

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри нанофізики конденсованих середовищ  
проф. д.ф.-м.н. Валерій Антонович Скришевський  
Протокол № \_\_\_\_\_ засідання кафедри  
від “ \_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ р.

**ІМПЕДИОМЕТРИЧНІ НАПІВПРОВІДНИКОВІ ЕЛЕКТРОДИ НА  
ОСНОВІ НАНОСТРУКТУРОВАНОГО ОКСИДУ ТИТАНУ ДЛЯ  
СТВОРЕННЯ ДНК-СЕНСОРІВ**

Випускна кваліфікаційна робота магістра  
студента спеціальності  
105 Прикладна фізика та наноматеріали  
ОП «Нанофізика та наносенсорика»  
**Грищенко Родіона Олександровича**

Науковий керівник від кафедри  
доцент кафедри нанофізики  
конденсованих середовищ  
к.ф.-м.н. Гаврильченко Ірина Валеріївна

Робота виконана у відділі функціональних перетворювачів для сенсорної  
техніки Інституту фізики напівпровідників ім. В.Є.Лашкарьова НАН України  
під керівництвом д.ф.-м.н. **О.Л. Кукли**

Оцінка захисту роботи

---

Київ – 2022 р.

## Зміст

Вступ.....	7
Розділ 1. Огляд літератури.....	9
1.1. Кон'югація олігонуклеотидів з CdS нанокристалами.....	10
1.1.1. Безпосередня іммобілізація тіольованої ДНК на поверхні CdS.....	12
1.1.2. Безпосередня іммобілізація фосфоротіотат модифікованої ДНК на поверхні CdS.....	13
1.1.3. Зв'язування біотинильованої ДНК зі стрептавідин модифікованими CdS.....	14
1.1.4. Афіність імідазола з Ni-NTA.....	16
1.1.5. Електростатичне зв'язування ДНК з полімером, що вкриває квантові точки.....	16
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	16
Розділ 2. Матеріали та методи досліджень.....	18
2.1. Фізичні підходи щодо обґрунтування можливості розпізнавання різних типів водно-органічних розчинів за допомогою спектрально-імпедансних методик.....	29
2.1.1. Стан проблеми.....	31
2.1.2. Теоретичні основи для опису нерівноважних явищ в розчинах електролітів.....	35

2.1.3.	Електродні процеси та відповідні параметри комірки.....	35 35
2.1.4.	Еквівалентні схеми електрохімічної комірки та моделі для їх розрахунку.....	37
2.1.5.	Встановлення взаємозв'язку фізичних та електричних параметрів комірки.....	42 48
Розділ 3.	Результати досліджень та їх обговорення.....	49
3.1.	Розробка методів виготовлення наноструктурованих поверхневих шарів оксиду титану та електродів для імпедіометрії.....	
3.1.1.	Режими анодування титану.....	
3.1.2.	Морфологія наноструктурованих поверхонь, одержаних анодуванням титану.....	
3.2.	Потенціометричні та імпедіометричні дослідження наноструктурованих електродів в електроліті.....	
	Висновки.....	
	Список використаних джерел.....	

## Анотація

Робота орієнтована на створення базису для високочутливих широкофункціональних сенсорів біологічних маркерів генетичних та інфекційних захворювань за допомогою технологій виготовлення наноструктурованих біофункціоналізованих електродів імпедіометрії на основі оксиду титану. Селективність таких ДНК-сенсорів визначається олігонуклеотидами іммобілізованими на поверхні напівпровідникових електродів з розвиненою поверхнею. Нанотехнології, що розробляються для виготовлення таких поверхонь, є недорогими та відтворюваними і можуть масово використовуватися.

Робота включає:

- нові технології виготовлення і контролю наноструктурованих напівпровідникових електродів із залученням парофазних, плазмово-променевих та електрохімічних методів;
- дослідження механізмів взаємодії в молекулярно-напівпровідниковій системі на межі із електролітом для селективного визначення специфічних послідовностей ДНК в низьких концентраціях;
- розвиток інформативних імпедіометричних досліджень.

Функціоналізація такого електроду олігонуклеотидами певної послідовності забезпечує селективність гібридизації з нуклеотидною послідовністю цільової ДНК, а використання масиву таких електродів з відповідними різними олігонуклеотидами створює широкофункціональну платформу для швидкої діагностики цілого набору патогенів одночасно

Ключові слова: ДНК-сенсор, олігонуклеотид, іммобілізація, оксиди титану, електрохімічна імпедансна спектроскопія, функціоналізація.

## **Annotation**

The work is focused on the creation of a basis for high-resolution broad-functional sensors of biologic markers of genetic and infectious diseases using the technology of nanostructured biofunctionalized electrodes based on titanium oxide.

Selectivity of such DNA-sensors is determined by oligonucleotides immobilized on the surface of the nanopositioned electrodes with a developed surface. Nanotechnologies developed for the production of such surfaces are inexpensive and can be bulk manufactured.

The work includes:

- new technologies of manufacturing and control of nanostructured nanowire electrodes using vapor-phase, plasma-exchange and electrochemical methods;
- Investigation of the interaction mechanisms in the molecular-surfactor system between the electrode and the electrolyte for selective detection of specific DNA sequences at low concentrations;
- Development of informative impedimetric studies.

Functionalization of such an electrode with oligonucleotides of the same sequence ensures selectivity of hybridization with the nucleotide sequence of the target DNA. The use of such electrodes with the appropriate different oligonucleotides provides a broad-functional platform for rapid diagnostics of a whole set of pathogens at the same time

Keywords: DNA-sensor, oligonucleotide, immobilization, titanium oxides, electrochemical impedance spectroscopy, functionalization

## Перелік умовних скорочень

АЧХ – ампер-часова характеристиками

ВАХ – вольт-амперна характеристика

СЕМ – скануюча електронна мікроскопія

АСМ – атомно-силова мікроскопія

КТ – квантові точки

ФЛ – фотолюмінесценція

МАО – меркаптооцтова кислота

МПА – 3-меркаптопропіонова кислота

PBS – фосфатно-сольовий буферний розчин

1×SSC – буферний розчин, що містить 15 мМ цитрату натрію та 150 мМ NaCl

## Вступ

Детектування специфічних послідовностей нуклеїнових кислот, пов'язаних з виникненням патологічних станів організму людини, є дуже важливим для ранньої діагностики багатьох захворювань та розробки ефективних терапевтичних стратегій. Найчастіше такі захворювання – це лейкемії і характеризуються вони хромосомними транслокаціями, у результаті яких утворюються гібридні гени, що кодують відповідні білки. Ці білки і є патологічними факторами.

Задля пошуку терапевтичного методів терапевтичного втручання були розроблені методи аналізу відповідних послідовностей нуклеїнових кислот. Для цього використовують радіоактивні, флуоресцентні або інші молекулярні мітки. Але такі підходи мають суттєві недоліки, тому є ефективніша альтернатива – пряме детектування взаємодій між молекулами. Його перевагами є відсутність перешкод з боку мітки, зменшення часу, трудових витрат і коштів на підготовку зразків до аналізу. Одним з таких підходів є спектроскопія електричного імпедансу (EIS). Ця методика є високоефективною для реєстрації багатьох хімічних і біохімічних процесів, в тому числі, гібридизації олігонуклеотидів [3,4].

Гібридизація олігонуклеотидів, попередньо іммобілізованих на поверхні електроду, з цільовою ДНК спричиняє зміни поверхневої концентрації, конформації, заряду та поляризованості молекулярних поверхневих шарів на межі електрод-електроліт. Інформативність EIS значною мірою залежить від техніки відокремлення селективних поверхневих процесів на електродах від неселективних змін об'ємних властивостей електроліту в результаті додавання досліджуваного зразка, комплексоутворення в об'ємі, електрофорезу або дифузії. Наноструктурування та збільшення площі поверхні електродів слугує саме для підвищення поверхневого сигналу.

Дуже важливим етапом у розробці гібридизаційного ДНК-сенсора є вибір відповідного метода іммобілізації ДНК, який призводить до надійної фіксації на сенсорній поверхні та оптимальної орієнтації іммобілізованих одноланцюгових олігонуклеотидів для їх ефективної гібридизації з комплементарною ДНК-мішенню [7]. На сьогоднішній день запропонована велика кількість методів іммобілізації ДНК: різні варіанти адсорбції, ковалентного зв'язування, афінних взаємодій тощо. На основі аналізу наукової літератури з цього питання буде зроблено вибір декількох варіантів перспективних з точки зору їх ефективності та можливості їхньої реалізації в наших умовах.

Мета даної роботи – дослідити електричні властивості електродів різної морфології в електрохімічній комірці методом імпедансної спектроскопії до і після біофункціоналізації. А також розробити методику виявлення специфічних послідовностей нуклеїнових кислот за допомогою спектроскопії електричного імпедансу. Визначення селективної взаємодії біофункціоналізованих напівпровідникових шарів та нанокристалів з цільовою ДНК планується для подальшої розробки селективних ДНК-сенсорів ранньої діагностики захворювань.

## Розділ 1

### Огляд літератури

#### 1.1. Кон'югація олігонуклеотидів з CdS нанокристаллами

Методи кон'югації олігонуклеотидів з поверхнею напівпровідникових нанокристалів зумовлена реакцією певних функціональних груп між собою. Ці реакційноздатні функціональні групи включаються під час твердофазного синтезу олігонуклеотидів. Ці модифікації виробляють спеціально мічену кінцеву ДНК, де одиничні функціональні групи (такі як  $-SH$ ) можуть бути хімічно введені разом з вуглеводневим лінкерним ланцюгом бажаної довжини. Цей лінкерний ланцюг проектує функціональну групу подалі від олігонуклеотидного ланцюга, а отже, збільшує доступність розчинника та реакційну здатність функціональної групи [8].

Можна визначити дві категорії методичних підходів кон'югації: перша - це, коли функціональні групи олігонуклеотидів мають спорідненість безпосередньо до неорганічної поверхні напівпровідникових нанокристалів, і друга, коли ДНК взаємодіє зі специфічними органічними або біомолекулярними лігандами попередньо іммобілізованими на поверхні нанокристалів. Так, пряме заміщення зв'язаних з поверхнею квантових точок (КТ) триоктилфосфіну та триоктилфосфіну оксиду (ТОР/ТОРО) тіольними сполуками, наприклад, 3-меркаптопропіоновою кислотою (МРА) не тільки надає КТ водорозчинності, але й створює можливості для реалізації обох категорій методичних підходів подальшої іммобілізації олігонуклеотидів на їх поверхні.

### 1.1.1. Безпосередня іммобілізація тіольованої ДНК на поверхні CdS

Вперше застосування тіольованої ДНК для її біокон'югації з КТ було описане у 1999 році [11]. У цій статті автори використовували ZnS/CdSe оболонка/ядро КТ. До суспензії ZnS/CdSe КТ, стабілізованих сумішшю триоктилфосфіну та триоктилфосфіну оксиду (ТОР/ТОРО) додавали МРА у надлишку для миттєвої реакції, в результаті формувались КТ функціоналізовані пропіоновою кислотою. На відміну від ТОР/ТОРО стабілізованих КТ попередньо зазначені частинки проявляють характерне  $\nu_{CO}$  угруповання на  $1710 \text{ cm}^{-1}$  для пропіонової кислоти, що зв'язана з поверхнею. Хоча вони практично нерозчинні у воді, це можна виправити за рахунок депротонування зв'язаних з поверхнею сайтів МРА 4-(диметиламіно)-піридином (DMAP). Потім КТ легко диспергуються у воді, утворюючи стабільний розчин помаранчевого кольору, що може зберігатись близько тижня при кімнатній температурі. Такі КТ проявляли невизначену водонасичену стабільність після того, як їх вимочили у розчині 3'-пропілтіол- або 5'-гекситіол-кінцевої 22-мерної ДНК (1,0-2,0 ODs/мл) протягом 24-40 год. Більш того, колоїд зберігав сильну флуоресценцію з різкою (FWHM=33 nm) симетричною емісією на 546 nm (~3.2 nm CdSe ядра). Потім колоїд був відокремлений від надлишку ДНК діалізом проти фосфатно-сольового буфера (PBS).

Gill R. *et al.* [12] у своїх дослідженнях використовували CdSe/ZnS ядро/оболонка КТ, діаметром 3,8 nm (0,9 nm оболонка, ядро у діаметрі 2,9 nm). Ці КТ трансформувались у водному розчині шляхом обміну лігандами з МРА. Отримані КТ функціоналізували за допомогою тіольованої нуклеїнової кислоти. Середнє покриття поверхні КТ нуклеїновою кислотою складав ~6 молекул на частинку (виміряно шляхом визначення кількості некоординованої ДНК спектроскопічно). Квантовий вихід КТ у хлороформі становив 70%, а квантовий вихід функціоналізованих МРА КТ у воді,

становив 25%. Після модифікації нуклеїновою кислотою спостерігалось подальше зниження квантового виходу до значення у 7%.

Noh H. et al. кон'югували ДНК з різними КТ, а саме CdX, де X – для Se, Te, S [13]. Для цього методу готували розчин тіогліцеролу у 5 мМ фосфатного буферу для CdTe і 0,1 М розчину NaOH для CdSe і CdS, відповідно. Для приготування тіольованої ДНК спочатку відновлювали комерційно придбану ДНК трис-(2-карбоксиетил)-фосфінгідрохлоридом (ТСЕР-HCl) протягом 1 год з подальшим видаленням надлишку ТСЕР діалізом. Оброблену ДНК негайно додавали до тіогліцерин кон'югованих CdX з 0,1 М NaOH, використовуючи співвідношення CdX : ДНК 1 : 200 для розміру 4,2 нм КТ CdX. Отриману суміш залишали для реакція на ніч, після чого надлишок ДНК видаляли за допомогою 30 К центрифужного фільтра, а кінцевий розчин ДНК-CdX зберігали в 5 мМ фосфатному буфері [Noh H. Direct conjugation of DNA to quantum dots for scalable assembly of photoactive thin films 2014].

Su S. et al. [14] безпосередньо приєднували тіольовану ДНК до CdTe/CdS КТ методом обміну лігандів. У цьому дослідженні автори досліджували оптимальні експериментальні умови для отримання КТ кон'югованих з ДНК, такі як молярне співвідношення ДНК до КТ, час реакції та температура. Для цього деякі КТ змішували з тіольованою ДНК при різних температурах протягом кількох годин, щоб забезпечити повний обмін між КТ, що були кеповані МРА, з тіольованими олігонуклеотидами. Потім кон'югат ДНК-КТ відокремлювали від вільних олігонуклеотидів ультрафільтрацією. Після центрифугування при 5500 об/хв протягом 10 хв надосадову рідину відбирали, а осад повторно ресуспендували у 200 мкл трис-буфера. Цю процедуру повторювали тричі, після чого отриманий продукт розчиняли в 10 мМ трис-HCl буфері (рН 7,6) до бажаної концентрації для вимірювання. Для цього дослідження автори перевіряли молярні співвідношення КТ:SH-ДНК 1:0, 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50 і виявили, що вищі концентрації співвідношень КТ:SH-ДНК (1:40 і 1:50) демонструють

кращий зв'язок ДНК з поверхнею КТ, та майже повністю її насичують. Виходячи з цього автори вибрали у якості оптимального молярно співвідношення 1:30 КТ-ДНК. Також було вивчено вплив різних температур (20, 25, 30, 35 і 40°C) та різного періоду реакції (0, 12, 24, 36, 48, 60 год). Отже, для цієї роботи оптимальною температурою реакції та час реакції були обрані 25°C та 36 год, відповідно.

### **1.1.2. Безпосередня іммобілізація фосфоротіотат модифікованої ДНК на поверхні CdS**

Каркас ДНК складається з поліфосфатів. Поліфосфати можна синтетично модифікувати у фосфоротіотати, де один з не мостових атомів кисню буде заміщений сіркою. На відміну від кисню, атоми сірки мають високу афінність з  $\text{Cd}^{2+}$ . Такий метод прикріплення ДНК до наночастинок досить зручний, однак має певний недолік – кон'югована ДНК може зазнавати конформаційних змін, через що втрачає здатність гібридизувати комплементарну ДНК [8, 15]. Однак це можна обійти за рахунок додавання надлишку ДНК з фосфодієфірною основою, що відтворює цільову послідовність. Наночастинки, які функціоналізовані комбінація фосфоротіотатного та фосфодієфірного каркасів для молекулярної організації можуть надалі використовуватись у дослідженнях [8].

Farlow J. et al [16] для приготування біокон'югату фосфоротіотат модифікованої ДНК (фмДНК) з моновалентними CdSe/ZnS КТ використовували наступний метод. Спочатку, для підтвердження точної стехіометрії ДНК у співвідношенні 1: 1 ДНК:КТ (100 нМ, 1 мл) додавали 0,5 еквівалента фмДНК (100 нМ, 0,5 мл) по краплях при інтенсивному перемішуванні. Після 9 год реакції ступінь кон'югації ДНК з КТ підтверджували електрофорезом у 0,8 % надчистої агарози в боратному буфері впродовж 15 хв при 8 В/см. Вихід кон'югації визначали відносною інтенсивністю флуоресценції між двома смугами в агарозному гелі, що

відповідає необробленим моновалентним КТ (мКТ). Потім додавали відповідну кількість розчину фмДНК, який базувався на наведеному вище розрахунку, і суміш залишали для реакції ще на 9 год. Для подальших маніпуляцій з біомолекулами або рецепторами клітинної поверхні проводили обмін поверхневих лігандів з  $\text{HSC}_{11}\text{H}_{22}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_6\text{OCH}_2\text{CO}_2\text{H}$  ( $\times 10^4$  еквіваленти КТ) протягом 10 хв. Отриманий розчин концентрували до 0,2 мл, а потім перед використанням знесолювали через колонку NAP-10.

### **1.1.3. Зв'язування біотинильованої ДНК зі стрептавідин модифікованими CdS**

Взаємодія між біотином та стрептавідином – одна з найсильніших нековалентних взаємодій. Їх висока спорідненість досить часто використовується для кон'югації олігонуклеотидів на поверхні нанооб'єктів. Для цього необхідно спочатку виконати функціоналізацію КТ стрептавідином, потім КТ очищають від некон'югованих білків та змішують з комерційною біотильованою ДНК. Кожна молекула стрептавідину має 4 сайти зв'язування біотину, що забезпечує прикріплення більш ніж однієї молекули ДНК [8]. Також для такої методики зв'язування олігонуклеотидів з нанокристалом CdS можна використовувати ризавідин, що так само як і стрептавідин відноситься до родини авідинів, однак проявляє більшу афінність до біотину [10]. Однак у цього метода теж є певний недолік. Додатковий шар білка призводить до збільшення розміру нанокристала, що може ускладнювати її застосування у деяких системах (наприклад вистежування у іонних каналах і т.д.) [8].

### **1.1.4. Афінність імідазола з Ni-NTA**

Susumu K. et al. у своїй статті описали дизайн і підготовку CdSe-ZnS ядро-оболонка КТ, що поверхнево функціоналізовані Ni-NTA, починаючи з

кепування КТ карбокси-функціоналізованою дигідроліпоєвою кислотою (DHЛА) – поліетиленгліколь (PEG) лігандами [8]. Обмін лігандів відбувався на поверхні CdSe-ZnS ядро-оболонка КТ між гідрофобними лігандами, зв'язаними на поверхню КТ зі сумішшю DHЛА-PEG750-OMe і DHЛА-PEG600-COOH у молярному співвідношенні 1:1. У цій суміші лігандів карбоксильні кінцеві групи на PEG сприяли подальшій модифікації поверхонь КТ, тоді як інертні метокси-групи дозволяли контролювати реакційну здатність поверхні нанокристалів.

КТ-COOH об'єднували з Ni-[N,N-біс(карбоксиметил) лізином] через EDC і N-гідроксилсульфосукцинімід (сульфо-NHS). Для прекоординації N,N-біс(карбоксиметил)лізину з іонами Ni, змішали NiCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O з N,N-біс(карбоксиметил)лізином в молярному співвідношенні 1:1, отриманий Ni-[N,N-біс(карбоксиметил)лізин] безпосередньо використовували для реакції зчеплення з EDC. Після витримки реакції ~2 год, суміш очищали колонкою для знесолення PD-10 для видалення надлишку реагентів. Кон'югати КТ-Ni-NТА збирали у вигляді єдиної смуги випромінювання зеленого кольору. Під час зчеплення EDC реакційний розчин був прозорим і не мав ознак агрегації КТ або осадження.

### **1.1.5. Електростатичне зв'язування ДНК з полімером, що вкриває квантові точки**

Фосфатні залишки ДНК мають негативний заряд, що дозволяє приєднувати її до КТ із позитивно зарядженим поверхневим покриттям за рахунок електростатичного притягання. Такий метод досить простий, миттєвий і призводить до великого навантаження ДНК [1]. Для такого підходу часто використовують КТ, що вкриті катіонним полімером, до якого, в свою чергу, прикріплюється, за рахунок електростатичної дії, фосфатні залишки ДНК [19]. Однак, цей метод також має певні обмеження у застосуванні. Взаємодія між фосфатними залишками ДНК і поверхню КТ

може залежати від показників рН, і кон'югати, як правило, агрегуються при тривалому зберіганні [Banerjee A. Quantum dots–DNA bioconjugates: synthesis to applications 2016].

Bagalkot V. з Gao X. приготували конструкцію КТ – полі (малеїновий ангідрид-альт-1-тетрадецен)-поліетиленімін (КТ-PMAT-PEI) [20]. Наступним етапом було зв'язування siRNA з цими комплексами. Для визначення співвідношення зв'язування siRNA з КТ, 5'-модифіковану аміном siRNA селективну до eGFP (20 мкМ) змішували з 2; 1,33; 1; 0,86; 0,66; 0,4 і 0,2 пмоль КТ-PMAT-PEI та інкубували 20 хв, щоб отримати молярне співвідношення КТ: siRNA 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:50 та 1:100. Комплекси вводили в агарозний гель для електрофоретичного аналізу і фарбували барвником SYBR gold для виявлення siRNA.

Lee J. et al. описують підхід для формування комплексів катіонних CdSe/ZnS КТ з ДНК [21]. Для цього було взято 1 мкл розчину 5 мкМ КТ, функціоналізованих аміном, який інкубували з 20 еквівалентами 18-мерного олігонуклеотиду у 100 мкл ТЕ буфера. Розчин інкубували 3 год при кімнатній температурі, після чого непрореаговані олігонуклеотиди видаляли мембранним фільтром (10 кДа, номінальний ліміт молекулярної маси) і визначали кількісно за стандартною кривою, отриманою за допомогою реагенту OliGreen. Для з'ясування характеру електростатичної взаємодії катіонних КТ з ДНК досліджували вплив рН на утворення комплексу, додаючи різні кількості розчину 1 М NaOH. Наступним етапом було підготувати зразки КТ-ДНК. Для ферстеревського резонансного переносу енергії (FRET) використали пару донор-акцептор, що складалась з КТ (пік емісії 530 нм) та TAMRA (пік емісії 580 нм), відповідно. 5'-кінець олігонуклеотиду (p25) був помічений барвником TAMRA. Для приготування комплексів КТ-ДНК змішували КТ з міченою барвником ДНК з різними співвідношеннями ДНК:КТ (5-100). Потім суміші інкубували 30 хв при кімнатній температурі. Щоб видалити надлишок непрореагованої ДНК, проводили мембранну фільтрацію (номінальний ліміт молекулярної маси 30

кДа) п'ять разів при 5000 об/хв. Оптичне поглинання фільтрату вимірювали для розрахунку кількості ДНК на КТ.

## **Розділ 2**

### **Матеріали та методи досліджень**

#### **2.1. Фізичні підходи щодо обґрунтування можливості розпізнавання різних типів водно-органічних розчинів за допомогою спектрально-імпедансних методик**

##### **2.1.1. Стан проблеми**

Електрохімічні методи досліджень в рідинах широко використовуються для визначення цілого ряду електропровідних та діелектричних параметрів різноманітних функціональних матеріалів й зокрема, визначення кількісного складу водно-органічних та біоорганічних розчинів. Досліджувана рідина вміщується в електрохімічну комірку та за допомогою частотних вимірювань імпедансу проводиться аналіз фізико-хімічних процесів, що відбуваються в об'ємі комірки або на границі з електродами [1, 2]. Відомі спектроімпедансні методики визначення загального вмісту солей в розчинах [22], вмісту вологи в ряді матеріалів [23, 5], дослідження діелектричних характеристик і чистоти органічних речовин (вуглеводнів, масел і розчинників) [6-26], детектування токсичних домішок в різних середовищах [10, 27]. В основі вказаних методик лежить порівняння вимірюваних експериментальних залежностей імпедансу з модельними теоретичними залежностями, звідки можна розрахувати параметри відповідної еквівалентної схеми для електрохімічної комірки, а з них отримати дані про фізико-хімічні характеристики досліджуваного матеріалу [22].

Цікавим підходом для аналізу рідких багатокomпонентних сумішей є використання динамічних ефектів на межі розділу електроліт-метал, коли

вимірювання проводяться на різних частотах змінного струму. Справа в тому, що застосування різних частот еквівалентно використанню уявного сенсорного масиву, де роль окремого сенсора відіграє частота вимірювання, а відгуком є значення вимірюваного імпедансу в одній частотній точці. До відгуків такого масиву сенсорів можна застосувати технологію розпізнавання образів.

Але щодо реалізації подібної задачі виникає головне питання – чи можна взагалі за допомогою спектроімпедансних досліджень проводити розпізнавання та ідентифікацію різних типів розчинів? Очевидно, що різниця в отримуваних нами імпедансних залежностях для різних рідин викликана відмінністю їх внутрішніх електрофізичних характеристик, таких як концентрація, рухливість, коефіцієнти дифузії, маса, заряд та розміри іонів і органічних часток, що входять до їх складу (рис. 2.1). Але наскільки значний цей взаємовплив, та чи викликають зміни в будь-якому одному або кількох електрофізичних параметрах розчину такі зміни в імпедансі, які можна було б зареєструвати та відслідковувати?

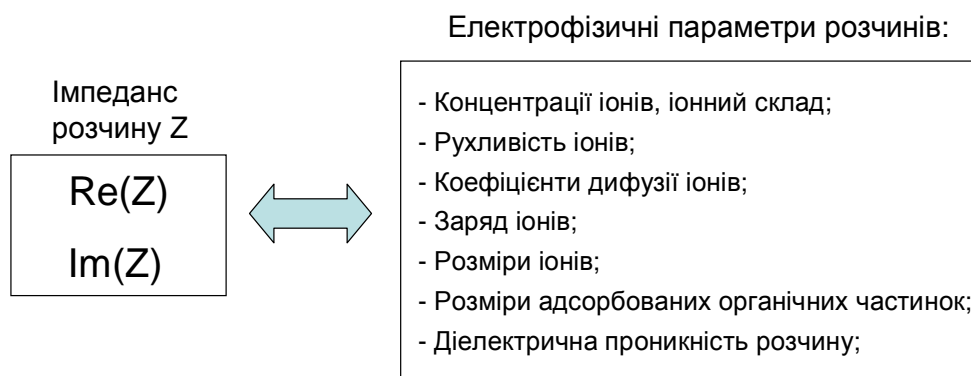


Рисунок 2.1 – Взаємозв’язок між імпедансними характеристиками розчинів та їх електрофізичними параметрами

Як буде показано нижче, відповідь на це питання є позитивна. Однак щоб довести це, потрібно насамперед встановити взаємозв’язок між імпедансними характеристиками розчинів та їх електрофізичними

параметрами. Для цього розглянемо електрохімічну комірку з досліджуваним розчином (рис. 2.2). Відомо, що структура розчину в такій комірці формується з наступних шарів: подвійного електричного шару, що в свою чергу, складається із щільної частини (шарів Гельмгольца – внутрішнього до електродів шару специфічно адсорбованих іонів (найчастіше катіонів) або органічних молекул, та зовнішнього шару сильно гідратованих іонів) та дифузної частини (шар Гоу-Чапмена), та власне об'єму електроліту.

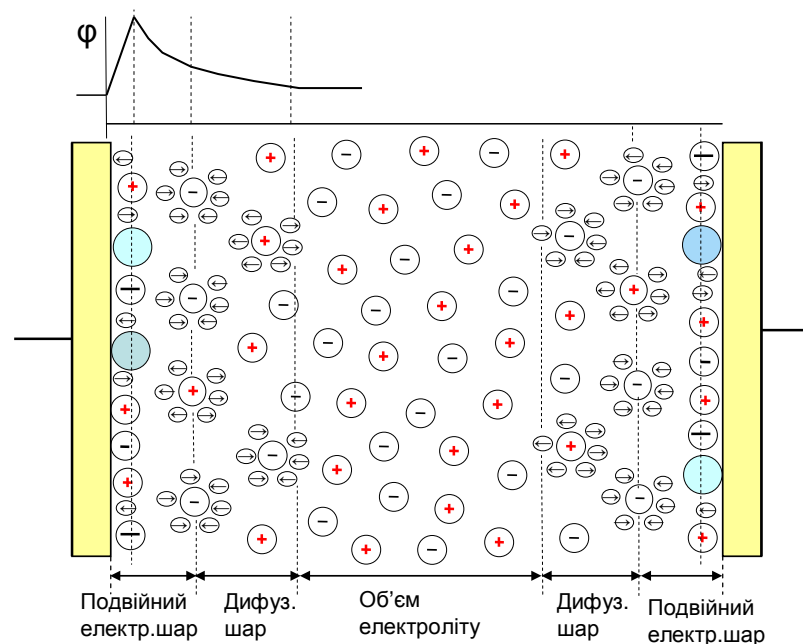


Рисунок 2.2 – Структура шарів електроліту в 2-х-електродній контактній електрохімічній комірці

Фізичними ефектами в такій системі є наступні: 1) електропровідність рідини, яка визначається рухливістю та концентрацією відповідних іонів, 2) електродні ефекти обміну зарядом на межі розділу розчин / електрод, що залежать від наявності домішок, 3) діелектрична сприйнятливість розчину у випадку високоомних (діелектричних) рідин.

### 2.1.2. Теоретичні основи для опису нерівноважних явищ в розчинах електролітів

Для з'ясування вказаної вище проблеми розглянемо коротко теоретичні основи процесів електро- і масопереносу в електрохімічній двоелектродній комірці, в тому числі процеси дифузійної кінетики. Якщо не приймати до уваги виникнення хімічних реакцій на електродах, то іншими двома основними способами викликати нерівноважні процеси в такій системі є [28]: 1) зміна концентрації (активності) розчиненої речовини в одній частині розчину по відношенню до іншої, 2) прикладення електричного поля, що призводить до направлено переміщення заряджених часток (іонів). В першому способі кількість переміщень іонів на фоні теплового руху в напрямку зменшення їх концентрації переважають кількість таких переміщень в зворотному напрямку, в результаті виникає потік *дифузії*. Такий же ефект викликає наявність окислювально-відновлювальних електродних реакцій (при прикладанні певного потенціалу до електроду), що призводить до дифузійного потоку речовини, що розряджається, із об'єму до електроду, а продуктів реакції – від електроду до об'єму. В другому способі, при прикладенні до електродів різниці потенціалів, усередині електроліту виникає електричне поле, і на тепловий рух іонів накладається впорядкований рух різнойменно заряджених іонів у різні сторони – катіонів у напрямку поля до катоду, аніонів проти поля до аноду. Такий рух називають *міграцією*, і він характерний лише для заряджених часток. Масоперенос в рідинах, крім дифузії і міграції, може відбуватися ще й за рахунок *конвекції*. Конвективний потік створюється внаслідок різної густини частин розчину, що виникає за різних причин, в тому числі при зміні концентрації. Однак цей механізм не замінює й не усуває дифузю.

З урахуванням всіх зазначених механізмів масопереносу, розглядається сумарний потік іонів  $P_{\Sigma}$ :

$$P_{\Sigma} = P_D + P_M + P_K, \quad (2.1)$$

де  $P_D$ ,  $P_M$  і  $P_K$  – потоки дифузії, міграції та конвекції, відповідно (потік рахуємо як число молей даного компонента, що проходить в одиницю часу

через одиничну площу). У відповідності з законом Фарадея, потік іонів, що підходить до електроду і розряджається на ньому, перетворюється в наступний електричний струм електроду (на одиницю площі):

$$j = -nFP_{\Sigma}^s \quad (2.2)$$

де  $P_{\Sigma}^s$  - сумарний потік у поверхні електроду,  $n$  - число електронів, що переходить через границю електрод-розчин,  $F$  - постійна Фарадея (це загальний заряд одного молю даної речовини). Розглянемо тепер вирази для окремих складових потоків, враховуючи, що величина потоку дорівнює добутку концентрації іонів на їх швидкість. Потік дифузії визначається градієнтом хімічного потенціалу  $\mu$  [28]:

$$P_D = Cv_d = -k_d C \text{grad} \mu \quad (2.3)$$

де  $v_d$  - швидкість дифузії,  $k_d$  - коефіцієнт пропорційності, що за сенсом є величиною, зворотною до коефіцієнту внутрішнього тертя. Знак "мінус" в виразі означає, що напрям потоку дифузії є протилежним росту концентрації. Зауважимо, що оскільки потік рахується в молях, то концентрація  $C$  теж повинна бути молярною (моль/л).

Враховуючи формулу для хімічного потенціалу  $\mu = \mu_0 + RT \ln a C$ , де  $a$  - коефіцієнт активності речовини, після ряду перетворень отримаємо:

$$P_D = -k_d C \frac{d\mu}{dC} \text{grad} C = -D \text{grad} C \quad (2.4)$$

де величина  $D = k_d RT \left(1 + \frac{d \ln a}{d \ln C}\right)$  являє собою коефіцієнт дифузії. Коефіцієнт активності при цьому виявився введеним в коефіцієнт дифузії, тому потік дифузії визначається вже саме градієнтом концентрації. Рівняння (2.4) відомо як 1-й закон Фіка.

Для потоку міграції по аналогії з (2.3) маємо:

$$P_M = Cv_m = CuE = -Cu \text{grad} \varphi \quad (2.5)$$

де  $v_m$  - швидкість міграції,  $u$  - швидкість руху іону при одиничній напруженості поля,  $E = -\text{grad} \varphi$  - напруженість поля,  $\varphi$  - потенціал, тобто  $u$  - це рухомість іону. Зауважимо, що зв'язок між рухомістю та коефіцієнтом дифузії, що дається відомим співвідношенням Ейнштейна, у випадку

розчинів набуває вигляд рівняння Нернста–Ейнштейна:  $u = D \frac{ze}{kT} = D \frac{zF}{RT}$ , де  $z$  – зарядове число іону (тобто кількість елементарних зарядів, що переносить іон, що фактично є його валентністю, з урахуванням знаку). Звідси вираз для потоку міграції набуває вигляду:

$$P_M = -DC \frac{zF}{RT} \text{grad}\varphi \quad (2.6)$$

Нарешті, для потоку конвекції маємо  $P_K = Cv$ , де  $v$  – швидкість руху рідини.

Таким чином, в загальному випадку, іони рухаються під дією як градієнту концентрації, так і градієнту потенціалу. Наслідком цих процесів є певний розподіл концентрації іонів біля поверхні електродів. Отримання такого розподілу відноситься до задач так званої дифузійної кінетики, в основі якої лежить система диференціальних рівнянь вигляду:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\text{div}P_\Sigma \quad , \quad (2.7)$$

де потоки відносяться до всіх частинок, що приймають участь в електрохімічних реакціях (як реагентам, так і продуктам). Фізичний сенс рівняння відображує фактично закон збереження речовини, що записаний в диференціальній формі. Відокремивши з останнього виразу дифузійну частину загального потоку, та використовуючи (2.4), отримаємо:

$$\text{div}P_D = \text{div}(-D\text{grad}C) = -D\nabla^2 C \quad (2.8)$$

де  $\nabla^2$  - оператор Лапласа. Таким чином, з урахуванням всіх типів масопереносу, припускаючи незалежність коефіцієнта дифузії частинок від концентрації, можна записати наступний вираз для їх концентраційного розподілу поблизу поверхні електроду:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\nabla^2 C + D \frac{zF}{RT} \text{div}(C\text{grad}\varphi) - v\text{grad}C \quad (2.9)$$

Для вирішення даного рівняння потрібно задати відповідні початкові та граничні умови, що в реальній системі визначаються способом проведення експерименту. Результатом розв'язку є функціональна залежність концентрації кожного компонента розчину від часу та координат типу

$C(t,x,y,z)$ . Знаючи ці залежності, можна розрахувати сумарний потік всіх речовин через поверхню електроду  $P_{\Sigma}^S$ . При цьому, якщо стадія підведення іонів до електроду є лімітуючим фактором електродного процесу, то у відповідності з законом Фарадея густина струму через електрод буде представлена згідно виразу (2.2). Встановивши розподіл тих іонів, що не розряджаються, можна визначити розподіл потенціалу в дифузійному шарі. З іншого боку, знаючи поверхневі концентрації реагуючих частинок, розраховують поляризацію електроду  $\Delta U = U - U_p$  (зсув потенціалу електроду від його рівноважного значення  $U_p$ ) та встановлюють зв'язок між струмом  $j$  та  $\Delta U$ . Таким є загальний підхід к проблемам дифузійної кінетики.

За реальних умов усі три механізми масопереносу в рівнянні (2.9) відбуваються одночасно і накладаються один на одного. Проте в певних випадках можна припустити, що проявляється лише якийсь один з них. Наприклад, коли спеціальними умовами в електрохімічній комірці усунути міграція та конвекція, при цьому дифузія речовини відбувається вздовж тільки однієї координати  $X$  (нормально до поверхні електроду), то вирази (2.9) та (5.2) переходять відповідно у одновимірні рівняння:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad \text{та} \quad j = nFD \left( \frac{\partial c}{\partial x} \right)_{x=0} \quad (2.10)$$

Перше з них називають 2-м законом Фіка для дифузії, а друге рівняння є поєднанням закону Фарадея з 1-м законом Фіка.

Іншим окремим випадком є врахування тільки міграційного потоку. Наприклад, в нерухомому електроліті за однорідного складу розчину можна знехтувати дифузією і конвекцією, та розглядати тільки міграцію іонів під дією електричного поля [29]. Тоді густина струму міграції відповідно до (2.2) дорівнює  $j_m = -zFP_M$ . Підставимо сюди потік міграції з формули (2.5) та отримаємо:

$$j_m = -zFP_M = zFCu \operatorname{grad} \varphi \quad (2.11)$$

З іншого боку, згідно з законом Ома та ж сама густина струму дорівнює:

$$j = \sigma E = \sigma \operatorname{grad} \varphi \quad (2.12)$$

Порівнюючи останні дві формули, отримаємо вираз для провідності іонного розчину, що складається з іонів лише певного типу:

$$\sigma = zFCu \quad (2.13)$$

Або у випадку множини різних типів іонів, що знаходяться у розчині:

$$\sigma = F \sum_i z_i C_i u_i, \quad (2.14)$$

де  $z_i$ ,  $C_i$ ,  $u_i$  - зарядове число, концентрація та рухливість іонів  $i$ -типу. Отже, провідність розчину пропорційна концентрації та рухливості його іонів. Згадаємо, що в останніх формулах використана молярна концентрація  $C_i$ . Щоб перейти до одиниць концентрації, виражених в іонах на одиницю об'єму, молярну концентрацію потрібно поділити на число Авогадро. Останнє замінюємо виразом  $N_A = F/e$ , тоді формула (2.14) перетворюється в наступну:

$$\sigma = (F \sum_i z_i C_i u_i) \frac{e}{F} = \sum_i z_i e c_i u_i = \sum_i q_i c_i u_i \quad (2.15)$$

де  $q_i = z_i e$  - заряд  $i$ -го іона, що є добутком зарядового числа на елементарний заряд. Таким чином, ми отримали формулу для розрахунку провідності електроліту за участі множини іонів різного типу, де всі параметри беруться у звичайних фізичних одиницях. Цей вираз буде використано нами далі для розрахунку активної електропровідності зразків водно-спиртових розчинів.

Ще один важливий наслідок наведених вище рівнянь дифузійної кінетики стосується виводу так званого імпедансу Варбурга. Цей імпеданс виникає внаслідок дифузії іонів із об'єму електроліту до поверхні електроду, яка, в свою чергу, спричиняється через розрядження частини іонів на електроді. В результаті з'являється концентраційна поляризація електроду, яка вносить деяку добавку до поверхневого імпедансу, особливо на низьких частотах. Відповідний вираз для обчислення такого дифузійного імпедансу, виведений на основі другого закону Фіка, представлено у вигляді комплексної величини  $Z_W = W \omega^{-1/2} (1 - j)$  [30], де  $W = \frac{RT}{n^2 F^2 C} \frac{1}{\sqrt{D}}$  - постійна Варбурга. Цей імпеданс грає важливу роль при розгляді низькочастотних

електродних процесів і також буде використаний нами для модельного розрахунку спектроімпедансних характеристик водно-спиртових розчинів.

### 2.1.3. Електродні процеси та відповідні параметри комірки

2-х-електродна електрохімічна комірка з розчином електроліту та за відсутності хімічних реакцій на електродах моделюється відомою еквівалентною схемою Рендлса-Ершлера [6]. Імпедансні характеристики для такої комірки можуть бути точно розраховані за допомогою набору електричних параметрів цієї еквівалентної схеми (рис. 2.3). Власне ця схема демонструє, що відповідні електричні параметри за самою структурою комірки поділяються на об'ємні ( $R_s$ ,  $C$ ) та поверхневі або електродні ( $R_r$ ,  $C_d$ ,  $W$ ). При цьому зв'язок між вказаними параметрами еквівалентної схеми, що описують імпеданс комірки, та вихідними фізичними параметрами розчину, що визначають рух іонів та молекул в електроліті, наступний. Об'ємні характеристики комірки (активна та реактивна електропровідність) моделюються параметрами активного опору  $R_s$  розчину і його міжелектродної ємності  $C$  (що утворюють її високочастотний імпеданс  $Z_{gc}$ ). Поверхневі (електродні) характеристики (специфічна адсорбція, редокс-процеси та приелектродна дифузія) моделюються ланцюгом із ємності подвійного електричного шару  $C_d$ , активного опору переносу заряду  $R_r$  на межі розділу метал-електроліт, та дифузійного елементу Варбурга  $W$  (що разом створюють низькочастотний імпеданс комірки  $Z_{nc}$ ).

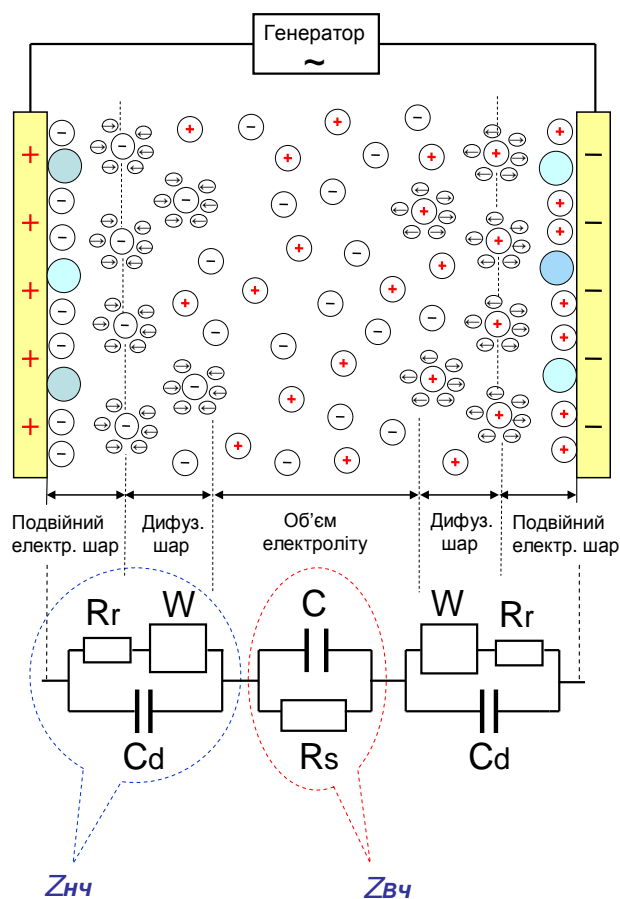


Рисунок 2.3 – Еквівалентна схема 2-х-електродної контактної електрохімічної комірки за моделлю Рендлса-Ершлера, на якій демонструється відповідність елементів цієї схеми з зазначеними шарами електроліту

Розглянемо детальніше електродні процеси, що спричиняють утворення зазначеного низькочастотного імпедансу. По-перше, це періодичний процес зарядки-розрядки ємності подвійного шару, величина якої може значно варіювати для рідин з різним набором органічних домішок та молекул - специфічних адсорбатів. По-друге, це електрохімічний процес окиснення-відновлення іонів на електродах при періодичній зміні напруги, що моделюється опором переносу заряду метал-електроліт та описує сповільненість власне електрохімічної стадії. А з останнім процесом безпосередньо пов'язано виникнення ще одного приелектродного процесу - дифузійного потоку іонів та продуктів електрохімічної реакції внаслідок

появи градієнту відповідних концентрацій, що й моделюється вказаним вище елементом Варбурга та відповідним йому імпедансом.

На досить низьких частотах і при достатній електропровідності електроліту імпеданс Варбурга починає відігравати досить важливу роль в експериментах. Низькочастотність обумовлена тим, що цей імпеданс стосується саме електрохімічної реакції, яка йде на низьких частотах (на високих частотах електрохімічний обмін основних іонів, а також домішок не встигає відбутися; саме тому сигнал на високих частотах визначається просто опором електроліту). За таких умов в комірці, крім зарядки подвійного шару, одночасно відбувається перенос іонів під впливом їх дифузії з об'єму до електродів. Відповідно, цей процес визначається паралельним переносом та розрядом різних типів іонів, і кожна така складова залежить від коефіцієнту дифузії та концентрації кожного сорту іонів. Тому обидва ці ефекти складають нову можливість розрізняти досліджувані зразки рідин. Саме завдяки цим обставинам метод імпедансної спектроскопії був обраний нами як фізичний принцип для розпізнавання водно-органічних розчинів.

Серед параметрів електрохімічної комірки суттєву роль на низьких частотах може відігравати ємність подвійного шару, оскільки вона дуже залежна від адсорбції органічних частинок і молекул, що можуть входити до складу досліджуваного розчину (рис. 2.4).

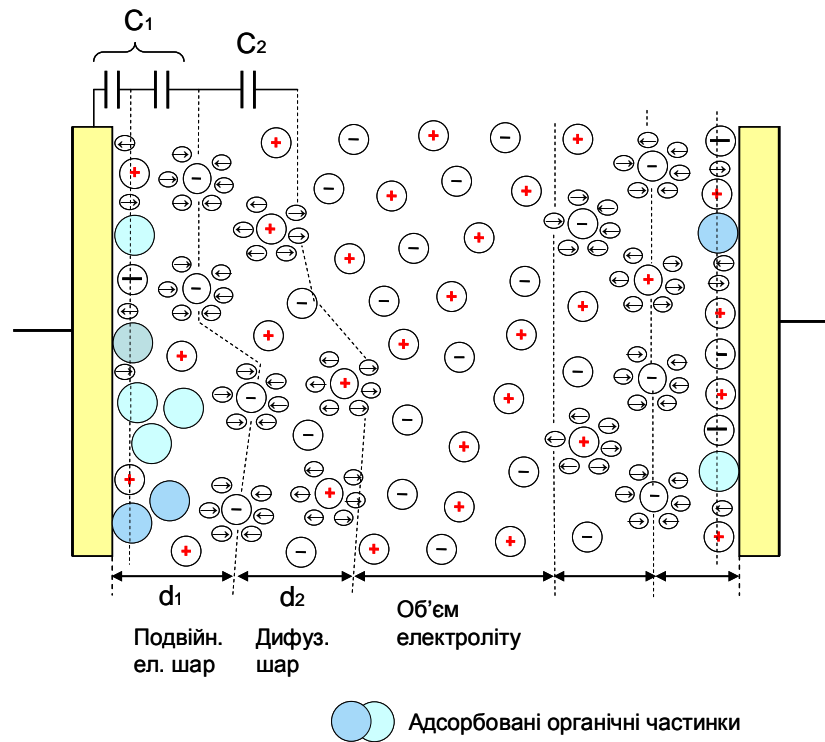


Рисунок 2.4 – Схема формування ємності подвійного електричного шару як послідовне з'єднання складових  $C_1$  та  $C_2$  – ємності відповідно щільної та дифузної частини подвійного шару

Зазначимо, що міжфазний потенціал подвійного шару в нашому випадку (для комірки з золотими електродами та переважно водно-спиртовими розчинами електролітів) формується не обміном іонів металу з розчином, а специфічною адсорбцією іонів на поверхні золотого електроду. Тому товщина щільного шару, крім основних іонів розчину, сильно залежить від адсорбованих частинок і органічних молекул, що можуть входити до складу досліджуваного розчину. При наявності в досліджуваних розчинах органічних частинок відбувається їх адсорбція на метал електроду. При цьому частина поверхні електроду виявляється заблокованою органічними частинками, Тому ємність подвійного шару в окремих місцях може значно зменшуватись як через збільшення товщини нативного діелектричного шару, так і через зменшення ефективної площі електроду. (Для прикладу, таке зменшення ємності може складати від звичайних  $\sim 10-20$  мкФ/см<sup>2</sup> до 50-500 нФ/см<sup>2</sup>). Для різних розчинів ця ємність, що модулюється адсорбцією

органічних речовин, може суттєво варіювати. Тому частотна залежність імпедансу відчує таку зміну ємності в залежності від типу досліджуваного розчину. Цей ефект можна використати для ідентифікації складного розчину з органічними домішками.

З іншого боку, вказане зменшення ємності подвійного шару веде до значного росту ємнісного опору в ланцюгу, що включений паралельно імпедансу Варбурга. Тоді останній буде слабо шунтуватися цією ємністю і навіть на низьких частотах до одиниць кГц буде давати вагомий внесок в загальний імпеданс, чим може значно впливати на можливість розпізнавання розчинів. Фізично імпеданс Варбурга пов'язаний з реакціями окиснення-відновлення на електродах при періодично змінюваній напрузі, внаслідок переходу частини іонів в нейтральні частинки при таких реакціях виникає їх нестача поблизу електродів (рис. 2.5). Це спричиняє появу дифузійного потоку відповідних іонів з прилеглого об'єму електроліту до електродів та відвід продуктів реакції (нейтральних молекул) у розчин. Тому імпеданс Варбурга залежить від концентрації іонів поблизу електродів та дифузії іонів з об'єму. Оскільки цей процес визначається паралельним переносом різних типів іонів, то з'являються особливості іонного переносу, пов'язані з відмінністю коефіцієнтів дифузії для кожного сорту іонів. Саме ця обставина може поліпшити можливість розрізнати досліджувані зразки.

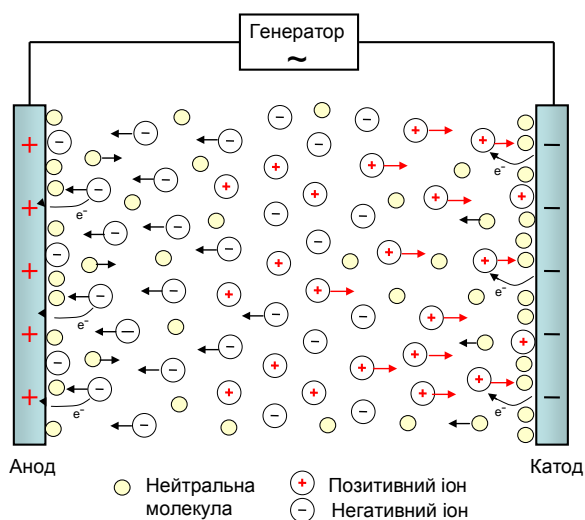


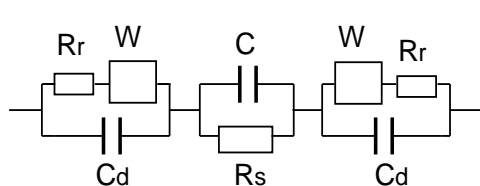
Рисунок 2.5 – Схема дифузійних потоків в електрохімічній комірці, що створюють дифузійний імпеданс Варбурга

Слід відмітити, що імпеданс Варбурга є частотно-залежним та має складний нелінійний характер  $Z_W \sim \omega^{-1/2}$ . Наявність такої частотної залежності ще більш посилює відмінності для різних іонів по частотній шкалі. Цим формується додатковий механізм впливу типу розчину на імпеданс. Тому можна припустити, що різні складові розчинів – іони та органічні домішки - на різних частотах будуть вносити різний внесок в імпеданс Варбурга, з одного боку, та в ємнісний імпеданс подвійного шару, з іншого боку. Отже значення імпедансу на різних частотах можна розглядувати як окремі сенсори, які володіють певною селективністю до різноманітних компонент складної суміші (хоча й мають перехресну чутливість до цих компонент), а весь масив таких сенсорів буде володіти певною селективністю до різних зразків. Все це свідчить на користь можливості ідентифікації складних багатокомпонентних сумішей.

#### 2.1.4. Еквівалентні схеми електрохімічної комірки та моделі для їх розрахунку

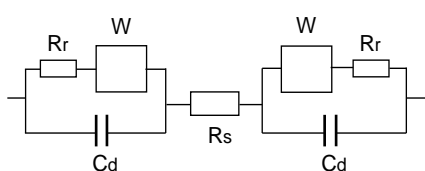
Як було зазначено, імпедансні характеристики досліджуваного розчину (активну та реактивну складові) можна змоделювати за допомогою еквівалентної схеми електрохімічної комірки та набору її електричних параметрів. На рис. 2.6 приведені різні варіанти таких схем та відповідні аналітичні вирази для модельного опису загального імпедансу відповідної схеми. Розглядаємо варіант схеми Рендлса-Ершлера з повним набором всіх елементів, що задіяні у визначеному нами максимальному частотному діапазоні 1 Гц - 1 МГц (рис. 2.6, А), а також низькочастотний та високочастотний варіанти схеми для моделювання імпедансних характеристик у більш вузьких діапазонах частот (рис. 2.6, Б, В).

Повна еквівалентна схема: 1 Гц - 1 МГц



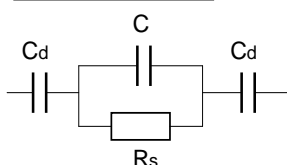
$$Z = 2 \frac{(R_r + \frac{W}{\sqrt{\omega}} - j \frac{W}{\sqrt{\omega}}) \frac{1}{j\omega C_d}}{R_r + \frac{W}{\sqrt{\omega}} - j \frac{W}{\sqrt{\omega}} + \frac{1}{j\omega C_d}} + \frac{R_s}{1 + j\omega C R_s} \quad (a)$$

Низькочастотна схема: 1 Гц - 10 кГц

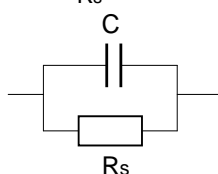


$$Z = 2 \frac{(R_r + \frac{W}{\sqrt{\omega}} - j \frac{W}{\sqrt{\omega}}) \frac{1}{j\omega C_d}}{R_r + \frac{W}{\sqrt{\omega}} - j \frac{W}{\sqrt{\omega}} + \frac{1}{j\omega C_d}} + R_s \quad (б)$$

Високочастотні схеми: 10 кГц - 1 МГц



$$\operatorname{Re} Z = \frac{R_s}{C^2 R_s^2 \omega^2 + 1} \quad \operatorname{Im} Z = -\frac{2C^2 R_s^2 \omega^2 + C_d C R_s^2 \omega^2 + 2}{C_d C^2 R_s^2 \omega^3 + C_d \omega}$$



$$\operatorname{Re} Z = \frac{R_s}{C^2 R_s^2 \omega^2 + 1} \quad \operatorname{Im} Z(\omega) = -\frac{\omega C R_s^2}{C^2 R_s^2 \omega^2 + 1}$$

(в)

Рисунок 2.6 – Варіанти еквівалентних схем електрохімічної комірки для різних частотних діапазонів разом з аналітичними виразами, що моделюють її імпеданс

При розрахунку імпедансу на низьких частотах (1 Гц - 1 кГц) можна не враховувати міжелектродну ємність розчину  $C$  (рис. 2.6, Б) через малість величин цієї ємності (десятки пФ/см<sup>2</sup>). Відповідно, цей варіант схеми є актуальним для розрахунку достатньо низькоомних водно-спиртових розчинів (ВСП) або водно-спиртових напоїв (ВСН), коли визначальною є участь приелектродних низькочастотних процесів для кращої ідентифікації різних типів розчинів.

Вплив ємності  $C$  починає позначатися лише за частот порядку 10 кГц. Одночасно з цим величина ємнісного опору подвійного електричного шару стає набагато меншою в порівнянні з опором паралельного ланцюга з

елементами  $R_r$  і  $W$ , тому еквівалентна схема перетворюється в 3-х елементну з  $R_s$ ,  $C$ ,  $C_d$  параметрами (рис. 2.6, В). При частотах більше 10 кГц внесок в імпеданс параметру  $C_d$  стає настільки малий, що схема перетворюється в простий 2-х-елементний ланцюг з паралельно включеними ємністю  $C$  та опором розчину  $R_s$  (рис. 2.6, В). Саме цей варіант є актуальним для дослідження високоомних (водно)органічних розчинів, де важливе визначення міжелектродної ємності, а через неї - діелектричної константи розчину.

### 2.1.5. Встановлення взаємозв'язку фізичних та електричних параметрів комірки

В табл. 2.1 зведено всі 5 електричних параметрів еквівалентних схем разом з їх типовими значеннями та актуальні діапазони частот, де вони мають найбільш ефективний вплив на загальний імпеданс.

Таблиця 2.1 – Параметри еквівалентної схеми та їх типові значення

Параметр екв. схеми	Що моделює	Типові значення	Актуальний діапазон частот
$R_s$	Активний об'ємний опір електроліту	$10^3-10^4$ Ом см – ВСН $10^5-10^6$ – ВСП $10^6-10^8$ – бензаноли $10^{10}-10^{12}$ – рідкі діе-ки	1 кГц – 1 МГц  <b>Область високих частот</b>
$C$	Ємність об'ємної частини електроліту	10-30 пф - ВСП ~1 пФ – бензаноли	10 кГц – 1 МГц

$R_r$	Опір переносу заряду на межі електроліт-електрод	10-50 кОм	<b>Область низьких частот</b>
$C_d$	Ємність подвійного електричного шару	0,5-5 мкФ/см <sup>2</sup>	
$Z_w$	Дифузійний імпеданс Варбурга	0,01-1.5 кОм	

Дана таблиця демонструє поділ електричних параметрів еквівалентної схеми на дві групи. Як було вже зазначено, ці групи моделюють об'ємні фізичні ефекти (іонна об'ємна провідність та діелектрична сприйнятливність) та поверхневі ефекти (адсорбція, редокс-процеси, приелектродна дифузія) в електрохімічній комірці. А останні, в свою чергу, безпосередньо залежать від фізичних параметрів досліджуваних розчинів – концентрації, рухливості, заряду, коефіцієнтів дифузії, розмірів іонів, що присутні в розчині (див. табл. 2.2). В таблиці наведено математичні формули [29], які поєднують вказані фізичні параметри розчинів, що визначають масо- та електроперенос іонів в електроліті, та формальні електричні параметри еквівалентної схеми, що описують імпеданс комірки.

Таблиця 2.2 – Фізичний та аналітичний зв'язок основних фізичних параметрів розчину з електричними параметрами еквівалентної схеми

Фізичні ефекти в електроліті	Відповідні фізичні параметри розчинів		Аналітичний зв'язок фізичних і електричних параметрів	Параметри екв. схеми
<u>Об'ємні ефекти:</u> - електропровідність;  - реактивний (ємнісний імпеданс)	Рухливість та концентрації іонів в розчині	$u_i$ $c_i$	$R_s = \frac{\rho l}{S} = \frac{l}{\sigma S}$ , де $\sigma = \sum_i q_i c_i u_i$	$R_s$
	Діелектрична проникність компонент розчину	$\epsilon_i$ $\epsilon_e$	$C = \frac{\epsilon_e \epsilon_0 S}{d}$ , $\epsilon_e = \epsilon_{H_2O} - \alpha N$ $\epsilon_e = f[n_1(\epsilon_1), n_2(\epsilon_2), \dots, n_i(\epsilon_i)]$	$C$
<u>Електродні ефекти:</u> - редокс процеси;  - специфічна адсорбція;  - дифузія іонів і молекул	Заряд та концентрації іонів	$z_i$ $c_i$	$R_r = \frac{RT}{nF i_{06}}$	$R_r$
	Розміри, заряд і концентрація іонів, адсорбов. органіч. домішки	$d_i$ $z_i$ $c_i$	$\frac{1}{C_d} = \frac{1}{C_1} + \frac{1}{C_2}$ , де $C_1 = \epsilon_1 \epsilon_0 S / d_1$ , $C_2 = \epsilon_e \epsilon_0 S / L_D$	$C_d$
	Коефіцієнти дифузії іонів та їх концентрації	$D_i$ $c_i$	$Z_w = \frac{W}{\sqrt{\omega}} - j \frac{W}{\sqrt{\omega}}$ , де $W = \frac{RT}{n^2 F^2} \frac{1}{c_i \sqrt{D_i}}$	$Z_w$

Табл. 2.2 демонструє зворотній зв'язок – якщо фізичні параметри розчинів змінюються (для різних зразків), то відповідно змінюється інтенсивність об'ємних та поверхневих ефектів, а отже і величини електричних параметрів, що їх описують

## Розділ 3

### Результати досліджень та їх обговорення

#### 3.1. Розробка методів виготовлення наноструктурованих поверхневих шарів оксиду титану та електродів для імпедіометрії

##### 3.1.1. Режими анодування титану

На першому етапі, для матеріалу електродів була обрана титанова фольга. Смушка титану шириною 10 мм та довжиною 20 мм виконує роль моделі електрода. Анодизація титанової фольги відбувалася у типовій електрохімічній ванні з двома електродами, рис. 3.1. Рівень рН не контролювався. Як робочий електрод ми використовували титанову фольгу товщиною 110 мкм з вмістом титану 99,93%. Процес відбувався у тefлоновій ванні з розмірами 25x40x35 мм. В якості електроліту використовувався розчин з вмістом етилен гліколю,  $\text{NH}_4\text{F}$ , та  $\text{H}_2\text{O}$ . Використовувалася постійна напруга в інтервалі від 10 до 80 В та різний час анодування, від 10 хв до 9 годин.

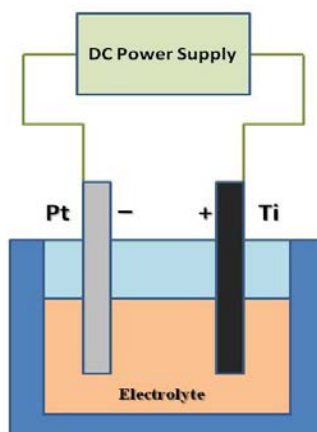


Рисунок 3.1 – Схема електрохімічного реактору з анодування поверхні титану.

Перебіг процесу контролювався за допомогою ампер-часової характеристики, рис. 3.2. З представленого графіка помітно, що формування початкового окисного шару відбувається менше ніж за 10 хвилин і далі крива демонструє певне

насичення. В цьому проміжку ми можемо впливати на геометричні параметри отриманих пор та нанотрубок змінюючи час анодування від 10 хвилин і до потрібного часу.

Треба зазначити, що тривалість першої ділянки кривої залежить від складу електроліту. Чим “агресивніший” електроліт, тим швидше буде відбуватися весь процес. Але висока швидкість сильно ускладнює контроль параметрів отриманих впорядкованих масивів. Також це впливає на якість всього шару в цілому. В агресивних електролітах можливі розтріскування анодного шару і його відпадиння від основи навіть в процесі анодизації. Якісну структуру трубок в них також отримати складно. Тому вибір типу та складу електроліту є важливим моментом для отримання якісних шарів з потрібними параметрами.

Швидкість анодування залежить крім складу розчину ще й від прикладеної між електродами напруги. Чим більша напруга тим інтенсивніше іде процес але і менша якість структури. Тому надалі нам доведеться змінюючи концентрації складових в розчині та напругу між електродами знайти оптимальний час вирощування потрібної структури.

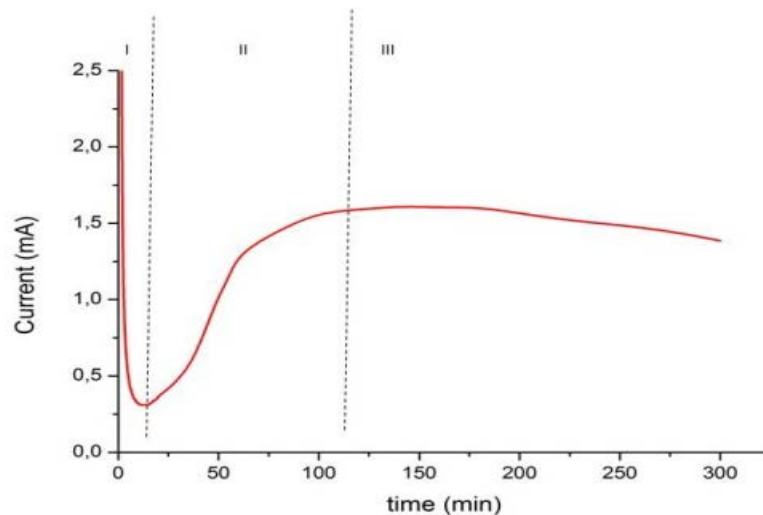


Рисунок 3.2 – Типова ампер-часова характеристика процесу анодування титанової фольги. I - ділянка формування окисного шару на титані, II - ділянка формування пор та нанотрубок, III - процес виходить на стаціонарну стадію.

### **3.1.2. Морфологія наноструктурованих поверхонь, одержаних анодуванням титану**

На першому етапі було обрано, спираючись на попередній досвід, склад електроліту, що дозволяє за помірний час вирощувати якісні наноструктури і розпочато отримання зразків з різними морфологічними параметрами.

Кожен зразок після анодування висушувався і контрольні зразки досліджувалися на скануючому електронному мікроскопі Інституту фізики НАНУ. Приклади отриманих під час сканування зображень наведено на рис. 1.3. Добре видно, що морфологія поверхні суттєво залежить від умов анодування. Можна отримати як слабо впорядковану систему наноколодязів з великими відстанями між ними так і щільно упаковані масиви з гарним впорядкуванням. Також час опромінення впливає і на глибину колодязів.

Всі три зображення показують торець структури на всю глибину шару до підкладки. Видно, що в цих режимах колодязі формуються практично вертикально і на всю глибину шару. На рис.3.3, А масштабна мітка розташована на зображенні поверхні шару. Добре видно, що після зняття шару з анодованої поверхні, на ній залишається добре впорядкований шаблон. На двох інших, масштабні мітки розташовано на поверхні підкладки.

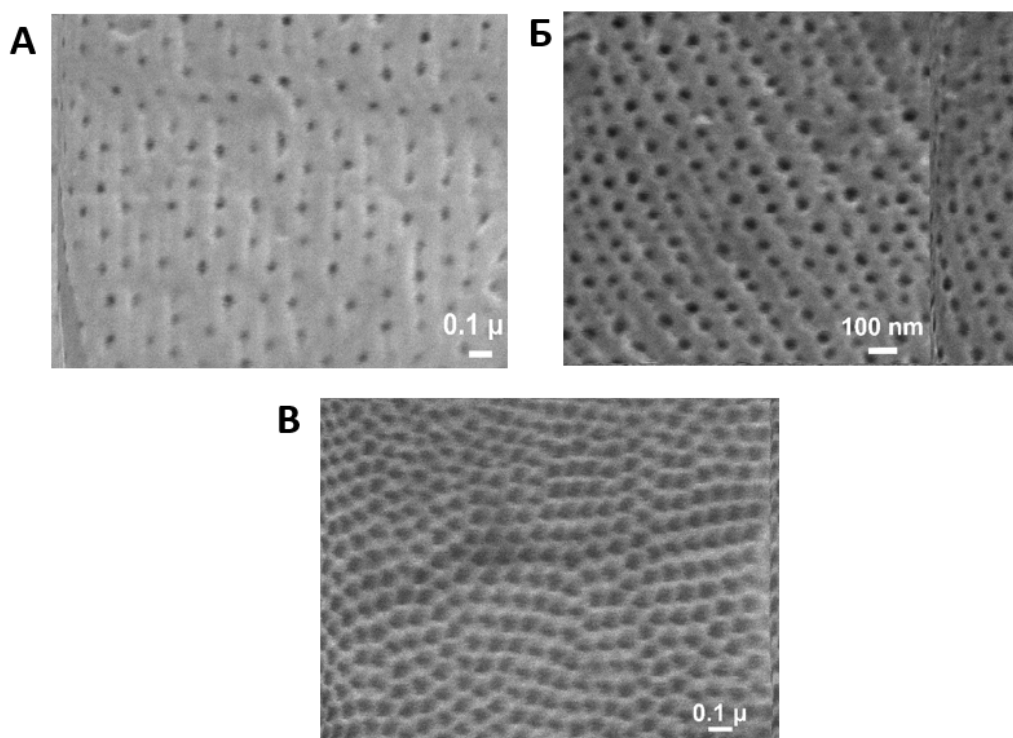


Рисунок 3.3 – СЕМ зображення поверхні зразків після першого анодування:

А – 60 В, 30 хв; Б – 40 В, 1 година; В – 45 В, 2 години

Можна бачити, що після зняття шару першого анодування поверхні, поверхня зразка набуває періодичного профілювання. Цей профіль створюють лунки приблизно однакового діаметру, що щільно розташовані одна біля одної. Цей шаблон дозволяє очікувати, що під час повторного анодування поверхні, будуть завжди утворюватися гарно впорядковані масиви наноколодязів з різними геометричними розмірами. А на рис 3.4. можна бачити зріз по глибині отриманих шарів.

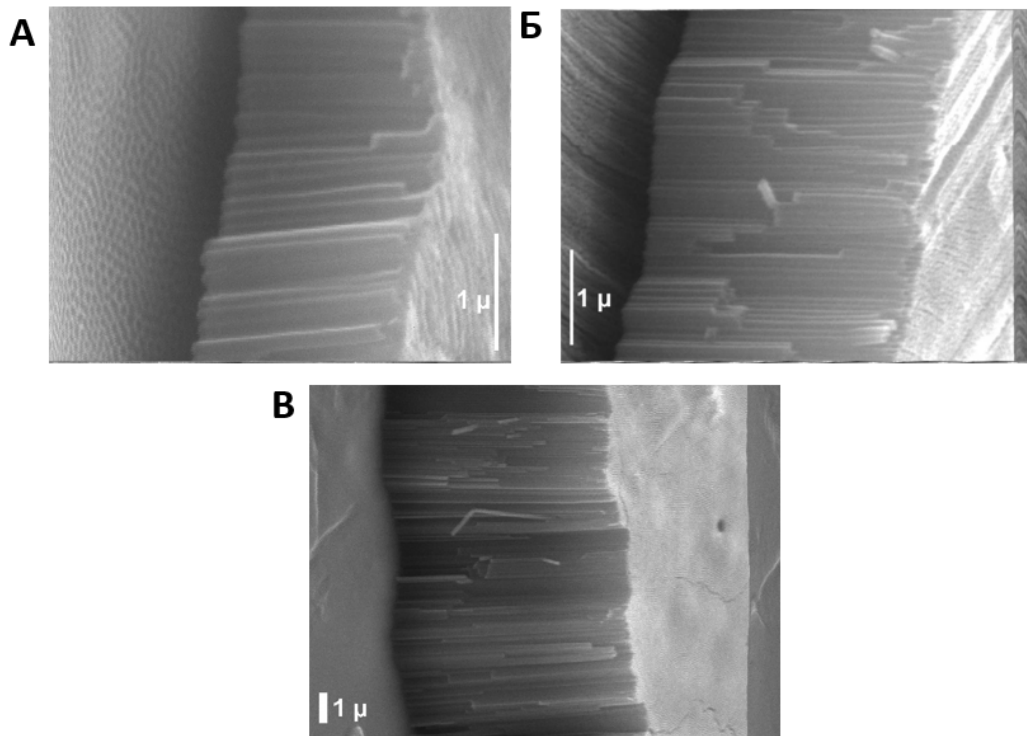


Рисунок 3.4 – Зображення структури анодованого шару по глибині:

А – 60 В, 30 хв; Б – 40 В, 1 година; В – 45 В, 2 години

Експерименти з подвійного анодування в різних лабораторіях показують, що все відбувається саме так, як зазначено вище. Для прикладу на рис. 3.5. зображено поверхню зразка отриманого подвійним анодуванням на першому етапі проекту. Видно, що не зважаючи на значну товщину стінок наноколодязів, вони розташовані дуже впорядковано. Це зображення отримано на атомно-силовому мікроскопі центру колективного користування НАНУ в Інституті фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАНУ. Результати АСМ сканування несуть інформацію про мапу висот поверхні зразка відповідно координати на площині. Це дозволяє більш детально дослідити морфологію поверхні. Проте, реєстрація зміни висоти обмежена можливостями руху зонду вздовж вертикальної координати та можливістю зонду певного фізичного розміру попасти в заглиблення на досліджуваній поверхні. В нашому випадку, використовувався зонд з характерними

розмірами значно меншими за діаметри отворів наноколодязів але дослідити їх повну глибину цим методом ми не мали можливості.

Період системи знаходиться в межах 150-180 нм. Внутрішній діаметр колодязів в межах 60-80 нм. Проте геометричні параметри наноструктури можна варіювати в певних межах. На рис. 3.6 наведено варіацію геометричних параметрів наномасивів в залежності від умов анодування. Звичайно для цих кривих напруга між електродами є параметром, що також впливає на результат. Вплив цього параметру треба досліджувати додатково.

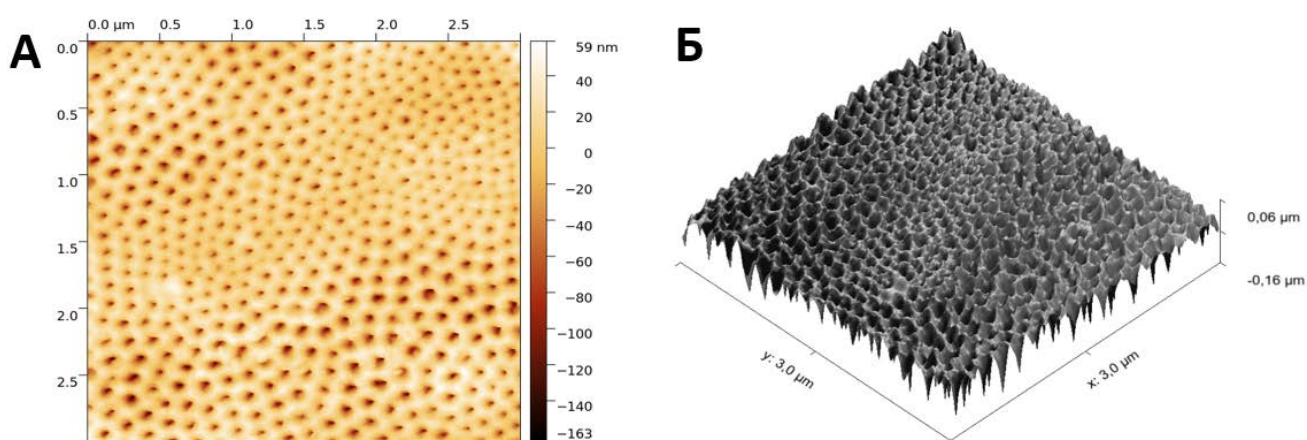


Рисунок 3.5 – Зображення поверхні зразка отриманого подвійним анодуванням: А – вид зверху; Б – 3D реконструкція поверхні зразка

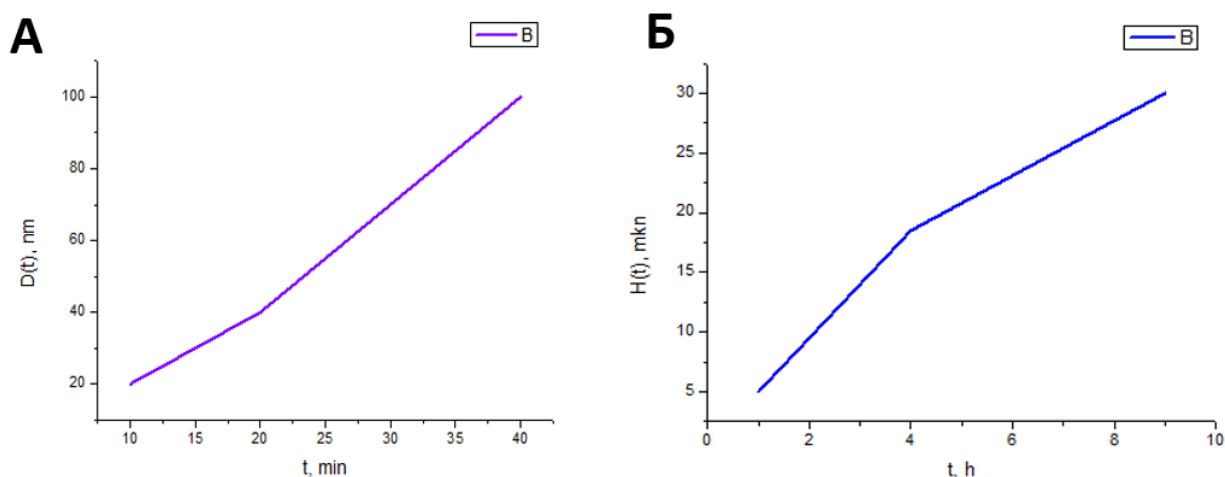


Рисунок 3.6 – Залежності геометричних розмірів наноструктури від умов

анодування: А – діаметр колодязя від часу анодування, 70 В; Б – глибина колодязя від часу анодування

Для отриманих зразків було важливо встановити фазовий стан структурованого поверхневого шару. Це було виконано за допомогою раманівської спектроскопії. Отримані результати представлено на рис. 3.7. Наведено спектри зразка до та після відпалу в атмосфері, при температурі 400°C.

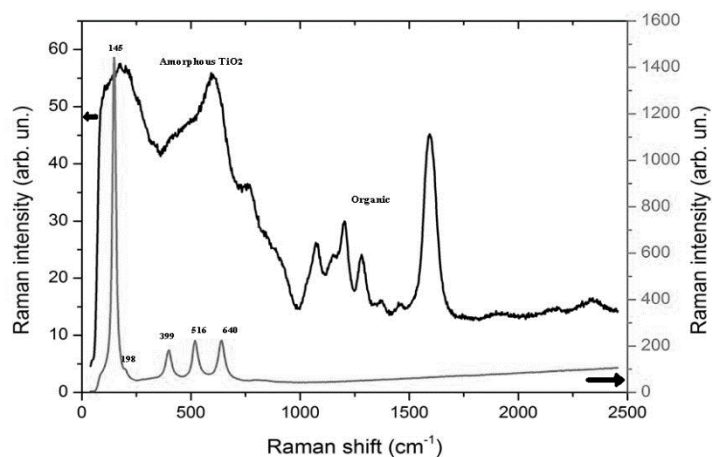


Рисунок 3.7 – Раманівські спектри зразків до та після опромінення; верхня крива - спектр аморфного зразка; нижня крива - спектр після відпалу, характерний для нанокристалічного анатазу

На спектрі зразка до відпалу можна бачити широку смугу аморфного оксиду титану та додаткові смуги які ми пов'язуємо з залишками електроліту після висушування готового зразка. Залишки забруднень не є гарним фактом і потребують додаткових процедур по очищенню зразка перед застосуваннями у сенсорній техніці. Можливо буде потрібне додаткове очищення та прогрів нижче межі кристалізації, якщо аморфна структура буде визначена як оптимальна до подальшого використання. На спектрі зразка, що пройшов відпалювання за температури 400 С присутні лише лінії анатазу. Цей факт говорить на користь температурної обробки у випадку подальших медичних застосувань отриманих шарів. Чисті шари анатазу є

біологічно сумісними і можуть бути використаними не лише як покриття електродів а і як поверхневі шари імплантів збільшуючи їх біологічну сумісність з живим організмом та забезпечуючи адресну доставку ліків в наявних каналах в місце терапії.

### **3.2. Потенциометричні та імпедіометричні дослідження наноструктурованих електродів на основі оксиду титану в електроліті**

Електропровідність сенсорних електрохімічних комірок на основі наноструктурованого оксиду титану в калій-гідрофосфатному електроліті 250 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (рН4) проводили за допомогою стаціонарного лабораторного вимірювача імпедансу E7-20 за двохелектродною схемою. Визначався повний електричний опір електрохімічної комірки. Почергово використовувались електрод з термічним шаром оксиду титану, або електрод з наноструктурованим шаром оксиду титану. Амплітуда тестової напруги складала 40 мВ, діапазон частот сканувався від 25 Гц до 1 МГц, температура підтримувалась 20°C.

На рис. 3.8 представлено фотографію електрохімічної комірки з робочим електродом у вигляді смужки фольги, вкритої окисом титану, та платиновим допоміжним електродом.

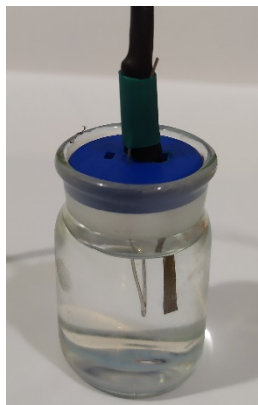


Рисунок 3.8 – Робочий електрод с окисом титану та платиновий допоміжний електрод, електрохімічна комірка з електродами у фосфатному буфері

На рис. 3.9 і 3.10 представлені типові частотні залежності активної та реактивної складових повного електричного опору описаної вище електрохімічної комірки. З аналізу рисунку видно, що в області високих частот (більше 10 кГц) імпеданс розглядуваної комірки має лише активну складову і визначається електричним опором  $R$  шару електроліту між робочим та допоміжним електродами з величиною порядку 20 Ом. В області низьких частот (25 Гц -10 кГц) поведінка активної та реактивної складових імпедансу свідчать про наявність приелектродних ефектів, які в загальному випадку можуть відбуватися навколо як робочого, так і допоміжного електроду. Також видно, що в випадку наномодифікованого оксиду титану вплив приелектродних ефектів найбільш виражений, що в свою чергу може бути пов'язане з наявністю більш розвиненої поверхні у наноструктурованого оксиду титану (електрод №2) порівняно з суцільним термічним шаром оксиду титану (електрод №1).

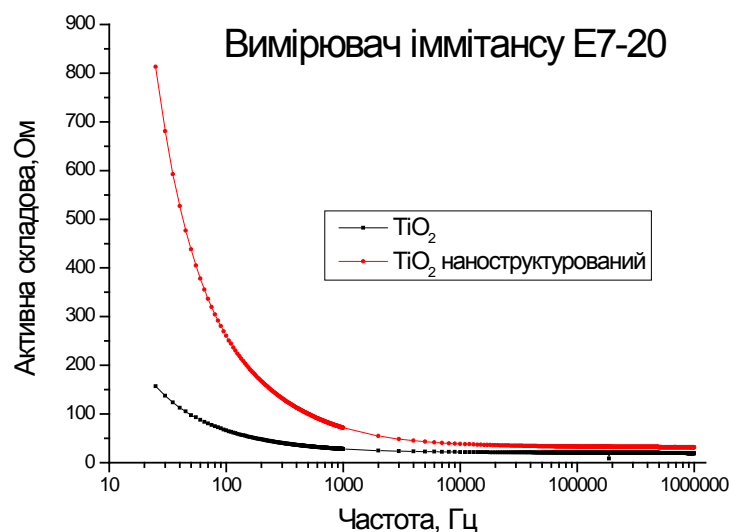


Рисунок 3.9 – Типові частотні залежності активної складової та реактивної складової імпедансу; чорна крива – термічний оксид титану, червона крива – наноструктурований оксид титану

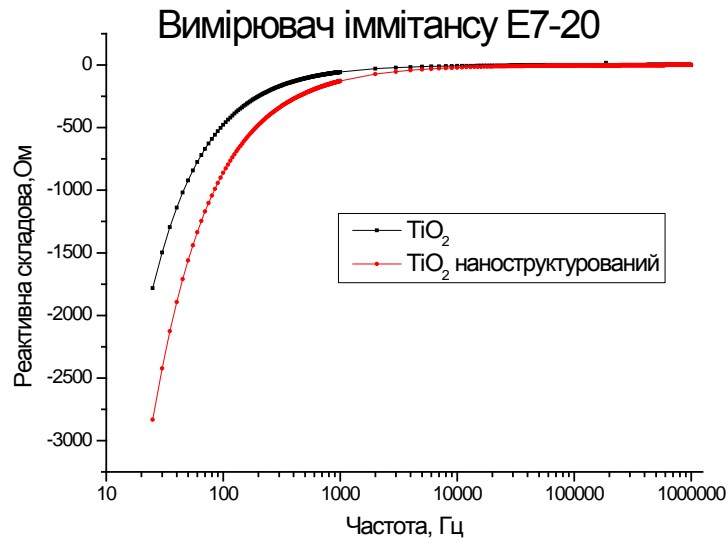
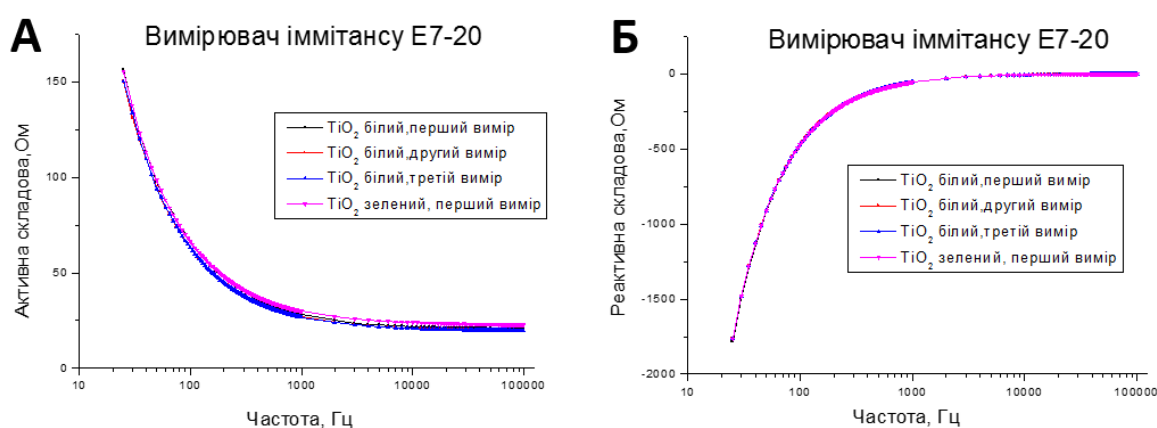


Рисунок 3.10 – Типові частотні залежності активної складової досліджуваної електрохімічної комірки; чорна крива – термічний оксид титану, червона крива – наноструктурований оксид титану

На рис.3.11-3.12 наведені по чотири послідовних виміри частотних залежностей активної та реактивної складових імідансу для обох типів електродів. Перші три виміри на кожному електроді були здійснені з використанням мікрозварювального контакту (білий дріт), четвертий вимір – на контакті з срібною пастою (зелений дріт). Видно, що перші три виміри практично співпадають, що свідчить про відсутність процесів деградації поверхні робочого електроду з суцільним термічним шаром оксиду титану при вимірах імідансу досліджуваного електроду, а також про відсутність процесів деградації поверхні робочого електроду в процесі зберігання вказаного електроду в фосфатному буферному розчині. Використання контакту до електроду на основі срібної пасти не призводить до суттєвої зміни частотної залежності імідансу: у випадку активної складової наявність такого контакту призводить лише до невеликого збільшення імідансу в області високих частот (1–100 кГц). Таким чином, контакт до робочого електроду на основі срібної пасти вносить в загальний іміданс

системи лише постійну не суттєву омичну складову. У випадку реактивної складової всі чотири залежності практично співпадають.

У випадку використання робочого електроду з наноструктурованим шаром оксиду титану (рис. 3.3) характер залежності імпедансу від частоти якісно подібний до електроду з термічним оксидом титану. Контакт на срібній пасті може збільшувати активний опір електрохімічної комірки на 5-40 Ом, але не впливає на реактивну складову.



Рисуюнок 3.11 – Послідовні виміри частотної залежності активної складової (А) та реактивної складової імпедансу (Б), здійснені з використанням мікрозварювальних контактів до робочого електроду (три перші виміри), та з використанням контакту на срібній пасті (четвертий вимір). Застосовано робочий електрод з шаром термічного оксиду титану

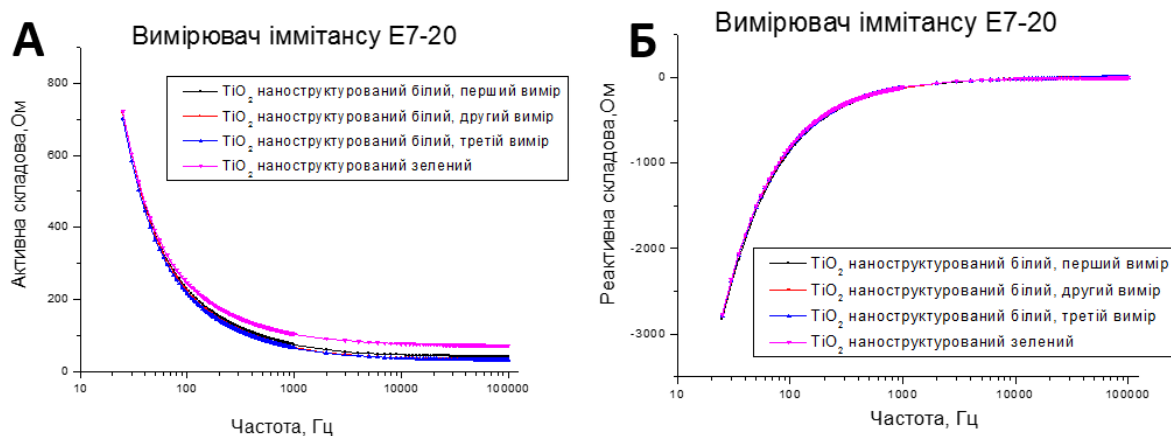


Рисунок 3.12 – Послідовні виміри частотної залежності активної складової (А) та реактивної складової імпедансу (Б), проведені з використанням мікрозварювальних контактів до робочого електрода (три перші виміри), та з використанням контакту на срібній пасті (четвертий вимір). Застосовано робочий електрод з наноструктурованим шаром оксиду титану

Вимірювання С-V характеристик електродів проводилось також з використанням стаціонарного лабораторного вимірювача імпедансу Е7-20 (режим вимірювання “ємність – добротність”, послідовна еквівалентна схема). Діапазон напруги зміщення на робочому електроді від -0.66 В до +2 В. Амплітуда тестового сигналу 40 мВ, частотний діапазон від 500 Гц до 10 кГц. На рис.3.7 наведені типові С-V характеристики електрохімічної комірки з робочим електродом на основі термічного оксиду титану (рис. 3.13, А) та з електродом на основі наномодифікованого оксиду титану (рис. 3.13, Б).

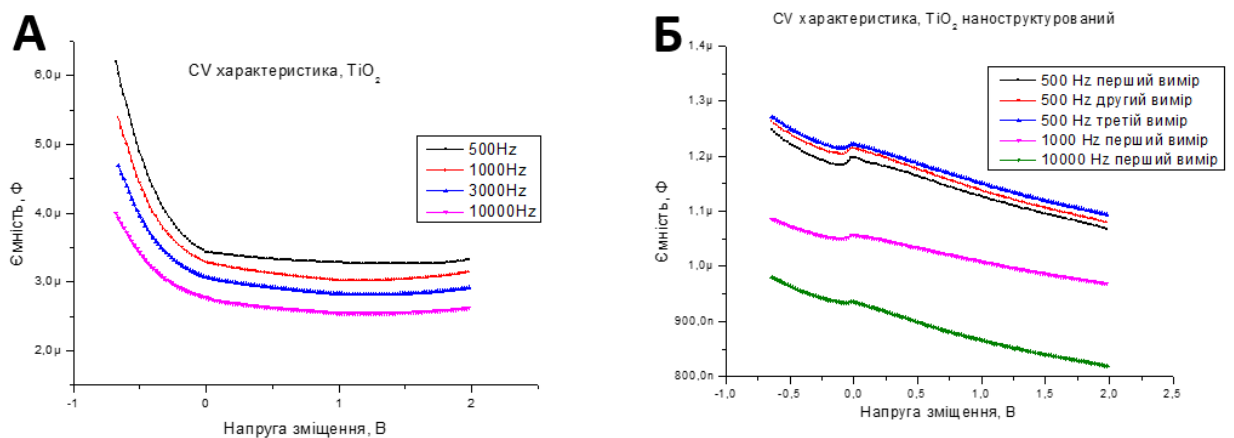


Рисунок 3.13 – Типові залежності еквівалентної ємності електрохімічної комірки від напруги зміщення, для робочого електрода з термічним шаром оксиду титану (А), та для робочого електрода з наноструктурованим шаром оксиду титану (Б)

Ємність комірки з термічним оксидом титану перевищує ємність контакту електрод-електроліт наноструктурованого оксиду титану в кілька разів оскільки товщина термічного оксиду значно менше від товщини оксидноно наноструктурованого шару рис. 3.4.

C-V залежність наноструктурованого оксиду титану рис. 3.13, Б містить спадаючу ділянку при негативному зміщенні 0-0,2 В, яка може бути пояснена екстракцією протонів з наноколодязів. Цей ефект може бути ефективно використаний для створення сенсорів ДНК. Механізм цього ефекту заплановано дослідити в майбутньому.

### Висновки

Дослідження електричних властивостей електродів різної морфології в електрохімічній комірці проведено методами:

- імпедансної спектроскопії до біофункціоналізації
- потенціометрії в електрохімічній комірці до біофункціоналізації;
- вольт-ємністних характеристик в електрохімічній комірці.

Селективність сенсора забезпечується на декількох ієрархічних рівнях. Рівень біохімічних реакцій за участю олігонуклеотидів або ДНК є основним і забезпечує надзвичайно високу селективність гібридизації комплементарних олігонуклеотидів. Для різних класів напівпровідників з різними хімічними властивостями необхідне використання різних типів реакцій іммобілізації на поверхні, різних реактивів та різних умов проведення реакцій. В нашій роботі використовують наноструктурований оксид титану. Напівпровідник  $\text{TiO}_2$  не може формувати ковалентні зв'язки з тіолованими олігонуклеотидами. Можлива тільки хемосорбція або фізична адсорбція подібних сполук на поверхні  $\text{TiO}_2$ , що не може забезпечити ефективне використання сенсорів ДНК за принципами, які використовуються в даній роботі. Оксид титану має частково відновлену поверхню з великою концентрацією нестехіометричних атомів титану. Оскільки сульфідні та

змішані сульфідно-оксидні сполуки титану є надзвичайно міцними з іонно-ковалентним типом хімічного зв'язку, то нестехіометричні частково відновлені напівпровідникові сполуки наноструктурованого титану досліджуються щодо можливості використання тіолованих сполук для іммобілізації олігонуклеотидів.

На жаль через обставини нам не вдалося провести наш експеримент до кінця і дослідити електроди на основі оксиду титану для біофункціоналізації.

### Список використаних джерел

1. Графов Б.М., Укше Е.А., Электрохимические цепи переменного тока. – М.: Наука, 1973. – с.128.
2. Гнедеников С.В., Синябрюхов С.Л., Импедансная спектроскопия в исследовании процессов переноса заряда // Вестник ДВО РАН. – 2006. – № 5, с. 6-16.
3. Bakhmachuk, V., Gorbatiuk, O., Rachkov, A., Dons'koi, B., Khristosenko, R., Ushenin, I., Peshkova, V. and Soldatkin, A. (2017). *Nanoscale Res, Lett.*12, p. 112.
4. Grynko, D., Kislyuk, V., Smertenko, P. and Dimitriev, O. (2009). *J. Phys. D, Applied Physics* 42, pp. 104-195.
5. Mabrook, M. and Petty, M. (2003). A novel technique for the detection of added water to full fat milk using single frequency admittance measurements. *Sensors and Actuators*, v. 96, pp. 215–218.
6. Дрокин Н.А., Федотова А.В., Глущенко Г.А., Чурилов Г.Н., Импедансная спектроскопия высокомолекулярного полиэтилена с углеродными нанотрубками // ФТТ. – 2010. - Т.52, Вып.3. – с. 607-611.
7. Grynko, D., Fedoryak, A., Dimitriev, O., Lin, A., Laghumavarapu, R. and Huffaker, D. (2013). *Coatings Technol*, 230, pp. 234–238.

8. Banerjee, A., Pons, T. and Lequeux, N. (2016). Quantum dots–DNA bioconjugates: synthesis to applications. *Interface Focus*, 6(6), pp. 1-17.
9. Russ Algar, W. and Krull, U. (2006). Adsorption and Hybridization of Oligonucleotides on Mercaptoacetic Acid-Capped CdSe/ZnS Quantum Dots and Quantum Dot-Oligonucleotide Conjugates. *Langmuir*, 22(26), pp. 11346-11352.
10. Meini N., Kherrat R. and Jaffrezic-Renault N., Effect of Nature of Polymeric Matrix on the Impedimetric Detection of Cobalt with a Calix[6]arene Based Membrane/Gold Electrode // *Sensor Letters*. - 2011. - V.9. – pp. 2127–2129.
11. Mitchell, G., Mirkin, C. and Letsinger, R. (1999). Programmed Assembly of DNA Functionalized Quantum Dots. *JACS*, 121(35), pp. 8122-8123.
12. Gill, R., Willner, I. and Shweky, I. (2005) Fluorescence Resonance Energy Transfer in CdSe/ZnS-DNA Conjugates: Probing Hybridization and DNA Cleavage. *J Phys Chem B*, 109(49), pp. 23715-23719.
13. Noh, H., Goodman, S. and Mohan, P. (2014). Direct conjugation of DNA to quantum dots for scalable assembly of photoactive thin films. *RSC Advances*, 4, pp. 8064-8071.
14. Su, S., Fan, J. and Xue, B. (2013) DNA-Conjugated Quantum Dot Nanoprobe for High-Sensitivity Fluorescent Detection of DNA and micro-RNA. *ACS Appl Mater Interfaces*, 6(2), pp. 1152-1157.
15. Zhou, W., Wang, F. and Ding, J. (2014) Tandem Phosphorothioate Modifications for DNA Adsorption Strength and Polarity Control on Gold Nanoparticles. *ACS Appl Mater Interfaces*, 6(17), pp. 14795-14800.
16. Farlow, J., Seo, D. and Broaders, K. (2013). Formation of targeted monovalent quantum dots by steric exclusion. *Nature Methods*, 10, pp. 1203-1205.
17. Helppolainen, S., Nurminen, K. and Maatta, J. (2007). Rhizavidin from *Rhizobium etli*: the first natural dimer in the avidin protein family. *Biochem J*, 405(3), pp. 397-405.
18. Susumu, K., Medintz, I. and Delehanty, J. (2010). Modification of Poly (ethylene glycol)-Capped Quantum Dots with Nickel Nitrilotriacetic Acid and

- Self-Assembly with Histidine-Tagged Proteins. *J Phys Chem*, 114(32), pp. 13526-13531.
19. Medintz IL, Uyeda HT, Goldman ER et al. (2005) Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. *Nature Materials*, 4, pp. 435-446.
20. Bagalkot, V. and Gao, X. (2011). siRNA-Aptamer Chimeras on Nanoparticles: Preserving Targeting Functionality for Effective Gene Silencing. *ACS Nano*, 5(10), pp. 8131-8139.
21. Lee, J., Choi, Y. and Kim, J. (2009). Positively Charged Compact Quantum Dot–DNA Complexes for Detection of Nucleic Acids. *ChemPhysChem*, 10(5).
22. Impedance Spectroscopy. Theory, Experiment and Applications. – Noboken, New Jersey.: Wiley, Ed. by E. Barsoukov, J. Ross Macdonald, 2005. – 583 p.
23. Бланк Т.А., Экспериандова Л.П., Сидлецкий О.Ц., Касян Н.А., Острась К.С., Диэлькометрия как один из методов практической акваметрии функциональных материалов // Методы и объекты химического анализа. – 2007. –Т.2, №2. – С. 156–161.
24. Руднев В.А., Карножицкий П.В., Применение метода диэлькометрии при экспертном исследовании нефтепродуктов // Вісник Харківського національного університету. – 2009. - № 870, Хімія. - Вип.17 (40).- С. 172-177.
25. Сараев Д.В., Лунев И.В., Гафарова Л.И., Юсупова Т.Н., Гусев Ю.А., Романов Г.В., Метод диэлектрической спектроскопии в исследовании диэлектрической дисперсии нефтяных масел // Структура и динамика молекулярных систем. – 2003. - Вып.10, ч.2. - С. 135-138.
26. Руднев В.А., Бойченко А.П., Карножицкий П.В., Подход для оценки неопределённости измерений диэлектрической проницаемости неводных растворителей и их многокомпонентных смесей // Вісник Харківського національного університету. – 2010. - № 932, Хімія. - Вип.19 (42). - с. 160-169.
27. Zougar S., Bechiri O., Baali S., Kherrat R., Abbessi M., Jaffrezic-Renault N. and Fertikh N., Development of an Impedimetric Sensor Based on

Heteropolyanions with Additional Nafion Membrane // *Sensor Letters*. - 2011, V.9. - P. 2287–2290.

28. Электрохимия / Б. Б. Дамаскин, О. А. Петрий, Г. А. Цирлина, 2-е изд., М.: Химия, КолосС, 2006. 672 с.

29. Дзядевич С.В., Солдаткін О.П. Наукові та технологічні засади створення мініатюрних електрохімічних біосенсорів. – К.: Наукова думка, 2006. - 255 с.