60 %) како и ПМ4 (5,06 %) електродите исто така покажуваат одлична репродуцибилност.

6.4.4. Споредбена анализа на стабилноста на електродите

Стабилноста на електродите е евалуирана со цел да се процени нивната способност да задржат конзистентен одговор при нивна повторна употреба, но и да се одреди влијанието на условите на чување врз нивните карактеристики. За секоја електрода, следен е одговорот на два идентични примерока во текот на пет последователни дена, чувани на различен начин: една електрода е чувана во воздух, а друга во ексикатор. Резултатите од оваа студија се визуелно споредени на Сл. 89, каде за секоја електрода е прикажана промената на сигналот во однос на почетното мерење.



Слика 89. Споредбена долгорочна стабилност за А – КМ6, Б – ПМ1, В – ПМ4, Г – ОЕ1 и Д – ОЕ2

Прикажаните графички зависности посочуваат два главни заклучоци. Прво, условите на чување имаат клучно влијание врз стабилноста. Кај сите пет тестирани електроди, без исклучок, примероците чувани во ексикатор (означени со полна линија на дијаграмите) покажуваат значително помало намалување на сигналот во споредба со оние чувани во воздух (испрекината линија). Ова јасно покажува дека присуството на влага и други атмосферски компоненти го забрзуваат стареењето на модификацијата и површината на електродите.

Второ, постојат јасни разлики во стабилност помеѓу различните модификации. Најстабилно однесување, дури и при чување на воздух, покажуваат ПМ4 електродите (Сл. 89 В) и озрачените ОЕ1 (Сл. 89 Г) и ОЕ2 (Сл. 89 Д). Кај овие електроди, наклонот на зависноста струја–време е многу мал, особено за примероците чувани во ексикатор, каде падот на сигналот е помал од 5 % дури и по 5 дена на повторена употреба.

Најголемо намалување на сигналот, особено при чување во воздушна атмосфера, се забележува кај КМ6 (Сл. 89 А) и ПМ1 (Сл. 89 Б) електродите, што укажува на нивна пократка употреба.

Спроведената анализа потврдува дека за сигурна и репродуцибилна работа, сите електроди треба да се чуваат во сува средина, со цел да се овозможи што повисоко ниво на долгорочна стабилност.

6.4.5. Робустност на електродите

Робустноста на аналитичкиот метод ја претставува неговата способност да остане релативно непроменет од мали, но намерни варијации во експерименталните параметри кои може да се случат при рутинска анализа. Во рамките на оваа студија, евалуирано е влијанието на брзината на скенирање врз аналитичкиот сигнал.

Брзината на скенирање директно влијае на времето потребно за анализа. За да се процени робустноста на методот во однос на овој параметар, одговорот на секоја од петте електроди е мерен при две различни брзини: стандардна (50 mV/s) и поспора (25 mV/s). Во Табела 45 е сумирана промената на интензитетот на струјата на анодниот пик, изразена во проценти.

Табела 45. Влијание на брзината на скенирање врз струјниот одговор на електродите

Ознака	$I_{p,a}$ при 25 mV/s / μA	$I_{p,a}$ при 50 mV/s / μA	Промена / %
КМ6	1,501	1,845	20,6
ПМ1	4,802	5,458	12,8
ПМ4	28,803	31,170	7,9
ОЕ1	15,356	17,115	10,8
ОЕ2	6,537	7,298	11,0

Добиените резултати го потврдуваат очекуваниот тренд, каде што интензитетот на струјата на пикот се зголемува со зголемување на брзината на скенирање за сите тестирани електроди. Вредностите покажуваат дека методот има умерена зависност од брзината на скенирање, со промени кои се движат од 7,9 % до 20,6 %. ПМ4 електродата се покажува како најробустна во однос на овој параметар, со промена помала од 10 %. Од друга страна, системот КМ6 е најчувствителен на промени во брзината.

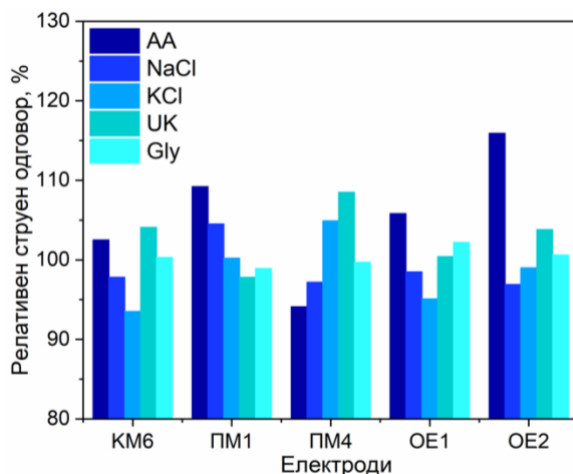
Според ова, за да се обезбедат точни и споредливи резултати, брзината на скенирање мора да биде строго контролирана и константна за сите мерења. Овој параметар е идентификуван како критичен за сигурноста на методот.

6.4.6. Селективност на електродите

Селективноста на еден аналитички метод ја претставува неговата способност недвосмислено да го мери аналитот од интерес во присуство на други компоненти кои се очекува да бидат присутни во примерокот. За да се процени селективноста на

развиените сензори, испитано е влијанието на неколку потенцијални интерферентни супстанции кои вообичаено се присутни во биолошките примероци како хуман серум.

Одговорот на секој од петте електроди кон фиксна концентрација на DOX (0,0024 mg/mL) е мерен во отсуство и во присуство на вишок (1 mmol/L) од следниве соединенија: аскорбинска киселина (AA), натриум хлорид (NaCl), калиум хлорид (KCl), уреа (UK) и гликоза (Gly). Резултатите се визуелно споредени на Сл. 90, каде што е прикажан релативниот одговор на сензорите во присуство на секој од интерферентите.



Слика 90. Споредбен приказ на влијанието на различни интерферентни супстанции врз одговорот на селектираните електроди. Сигналот во отсуство на интерференти е земен како 100 %.

Дијаграмот посочува дека повеќето електроди покажуваат одлична селективност кон најголем дел од испитуваните интерференти. Присуството на NaCl, KCl, уреа и гликоза предизвикува занемарливи промени во сигналот (генерално помали од $\pm 5 - 7\%$) кај сите пет електроди. Ова укажува на висока отпорност на методот кон овие вообичаени компоненти на биолошките матрици.

Клучното влијание е забележано кај аскорбинската киселина (AA), која е познат електроактивен интерферент. Како што може да се види од темно сините столбови, PM1 и OE2 електродите покажуваат позначајна позитивна интерференција, со зголемување на сигналот за околу 10 – 15 %, кое се должи на директната оксидација на аскорбинската киселина на површината на модификацијата.

Спротивно на тоа, KM6, PM4 и OE1 електродите покажуваат извонредна отпорност дури и на аскорбинска киселина. Оваа висока селективност е од огромно значење и ги прави овие три електроди особено погодни за анализа на комплексни биолошки примероци, каде што присуството на аскорбинска киселина е очекувано.

ЗАКЛУЧОК

Развојот на брзи, економични и преносливи сензорски системи за терапевтски мониторинг на лекови претставува еден од клучните предизвици во современата аналитичка хемија и растечките потреби на клиничката пракса. Истражувањето презентирани во оваа докторска дисертација е фокусирано токму на овој предизвик, со цел систематски развој, сеопфатна евалуација и валидација на напредни полимерни и полимер-композитни електрохемиски сензори, наменети за чувствителна и сигурна детекција на хемотерапевтскиот агенс доксорубин (DOX), во симулирана биолошка средина. Целта е да се одговори на потребата од едноставни аналитички алатки кои можат да го подобрат терапевтскиот мониторинг, да придонесат за персонализирана медицина и да ја зголемат безбедноста на пациентите подложени на хемотерапија.

Докторското истражување се темели на три главни научни цели:

1. Синтеза на нанохибриден материјал базиран на редуциран графен оксид и златни наночестички (rGO/AuNPs);
2. Развој на методологии за полимерна модификација на печатени електроди;
3. Евалуација и оптимизација на електроаналитичките карактеристики на модифицираните сензори.

Синтезата на rGO/AuNPs хибридите, која е примарна цел на истражувањето, е реализирана преку двофазен процес кој вклучува контролирана редукација на графен оксид (GO), следена со декорација со златни наночестички (AuNPs) во три различни концентрации (0,5, 2 и 4 wt. %). Компонентите на овој хибрид се селектирани поради нивните комплементарни својства кои синергистички ја зголемуваат ефикасноста на сензорот. Добиениот нанохибрид е целосно карактеризиран со примена на комплементарни аналитички техники како рендгенска дифракција (XRPD), раманска и Фуриер-трансформна инфрацрвена спектроскопија (FTIR), скенирачка електронска микроскопија со енергетско-дисперзивна спектроскопија (SEM-EDS), диференцијална скенирачка калориметрија (DSC) и термогравиметрија/деривативна термогравиметрија (TG/DTA) за утврдување на неговите структурни, морфолошки и термички својства. Утврдените заклучоци од опсежната структурна карактеризација се следните:

- Врз основа на XRPD анализата, може да се заклучи дека синтезата на rGO/AuNPs хибридите е успешна и доведува до значително подобрување на кристалната структура на rGO. Присуството на јасни дифракциони пикови од AuNPs со површински центрирана кубична (FCC) решетка (на 38,4 °, 44,6 °, 79,9 °) во сите хибриди, покрај пиковите од rGO, го потврдува нивното успешно инкорпорирање. Уште позначајно е што процесот на декорација со AuNPs доведува до дополнителна, поефикасна редукација на GO. Ова е докажано со целосното исчезнување на пикот од преостанатиот GO (на 10,2 °) и појавата на нов, поостар и поинтензивен rGO пик (на 25,7 °). Овој нов пик одговара на значително намалено меѓурамнинско растојание од 0,347 nm, што сугерира поблиско пакување и структурно преуредување кон поуредена, пографитна структура. Дополнителна потврда за структурното подобрување преставува значителното зголемување на просечната големина на rGO кристалитите – од околу 4,4 nm во почетниот материјал до 47 – 49 nm во хибридите. Конечно, пресметаната големина на AuNPs (31 до 42 nm) е во одлична согласност со номиналната вредност, потврдувајќи ја прецизноста на синтетичкиот пристап.
- Раманската спектроскопија ја потврдува успешната модификација и подобрување на кристалната структура на rGO по декорацијата со AuNPs. Анализата покажува дека зголемувањето на односот на D и G-пиковите (I_D/I_G) од 0,73 кај почетниот rGO на 0,87 – 1,01 кај хибридите материјали укажува на дополнителна и пое-

фикасна редукција на rGO. Ова значи дека за време на синтезата на хибрирот се отстрануваат повеќе кислородни групи, што доведува до обнова на sp^2 структурата. Понатаму, се идентификува поместување на G-пикот кон пониски бранови броеви, што претставува клучен доказ за електронска интеракција помеѓу AuNPs и rGO. Се заклучува дека AuNPs делуваат како донори на електрони (*n*-тип допингување), ја зголемуваат електронската густина на rGO и предизвикуваат видлива промена во неговата вибрациона фреквенција. rGO/4 % *wt.* AuNPs се издвојува со највисок степен на структурни дефекти (највисок I_D/I_G) и најзначајно поместување на G-пикот, што укажува на најсилна интеракција (потенцијално електронска) со rGO матрицата. Дополнително, се забележува дека намалувањето на ширината на G-пикот кај хибридите со повисока концентрација на AuNPs (особено rGO/2 % *wt.* AuNPs) укажува на подобра локална кристална подреденост. Овие различни структурни карактеристики укажуваат дека концентрацијата на AuNPs игра клучна улога во финото подесување на структурата на хибрирот, што пак влијае врз неговите финални функционални својства.

- Спроведената FTIR анализа ја потврдува успешната синтеза и модификација на материјалите. Спектарот на GO покажува изобилство на карактеристични кислородни функционални групи (O–H, C=O, C–O–C, C–O). По редукцијата, кај rGO е забележано значително намалување или исчезнување на овие кислородни пикови, што укажува на ефективно отстранување на функционалните групи. Овие промени се клучни за враќање на електричната спроводливост и другите својства поврзани со sp^2 јаглеродната структура. Кај хибридите базирани на rGO/AuNPs, особено кај примероците со 2 % и 4 % *wt.* AuNPs, забележани се клучни промени: појава на C–H вибрации (околу 2980/2890 cm^{-1}) и карактеристично поместување на пикот со C=C ароматичен карактер на $\sim 1388 cm^{-1}$. Ова поместување, заедно со другите промени во спектрите, силно сугерира структурна и електронска интеракција помеѓу AuNPs и rGO матрицата, потенцијално преку *n*-тип допингување.
- SEM/EDS анализата ја потврдува очекуваната промена на морфологијата на rGO по редукцијата и успешното инкорпорирање на AuNPs. Анализата покажува дека почетниот GO има карактеристична морфологија на големи, тенки и мазни листови. По редукцијата, преминува во поагломерирана и набрчкана структура, која е директна последица на отстранувањето на кислородните групи и зајакнувањето на $\pi - \pi$ интеракциите меѓу слојевите. Хибридните материјали ја задржуваат оваа набрчкана морфологија. Иако индивидуалните AuNPs не се јасно видливи поради нивната мала големина и фина дисперзија, нивното присуство се потврдува со EDS анализата. EDS анализата дополнително го потврдува високиот степен на оксидација кај почетниот rGO преку високиот процент на кислород (~ 39 %). Дополнително, кај почетниот rGO, се детектираат и остатоци од редукциското средство ($NaBH_4$) или негови нуспродукти. Ова е во согласност со хетерогената структура забележана со XRPD. Кај хибридниот примерок rGO/4 % *wt.* AuNPs, EDS анализата детектира јасен сигнал за злато (1,41 % *wt.*), потврдувајќи го неговото успешно инкорпорирање во rGO матрицата.
- DSC анализата открива значајни разлики во термичките својства и трансформациите на GO, rGO и rGO/AuNPs хибридите, потврдувајќи ги структурните промени утврдени со другите техники. DSC анализата покажува дека главниот егзотермен пик, кој е поврзан со термичка деоксигенација, значително се поместува кон повисоки температури (235 – 241 °C) кај rGO/AuNPs хибридите во споредба со немодифицираниот rGO (~ 210 °C). Ова поместување директно укажува дека присуството на AuNPs ги стабилизира преостанатите кислородни групи во графенската матрица, барајќи поголема енергија за нивно елиминирање.

Истовремено, се забележува дека почетниот rGO ослободува значително поголема енталпија при разградување на кислородните групи, што укажува на различна или понестабилна структура во споредба со GO. Свкупно, DSC анализата потврдува дека AuNPs активно учествуваат во термичките процеси, влијаејќи на стабилноста на функционалните групи и на финалното структурно преуредување (графитизација) на материјалите.

- TG/DTG анализата дава конечна квантитативна потврда за нецелосната редукција на почетниот rGO и значителното подобрување на термичката стабилност по инкорпорирањето на AuNPs. TG/DTG кривата на почетниот rGO покажува релативно низок вкупен остаток на маса од само ~32% на 800 °C. Овој низок остаток претставува потврда за хетерогената природа и нецелосната редукција на почетниот материјал, што е во целосна согласност со заклучоците од сите претходни анализи (XRD, Раман, DSC). Спротивно на тоа, rGO/AuNPs хибридите покажуваат поголема термичка стабилност, што се манифестира преку значително повисок вкупен остаток на маса на 800 °C во споредба со немодифицираниот rGO. Овој зголемен остаток се припишува на две причини: прво, поефикасната *in situ* редукција за време на декорацијата создава постабилна јаглеродна структура, и второ, остатокот го вклучува и термички стабилното метално злато. Така, иако AuNPs не покажуваат силен каталитички ефект за пиролиза, нивното присуство јасно влијае на целокупниот профил на разложување и ја зголемува вкупната термичка стабилност на синтетизираните хибридни материјали.

За постигнување на втората цел од докторската дисертација, истражувањето е структурирано и насочено кон четири различни и комплементарни стратегии за површинска модификација на комерцијални ситопечатени електроди. Овие стратегии вклучуваат нанесување на нанокмпозитно мастило базирано на синтетизиран rGO/AuNPs хибрид, полимерна модификација во слоеви со метод на капка, *in situ* електрополимеризација и модификација преку озрачување на електродите со бета-честички. За модификација се користени повеќе полимери: поли(анилин) (PANI), поли(винилиден флуорид) (PVDF), поли(3,4-етилендиокситиофен):поли(стирен сулфонат) (PEDOT), поли(акрилна киселина) (PAA) и хитозан. Комерцијалните сито-печатени електроди користени во докторското истражување се изработени од јаглерод, злато, платина, графен, јаглеродни наноцевки и PANI.

Третата цел на истражувањето опфаќа два последователни процеси: електрохемиска карактеризација и аналитичка валидација. Првично, спроведена е систематска евалуација и компаративна анализа на електрохемиските карактеристики на развиените електроди за детекција и следење на доксорубицин (DOX). Преку циклична волтаметрија, определени се и споредени клучните карактеристики, како чувствителност, кинетика, механизам на реакција и електрохемиски активна површина, со цел да се селектираат најперспективните кандидати.

- Еден од најважните заклучоци кој произлегува од ова истражување е дека успешноста на модификацијата силно зависи од компатибилноста помеѓу модификаторот и основната електрода т.е. подлога за модификација. Ова е најочигледно кај системите модифицирани со композитно мастило (KM), каде што нанокмпозитното мастило покажува извонредни карактеристики нанесено на јаглеродна подлога (KM6), но е контрапродуктивно на златната подлога. Слични феномени се забележани и кај полимер-модифицираните системи, каде што интеракцијата помеѓу полимерот (хитозан, PVDF, PAA-CNT) и подлогата (графен, CNT, PANI) резултира со потполно различни перформанси. Ова укажува дека не постои универзално решение, туку дека секој сензорски систем мора да се оптимизира како целина.

- Понатаму, истражувањето покажува дека полимерната модификација често претставува компромис помеѓу различни карактеристики. На пример, кај графен-базираните системи, немодифицираната електрода (ПМ0-7) покажува највисока чувствителност поради огромната специфична површина, додека модификацијата со хитозан (ПМ1) благо ја намалува чувствителноста, но за возврат нуди значително подобрена кинетика и квази-реверзибилност, што се клучни параметри за сигурноста на еден сензор. Ова укажува дека целта не е секогаш максимизација на еден параметар, туку постигнување на оптимален баланс помеѓу сите релевантни карактеристики.
- Тестирањето на ЕП електродите открива дека и покрај успешно формираните полимерни филм, ниту еден од системите не покажува значителен или употреблив аналитички сигнал кон DOX. Отсуството на аналитичкиот сигнал најверојатно се должи на блокирање на површината (пасивизација), каде густите полимерни филм го спречува пристапот на молекулата на DOX до активните центри. Поради тоа, ЕП системите се оценети како несоодветни за оваа специфична примена.
- Од големиот број на тестирани системи, идентификувани се неколку кандидати кои се карактеризираат со најдобри карактеристики. Системот КМ6 се издвојува со извонредна кинетика ($\Delta E_p = 79 \text{ mV}$) и единствен покажува речиси идеален адсорпционо-контролиран механизам, што е посакувано за пред-концентрација на аналитот на површината на електродата. Озрачените системи, особено ОЕ2 (CNT/Carbon), покажуваат значително подобрена кинетика ($\Delta E_p = 143 \text{ mV}$) како резултат на создавањето на нови активни места. Спротивно на ова, електрополимеризираните системи, иако успешно синтетизирани, се покажуваат како несоодветни за оваа примена поради пасивизација на површината и маскирање на сигналот.
- По спроведената компаративна валидација на петте најперспективни модифицирани системи (КМ6, ПМ1, ПМ4, ОЕ1, ОЕ2), донесена е финална одлука. Иако повеќе системи покажуваат извонредни карактеристики во поединечни категории, системот ПМ4 (PAA-CNT на PANI) се издвојува како севкупно најсупериорен кандидат. Оваа електрода нуди најдобар баланс помеѓу екстремно висока чувствителност ($0,615 \mu\text{A}/\mu\text{mol L}^{-1}$), најголема електрохемиска активна површина ($9,60 \text{ cm}^2$) и извонредна кинетика на пренос на електрони ($\Delta E_p = 116 \text{ mV}$). Комплементарните перформанси се директна последица на успешната синергија помеѓу спроводливиот полимер, PANI, и спроводливата, порозна мрежа на јаглеродни наноцевки (PAA-CNT), кои заедно создаваат идеална платформа за брза и чувствителна детекција на DOX. Валидацијата дополнително ја потврдува неговата одлична точност, прецизност и селективност.
- На крајот, споредбата на најдобрите електроди со традиционалната електрода од стаклест јаглерод (GCE) ја докажува супериорноста на применетите стратегии за модификација. Додека GCE е практично нечувствителна во релевантниот концентрациски опсег, оптимизираните SPE сензори покажуваат силен и јасен сигнал, потврдувајќи ја огромната предност на користењето на наменски дизајнирани, преносливи сензори за оваа специфична примена.
- Дополнително, покрај електрохемиските мерења на електродите, спроведена е и спектрална карактеризација на електролитниот раствор во кој се тестирани електродите. Анализата направена со помош на ултравиолетова-видлива (UV-Vis) спектроскопија, сугерира дека електролитот претрпува промени предизвикани од струјата за време на електрохемиското мерење и директно го потврдува претходно утврдениот адсорпционо-контролиран механизам на реакција кај електродите. Ова се покажува преку значајно опаѓање на апсорпцијата на DOX

(од 2,446 на 1,299) по електрохемиското мерење кое се припишува на делумна или привремена адсорпција на DOX на површината на електродата. Иако DOX генерално подлежи на реверзибилни редокс процеси, оваа ефикасна адсорпција, која е пожелна за зголемување на чувствителноста на сензорот, директно резултира со намалување на неговата ефективна концентрација во околниот раствор.

Финално, во рамки на третата цел, спроведена е и компаративна аналитичка валидација на петте селектирани системи, каде фокусот е ставен на докажување на сигурноста на методот за детекција и анализа преку евалуација на параметрите како точност, прецизност, стабилност, селективност и робустност. Валидацијата е целосно спроведена според насоките дефинирани во Водичот за валидација на аналитички процедури – ICH Q2R1. Компаративната валидација на најперспективните сензорски системи ја утврдува нивната сигурност и практична применливост, при што ПМ4 и ОЕ1 електродите се издвојуваат како оние кои нудат најдобар баланс на сите критични параметри.

- Во однос на точноста, ПМ4 и ПМ1 системите демонстрираат најконзистентна точност низ сите три концентрациски нивоа, со вредности на аналитичкиот принос многу блиски до идеалните 100%. Ова укажува на минимална систематска грешка и висока сигурност.
- Истовремено, сите тестирани системи покажуваат одлична прецизност на ниво на повторливост, но најдобра прецизност (RSD од 1,225%) покажува ОЕ1 електродата. Најстрогиот тест, репродукцибилноста, потврдува дека најмала разлика има кај ОЕ1 електродата (0,31%), додека ОЕ2 (1,60%) и ПМ4 (5,06%) исто така покажуваат одлична репродукцибилност.
- Во поглед на стабилноста, се утврдува дека условите на чување имаат клучно влијание, при што чувањето во ексикатор значително го намалува стареењето на сите електроди. Најголема долгорочна стабилност покажуваат ПМ4 и озрачените ОЕ1 и ОЕ2 електродите, со пад на сигналот помал од 5% дури и по пет дена на повторена употреба.
- Што се однесува до робустноста (отпорност на варијации во брзината на скенирање), најробустна се покажува ПМ4 електродата, со промена помала од 10%, што ја прави најмалку чувствителна на овој критичен параметар.
- Конечно, селективноста е одлична за повеќето вообичаени биолошки интерференти. Сепак, исклучителна отпорност дури и кон електроактивната аскорбинска киселина покажуваат само КМ6, ПМ4 и ОЕ1 електродите. Оваа висока селективност ги прави овие три системи најпогодни за анализа на комплексни биолошки примероци.
- Свкупно, ПМ4 се карактеризира со најконзистентна точност, најголема робустност и висока селективност, додека ОЕ1 се издвојува со најдобра прецизност на сите нивоа, одлична репродукцибилност и висока селективност.

Оваа докторска дисертација успешно ги исполнува поставените цели. Развиен е и целосно валидиран нов, електрохемиски сензор со високи перформанси кој претставува значаен напредок во однос на постоечките методи. Резултатите од ова истражување не само што придонесуваат кон фундаменталното разбирање на интеракциите помеѓу наноматеријалите и електрохемиските површини, туку и нудат практично, економично и ефикасно решение кое има реален потенцијал за примена во клиничката пракса. Со тоа, истражувањата спроведени во оваа докторска дисертација отвораат нови патишта за понатамошни истражувања, вклучувајќи ја и примената на овие сензори во реални биолошки примероци и нивна интеграција во преносливи дијагностички уреди.

КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

- [1] M. Pan, P. Guo, H. Liu, et al. *J Anal Sci Technol* **12** (2021) 55. <https://doi.org/10.1186/s40543-021-00309-y>.
- [2] G. Minotti, S. Recalcatti, A. Mordente, G. Liberi, A. M. Calafiore, C. Mancuso, P. Preziosi, G. Cairo. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal* **12(7)** (1998) 541-52. <https://doi.org/10.1096/fasebj.12.7.541>.
- [3] M. A. Mitry, J. G. Edwards. *International Journal of Cardiology Heart & Vasculature* **10** (2016) 17-24, <http://doi.org/10.1016/j.ijcha.2015.11.004>.
- [4] J. H. Beijnen, P. L. Meenhorst, R. Van Gijn, M. Fromme, H. Rosing, W. J. M. Underberg. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **9(10-12)** (1991) 995-1002, [https://doi.org/10.1016/0731-7085\(91\)80036-9](https://doi.org/10.1016/0731-7085(91)80036-9).
- [5] C. Carvalho, R. X. Santos, S. Cardoso, S. Correia, P. J. Oliveira, M. S. Santos, P. I. Moreira. *Current Medicinal Chemistry* **16(25)** (2009) 3267-3285, <https://doi.org/10.2174/092986709788803312>.
- [6] V. K. Gupta, R. Jain, K. Radhapyari, N. Jadon, S. Agarwal. *Anal Biochem.* **408(2)** (2011) 179-96, <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.09.027>.
- [7] R. L. McCreery, *Chem Rev.* **108(7)** (2008) 2646-87, <https://doi.org/10.1021/cr068076m>.
- [8] J. P. Metters, E. P. Randviir, C. E. Banks. *Analyst.* **139(21)** (2014) 5339-49, <https://doi.org/10.1039/C4AN01501K>.
- [9] M. Li, R. Li, C. M. Li, N. Wu N. *Front Biosci (Schol Ed).* **3** (2011) 1308-31, <https://doi.org/10.2741/228>.
- [10] R. García-González, M. T. Fernández-Abedul, A. Costa-García. *Talanta* **107** (2013) 376-81, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.01.034>.
- [11] G. Liu, Y. Lin. *Talanta.* **74(3)** (2007) 308-17, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.10.014>.
- [12] B. J. Sanghavi, O. S. Wolfbeis, T. Hirsch, N. S. Swami. *Mikrochim Acta.* **182** (2015) 1-41, <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1308-4>.
- [13] C. Zhu, G. Yang, H. Li, D. Du, Y. Lin. *Anal Chem.* **87(1)** (2015) 230-49, <https://doi.org/10.1021/ac5039863>.
- [14] K. K. Mistry, K. Layek, A. Mahapatra, C. RoyChaudhuri, H. Saha. *Analyst.* **139(10)** (2014) 2289-311, <https://doi.org/10.1039/C3AN02050A>.
- [15] D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Voros, E. Reimhult. *Sensors* **8(3)** (2008) 1400-58, <https://doi.org/10.3390/s80314000>.
- [16] G. A. Rivas, M. D. Rubianes, M. C. Rodríguez, N. F. Ferreyra, G. L. Luque, M. L. Pedano, et al. *Talanta.* **74(3)** (2007) 291-307, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.10.013>.
- [17] A. Chen, S. Chatterjee, *Chem Soc Rev.* **42(12)** (2013) 5425-38, <https://doi.org/10.1039/C3CS35518G>.
- [18] W. Y. Su, S. H. Cheng, *Electroanalysis.* **22** (2010) 707-14, <https://doi.org/10.1002/elan.200900455>.
- [19] J. P. Metters, R. O. Kadara, C. E. Banks. *Analyst.* **136(6)** (2011) 1067-76, <https://doi.org/10.1039/C0AN00894J>.
- [20] M. Li, Y. T. Li, D. W. Li, Y. T. Long. *Anal Chim Acta.* **734** (2012) 31-44, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.018>.
- [21] A. Müller, T. Brinz, U. Simon. *J Comb Chem.* **11(1)** (2009) 138-42, <https://doi.org/10.1021/cc800123v>.
- [22] H. Wan, Q. Sun, H. Li, F. Sun, N. Hu, P. Wang, *Sensors and Actuators B: Chemical* **209** (2015) 336-342, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.127>.
- [23] E. T. da Silva, S. Miserere, L. T. Kubota, A. Merkoçi. *Anal Chem.* **86(21)** (2014) 10531-4, <https://doi.org/10.1021/ac503029q>.
- [24] K. Alhareth, C. Vauthier, C. Gueutin, G. Ponchel, F. Moussa, *Journal of Chromatography B* **887-888** (2012) 128-132. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.01.025>.
- [25] S. Ahmed, N. Kishikawa, K. Ohyama, M. Wada, K. Nakashima, N. Kuroda, *Talanta* **78(1)** (2009) 94-100, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.10.043>.
- [26] C. Mazuel, J. Grove, G. Gerin, K. P. Keenan, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **33(5)** (2003) 1093-1102 [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(03\)00434-5](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(03)00434-5).
- [27] A. S. Rodrigues and others, *Journal of Chromatographic Science* **47(5)** 387-391. <https://doi.org/10.1093/chromsci/47.5.387>.
- [28] E. Configliacchi, G. Razzano, V. Rizzo, A. Vigevani, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **15(1)** (1996) 123-129, [https://doi.org/10.1016/0731-7085\(96\)01825-0](https://doi.org/10.1016/0731-7085(96)01825-0).
- [29] P. Fanjul-Bolado, P. Queipo, P. J. Lamas-Ardisana, A. Costa-García, *Talanta* **74(3)** (2007) 427-433, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.07.035>.
- [30] I. M. Apetrei, C. Apetrei, *International Journal of Nanomedicine* **11** (2016) 1859-1866, <https://doi.org/10.2147/IJN.S104941>.
- [31] C. Punckt, F. Muckel, S. Wolff, I. A. Aksay, C. A. Chavarin, G. Bacher, W. Mertin. *Applied Physics Letters* **102(2)** (2013) <https://doi.org/10.1063/1.4775582>.

- [32] S. Li, Q. Zhang, Y. Lu, D. Ji, D. Zhang, J. Wu, X. Chen, Q. Liu, *Sensors and Actuators B: Chemical* **244** (2017) 290-298, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.12.142>.
- [33] A. Morrin, A. J. Killard, M. R. Smyth, *Analytical Letters* **36(9)** (2003) 2021–2039. <https://doi.org/10.1081/AL-120023627>.
- [34] G. Cui, J. H. Yoo, J. S. Lee, J. Yoo, J. H. Uhm, G. S. Cha, H. Nam, *Analyst*, **126(8)** (2001) 1399–1403. <https://doi.org/10.1039/b102934g>.
- [35] P. Fanjul-Bolado, D. Hernández-Santos, P. J. Lamas-Ardisana, A. Martín-Pernía, A. Costa-García, *Electrochimica Acta* **53(10)** (2008) 3635-3642, <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2007.12.044>.
- [36] M. A. Tabrizi, J. P. Fernández-Blázquez, D. M. Medina, P. Acedo, *Biosensors and Bioelectronics* **196** (2022) <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113729>.
- [37] Daniel-Stefan Cristea, Development of an affinity-based impedimetric biosensor using gold screen-printed electrodes, Aalborg University, 2021
- [38] J. Agrisuelas, M. I. González-Sánchez, E. Valero, *Sensors and Actuators B: Chemical* **249** (2017) 499-505 <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.136>.
- [39] S. Ku, S. Palanisamy, S. M. Chen. *J. Colloid Interface Sci.* **411** (2013) 182–186, <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.08.029>.
- [40] R. A. S. Couto, J. L.F.C. Lima, M. Beatriz Quinaz, *International Journal of Electrochemical Science* **10(10)** (2015) 8738-8749, [https://doi.org/10.1016/S1452-3981\(23\)11132-1](https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)11132-1).
- [41] N. Yusoff, *Elsevier* (2019) 155–186, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815394-9.00007-8>.
- [42] A. Grozdanov, P. Paunović, I. Dimitrievska, A. Petrovski, *IntechOpen* (2023), <https://doi.org/10.5772/intechopen.1002042>.
- [43] J. Soleymani, M. Hasanzadeh, M. Eskandani, M. Khoubnasabjafari, N. Shadjou, A. Jouyban, *Materials Science and Engineering: C* **77** (2017) 790-802 <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.257>.
- [44] I. A. Mattioli, P. Cervini, É. T. G. Cavalheiro, *Microchimica Acta* **187(6)** (2020) <https://doi.org/10.1007/s00604-020-04259-x>.
- [45] N. A. Negm, H. A. Abubshait, S. A. Abubshait, M. T. H. Abou Kana, E. A. Mohamed, M. M. Betiha, *International Journal of Biological Macromolecules* **165** (2020) 402–435, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.13>.
- [46] R. Dallaev, T. Pisarenko, D. Sobola, F. Orudzhev, S. Ramazanov, T. Trčka, *Polymers* **14(22)** (2022) 4793 <https://doi.org/10.3390/polym14224793>.
- [47] M. Sobhy, R. M. Khafagy, A. A. Soliman et al., *Optical and Quantum Electronics* **55(789)** (2023) <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2710142/v1>.
- [48] N. Shoaie, M. Daneshpour, M. Azimzadeh, S. Mahshid, S. M. Khoshfetrat, F. Jahanpeyma, M. Foruzandeh, *Microchimica Acta* **186(7)** (2019). <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3588-1>.
- [49] J. Li, S. Liua, J. Yu, W. Lian, M. Cui, W. Xu, J. Huang, *Sensors and Actuators B* **188** (2013) 99–105, <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2013.06.082>.
- [50] R. A. S. Couto, M. B. Quinaz. *Sensors* **16(7)** (2016) 1015. <https://doi.org/10.3390/s16071015>.
- [51] Z. Chen, R. Patel, J. Berry, C. Keyes, C. Satterfield, C. Simmons, A. Neeson, X. Cao, Q. Wu. *Applied Sciences* **12(13)** (2022) 6533. <https://doi.org/10.3390/app12136533>.
- [52] I. Yawari, M. Kaykhaii, *Anal. Methods* **46(9)** (2017) 6583-6589, <https://doi.org/10.1039/C7AY02031G>.
- [53] S. Nazarpour, R. Hajian, M. Hosseini Sabzvari, *Microchemical Journal* **154** (2020) <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104634>.
- [54] R. Wilson, *Chem. Soc. Rev.* **37** (2008) 2028-2045 <https://doi.org/10.1039/B712179M>.
- [55] M. Zamani, M. C. Klapperich, L. A. Furst, *Lab Chip* **23** (2023) <https://doi.org/10.1039/d2lc00552b>.
- [56] T. Xiao, J. Huang, D. Wang, T. Meng, X. Yang, *Talanta* **206** (2020) <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120210>.
- [57] J. M. Kauffmann, M. Pékli-Novák, A. Nagy, *Acta Pharm Hung.* **66(2)** (1996) 57-64, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8669278/>.
- [58] P. Fanjul-Bolado, P. J. Lamas-Ardisana, D. Hernández-Santos, A. Costa-García. *Anal Chim Acta.* **638(2)** (2009) 133-8, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.02.019>.
- [59] M. Hossein Ghanbari, Z. Norouzi, *Microchemical Journal* **157** (2020), <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105098>.
- [60] A. Pusta, M. Tertis, I. Bura, D. Bogdan, M. Suci, S. Mirel, C. Cristea. *Chemosensors* **12(4)** (2024) 69, <https://doi.org/10.3390/chemosensors12040069>.
- [61] Q. Zhou, B. Chowbay, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **30(4)** (2002) 1063–1074 [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(02\)00442-9](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(02)00442-9).
- [62] W. Ma, J. Wang, Q. Guo, P. Tu, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **111** (2015) 215-221, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.04.007>.
- [63] Y. Xie, N. Shao, Y. Jin, L. Zhang, H. Jiang, N. Xiong, F. Su, H. Xu, *Journal of Chromatography B* **1072** (2018) 149–160, <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.11.020>.

- [64] M. Janicka, A. Kot-Wasik, J. Paradziej-Łukowicz, G. Sularz-Peszyńska, A. Bartoszek, J. Namieśnik, *International Journal of Molecular Sciences* **14**(3) (2013) 6157–6169. <https://doi.org/10.3390/ijms14036157>.
- [65] C. Bobin-Dubigeon and others, *Journal of Analytical Toxicology* **37**(7) (2013) 433–439, <https://doi.org/10.1093/jat/bkt045>.
- [66] S. Mazzucchelli, A. Ravelli, F. Gigli, M. Minoli, F. Corsi, P. Ciuffreda, R. Ottria, *Biomedical Chromatography* **31**(4) (2017), <https://doi.org/10.1002/bmc.3863>.
- [67] I. Dimitrievska, P. Paunovic, A. Grozdanov, *Material Sci & Eng.* **7**(2) (2023) 113–128, <https://doi.org/10.15406/msej.2023.07.00214>.
- [68] S. Kummari, L. Panicker, K. V. Gobi, R. Narayan, Y. G. Kotagiri, *ACS Applied Nano Materials* **6**(13) (2023) 12381–12392, <https://doi.org/10.1021/acsanm.3c02080>.
- [69] G. Krishnaswamy, G. Shivaraja, S. Sreenivasa, D. B. Aruna Kumar, *Voltammetry for sensing applications* **11** (2022) 281–305. <https://doi.org/10.2174/9789815039719122010013>.
- [70] S. Sadak, I. Atay, S. Kurbanoglu, B. Uslu, *Recent Developments of Green Electrochemical Sensors* **1437-8** (2023) 157–191, <https://doi.org/10.1021/bk-2023-1437.ch008>.
- [71] Z. Bagheri Nasab, F. Garkani Nejad, *Surface Engineering and Applied Electrochemistry* **58** (2022) 100–108 <https://doi.org/10.3103/S1068375522010070>.
- [72] B. Bozal-Palabiyik, B. Dogan-Topal, S. A. Ozkan, B. Uslu, *Recent Advances in Analytical Techniques 2* (2018) 249–301, <https://doi.org/10.2174/9781681085746118020009>.
- [73] A. V. Bounegru, I. Bounegru, *Polymers* **15**(17) (2023) 3539, <https://doi.org/10.3390/polym15173539>.
- [74] S. Traipop, W. Jesadabundit, W. Khamcharoen, T. Pholsiri, S. Naorungroj, S. Jampasa, O. Chailapakul, *Current Topics in Medicinal Chemistry* **24**(11) (2024) 986 – 1009, <https://doi.org/10.2174/0115680266304711240327072348>.
- [75] H. Zhao, K. Shi, C. Zhang, J. Ren, M. Cui, N. Li, X. Ji, R. Wang R, *Microchemical Journal* **182** (2022), <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107865>.
- [76] M. Abbasi, M. Ezazi, A. Jouyban, E. Lulek, K. Asadpour-Zeynali, Y. Nuri Ertas, J. Houshyar, A. Mokhtarzadeh, A. Soleymani, *Microchemical Journal* **183** (2022), <https://doi.org/10.102916/j.microc.2022.108055>.
- [77] S. Rong, L. Zou, L. Meng et al. *Analytica Chimica Acta* **1196** (2022), <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339545>.
- [78] Š. Skalová, J. Langmaier, J. Barek, V. Vyskočil, T. Navrátil, *Electrochimica Acta* **330** (2020), <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.135180>.
- [79] M. Mehmandoust, Y. Khoshnavaz, F. Karimi, S. Çakar, M. Özacar, N. Erk, *Environmental Research* **213** (2022), <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113590>.
- [80] B. Rezaei, N. Askarpour, A. Ensafi, *Talanta* **119** (2014) 164–169, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.017>.
- [81] R. Shamagsumova, A. Porfireva, V. Stepanova, Y. Osin, G. Evtugyn, T. Hianik, *Sensors and Actuators B: Chemical* **220** (2015) 573–582, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.05.076>.
- [82] H. Guo, H. Jin, R. Gui, Z. Wang, J. Xia, F. Zhang, *Sensors and Actuators B: Chemical* **253** (2017) 50–57, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.06.095>.
- [83] D. M. Stanković, Z. Milanović, L. Švorc, V. Stanković, D. Janković, M. Mirković, S. Vranješ Đurić, *Diamond and Related Materials* **113** (2021), <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2021.108277>.
- [84] M. Behravan, H. Aghaie, M. Giahi, *Diamond and Related Materials* **117** (2021) <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2021.108478>.
- [85] N. Thakur, V. Sharma, Th. Abhishek Singh, A. Pabbathi, J. Das, *Diamond and Related Materials* **125** (2022), <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2022.109037>.
- [86] P. Chandra, S. Abbas Zaidi, H-B. Noh, Y-B. Shim, *Biosensors and Bioelectronics* **28**(1) 2011, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.07.038>.
- [87] Th. Abhishek Singh, V. Sharma, N. Thakur, N. Tejwan, A. Sharma, J. Das, *Inorganic Chemistry Communications* **150** (2023), <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2023.110527>.
- [88] S. Sun, X. Xu, N. Aiu et al. *Int. J. Electrochem. Sci.* **17** (2022) <https://doi.org/10.20964/2022.11.82>.
- [89] J. Sharifi, H. Fayazfar, *Bioelectrochemistry* **139** (2021), <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2021.107741>.
- [90] S. A.R. Alavi-Tabari, M. A. Khalilzadeh, H. Karimi-Maleh, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **811** (2018) 84–88, <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.01.034>.
- [91] E. M. Materon, A. Wong, O. Fatibello-Filho, R. Censi Faria, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **827** (2018) 64–72, <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.09.010>.
- [92] M. Rahimi, A. Gh. Bagheri, S. Jamilaldin Fatemi S, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **848** (2019), <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113333>.
- [93] S. Deepa, B. E. Kumara Swamy, K. Vasantakumar Pai, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **879** (2020), <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114748>.

- [94] N. Hashemzadeh et al. *Journal of Pharmaceutical Analysis* **6(4)** (2016) 235–241, <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2016.03.003>.
- [95] S. Zia Mohammadi, F. Mousazadeh, S. Tajik, *Industrial & Engineering Chemistry Research* **62(11)** (2023) 4646–4654, <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.2c03105>.
- [96] I. Rus et al. *Biosensors* **11(1)** (2021) 15, <https://doi.org/10.3390/bios11010015>.
- [97] D. Kappo, D. Shurpik, P. Padnya, I. Stoikov, A. Rogov, G. Evtugyn, *Biosensors* **12(5)** (2022) 329, <https://doi.org/10.3390/bios12050329>.
- [98] M. Wang, J. Lin, J. Gong, M. Ma, H. Tang, J. Liu, F. Yan, *RSC Adv.* **11** (2021), <https://doi.org/10.1039/d0ra10000e>.
- [99] W. Dong, Z. Li, W. Wen, B. Liu, G. Wen, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **13** (2021) 57497–57504, <https://doi.org/10.1021/acsami.1c19481>.
- [100] Y. Guo, Y. Chen, Q. Zhao, S. Shuang, C. Dong, *Electroanalysis* **23(10)** (2011) 2400–2407, <https://doi.org/10.1002/elan.201100259>.
- [101] F. Hassani Moghadam, M. A. Taher, H. Karimi-Maleh, *Micromachines* **12** (2021) 808, <https://doi.org/10.3390/mi12070808>.
- [102] L. Karadurmus, B. Dogan-Topal, S. Kurbanoglu, A. Shah, S. A. Ozkan, *Micromachines* **12** (2021) 1337, <https://doi.org/10.3390/mi12111337>.
- [103] N. Lv, X. Qiu, Q. Han, F. Xi, Y. Wang, J. Chen, *Molecules* **27** (2022) 8640, <https://doi.org/10.3390/molecules27248640>.
- [104] C. Zhang, X. Zhou, F. Yan, J. Lin, *Molecules* **28** (2023) 6443, <https://doi.org/10.3390/molecules28186443>.
- [105] F. Kong, J. Luo, et al. *Nanomaterials* **13** (2023) 1223, <https://doi.org/10.3390/nano13071223>.
- [106] A. Malanina et al. *Nanomaterials* **13** (2023) 2369, <https://doi.org/10.3390/nano13162369>.
- [107] N. A. Alarfaj, M. F. El-Tohamy, *Polymers* **12** (2020) 3066, <https://doi.org/10.3390/polym12123066>.
- [108] N. R. Jalal, T. Madrakian, A. Afkhami, M. Ahmadi, *ACS Appl. Nano Mater.* **5** (2022) 11045–11058, <https://doi.org/10.1021/acsanm.2c02237>.
- [109] E. Haghshenas, T. Madrakian, A. Afkhami, *Anal Bioanal Chem* **408** (2016) 2577–2586, <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9361-y>.
- [110] J. Fei, X. Wen, Y. Zhang, L. Yi, X. Chen, H. Cao, *Microchim Acta* **164** (2009) 85–91, <https://doi.org/10.1007/s00604-008-0037-y>.
- [111] M. Taai, F. Hasanpour, H. Salavati, S. Mohammadian, *Microchim Acta* **183** (2016) 49–56, <https://doi.org/10.1007/s00604-015-1588-3>.
- [112] T. Kondori, S. Tajik, N. Akbarzadeh, H. Beitollahi, C. Graiff, *Journal of the Iranian Chemical Society* **19** (2022) 4423–4434, <https://doi.org/10.1007/s13738-022-02613-9>.
- [113] Y. Liu, X. Dong, P. Chen, *Chem Soc Rev.* **41(6)** (2012) 2283–307, <https://doi.org/10.1039/C1CS15270J>.
- [114] R. R. Nair, P. Blake et al., *Science* **320(5881)** (2008) 1308, <https://doi.org/10.1126/science.1156965>.
- [115] G. Yang et al. *Science and Technology of Advanced Materials* **19(1)** (2018) 613–648, <https://doi.org/10.1080/14686996.2018.1494493>.
- [116] K. Cao, *Nature Communications* **11(248)** (2020), <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14130-0>.
- [117] S. Park, J. An, J. R. Potts, A. Velamakanni, S. Murali, R. S. Ruoff, *Carbon* **49** (2011) 3019–3023, <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2011.02.071>.
- [118] A. D. da Silva, W. J. Paschoalino, J. P. V. Damasceno, L. T. Kubota, *ChemElectroChem* <https://doi.org/10.1002/celec.202001168>.
- [119] Y. Xu, G. Shi, *J. Mater. Chem.* **21** (2011) 3311–3323, <https://doi.org/10.1039/c0jm02319a>.
- [120] W. Gao, *Springer International Publishing, Switzerland* (2015) 61–95, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-15500-5>.
- [121] F. Perreault, A. Fonseca de Faria, M. Elimelech, *Chem. Soc. Rev.* **44** (2015) 5861–5896, <https://doi.org/10.1039/C5CS00021A>.
- [122] N. Baig, Ihsanullah, M. Sajid, T. A. Saleh, *J. Environ. Manage.* **244** (2019) 370–382, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.047>.
- [123] I.V. Zaporotskova et al. *Modern Electronic Materials* **2** (2016) 95–105, <https://doi.org/10.1016/j.moem.2017.02.002>.
- [124] M. Chicharro, A. S. Arribas, *Electroanalysis* **17** (2005) 76, <https://doi.org/10.1002/elan.201000432>.
- [135] J. P. Salvetat, J. M. Bonard et al. *Appl. Phys. A* **69** (1999) 255–260, https://doi.org/10.1007/978-3-540-36807-6_26.
- [126] N. Hamada, S. Sawada, A. Oshiyama, *Phys. Rev. Lett.* **68** (1992) 1579, <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.68.1579>.
- [127] J. Hone, M. Whitney, C. Piskoti, A. Zettl, *Phys. Rev. B* **59** (1999) R2514–R2516, <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.59.R2514>.
- [128] R. Sengupta et al. *Progress in Polymer Science* **36(5)** (2011) 638–670, <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.11.003>.

- [129] M. Heurich, M. Kadir, I. Tothill. *Sensors and Actuators B Chemical* **156(1)** (2011) 162–168, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.04.007>.
- [130] S. Chen, R. Yuan, Y. Chai, F. Hu. *Microchimica Acta* **180(1-2)** (2012) 15–32, <https://doi.org/10.1007/s00604-012-0904-4>.
- [131] L. Fritea et al. *Materials* **14** (2021) 6319, <https://doi.org/10.3390/ma14216319>.
- [132] A. Petrovski, PhD thesis, Faculty of Technology and Metallurgy, Ss. Cyril and Methodius University in Skopje (2017), North Macedonia, <http://hdl.handle.net/20.500.12188/16209>.
- [133] S. N. Bhadani et al. *J. Applied Polymer Sci.* **49** (1993) 397–403, <https://doi.org/0.5958/0974-4150>.
- [134] H. Yu, H. Han, J. Jang, S. Cho, *ACS Omega* **4(3)** (2019), 5586–5594, <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00371>.
- [135] G. Ćirić-Marjanović, *Synthetic Metals* **177** (2013) 1–47, <http://dx.doi.org/10.1016/j.synthmet.2013.06.004>.
- [136] W. Lövenich, *Polymer Science Series C* **56(1)** (2014) 135–143, <https://doi.org/10.1134/s1811238214010068>.
- [137] Y. Yang, H Deng, Q. Fu, *Mater. Chem. Front.* **4** (2020) 3130–3152, <https://doi.org/10.1039/D0QM00308E>.
- [138] S. Mohammadpourfazeli, *RSC Adv.* **13** (2023) 370–387, <https://doi.org/10.1039/D2RA06774A>.
- [139] S. Islam, M. A. R. Bhuiyan, M. N. Islam, *J Polym Environ* **25** (2017) 854–866, <https://doi.org/10.1007/s10924-016-0865-5>.
- [140] K. Okuyama et al. *Carbohydrate Polymers* **41(3)** (2000) 237–247, [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00142-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00142-3).
- [141] K. A. Mauritz, R. B. Moore, *Chem. Rev.* **104** (2004) 4535–4585, <https://doi.org/10.1021/cr0207123>.
- [142] E. Safronova et al. *Sensors and Actuators B: Chemical* **240**, 1016–1023, <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2016.09.010>.
- [143] T. N. Pashirova et al. *Nanotechnology and Regenerative Medicine History, Techniques, Frontiers, and Applications* (2023) 95–131, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90471-1.00005-0>.
- [144] G. Fomo, T. Waryo, U. Feleni, P. Baker, E. Iwuoha. *Functional Polymers* (2019) 105–131, https://doi.org/10.1007/978-3-319-95987-0_3.
- [145] M. M. Gvozdenović, B. Z. Jugović, J. S. Stevanović, T. Lj. Trišović, B. N. Grgur, *Electropolymerization, InTech* (2011) <http://dx.doi.org/10.5772/28293>.
- [146] F. Banhart, *Reports on Progress in Physics* **62** (1999) 1181–1221, <https://doi.org/10.1088/0034-4885/62/8/201>.
- [147] A. V. Krashennnikov, F. Banhart, *Nature Materials* **6** (2007) 723–733, <https://doi.org/10.1038/nmat1996>.
- [148] W. Tian, W. Li, W. Yu, X. Liu, *Micromachines* **8** (2017) 163, <https://doi.org/10.3390/mi8050163>.
- [149] A. V. Krashennnikov, K. Nordlund, *Journal of Applied Physics* **107** (2010) 071301, <https://doi.org/10.1063/1.3318261>.
- [150] Z. Li, F. Chen, *Applied Physics Reviews* **4** (2017) 011103, <https://doi.org/10.1063/1.4977087>.
- [151] S. Bhadra, D. Khastgir, *Polymer Degradation and Stability* **92** (2007) 1824–1832, <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2007.07.004>.
- [152] M. Bekhit, E. S. Fathy, A. Sharaf, *Scientific Reports* **14** (2024) 16403, <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66356-8>.
- [153] P. Kokoshkarova, Phd thesis, Faculty of Natural Sciences, Ss. Cyril and Methodius University in Skopje (2023), North Macedonia, <https://eprints.ugd.edu.mk/id/eprint/35744>.
- [154] A. J. Bard, and L. R. Faulkner, *Electrochemical methods. Fundamentals and applications*, 3rd edition, *John Wiley & Sons, Inc.* (2004) ISBN: 978–1–119-33405-7.
- [155] D. H. Evans, K. M. O'Connell, R. A. Petersen, M. J. Kelly, *Cyclic voltammetry, J. Chem. Educ.* **60(4)** (1983) 290, <https://doi.org/10.1021/ed060p290>.
- [156] Anđela I. Mitrović Rajić, PhD thesis, University of Belgrade (2023), Serbia, https://ffhglasnik.ffh.bg.ac.rs/uploads/sr/2023/05/Andjela_Mitrovic_Rajic_disertacija.pdf.
- [157] R. C. Carvalho, A. J. Betts, J. F. Cassidy, *Microchemical J.* **158** (2020), <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105258>.
- [158] U. Ciltas, B. Yilmaz, S. Kaban, B. K. Akcay, G. Nazik, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* **15** (2014) 715–722, <https://doi.org/10.22037/ijpr.2015.1691>.
- [159] E. S. Gil, R. O. Couto, *Brazilian Journal of Pharmacognosy* **23** (2013) 542–558, <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000031>.
- [160] H. Beitollahi, M. Hamzavi, M. Torkzadeh-Mahani, *Materials Science and Engineering: C* **52** (2015) 297–305, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.03.031>.
- [161] W. He, Y. Ding, W. Zhang, L. Ji, X. Zhang, F. Yang, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **775** (2016) 205–211, <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.06.001>.
- [162] E. Gileadi, *Electrode kinetics for chemists, chemical engineers, and materials scientists, VCH Publishers Inc., New York, USA* (1993). p.129, ISBN: 978-0-471–18858-2.

- [163] L. M. da Silva, L. A. de Faria, J. F. C. Boodts, *Electrochimica Acta* **47** (2001) 395–403, [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(01\)00738-1](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(01)00738-1).
- [164] B. Marsan, N. Fradette, G. Beaudoin, *Journal of the Electrochemical Society* **139** (1992) 1889–1896, <https://doi.org/10.1149/1.2069516>.
- [165] M. M. Cheng, L. J. Huang, Y. X. Wang, J. G. Tang, Y. Wang, Y. C. Zhao, G. F. Liu, Y. Zhang, M. J. Kipper, S. Ranil Wickramasinghe, *Separation Science and Technology* (2018), <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1525400>.
- [166] H. Naeem, M. Ajmal, S. Muntha, J. Ambreen, M. Siddiq, *RSC Advances* **8(7)** (2018) 3599–3610, <https://doi.org/10.1039/c7ra12030c>.
- [167] K. Dave, K. H. Parkb, M. Dhayal, *RSC Adv.* **5** (2015) 107348, <https://doi.org/10.1039/C5RA23018G>.
- [168] I. Saikia, S. Sonowal, M. Pal, P. K. Baruah, M. R. Das, C. Tamuly, *Materials Letters* (2016) <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2016.05.011>.
- [169] B. Dong, G. Liu, J. Zhou, A. Wang, J. Wang, R. Jin, H. Lv, *RSC Advances* **5(118)** (2015), 97798–97806. <https://doi.org/10.1039/c5ra19806b>.
- [170] V. Scardaci, G. Compagnini, *Journal of Carbon Research* **7(48)** (2021), <https://doi.org/10.3390/c7020048>.
- [171] S. Stankovich, D. A. Dikin, R. D. Piner, K. A. Kohlhaas, A. Kleinhammes, Y. Jia, Y. Wu, S. T. Nguyen, R. S. Ruoff, *Carbon* **45(7)** (2007) 1558–1565, <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2007.02.034>.
- [172] A. C. Ferrari, J. Robertson, *Phys. Rev. B* **61** (2000) 14095, <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.61.14095>.
- [173] L. G. Cançado, A. Jorio, E. H. Ferreira et al. *Nano Lett.* **11(8)** (2011) 3190–3196, <https://doi.org/10.1021/nl201432g>.
- [174] R. Britto Hurtado et al., *Arabian Journal of Chemistry* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.12.021>.
- [175] H. Zhang, D. Hines, D. L. Akins, *Dalton Trans.* **43** (2014), 2670–2675, <https://doi.org/10.1039/C3DT52573B>.
- [176] N. Sharma, V. Sharma, Y. Jain, M. Kumari, R. Gupta, S. K. Sharma, K. Sachdev, *Macromol. Symp.* **376**, 1700006 (2017) <https://doi.org/10.1002/masy.201700006>.
- [177] N. M. S. Hidayah, Wei-Wen Liu, Chin-Wei Lai, N. Z. Noriman, Cheng-Seong Khe, U. Hashim, and H. Cheun Lee, *AIP Conference Proceedings* **1892**, 150002 (2017), <https://doi.org/10.1063/1.5005764>.
- [178] C. Xu, X. Shi, A. Ji, L. Shi, C. Zhou, Y. Cui, *PLoS ONE* **10(12)** (2015), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144842>.
- [179] M. Šimšiková, M. Bartoš, P. Keša, T. Šíkola, *Materials Chemistry and Physics* **177** (2016) 339–345, <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.04.036>.
- [180] R. Al-Gaashani, A. Najjar, Y. Zakaria, S. Mansour, M.A. Atieh, *Ceramics International* **45(11)** (2019) 14439–14448, <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.04.165>.
- [181] S. N. Alam, N. Sharma, L. Kumar, *Graphene* **6** (2017) 1–18, <http://dx.doi.org/10.4236/graphene.2017.61001>.
- [182] R. Liu, PhD thesis, University of Birmingham (2012), United Kingdom, https://etheses.bham.ac.uk/id/eprint/4301/4/Liu_12_PhD.pdf.
- [183] J. Li, H. Feng, J. Li, Y. Feng, Y. Zhang, J. Jiang, D. Qian, *Electrochimica Acta* **167** (2015) 226–236. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.03.201>.
- [184] N. Hussain, A. Gogoi, R. K. Sarma, P. Sharma, A. Barras, R. Boukherroub, ... M. R. Das, *ChemPlusChem* (2014) <https://doi.org/10.1002/cplu.201402240>.
- [185] N. Stepanov, V. Uvarov, I. Popov, Y. Sasson, *International Journal of Hydrogen Energy* **33(24)** (2008) 7378–7384, <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.09.052>.
- [186] M. Pelaez-Fernandez, A. Bermejo, A.M. Benito, W.K. Maser, R. Arenal, *Carbon* **178** (2021) 477–487, <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2021.03.018>.
- [187] E. Aliyev, V. Filiz, M. M. Khan, Y. J. Lee, C. Abetz, V. Abetz, *Nanomaterials* **9(8)** (2019) 1180, <https://doi.org/10.3390/nano9081180>.
- [188] W. Liu, G. Speranza, *ACS Omega* **6(9)** (2021) 6195–6205, <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05578>.
- [189] O. A. Lazar, A. Marinoiu, M. Raceanu, A. Pantazi, G. Mihai, G. M. Varlam, M. Enachescu, *Energies* **13** (2020) 4307, <https://doi.org/10.3390/en13174307>.
- [190] O. Grad, M. Mihet, M. Dan, G. Blanita, T. Radu, C. Berghian-Grosan, M. D. Lazar, *Journal of Materials Science* (2019) <https://doi.org/10.1007/s10853-019-03394-y>.
- [191] A. Das, S. Pisana, B. Chakraborty, S. Piscanec, S. K. Saha, U. V. Waghmare, ... A. K. Sood, *Nature Nanotechnology* **3(4)** (2008) 210–215, <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.67>.
- [192] R. Hajian, Z. Tayebi, N. Shams, *Journal of Pharmaceutical Analysis* **7(1)** (2017), 27–33, <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2016.07.005>.
- [193] I. Serbanescu, M Enache, E. Volanschi, *Analele Universităţii din Bucureşti. - Chimie* **12(1-2)** (2002), 267–278, <https://gw-chemie.math.unibuc.ro/anunivch/2003/AUBCh2003XIII2267278.pdf>.

- [194] Y. Chen, Y. Zhang, Z. Wu, X. Peng, T. Su, J. Cao, B. He, S. Li, *RSC Advances* **63** (2016) <http://doi.org/10.1039/C6RA06040D>.
- [195] J. Liang, Z. Zhang, H. Zhao, S. Wan, X. Zhai, J. Zhou, R. Liang, Q. Deng, Y. Wu, G. Lin, *RSC Advances* **8** (2018) 15621–15631, <https://doi.org/10.1039/C8RA01807C>.
- [196] R. Bartzatt, E. Weidner, *Current Topics in Analytical Chemistry* **9** (2012) 63-69, [\(PDF\) Analysis for doxorubicin by spectrophotometry and reversed phase high performance liquid chromatography \(HPLC\)](#).
- [197] D. Kaushik, G. Bansal, *J Pharm Anal.* **5(5)** (2015) 285-295, <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.05.003>.
- [198] J. Mosafera, M. Teymouri, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* (2017) <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1362415>.
- [199] M. Szota, B. Jachimska, *Pharmaceutics*. **15(3)** (2023) 875, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030875>.
- [200] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, J. L. Dempsey, *Journal of Chemical Education* **95(2)** (2018) 197-206, <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>.
- [201] R. S. Nicholson, *Anal. Chem.* **37(11)** (1965) 1351–1355, <https://doi.org/10.1021/ac60230a016>.
- [202] T. W. Swaddle, *Chem Rev.* **105(6)** (2005) 2573-2608, <https://doi.org/10.1021/cr030727g>.
- [203] S. Tajik, H. Beitollahi, F. Garkani Nejad, Z. Dourandish, *Biosensors* **15(1)** (2025) 60, <https://doi.org/10.3390/bios15010060>.
- [204] International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH harmonized guideline: guideline for validation of analytical procedures – Q2 (R1), European Medicines Agency, Amsterdam (2005) <https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>.