



**POLITECHNIKA
GDAŃSKA**

WYDZIAŁ CHEMICZNY



Imię i nazwisko autora rozprawy: Artur Jasiński
Dyscyplina naukowa: Technologia Chemiczna

ROZPRAWA DOKTORSKA

Tytuł rozprawy w języku polskim: *OPRACOWANIE POTENCJOMETRYCZNEJ WIELOCZUJNIKOWEJ PLATFORMY WYKONANEJ CAŁKOWICIE W TECHNOLOGII ALL-SOLID-STATE DO JEDNOCZESNEGO OZNACZANIA KILKU JONÓW W ROZTWORACH WODNYCH*

Tytuł rozprawy w języku angielskim: *DEVELOPMENT OF POTENTIOMETRIC MULTISENSOR PLATFORM IN ALL-SOLID-STATE TECHNOLOGY FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF SEVERAL IONS*

Promotor

podpis

Prof. dr hab. inż. Maria Bocheńska

Gdańsk, 2017

*Składam serdeczne podziękowania mojej Promotor
Pani Profesor Marii Bocheńskiej za opiekę naukową i ogromną życzliwość,
a także pomoc i wyrozumiałość w trakcie realizacji studiów doktoranckich.*

*Serdecznie dziękuję także mojemu Przyjacielowi
Doktorowi Marcinowi Guzińskiemu za owocne dyskusje, liczne konsultacje
oraz cenne wskazówki i miłą współpracę, które były mi bardzo pomocne
podczas realizacji studiów doktoranckich.*

*Chciałbym również podziękować Profesorowi Ernő Lindnerowi
za życzliwość i ciepłe przyjęcie oraz możliwość realizacji wyjazdowego stażu na
The University of Memphis, Tennessee, USA. Dziękuję także wszystkim
współpracownikom grupy naukowej Profesora za otwartość i bardzo miłą atmosferę.*

*Dziękuję wszystkim Pracownikom, Koleżankom i Kolegom
z Katedry Chemii i Technologii Materiałów Funkcjonalnych
za wspaniałą i przyjazną atmosferę.*

*W szczególności pragnę bardzo podziękować mojej kochanej Żonie,
która wspierała mnie i dodawała otuchy na każdym kroku
oraz nigdy we mnie nie zwątpiła, dzięki której świat jest taki piękny.*

*Dziękuję moim Rodzicom i Bliskim za wiarę we mnie.
Mamo, dziękuję Ci za ciepło i troskę!*

SPIS TREŚCI

Lista symboli i skrótów zastosowanych w pracy	6
I. Cel i zakres pracy	8
II. CZĘŚĆ TEORETYCZNA	11
II.1. Potencjometryczny układ pomiarowy.....	11
II.2. Polimerowa membrana jonoselektywna - składniki i ich funkcje	13
II.2.1. Jonofor.....	13
II.2.2. Polimerowa matryca.....	15
II.2.3. Plastyfikator	16
II.2.4. Wymieniacz jonowy.....	17
II.3. Polimery przewodzące w elektrodach jonoselektywnych	18
II.4. Charakterystyka elektrod jonoselektywnych	20
II.4.1. Zakres liniowy i nachylenie odpowiedzi elektrody.....	20
II.4.2. Potencjometryczny współczynnik selektywności	22
II.4.3. Czas odpowiedzi układu pomiarowego.....	27
II.4.4. Stabilność parametrów i odtwarzalność odpowiedzi elektrod jonoselektywnych ..	27
II.5. Konstrukcje elektrod jonoselektywnych.....	28
II.5.1. Klasyczne elektrody jonoselektywne z membranami polimerowymi	29
II.5.2. Elektrody jonoselektywne z membranami szklanymi	30
II.5.3. Elektrody jonoselektywne z membranami krystalicznymi	32
II.5.4. Elektrody jonoselektywne typu All-Solid-State z polimerem przewodzącym.....	33
II.5.5. Elektrody zespolone	35
II.5.6. Celki przepływowe z elektrodami jonoselektywnymi	35
II.6. Elektroda odniesienia i jej funkcje w pomiarach potencjometrycznych	35
II.7. Możliwości wykorzystania elektrod jonoselektywnych do monitorowania ołowiu w środowisku kopalni rud cynku i ołowiu	38
II.8. Możliwości wykorzystania elektrod jonoselektywnych jako biopskaźnik pacjenta w stanie wstrząsu septycznego.....	40
II.9. Rodzaje potencjometrycznych czujników CO ₂	43
II.10. Wieloczujnikowe platformy potencjometryczne	46
II.10.1. Zalety wieloczujnikowych platform potencjometrycznych w technologii All-Solid-State.....	48
II.10.2. Przykładowe zastosowania wieloczujnikowych platform potencjometrycznych	49



III. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	53
III.1. Stosowane odczynniki i urządzenia laboratoryjne.....	53
III.1.1. Odczynniki i materiały	53
III.1.2. Urządzenia laboratoryjne	55
III.2. Stosowane procedury	56
III.2.1. Przygotowanie powierzchni elektrod jonoselektywnych.....	56
III.2.2. Synteza polimeru przewodzącego PEDOT(PSS).....	56
III.2.3. Przygotowanie membran.....	57
III.2.4. Schemat wykonania czujnika	58
III.2.5. Wykonanie elektrody odniesienia w technologii All-Solid-State	58
III.2.6. Kalibracja metodą 10-krotnego rozcieńczenia	59
III.2.7. Wyznaczanie współczynników selektywności metodą SSM.....	60
III.2.8. Procedura oznaczania próbek techniką ASA	60
III.2.9. Procedura oznaczania próbek za pomocą fotometrii płomieniowej.....	61
III.2.10. Oznaczanie poziomu zawartości CO ₂ za pomocą elektrody typu Severinghaus	61
III.2.11. Procedura kalibracji czujników CO ₂ typu CO ₃ ²⁻ vs pH.....	62
III.3. Elektrody jonoselektywne w oznaczaniu jonów ołowiu (II)	64
III.3.1. Badanie wpływu wysokiego stężenia jonów przeszkadzających na odpowiedź elektrody Pb ²⁺ -selektywnej	64
III.3.2. Pomiar jonów ołowiu (II) w syntetycznych próbkach zawierających wysokie stężenie jonów cynku	68
III.3.3. Oznaczanie jonów ołowiu (II) w próbce złomu cynkowo-ołowiowego	69
III.3.4. Wykonanie miniaturowych elektrod Pb ²⁺ -selektywnych opartych na graficie.....	71
III.3.5. Potencjometryczny układ wykonany w technologii All-Solid-State do oznaczania jonów ołowiu (II)	76
III.4. Wieloczujnikowa platforma potencjometryczna typu All-Solid-State do oznaczania kilku jonów w pocie ludzkim.....	82
III.4.1. Opis wykonania wieloczujnikowej platformy potencjometrycznej	82
III.4.2. Przygotowanie elektrod jonoselektywnych.....	85
III.4.3. Badanie wykonanej elektrody odniesienia	86
III.4.4. Badanie wykonanej potencjometrycznej platformy wieloczujnikowej	90
III.5. Wieloczujnikowa platforma potencjometryczna typu All-Solid-State do oznaczania kilku jonów w przepływie zamkniętego ekosystemu wodnego.....	95
III.5.1. Wykonanie elektrod jonoselektywnych	98
III.5.2. Wykonanie przepływowej celki pomiarowej.....	99



III.5.3. Wykonanie elektrody odniesienia	100
III.5.4. Przygotowanie elektrod jonoselektywnych.....	101
III.5.5. Opracowanie roztworów kalibracyjnych	102
III.5.6. Schemat układu pomiarowego	104
III.5.7. Opracowanie procedury pomiarowej	105
III.5.8. Badanie wykonanej potencjometrycznej platformy wieloczujnikowej	106
III.6. Potencjometryczny układ do oznaczania CO ₂ i pH w moczu ludzkim	110
III.6.1. Badanie wpływu temperatury i czasu na zawartość CO ₂ w moczu ludzkim	111
III.6.2. Pomiar CO ₂ za pomocą różnicowego czujnika CO ₂ typu: pH vs pH.....	115
III.6.3. Pomiar CO ₂ za pomocą różnicowego czujnika CO ₂ typu: CO ₃ ²⁻ vs pH.....	118
III.6.4. Wykonanie miniaturowej elektrody pH	125
IV. Podsumowanie	129
V. Streszczenie	132
VI. Abstract	133
VII. Dorobek naukowy	134
VIII. Literatura	137

Lista symboli i skrótów zastosowanych w pracy:

ρ	gęstość
(aq)	forma występującą w wodnym roztworze
a_I, a_J	aktywność jonu głównego (<i>I</i>) i przeszkadzającego (<i>J</i>)
ASA	atomowa spektrometria absorpcyjna
ASS	<i>All-Solid-State</i> – technologia stałego kontaktu
ASS-EJS	elektroda jonoselektywna ze stałym kontaktem
ASS-EO	elektroda odniesienia ze stałym kontaktem
ASS/PEDOT(PSS)	elektroda jonoselektywna ze stałym kontaktem z warstwą polimeru przewodzącego PEDOT
ASS/PHY	elektroda jonoselektywna ze stałym kontaktem z warstwą polimeru hydrofobowego
BBPA	adypinian bis(1-butylopentylu)
<i>c</i>	stężenie jonu
CP	<i>Conducting Polymer</i> - polimer przewodzący
CPE	ciekłe połączenie elektrolityczne
<i>d</i>	średnica
DBP	ftalan dibutyli
DEHA	adypinian bis(2-etyloheksylu)
DMPP	2,2-dimetoksy-2-fenyloacetofenon
DOS	sebacynian bis(2-etyloheksylu)
E^0	potencjał standardowy (wszystkie potencjały związane z danym układem pomiarowym)
EDOT	3,4-etyleno-1,4-dioksytiofen
EJS	elektroda jonoselektywna
EJS-MKK	elektrody jonoselektywne oparte na komercyjnej konstrukcji
EJS-WPP	elektrody jonoselektywne obecne w WPP
EO	elektroda odniesienia
E_{ohm}	spadek potencjału wynikający z rezystancji
<i>F</i>	stała Faradaya
FIM	<i>Fixed Interference Method</i> - metoda ustalonego stężenia jonu przeszkadzającego
FP	fotometria płomieniowa
<i>g</i>	grubość warstwy
GC	<i>Glassy Carbon</i> - węgiel szklisty
GC-EJS	elektroda jonoselektywna oparta na węglu szklistym
<i>i</i>	natężenie stałego prądu elektryczny
ICP- MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> - spektrometria mas sprzężona z plazmą wzbudzaną indukcyjnie

IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> - Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej
K_{IJ}^{pot}	potencjometryczny współczynnik selektywności
KTpClFB	tetrakis(4-chlorofenylo)boran potasu
L	granica wykrywalności jonu głównego
M	masa molowa
MJS	membrana jonoselektywna
MSP	<i>Multi Solution Protocol</i> - metoda testu wielu roztworów
n	liczba elektronów
NaPSS	polistyrenosulfonian sodu
<i>o</i> -NPOE	eter <i>orto</i> -nitrofenylooktylowy
PFA	polimer perfluoroalkoksyłowy
PHY	polimer hydrofobowy
PANI	polianilina
PCW	polichlorek winylu
PEDOT	poli(3,4-etyleno-1,4-dioksytiofen)
PMMA	polimetakrylan metylu
POT	poli(3-oktylotiofen)
PP	polipropylen
PPL	punkt przecięcia linii
PPy	polipirol
PVA	polioctan winylu
R	rezystancja
S	nachylenie charakterystyki elektrody
SA	Sigma-Aldrich
SEM	siła elektromotoryczna
SSM	<i>Separate Solution Method</i> - metoda oddzielnych roztworów
t	czas
T	temperatura w skali Kelvina
TDACl	chlorek tetradodecyloamonu
THF	tetrahydrofuran
WPP	wieloczujnikowa platforma potencjometryczna
WW	wymagany współczynnik selektywności
x	założony poziom błędu (%)
z_I, z_J	ładunek jonu głównego (I) i przeszkadzającego (J)
ΔE	odchylenie zmierzonej SEM

I. Cel i zakres pracy

Elektrody jonoselektywne (EJS) to czujniki chemiczne przeznaczone do oznaczania aktywności różnych jonów w roztworach wodnych. Urządzenia te są zdolne przetwarzać informację chemiczną na wymierny i użyteczny sygnał analityczny [1, 2]. Otrzymany sygnał poddany odpowiedniej interpretacji odzwierciedla wynik oznaczonego analitu. EJS stały się popularnym narzędziem analitycznym ze względu na ich relatywnie niewielki koszt produkcji oraz szybki czas odpowiedzi. Ogromną zaletą tych czujników jest możliwość bezpośredniego pomiaru w próbce – bez wstępnego jej przygotowania, nie zmieniając przy tym badanego roztworu [3]. Czujniki tego typu zbudowane są z części receptorowej, będącej w bezpośrednim kontakcie z roztworem próbki i części przetwornikowej, pozwalającej na wygenerowanie sygnału potencjometrycznego [1-4]. Najistotniejszym elementem EJS jest membrana jonoselektywna, która oddziałuje z badanym roztworem zawierającym analit i inicjuje proces tworzenia sygnału analitycznego [5].

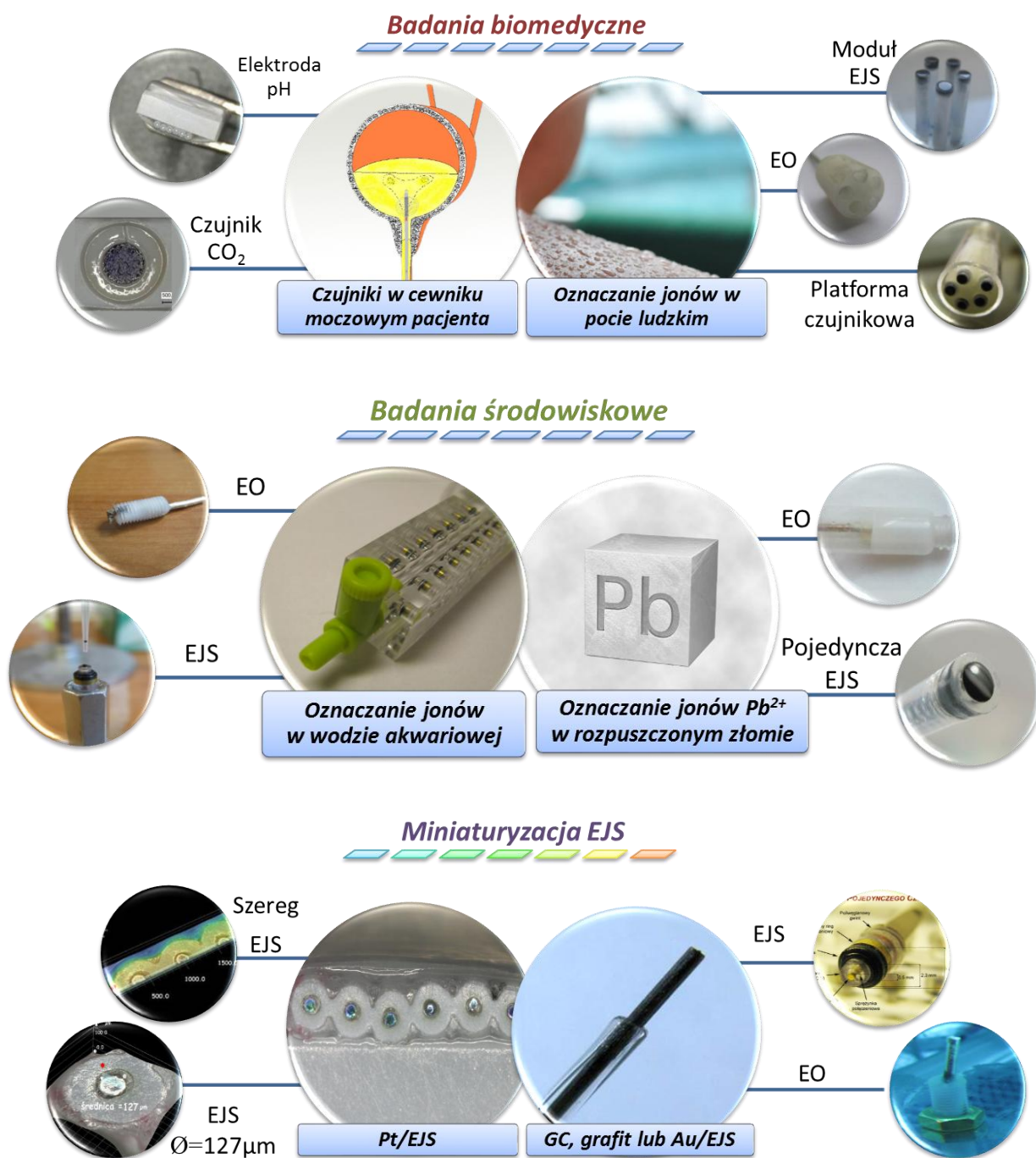
Rozwój EJS trwa już ponad 100 lat i nadal stanowią obiekt badań coraz szerszego grona naukowców. Aktualnie wiele badań elektrochemicznych w dziedzinie czujników potencjometrycznych skupia się na opracowaniu nowych, trwałych i zminiaturyzowanych EJS o takich właściwościach, jak: wysoka selektywność, niska granica wykrywalności, stabilność generowanego sygnału (powtarzalność i odtwarzalność czujnik-czujnik) [6-12]. Miniaturyzacja całego układu potencjometrycznego daje wiele korzyści, jej efektem jest zwiększenie możliwości użytkowych systemu pomiarowego, a tym samym i jego zastosowań. Cel ten, można osiągnąć poprzez wdrożenie tak zwanej technologii stałego kontaktu – *All-Solid-State* (ASS), która zastępuje ciekły elektrolit. Dążenie do miniaturyzacji całego układu wymusza rezygnację z ciekłego elektrolitu wewnętrznego, zarówno w EJS, jak i w elektrodzie odniesienia (EO). Z tego powodu wymagane jest użycie EO wykonanej również w technologii ASS. Przeprowadzone badania z użyciem tego typu elektrody odniesienia dały obiecujące wyniki [13-17]. Technologiczny trend wytwarzania EO w takim wariantcie pozwala na opracowanie potencjometrycznych platform wieloczujnikowych, które mogą być dużo wygodniejsze w użytkowaniu i mieć znacznie szersze zastosowanie niż dotychczasowe układy potencjometryczne.

Tematyką mojej rozprawy doktorskiej są elektrody jonoselektywne. Moim zamierzeniem było zaprojektowanie wieloczujnikowej platformy potencjometrycznej (WPP) opartej na EJS typu ASS. Badania przeprowadzono w obszarach zaprezentowanych na

rysunku 1. Poniżej wypunktowano szczegółowe cele przeprowadzonych badań przy wykorzystaniu technologii ASS:

- Wykonanie EJS selektywnej na jony ołowiu (II) zdolnej do pomiaru śladowych ilości jonów Pb^{2+} w próbkach zawierających wysokie stężenie jonów przeszkadzających, takich jak: Na^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} i Mg^{2+} . EJS miała być oparta na jonoforze 25, 26, 27, 28 – tetrakis (piperydynotiokarbonylometylen) – *p* – *tert* – butylkaliks[4]aren, wysoce selektywnym na jony Pb^{2+} . Opracowanie EJS- Pb^{2+} miało umożliwić wykonanie jej miniaturowej wersji z łatwo dostępnych materiałów. W założeniach konstrukcyjnych przyjęto, że elektrodę będzie można wykonać we własnym zakresie, uwzględniając niski koszt wytworzenia, a także prostotę budowy. Ponadto, w oparciu o wybrany jonofor, planowano wykonać układ potencjometryczny wykonany całkowicie w ASS.
- Wykonanie wieloczujnikowej platformy potencjometrycznej opracowanej w technologii ASS, umożliwiającej jednoczesne oznaczanie kilku jonów. Zadanie obejmowało również zaadoptowanie ASS-EO (odpowiednio ukształtowanej) do konstrukcji WPP. Prace nad platformą obejmowały zaprojektowanie, skonstruowanie oraz dostosowanie jej do oznaczania próbek zarówno w trybie stacjonarnym, jak i mobilnym. Wykonaną platformę czujnikową zastosowano do jednoczesnego oznaczania jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w próbce potu ludzkiego.
- Zaprojektowanie, wykonanie i dostosowanie przepływowej WPP opracowanej w technologii ASS, przeznaczonej do monitorowania wybranych parametrów jakości wód w zamkniętych ekosystemach. Urządzenie miało pozwolić na jednoczesny pomiar kilku jonów w próbkach wodnych w systemie przepływowym. Działanie skonstruowanego analizatora sprawdzono badając próbkę akwariową, w której eksperymentalnie oznaczono stężenie jonów, takich jak: NH_4^+ , Na^+ , K^+ i Ca^{2+} .
- Zbadanie wpływu temperatury i czasu magazynowania próbki na zawartość CO_2 w moczu ludzkim oraz określenie sposobu przechowywania zebranej próbki. Sprawdzenie funkcjonalności różnicowego czujnika CO_2 typu pH vs pH w analizie próbek moczu. Wykonanie w technologii ASS czujnika CO_2 typu CO_3^{2-} vs pH i ocena jego pracy. Zaprojektowanie i wykonanie miniaturowej elektrody pH. Genezą powyższego zakresu prac badawczych była potrzeba monitorowania poziomu CO_2 i pH w moczu pacjentów będących w szoku septycznym. Badania realizowano na 3-miesięcznym stażu

zagranicznym na *The University of Memphis, TN, USA* pod kierunkiem prof. Ernő Lindnera we współpracy z *The University of Tennessee, TN, USA* i szpitalem *Methodist University Hospital in Memphis, TN, USA*. Projekt dodatkowo był wspierany przez firmę *Instrumentation Laboratory, Bedford, MA, USA*.



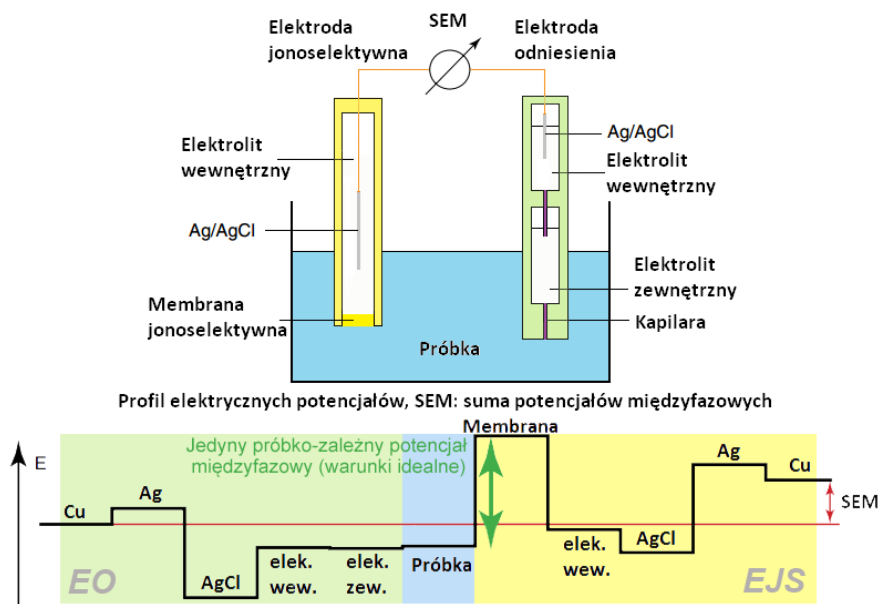
Rysunek 1. Obszary przeprowadzonych badań.

II. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

II.1. Potencjometryczny układ pomiarowy

Potencjometria w analizie chemicznej opiera się na pomiarze różnicy potencjałów układu elektrod tworzących ogniwo elektrochemiczne. W skład ogniwa wchodzi elektroda pomiarowa oraz elektroda odniesienia obie zanurzone w badanym roztworze. Dopelnieniem, które tworzy układ pomiarowy jest potencjometr o wysokiej impedancji wejściowej. Rejestruje on sygnał analityczny w postaci siły elektromotorycznej (SEM), czyli różnicy potencjałów, w warunkach zero-prądowych [2, 3]. W idealnych warunkach wartość potencjału elektrody odniesienia nie zależy od stężenia analizowanej substancji ani jonów zawartych w roztworze, czy też od temperatury. W przeciwieństwie do elektrody pomiarowej, gdzie wartość ta zależy przede wszystkim od aktywności (stężenia) jonów. Potencjometryczne układy, w których elektrody pomiarowe posiadają membrany selektywne, dają możliwość wykrywania jonów w obecności innych substancji.

Potencjał na granicy faz w miejscu styku próbki wodnej i hydrofobowej membrany EJS zależy w sposób logarytmiczny od aktywności oznaczanych jonów w próbce [18-19]. Nie ma metody doświadczalnej, która pozwoliłaby bezpośrednio zmierzyć potencjał tej granicy faz. Do tego celu używany jest układ potencjometryczny, który wykazuje taką samą zależność logarytmiczną od aktywności mierzonych jonów w próbce – **rysunek 2**. Jednak, w tym przypadku mierzona jest SEM całego układu jako różnica potencjałów elektrycznych między przewodem łączącym EJS a przewodem łączącym EO.



Rysunek 2. Schemat potencjometrycznego układu do pomiaru SEM w warunkach bezprądowych.

Jak w każdym ogniwie elektrochemicznym, SEM jest sumą dwóch rodzajów składowych [20]. Pierwsza dotyczy powstawania potencjałów międzyfazowych na granicy wszystkich połączeń fazowych całego ogniwa galwanicznego. Wzdłuż ścieżki pomiarowej tworzą się różne potencjały międzyfazowe, zaczynające się od miedzianego złącza EO, dalej przechodząc przez EO, badaną próbkę, EJS i kończące się na miedzianym złączu EJS. Omawiane potencjały międzyfazowe zawierają różne typy połączeń, takie jak: metal-metal, metal-sól, sól-ciecz oraz ciecz-ciecz.

Drugą składową mierzonej SEM są różnice potencjałów powstające na długości danego przewodnika jonowego lub elektronowego (np. przewodu Cu). Wynikają one z rezystancji (R) podczas przepływu minimalnego prądu elektrycznego (i) i przyczyniają się do spadku potencjału (E_{ohm}). Zatem, są to spadki potencjałów, które można łatwo obliczyć ($R \cdot i$). W potencjometrii jonoselektywnej pomiary niemal zawsze odbywają się w warunkach blisko idealnych (bezprądowych), więc wartość spadku E_{ohm} jest pomijalnie mała. W konsekwencji pomiar SEM jest równy sumie wszystkich potencjałów międzyfazowych (rysunek 2).

W bezpośrednim sąsiedztwie z próbką powstają dwa potencjały międzyfazowe: z jonoselektywną membraną (MJS) i zewnętrznym elektrolitem EO (CPE – ciekłe połączenie elektrolityczne). Odpowiednie dobranie elektrolitu zewnętrznego EO (np. octan litu lub chlorek potasu) sprawia, że potencjał dyfuzyjny $E_{(CPE/próbka)}$ może być bardzo mały (niezależny od próbki). Zatem potencjał ten można uznać w przybliżeniu za stały i zsumować go razem z resztą potencjałów niezależnych od próbki (E_{stand}) – równania (1) i (2). Pozostaje tylko jeden potencjał międzyfazowy $E_{(mem/próbka)}$, który nie zawiera się w potencjale standardowym (E'_{stand}). Przy tak dobranych założeniach mierzony SEM jest funkcją potencjału międzyfazowego $|membrana||próbka|$ [20].

$$SEM = \sum E_{PM} = E_{stand} + E_{(CPE/próbka)} + E_{(mem/próbka)} \quad (1)$$

$$SEM \approx E'_{stand} + E_{(mem/próbka)} \quad (2)$$

gdzie:

$\sum E_{PM}$ – suma potencjałów międzyfazowych,

$E_{(CPE/próbka)}$ – potencjał dyfuzyjny,

$E_{(mem/próbka)}$ – potencjał międzyfazowy $|membrana||próbka|$,

E_{stand} – potencjał standardowy,

E'_{stand} – potencjał standardowy po zsumowaniu $E_{(CPE/próbka)}$.

II.2. Polimerowa membrana jonoselektywna - składniki i ich funkcje

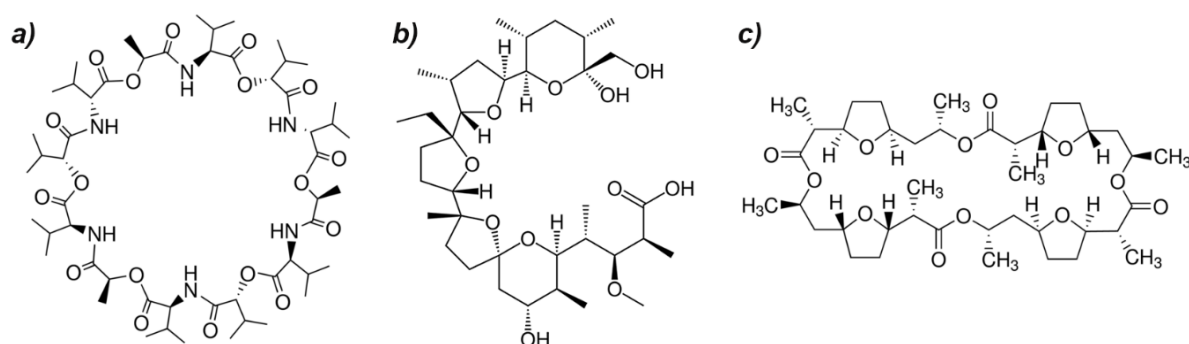
Membrana jonoselektywna jest podstawowym elementem EJS. Zazwyczaj składa się z lipofilowych składników takich jak: jonofor, polimerowa matryca, plastyfikator i wymiennicz jonowy. Ilość składników i ich obecność determinowana jest przez rodzaj zastosowania. Całość stanowi zatem fazę niemieszającą się z wodą. Miejsce styku MJS i roztworu badanego analitu jest nazywane granicą faz, na której zachodzi wymiana jonowa. Z upływem czasu, w wyniku kontaktu obu faz, składniki mimo wysokiej lipofilowości są wypłukiwane z membrany do fazy wodnej [3, 19, 21]. Utrata składników z membrany skraca czas użyteczności czujnika, szczególnie w przypadku analiz klinicznych [22] lub przepływowych [23], gdzie proces ten jest znacznie szybszy. Ekstrakcję składników z membrany do fazy wodnej można zmniejszyć poprzez syntezę lub modyfikację związków charakteryzujących się jeszcze większą lipofilowością, a także poprzez kowalencyjne ich wiązanie do matrycy MJS [19]. W analizach medycznych dodatkowo obserwuje się wnikanie substancji biologicznych (np. białek) do wnętrza membrany, co może prowadzić do zmiany jej właściwości [24]. Efekt ten można nieco opóźnić. Zazwyczaj membranę przemywa się roztworem kalibracyjnym zawierającym surfaktant. Dzięki temu wykonuje się kalibrację EJS i jednocześnie oczyszcza MJS.

Wymiennicz jonowy determinuje rodzaj odpowiedzi EJS (kationowy lub anionowy). Jednakże, to jonofor, jako najważniejszy składnik membrany, odpowiada za odwracalne kompleksowanie jonów w sposób selektywny. Natura oddziaływań jonofor-jon jest podstawą potencjometrii EJS z polimerową membraną (zawierającą jonofor). Nie mniej jednak, wpływ pozostałych składników na proces kompleksowania nie jest obojętny. Skład roztworu membrany, tworzący tzw. koktajl membrany, powinien być starannie zaprojektowany w kierunku odpowiedniej kompatybilności składników i dedykowany konkretnemu zastosowaniu [2, 3, 19, 23].

II.2.1. Jonofor

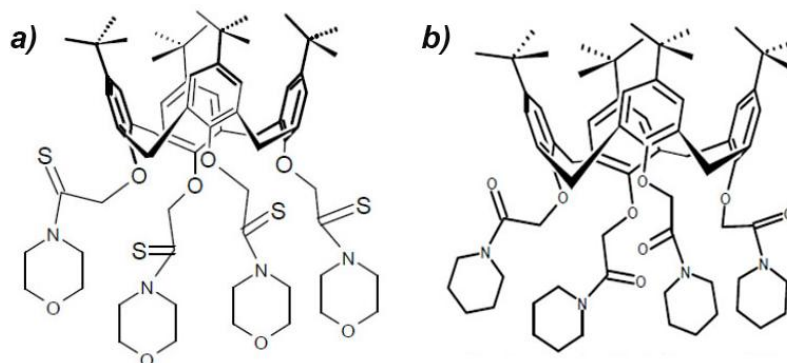
Jonofor jest najistotniejszym składnikiem membrany i zwykle stanowi 0,5–2% jej całkowitej masy. Odpowiada za selektywne i odwracalne kompleksowanie. Proces kompleksowania obniża entalpię swobodną przejścia danego analitu z fazy wodnej do membrany, zbliżając się do wartości entalpii swobodnej hydratacji tego analitu. Pozwala to na selektywną wymianę jonów (analitu) z roztworu wodnego do membrany, co generuje zmianę wartości potencjału tejże granicy faz. Nowa wartość potencjału odzwierciedla zawartą w tym

procesie informację chemiczną, co stanowi fundamentalną cechę EJS [3, 19, 23]. Aby reakcja kompleksowania była odwracalna siła kompleksowania jonoforu nie powinna być zbyt duża. W przeciwnym przypadku wywołałoby to tzw. efekt Donnana, w wyniku, którego doszłoby do koekstrakcji przeciwnonu i w konsekwencji braku użyteczności takiej EJS – brak czułości na zmiany aktywności oznaczanych jonów [19, 25]. Obecnie szeroki wybór dostępnych jonoforów umożliwia selektywne oznaczanie różnych analitów [2, 3, 19, 26-28]. Ogromną popularność zyskały związki naturalne posiadające właściwości jonoforowe takie jak: walinomycyna – K^+ (rysunek 3a), monenzyna – Na^+ (rysunek 3b) i nonaktyna – NH_4^+ (rysunek 3c). Wymienione substancje są elektrycznie obojętne i charakteryzują się makrocykliczną budową, zaś w przyrodzie posiadają właściwości antybiotyczne [26]. Jednym z najszerzej stosowanych jonoforów jest właśnie walinomycyna, której używa się zarówno w pomiarach środowiskowych, jak i klinicznych – np. do oznaczania jonów K^+ w płynach ustrojowych człowieka [2, 3, 22, 26].



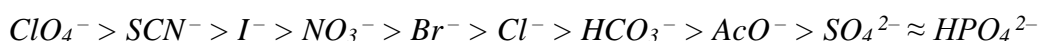
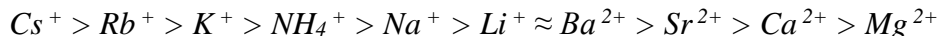
Rysunek 3. Wzory strukturalne naturalnych związków użytych jako jonofory: a) walinomycyna (K^+), b) monenzyna (Na^+) i c) nonaktyna (NH_4^+).

Innym przykładem obojętnych elektrycznie jonoforów o cyklicznej budowie są syntetyczne związki, takie jak etery koronowe i kaliks[4]areny [3, 26, 29-33]. Przykłady pochodnych kaliks[4]arenu przedstawiono na rysunku 4. Oprócz jonoforów w formie obojętnej są również te, w postaci jonowej, które nie wymagają dodatku wymiennicza jonowego [2, 3, 19]. Jednak obecność dodatku często poprawia właściwości membran z jonoforem obdarzonym ładunkiem.



*Rysunek 4. Wzory strukturalne pochodnych kaliks[4]arenu użytych jako jonofor:
a) selektywny na jony ołowiu (II), b) selektywny na jony sodu.*

W sytuacji, gdy nie ma dostępnego selektywnego jonoforu na dany analit (najczęściej w przypadku anionów) można użyć odpowiedniego wymiennicza jonowego [19]. Wówczas selektywność takiej membrany (bez jonoforu) jest zazwyczaj niska i przeważnie zgodna z szeregiem Hofmeistera, który koreluje z lipofilowością jonów [19, 34, 35]. Oznacza to, że otrzymana MJS jest bardziej selektywna wobec jonów lipofilowych, a mniej selektywna wobec hydrofilowych. Niemniej jednak, pozostałe składniki membrany mają wpływ zarówno na selektywność membrany, jak i szereg Hofmeistera, który zwykle kształtuje się następująco:



II.2.2. Polimerowa matryca

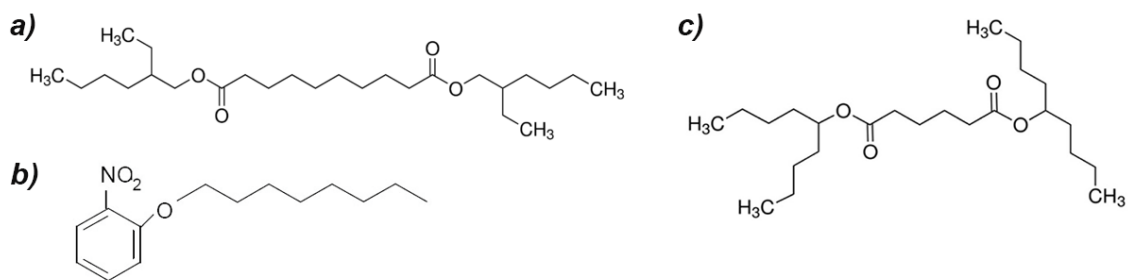
Polimer jest jednym ze składników MJS, który zapewnia odpowiednią plastyczność i wytrzymałość mechaniczną membrany. Tworzy swego rodzaju szkielet dla innych składników membrany, czyli tzw. matrycę polimerową. Powinien być chemicznie obojętny, nierozpuszczalny w wodzie, trwały w rozsądnym zakresie temperatur oraz stabilny przynajmniej do pH = 8–9 [36]. Jako przykłady polimerów, stosowanych w tego typu membranach, można wymienić m. in. polichlorek winylu (PCW) [19, 21, 22, 37, 38], polichlorek winylidenu [39], poliakrylany i polimetakrylany [38, 40-45]. Oprócz tego, z powodzeniem stosowano również gumy silikonowe [46-53], poliuretany [46, 54, 55] i niektóre fluoropochodne [56], które charakteryzują się większą biokompatybilnością niż powszechnie stosowany PCW [46, 57-59]. Wspomniana zgodność biologiczna ma największe znaczenie w warunkach analiz klinicznych. Typowe membrany posiadające matrycę polimerową z PCW wymagają dodatku plastyfikatora i często charakteryzują się stopniowym

uwalnianiem innych składników do badanego środowiska [22]. W badaniach klinicznych *in vivo* uwolniony z MJS plastyfikator może powodować stan zapalny lub reakcje alergiczne [55]. Z tego powodu, niektóre pochodne poliakrylanów, nie wymagające plastyfikatora, również okazały się bardziej biokompatybilne niż PCW. Mimo to, polichlorek winylu również był niejednokrotnie modyfikowany w celu poprawy właściwości otrzymanej membrany [60-62]. Przed wyborem właściwego polimeru należy wziąć pod uwagę inne istotne parametry takie jak: stała dielektryczna, siła adhezji do podłoża, temperatura zeszklenia oraz ruchliwość jonów w membranie z danym polimerem, co wiąże się z opornością membrany. Wciąż trwają intensywne poszukiwania nowych i alternatywnych materiałów jako matryc w celu polepszenia właściwości membran.

II.2.3. Plastyfikator

Plastyfikator jest nielotną lipofilową substancją o wysokiej temperaturze wrzenia [19, 21]. Stanowi największy udział masowy membran z powszechnie stosowanym polimerem PCW [19, 21, 22]. Pełni on kilka ważnych ról. Tworzy spoiwo zapewniające odpowiednią elastyczność i dużą lepkość membrany [63]. Pozwala na optymalną dyfuzję składników w fazie membranowej i wymagane przewodnictwo jonowe umożliwiające selektywne kompleksowanie analitu – funkcjonując jako rozpuszczalnik niemieszający się z wodą [19, 21]. Dodatkowo obniża temperaturę zeszklenia matrycy polimerowej poniżej docelowej temperatury użytkowania EJS, która zazwyczaj mieści się w granicach 0–50°C [21, 48, 64]. Temperatura zeszklenia różnych rodzajów PCW bez dodatku plastyfikatora waha się w przedziale 85–102°C [45, 64].

Plastyfikator powinien być tak dobrany, aby zapewniał kompatybilność z innymi składnikami membrany. Nieodpowiednio dobrany może prowadzić do wydzielania się aglomeratów polimerowych z matrycy, a także pogarszać selektywność MJS [19, 22]. Ze względu na różnice w polarnościach membran z różnymi plastyfikatorami, przeważnie plastyfikatory sebacynian di(2-etyloheksylu) (DOS) i adypinian bis(1-butylo-pentylu) (BBPA) używane są do pomiaru jonów jednowartościowych, zaś eter *orto*-nitrofenylooktylowy (*o*-NPOE) do dwuwartościowych [19, 21, 22, 65]. Przykładowe struktury najczęściej używanych plastyfikatorów przedstawiono na [rysunku 5](#). Ponadto, należy pamiętać o zapewnieniu odpowiedniego stosunku plastyfikatora do PCW, który najczęściej wynosi 3 : 1 lub 2 : 1 [37, 66, 67]. Właściwie dobrany pozytywnie wpływa na właściwości fizykochemiczne membrany i ułatwia nakrapianie całej mieszaniny membranowej.



Rysunek 5. Wzory strukturalne najczęściej stosowanych plastyfikatorów:
 a) sebacynian bis(2-etyloheksylu) (DOS), b) eter orto-nitrofenyloalkyloowy (o-NPOE),
 c) adypinian bis(1-butylopentylu) (BBPA).

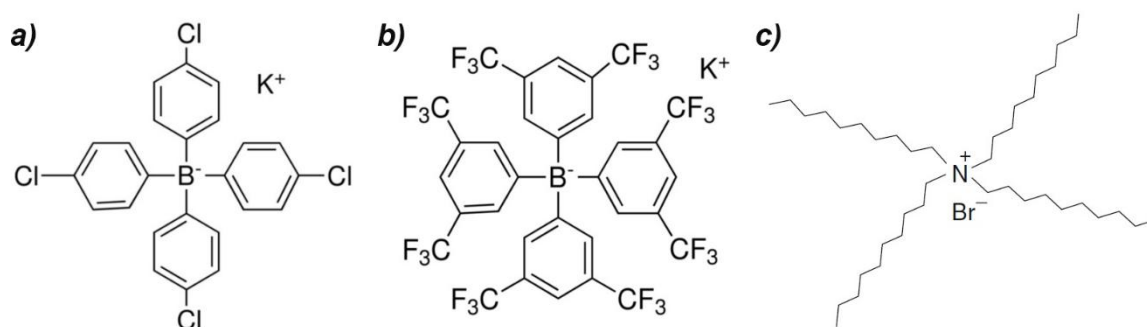
II.2.4. Wymieniacz jonowy

Wymieniacz jonowy w postaci soli lipofilowej nadaje membranie właściwości jonowymienne, gdy inne jej składniki nie wykazują takich cech. Dzięki temu, EJS charakteryzuje się odpowiedzią nernstowską. Membrana bez dodatku wymieniacza jonowego również może charakteryzować się takimi właściwościami, gdy użyty jonofor obdarzony jest ładunkiem (forma nieobojętna) [68]. Niemniej jednak i w tym przypadku dodatek wymieniacza jonowego może wywierać pozytywny wpływ na optymalną pracę EJS. Nawet membrana zawierająca jonofor obojętny, bez dodatku wymieniacza jonowego, ze względu na niewielkie zanieczyszczenia (obecne np. w polimerowej matrycy), również może wykazywać pewne właściwości jonowymienne, ale w bardziej niekontrolowany sposób [60, 69-71].

Dodatek soli lipofilowej zapewnia membranie prawidłowy poziom wymiany jonowej. Dzieje się tak, ponieważ sól ta dysocjuje w membranie na jon lipofilowy i jon hydrofilowy. Pierwszy z nich jest dużym jonem, który pozostaje w membranie tworząc centra wymiany jonowej utrzymujące stałe stężenie jonu głównego w MJS. Tworzy on także barierę dla koekstrakcji przeciwjonu z próbki [19, 25, 72, 73]. Dzięki temu membranie nadana jest określona permselektywność – wymianie ulegają tylko jony o ładunku dodatnim (membrana kationoselektywna) lub ujemnym (membrana anionoselektywna) [19, 25]. Drugi jon hydrofilowy jest znacznie mniejszy. W kontakcie z roztworem wodnym analitu zdolny jest przekraczać granicę faz $|membrana||roztwór|$. Z tego powodu, w czasie kondycjonowania MJS, wymieniany jest na jon główny [19]. Sól lipofilowa wpływa również na selektywność membrany oraz obniża jej opór elektryczny skracając czas odpowiedzi EJS [74-76].

Dodając wymieniacz jonowy do membrany należy zwrócić uwagę na to, aby sól charakteryzowała się odpowiednio wysoką lipofilowością, w przeciwnym razie może

to prowadzić do znaczącego wyciekania jonu lipofilowego z MJS do badanych roztworów. Lipofilowość, wyrażona logarytmem dziesiętnym współczynnika podziału jonu między wodę i n-oktanol, jest miarą powinowactwa substancji do fazy organicznej [77]. W przypadku analiz roztworów wodnych wymiennicze jonowe muszą mieć lipofilowość $\geq 7,4$, zaś w pomiarach we krwi powinny wykazywać wartości co najmniej 11 [78]. W membranach kationoselektywnych najczęściej stosuje się pochodne tetrafenyloboranów (rysunek 6a i 6b), zaś w membranach anionoselektywnych pochodne czwartorzędowych soli amoniowych (rysunek 6c) [19, 25, 79]. Czasami warto zastosować dodatek do membrany w postaci soli lipofilowej składającej się z obu jonów lipofilowych (kationu i anionu), która dysocjując w membranie nie posiada właściwości jonowymiennych. Wówczas celem jest obniżenie oporu elektrycznego danej membrany [75, 76].



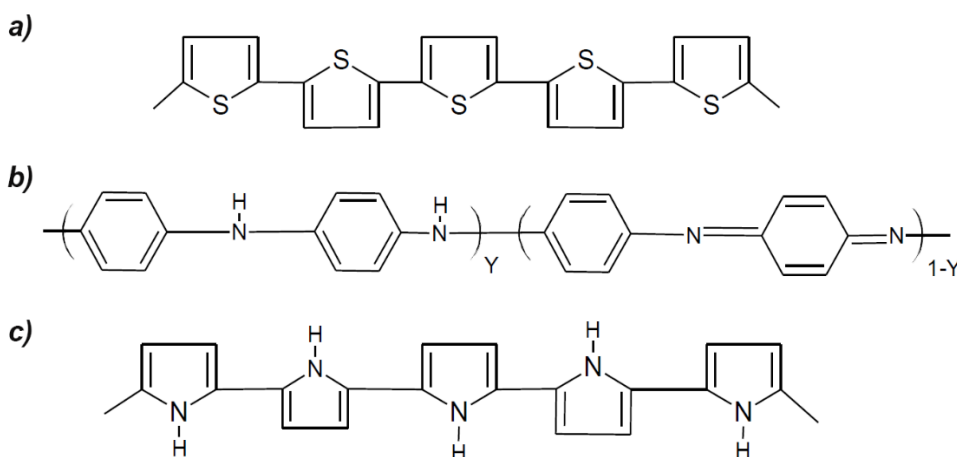
Rysunek 6. Przykłady najczęściej stosowanych soli lipofilowych w membranach: a) tetrakis(4-chlorofenyl)boran potasu, b) tetrakis[3,5-bis(trifluorometylo)fenyl]boran potasu, c) bromek tetradecyloamoniowy.

II.3. Polimery przewodzące w elektrodach jonoselektywnych

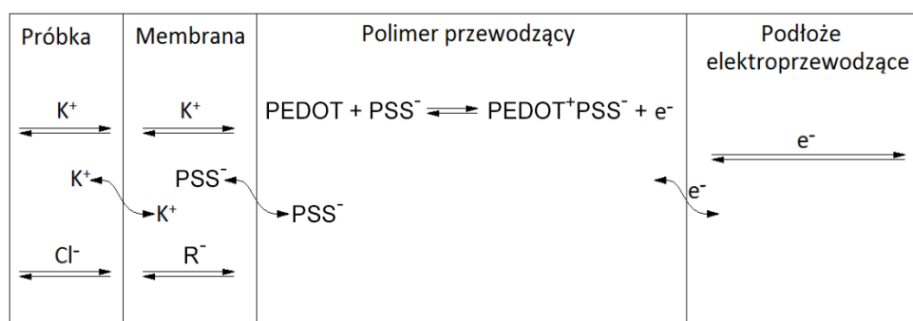
Polimery przewodzące (CP) umożliwiły zastąpienie tradycyjnego układu redoks, składającego się z elektrolitu wewnętrznego i wewnętrznej elektrody (np. Ag/AgCl), który występuje w klasycznych konstrukcjach EJS. Było to możliwe dzięki odpowiednim właściwościom CP, które charakteryzują się przewodnictwem zarówno jonowym, jak i elektronowym [80, 81], stosunkowo wysoką pojemnością redoks [82] oraz brakiem reakcji ubocznych [83]. W ten sposób powstał nowy rodzaj czujników z membranami polimerowymi określanymi jako EJS ze stałym kontaktem (ASS-EJS) [30, 84, 85]. Polimery przewodzące umieszczone jako warstwa pomiędzy elektronoprzewodzącym podłożem a jonoprzewodzącą membraną, pełnią funkcję przetwornika jonowo-elektronowego [80, 81]. Taka konstrukcja jest najbardziej popularna w ASS-EJS, ale również możliwe są jej modyfikacje: CP zmieszany

z membraną jonoselektywną, CP z immobilizowanym jonoforem, CP z jonoforem związanym kowalencyjnie [6, 86-89]. Ilość CP powinna być optymalnie dobrana w zależności od składu membrany, inaczej selektywność EJS może istotnie się pogorszyć [86, 90, 91].

Polimery przewodzące w stanie neutralnym są izolatorami lub półprzewodnikami [92]. Można zwiększyć ich przewodność przez domieszkowanie typu „p” (częściowe utlenienie) lub typu „n” (częściowa redukcja) [93-95]. Zatem, poprzez stopień domieszkowania uzyskuje się CP o różnej przewodności. Większość tych polimerów jest półprzewodnikiem typu „p”, zatem domieszkowane anionami utrzymują makroskopową elektroobojętność (typu „n”, gdy domieszkowane kationami). Wiele polimerów przewodzących zastosowano już jako stały kontakt [6, 41, 42, 82, 83, 87, 96-114]. Najbardziej popularne CP w ASS-EJS to: poli(3-oktylotiofen) (POT), poli(3,4-etyleno-1,4-dioksytyfen) (PEDOT), polianilina (PANI) i polipirol (PPy). Przykładowe struktury polimerów przewodzących przedstawiono na [rysunku 7](#). Schemat przedstawiający działanie przykładowej ASS-EJS K⁺-selektywnej z polimerem przewodzącym PEDOT(PSS) pokazano na [rysunku 8](#).



Rysunek 7. Przykładowe struktury polimerów przewodzących zastosowanych w EJS: a) politiofen, b) polianilina (PANI), c) polipirol (PPy).



Rysunek 8. Schemat działania ASS-EJS z PEDOT(PSS) jako warstwa przetwornikowa.

Oprócz CP jako stały kontakt użyte były również inne materiały takie, jak: monowarstwy redoks [115-119], makro-porowate nanostruktury węgla [12, 120, 121], porowaty silikon, nanorurki węglowe [122-126].

II.4. Charakterystyka elektrod jonoselektywnych

Podstawowe równanie Nernsta (3) opisujące potencjał elektrody jest ściśle związane ze zmianą aktywności (stężenia) jonów w badanym roztworze [2, 3, 6]. Jednak opis ten dotyczy roztworu zawierającego tylko jeden rodzaj jonu (czyli warunków idealnych). W rzeczywistości należy wziąć pod uwagę aktywność wszystkich jonów obecnych w badanym roztworze, co uwzględnia półempiryczne równanie Nikolskiego – Eisenmana (4) [127].

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln(a_I) \quad (3)$$

$$E = E^0 + S \log \left(a_I + \sum K_{IJ}^{pot} \cdot a_J^{z_I/z_J} + L \right) \quad (4)$$

gdzie:

E^0 – potencjał standardowy (wszystkie potencjały związane z danym układem pomiarowym),
 R – stała gazowa, T – temperatura w skali Kelvina, F – stała Faradaya, S – nachylenie charakterystyki elektrody zgodne z równaniem Nernsta, z_I i z_J – ładunek jonu głównego (I) i przeszkadzającego (J), a_I i a_J – aktywność jonu głównego (I) i przeszkadzającego (J) (często zastępowana stężeniem), K_{IJ}^{pot} – potencjometryczny współczynnik selektywności, L – granica wykrywalności jonu głównego.

Charakterystykę elektrod określa się na podstawie szeregu parametrów, które wynikają z równania opisującego funkcjonowanie EJS. Metody wyznaczania tych parametrów są takie same dla elektrod z membraną polimerową, szklaną i krystaliczną. W praktyce stosowanie czujnika wymaga znajomości: zakresu liniowego, nachylenia odpowiedzi (czułości), selektywności, czasu odpowiedzi oraz stabilności tychże parametrów w czasie [2, 19].

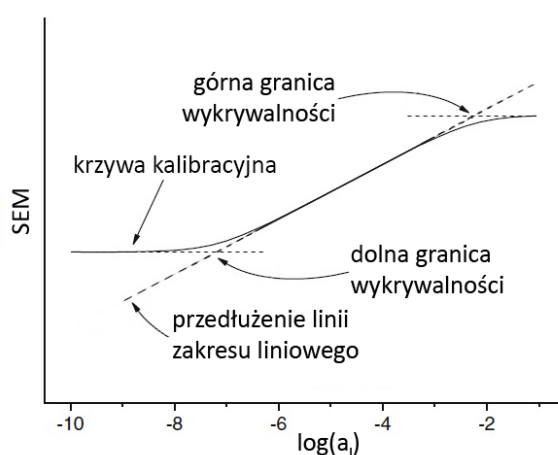
II.4.1. Zakres liniowy i nachylenie odpowiedzi elektrody

Zakres pracy i nachylenie (czułość) odpowiedzi elektrody wyznaczone są bezpośrednio z krzywej kalibracji. Zakres pracy określony jest górną i dolną granicą wykrywalności danej EJS. Granice te mogą być wyznaczone w punktach, gdzie zmierzone stężenie (aktywność) jest dwa razy mniejsze lub dwa razy większe niż wartość zgodna z nachyleniem nernstowskim

[18, 128]. Wówczas odchylenie ΔE zmierzonej SEM od linii prostej na granicy wykrywalności wynosi:

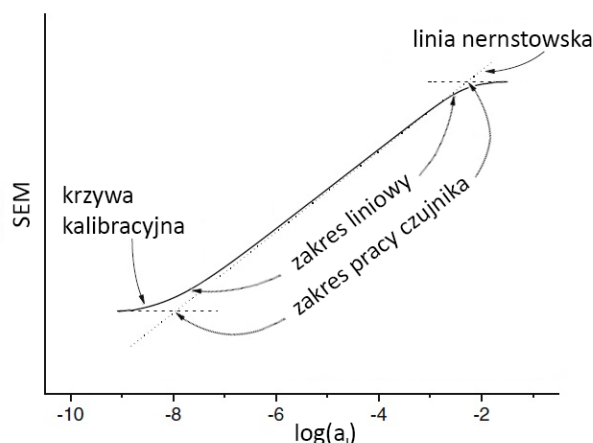
$$\Delta E = \pm \frac{RT}{z_1 F} \ln 2 \quad (5)$$

W równaniu (5) znak dodatni reprezentuje dolną granicę wykrywalności, a ujemny górną. Drugą powszechną metodą wyznaczania granic wykrywalności jest wyznaczenie punktów przecięcia się ekstrapolowanych odcinków liniowych wykresu (rysunek 9) [129, 130]. Obie te metody zostały zaaprobowane przez IUPAC.

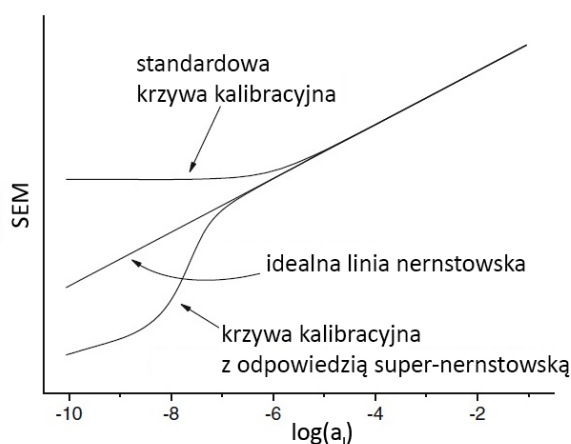


Rysunek 9. Przykład wyznaczania granic wykrywalności EJS.

Liniowy fragment krzywej kalibracji stanowi zakres liniowy pracy czujnika. W związku z tym, jest on bardzo wrażliwy na wartości błędów pomiarowych i zawsze węższy niż zakres pracy czujnika (rysunek 10). Postępy w obniżaniu dolnej granicy wykrywalności pozwalają znacznie rozszerzyć zakres liniowy czujnika [25, 131]. Jednak niektóre rozwiązania zmieniają dolną charakterystykę krzywej kalibracji, w której odpowiedź EJS nie jest liniowa tylko super-nernstowska (rysunek 11). Wówczas charakterystyka odpowiedzi odbiega od idealnej linii nernstowskiej w kierunku wartości ujemnych, co jest niezgodne z tradycyjną definicją granicy wykrywalności.



Rysunek 10. Przykład wyznaczania zakresu pracy i zakresu liniowego EJS.



Rysunek 11. Porównanie krzywej kalibracji ze standardową dolną granicą wykrywalności, idealnej linii nernstowskiej oraz krzywej kalibracji z odpowiedzią super-nernstowską.

II.4.2. Potencjometryczny współczynnik selektywności

Selektywność jest jedną z najważniejszych cech EJS. Określana jest za pomocą tzw. potencjometrycznych współczynników selektywności [19]. Opisują one zdolność czujnika (membrany) do selektywnego kompleksowania badanego jonu (analitu) w obecności innych jonów przeszkadzających. Selektywność membrany określa wpływ danego rodzaju jonów na potencjał tworzący się na granicy faz $[membrana||roztwór]$. W praktyce membrana elektrody oddziałuje nie tylko z oznaczanymi jonami głównymi, lecz także w pewnym stopniu z jonami przeszkadzającymi występującymi w roztworze. Zatem, wyznaczenie współczynników selektywności, a także granicy wykrywalności, pozwala decydować o użyteczności czujnika w danych warunkach [3, 19, 132].

Rozważając teoretycznie idealny przypadek, potencjał elektrody i wartość SEM powinny być zawsze takie same dla danej aktywności jonu głównego niezależnie od składu

próbki. Jednakże, aktywność badanego jonu (wyrażona równaniem (6)), zmienia się w zależności od stężenia (siły jonowej) innych jonów obecnych w próbce, wpływając na zmianę współczynników aktywności. Zatem, potencjał nawet teoretycznie idealnie selektywnej elektrody, stały przy stałej aktywności jonu głównego, niekoniecznie będzie już stały przy stałym stężeniu tegoż jonu. Z tego powodu, często przydaje się wiedza na temat przybliżonego składu próbki, aby możliwe było przeprowadzenie odpowiedniej kalibracji czujnika lub wprowadzenie istotnych korekt.

$$a = c \cdot f \quad (6)$$

gdzie: f – współczynnik aktywności oszacowany na podstawie modelu Debye'a-Huckela lub dalszych modyfikacji [128, 133-135], c – stężenie jonu.

W rzeczywistości selektywność EJS jest ograniczona, wobec czego stosuje się równania opisujące odpowiedź EJS, które uwzględniają obecność jonów przeszkadzających. Obecnie najczęściej stosowaną zależnością jest równanie Nikolskiego-Eisenmana (4), które było wielokrotnie rozwijane i przystosowywane do opisu wpływu różnych jonów o różnym ładunku [136, 137]. Jak już wspomniano, parametrem określającym selektywność, w sposób ilościowy, jest potencjometryczny współczynnik selektywności wyrażony jako K_{IJ}^{pot} . Im mniejsza wartość tego współczynnika, tym większa jest selektywność elektrody względem danych jonów. Oznacza to, że np. $K_{IJ}^{pot} = 10^{-3}$ reprezentuje selektywność, w której aktywność jonów głównych I wytworzy taki sam potencjał jak tysiąc razy większa aktywność jonów przeszkadzających J . Ze względu na fakt, że jony przeszkadzające wnoszą pewien udział w generowanie potencjału elektrody, zakres liniowy odpowiedzi EJS może być różny w różnych mieszaninach roztworów i zazwyczaj będzie węższy, niż w przypadku czystego roztworu jonów głównych. Dlatego potencjometryczne współczynniki selektywności głównie wyznacza się doświadczalnie. Obecnie najczęściej stosowanymi metodami wyznaczania współczynników selektywności, zalecanymi przez IUPAC, są: metoda oddzielnych roztworów (SSM) i ustalonego stężenia jonu przeszkadzającego (FIM) [130].

Metoda SSM polega na zmierzeniu potencjałów EJS w szeregu roztworów czystych elektrolitów, skąd wzięła się nazwa oddzielnych roztworów – każdy jon badany jest oddzielnie. W tym przypadku właściwe wyznaczenie K_{IJ}^{pot} wymaga, aby charakterystyki odpowiedzi na jon główny i jony przeszkadzające były możliwie najbardziej zgodne z nachyleniem nernstowskim [138]. Wobec tego, na tym etapie uwzględnia się tylko punkty leżące w zakresie nachylenia nernstowskiego. Ważne jest, aby membrana nie miała wcześniej kontaktu z jonem

głównym zarówno po stronie elektrolitu wewnętrznego (w klasycznych EJS), jak i w trakcie kondycjonowania [139]. Inaczej wyznaczone współczynniki selektywności są zafałszowane przez wyciekający jon główny, który wpływa na zmniejszenie czułości membrany na jony przeszkadzające (brak odpowiedzi nernstowskich) i rzutuje na granicę wykrywalności [129, 131, 140]. Przyczyną wycieku jest to, że w trakcie procesu wymiany jonów na granicy faz $|membrana||roztwór|$, zachodzą niewielkie odchylenia składu roztworu w sąsiedztwie membrany, w porównaniu ze składem w całej objętości próbki [141]. Dlatego, pomiary należy rozpoczynać od jonu najmniej przeszkadzającego, a kończyć na jonie głównym.

Jeżeli zmierzony potencjał EJS dla badanych jonów jest zgodny z równaniem Nikolskiego, to wartość SEM dla jonów głównych I przyjmuje następujące wyrażenie (7):

$$E_I = E^0 + S \log(a_I) \quad (7)$$

zaś dla jonów przeszkadzających J wzór (8):

$$E_J = E^0 + S \log(K_{IJ}^{pot} \cdot a_J) \quad (8)$$

Otrzymując z równań (7) i (8) odpowiednie potencjały dla czystych roztworów jonów I oraz J o równych aktywnościach (stężeniach) $a_I = a_J$ możemy zapisać równanie pozwalające wyznaczyć K_{IJ}^{pot} dla mieszaniny tych jonów (9):

$$\log K_{IJ}^{pot} = \frac{E_J^0 - E_I^0}{S_I} \quad (9)$$

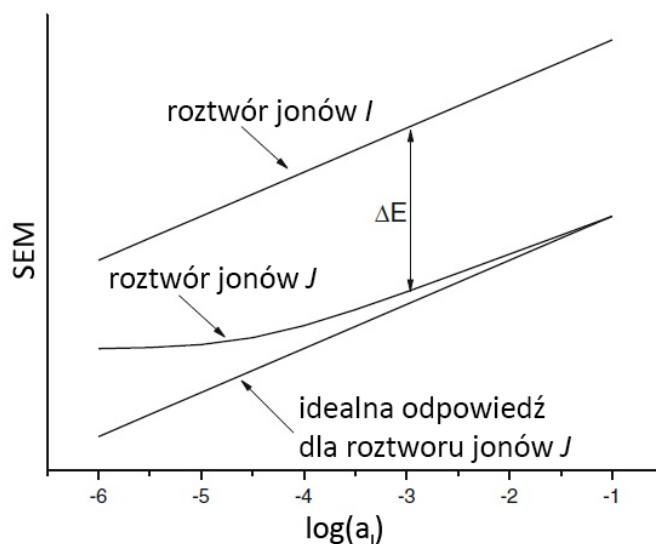
gdzie:

K_{IJ}^{pot} – potencjometryczny współczynnik selektywności dla jonu głównego (I);

E_J^0, E_I^0 – potencjał elektrody w roztworze kationu odpowiednio: przeszkadzającego (J), głównego (I), interpolując do $\log(a) = 0$;

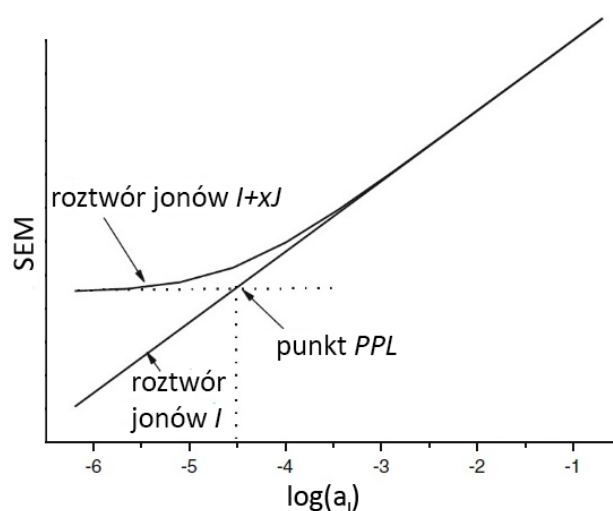
S_I – nachylenie charakterystyki dla jonu głównego (I);

Zatem, wykonując kalibracje w czystych roztworach elektrolitów jonu głównego (I) oraz przeszkadzającego (J) metodą SSM, można uzyskać zarówno parametry elektrody (E^0, S), jak i współczynniki selektywności. Metodę zilustrowano na [rysunku 12](#).



Rysunek 12. Wyznaczenie współczynnika selektywności metodą SSM.

Ze względu na pomiary w czystych roztworach, metoda SSM jest często krytykowana jako nieodpowiednia, ponieważ selektywność jest zdolnością EJS do rozróżniania jonów w mieszaninach. Alternatywnym sposobem wyznaczania współczynników selektywności jest metoda o ustalonym stężeniu jonu przeszkadzającego (FIM). Polega ona na pomiarze SEM w mieszaninach roztworów ze zmiennym stężeniem jonów głównych (analitu) i stałym stężeniem jonów przeszkadzających, lub też odwrotnie (przy zmiennym stężeniu jonów zakłócających i stałym stężeniu jonów głównych). Pierwszy wariant przedstawiono na rysunku 13.



Rysunek 13. Wyznaczenie współczynnika selektywności metodą FIM.

Liniowy zakres odpowiedzi EJS w czystych roztworach jonów głównych (I) jest szerszy niż w roztworach zawierających także elektrolit jonów przeszkadzających ($I+xJ$). W trakcie rozcieńczania jonów I , krzywa mierzona w roztworach mieszanych ($I+xJ$) odbiega coraz

bardziej od linii nernstowskiej, aż wreszcie staje się płaska w niskich stężeniach jonów głównych. Utworzona linia pozioma dla $(I+xJ)$ wraz z linią kalibracji dla czystych jonów I tworzy punkt przecięcia (PPL), który odnosi się do równych wartości SEM otrzymanych dla czystego roztworu I oraz roztworu mieszanego z $a_I \ll K_{IJ}a_J$. Zgodnie z równaniem Nikolskiego, wartości SEM w punkcie PPL dla obu roztworów wyrażone są jako (10, 11):

$$E = E^0 + S \log a_I^{PPL} \quad (10)$$

$$E = E^0 + S \log(K_{IJ}^{pot} \cdot a_J) \quad (11)$$

gdzie współczynnik selektywności jest równy stosunkowi odpowiednich aktywności jonów (12):

$$K_{IJ}^{pot} = \frac{a_I^{PPL}}{a_J} \quad (12)$$

Zazwyczaj wartości liczbowe K_{IJ}^{pot} uzyskane metodą FIM, przy użyciu ustalonej wartości a_J , zbliżają się do tych uzyskanych metodą SSM z tą samą aktywnością jonów przeszkadzających. W związku z tym, że metoda FIM jest bardziej czasochłonna i wymaga więcej pracy, stosowana jest rzadziej niż metoda SSM. Poza wyżej opisanymi metodami sformułowano jeszcze kilka innych, jednakże nie są one zalecane przez IUPAC, bądź odbiegają od charakteru równania Nikolskiego-Eisenmana (4).

W praktyce wybór odpowiedniej EJS uzależniony jest od warunków w jakich dana elektroda ma pracować. Dlatego często nakłada się pewne wymagania co do wartości współczynnika selektywności, który można oszacować według wzorów (13) [142]:

$$K_{IJ}^{pot}(max) = \frac{a_{I(min)} \cdot x}{a_{J(min)}^{z_I/z_J} \cdot 100} \quad (13)$$

lub (14) [143]:

$$K_{IJ}^{pot}(wymagany) = \frac{a_I}{a_J^{z_I/z_J}} \cdot \left(\frac{x}{100}\right)^{z_I/z_J} \quad (14)$$

gdzie: K_{IJ}^{pot} – obliczony współczynnik selektywności, a_I , a_J – aktywność jonów głównych (I) i przeszkadzających (J), z_I , z_J – ładunek jonów głównych (I) i przeszkadzających (J), x – założony poziom błędu (%).

II.4.3. Czas odpowiedzi układu pomiarowego

Przepustowość urządzenia pomiarowego, opartego na EJS, między innymi określona jest czasem odpowiedzi czujników. Czas ten wyraża jak szybko ustali się pewna wartość SEM, gdy badany roztwór zostanie zamieniony na następny. We wczesnych badaniach EJS dokładnie określono wystarczające czasy odpowiedzi oznaczone symbolami τ_{90} lub τ_{95} , co odpowiada 90% i 95% pełnej zmiany mierzonego potencjału [144-147]. Przy dużym nakładzie próbek wiedza ta pozwala wykonać pomiary w czasowo optymalny i sensowny sposób. Losowe zakłócenia oraz szумы potencjału powodują, że odczyty danych nigdy nie będą idealnie stabilne. Dlatego często odpowiednia regulacja sposobu określania wystarczającego czasu odpowiedzi jest bardzo istotna. Drugim ważnym czynnikiem wpływającym na czas odpowiedzi, z punktu widzenia przepustowości próbek, jest odpowiednia procedura wymiany badanych roztworów. Na czas odpowiedzi EJS, między innymi mają wpływ takie czynniki, jak elektrochemiczna reakcja na granicy faz |membrana||roztwór|, dyfuzja w fazie membranowej oraz dyfuzja elektrolitów w fazie wodnej w sąsiedztwie membrany [144-147].

II.4.4. Stabilność parametrów i odtwarzalność odpowiedzi elektrod jonoselektywnych

Stabilność parametrów w czasie, takich jak nachylenie (S) i potencjał standardowy (E^0), decyduje o trwałości użytkowej czujnika. Zazwyczaj nachylenie (czułość) elektrody jest znacznie bardziej stabilne w czasie niż potencjał standardowy. Powodem tego jest to, że zmiana nachylenia jest powolna i regularna w wyniku stopniowego wmywania składników membrany do roztworów wodnych [148, 149]. Objawem zmiany parametrów elektrody w czasie jest dryft potencjału. Oznacza to, że wartości S i E^0 uzyskane podczas kalibracji czujnika, w perspektywie czasu zmieniają się, dając inne wartości dla tej samej próbki. Zjawisko to wymusza częste powtarzanie kalibracji, co wiąże się z większą czasochłonnością obsługi urządzenia. Czuość EJS z membranami polimerowymi (opartymi na jonoforach) w ciągu kilku miesięcy może zmienić się o kilka miliwoltów definiując w ten sposób ich przydatność. Niemniej jednak, są też i takie membrany, które charakteryzują się żywotnością nawet kilku lat [150]. W przypadku elektrod krystalicznych i szklanych, obsługiwanych we właściwy sposób, żywotność jest praktycznie nieograniczona, a nachylenie nie zmienia się z upływem czasu.

Membrany EJS również mogą wpływać na zmianę potencjału standardowego, gdy ich struktura podczas użytkowania staje się niejednorodna – zachodzi pewna asymetria w składzie membrany. Może to się zdarzyć z powodu sorpcji niepożądanych składników przez

powierzchnię membrany do jej wnętrza. Niektóre zanieczyszczenia obecne w próbkach mogą również przenikać przez membranę do roztworu wewnętrznego (klasycznych EJS) i gromadząc się tam, powodują znaczne dryfowanie E^0 . Ten ostatni efekt zachodzi tylko w elektrodach z membranami polimerowymi, co bardzo utrudnia utrzymanie dobrej stabilności tego parametru [151, 152]. Zatem, uaktualnianie E^0 poprzez okresową kalibrację w kontrolnym roztworze kalibracyjnym, pozwala na skorygowanie wartości potencjału standardowego przy założeniu stałego nachylenia. Przykładem takiego podejścia są analizatory kliniczne, w których zmiany E^0 kompensowane są przez pomiar potencjału w roztworze kontrolnym nawet po każdej próbce, jeśli to konieczne. Tymczasem, elektrody z membranami szklanymi lub krystalicznymi charakteryzują się dużą stabilnością potencjału standardowego [153, 154]. Mimo to, elektrody te są wrażliwe na adsorpcję składników na powierzchni membrany prowadząc do utworzenia się warstewki tlenków. Z tego powodu elektrody szklane i krystaliczne wymagają odświeżania powierzchni membrany, poprzez trawienie (szklane) lub polerowanie (krystaliczne).

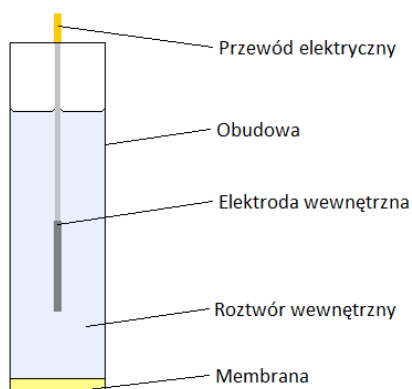
Odtwarzalność parametrów (S i E^0) zdublikowanych EJS jest istotna wszędzie tam, gdzie możliwa jest tylko wymiana czujnika – kalibracja jest technicznie utrudniona lub nie ma czasu na jej wykonanie. Warunek ten spełniają niektóre elektrody szklane i krystaliczne posiadające bardzo dobrą odtwarzalność parametrów ich powielanych kopii. Wówczas możliwe jest użycie nawet „fabrycznej kalibracji”, która utrzymuje się przez wiele lat [153]. Klasyczne EJS z roztworem wewnętrznym i membraną polimerową wykazują relatywnie dobrą powtarzalność parametrów w porównaniu do elektrod ze stałym kontaktem (ASS-EJS), których powtarzalność E^0 jest jeszcze słaba.

II.5. Konstrukcje elektrod jonoselektywnych

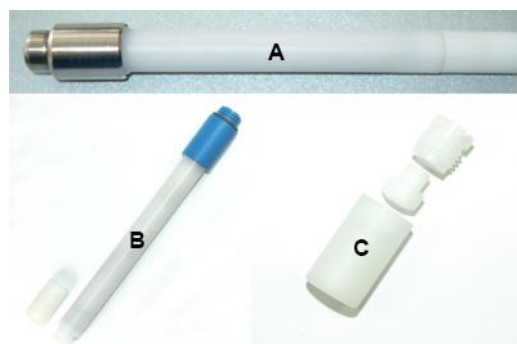
Liniową zależność wartości mierzonej SEM od logarytmu aktywności (stężenia) jonów, jako pierwszy dostrzegł Cremer w 1906 roku, badając szklaną membranę, której potencjał zależał liniowo od pH roztworu [155]. Na podstawie tych obserwacji Haber i Klemensiewicz w 1909 roku skonstruowali pierwszą szklaną elektrodę pH [156]. Ten okres uważa się za początek ery EJS, których rozwój przez ponad 100 lat doprowadził do powstania różnego typu ich konstrukcji. Ponadto, syntezy nowych jonoforów i możliwości technologiczne pozwoliły na znaczną poprawę właściwości czujników, co bezpośrednio przełożyło się na wzrost możliwości ich zastosowań [19]. Głównym elementem tego typu czujników jest MJS, umieszczana zazwyczaj na końcu obudowy wykonanej z odpowiedniego materiału, który dobiera się w zależności od rodzaju stosowanej membrany.

II.5.1. Klasyczne elektrody jonoselektywne z membranami polimerowymi

Klasyczne EJS z membranami polimerowymi (rysunek 14) zwykle posiadają obudowy z tworzywa sztucznego, w których membrana przytwierdzona jest za pomocą skręcanego korpusu. Uszczelnienie połączenia korpusu z obudową zapewnia uszczelka typu O-ring (np. guma silikonowa). Klasyczne EJS w swojej konstrukcji zawierają elektrolit wewnętrzny, którym może być płynny lub żelowy roztwór. Dla stabilnych i powtarzalnych potencjałów elektrycznych (na granicy faz |membrana||roztwór wewnętrzny|) roztwór ten powinien zawierać w swoim składzie jony, na które membrana jest selektywna. Typowe konstrukcje klasycznych EJS pokazano na zdjęciu 1. W zaprezentowanych modelach roztwór wewnętrzny uzupełnia się od strony korpusu. Zdjęcie 1c przedstawia konstrukcję korpusu, w której umieszczana jest polimerowa membrana o odpowiednim kształcie.



Rysunek 14. Schemat konstrukcji klasycznej elektrody jonoselektywnej.



Zdjęcie 1. Komercyjne obudowy klasycznych EJS: a) Philips IS-561, b) CITSens MT050, c) korpus obudowy.

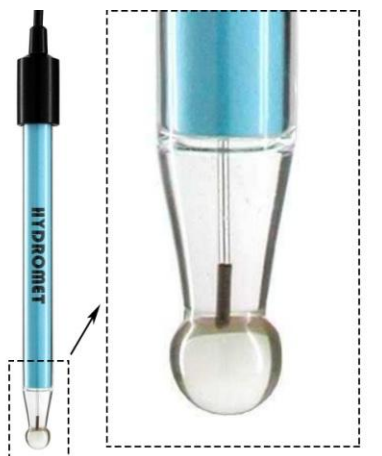
Membrana i elektrolit wewnętrzny są przewodnikami jonowymi, natomiast przewód elektryczny jest przewodnikiem elektronowym. Dla odwracalnej przemiany przewodności jonowej w roztworze wewnętrznym do przewodności elektronowej przewodu, potrzebna jest elektroda wewnętrzna. W tym celu może być użyta dobrze znana klasyczna elektroda pierwszego lub drugiego rodzaju, jak również elektrody redoks. W klasycznych EJS najczęściej wykorzystywaną elektrodą wewnętrzną jest elektroda drugiego rodzaju Ag/AgCl. Wówczas roztwór wewnętrzny musi zawierać jony chlorkowe, a także odpowiedni jon, na który EJS jest selektywna. W tym przypadku typowymi roztworami są np. 0,01 mol/dm³ HCl (elektroda pH), 0,0001 mol/dm³ PbCl₂ (EJS Pb²⁺-selektywna), 0,01 mol/dm³ KCl (EJS K⁺-selektywna). Oprócz doboru jonów, roztwór wewnętrzny musi mieć także odpowiednio wybrane ich stężenie w zależności od rodzaju badanej próbki. Przy wysokim stężeniu oznaczanych jonów w próbce,

roztwór wewnętrzny również powinien zawierać wysokie ich stężenie. Natomiast tam, gdzie stężenie oznaczanych jonów jest w ilościach śladowych, elektrolit wewnętrzny powinien zawierać niskie stężenie tych jonów. W przypadku analiz śladowych do roztworu wewnętrznego często dodaje się jeszcze środek kompleksujący w celu zmniejszenia aktywności oznaczanych jonów w elektrolicie. Oprócz tego elektrolit wewnętrzny może zawierać pewne inne dodatki, np. chroniące elektrody przed zamarzaniem podczas transportu zimą.

Przykładowo w klasycznej elektrodzie K^+ -selektywnej, z wewnętrzną elektrodą $Ag/AgCl$ i wypełnionej roztworem KCl , przeniesienie ładunku na granicy faz $|membrana||próbka|$ odbywa się przez jony K^+ . Dzięki temu zapewniona jest odpowiednio wysoka wymiana jonowa, która prowadzi do ustalenia się równowagi elektrochemicznej tej granicy [157, 158]. Natomiast, przeniesienie ładunku pomiędzy przewodnikiem jonowym a elektronowym zachodzi na granicy faz $|roztwór wewnętrzny||Ag/AgCl|$. W elektrolicie wewnętrznym ładunek przenoszony jest zarówno przez jony K^+ ($|membrana||roztwór wewnętrzny|$), jak i Cl^- ($|roztwór wewnętrzny||Ag/AgCl|$). Na granicy faz $|roztwór wewnętrzny||Ag/AgCl|$ atomy srebra odwracalnie utleniają się do kationów Ag^+ produkując elektrony: $Ag^{0, Ag} = Ag^{+, roztwór} + e^-$. Następnie kationy srebra tworzą z anionami chlorkowymi słabo rozpuszczalną sól $AgCl$. Zatem, powstawanie potencjału na granicy faz $|roztwór wewnętrzny||Ag/AgCl|$ jest wynikiem reakcji redoks, która z kolei jest efektem wymiany jonowej na granicy faz $|membrana||próbka|$. Kiedy wyżej omówione reakcje są szybkie, elektroda zachowuje idealną niepolarność. Dlatego też klasyczne EJS, odpowiednio obsługiwane, wykazują dobrą stabilność i powtarzalność potencjałów.

II.5.2. Elektrody jonoselektywne z membranami szklanymi

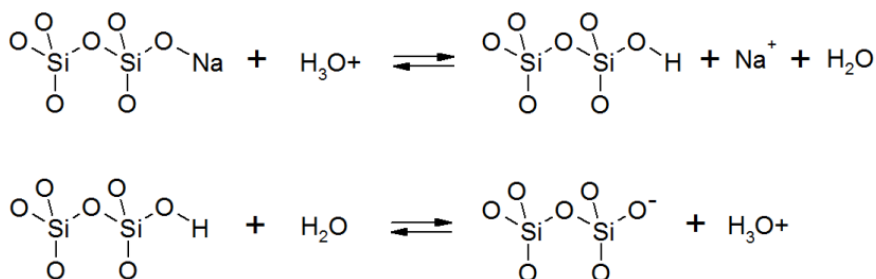
Elektrody z membranami szklanymi posiadają również obudowę wykonaną ze szkła. Formowanie membrany odbywa się przez chwilowe zanurzenie obudowy w stopionym szkłe, a następnie otrzymaną płynną kroplę formuje się w kształt bańki techniką dmuchaną (zdjęcie 2). Elektrody szklane są najstarszym rodzajem elektrod jonoselektywnych [155, 156, 159-161]. Zyskały dużą popularność ze względu na znakomitą selektywność względem jonów wodorowych oraz stabilność w czasie. Oprócz szklanych EJS do oznaczania pH również można wytworzyć membrany szklane selektywne na inne jednowartościowe kationy, jak np. Na^+ [156, 162].



Zdjęcie 2. Przykład szklanej elektrody pH firmy HYDROMET model EH-1.

Głównym składnikiem szklanej membrany jest dwutlenek krzemu (SiO_2). Taka krzemowa postać charakteryzuje się dużą stabilnością względem agresywnych substancji chemicznych, takich jak stężone kwasy (oprócz fluorowodorowego) i rozpuszczalniki organiczne. Daje to możliwość używania tego typu elektrod w przemyśle chemicznym i biochemicznym, czyli tam, gdzie warunki pomiarów mogą być bardzo nieprzyjazne dla innego typu materiałów. Szklaną bańkę zawsze domieszkuje się niektórymi tlenkami metali, takimi jak np. Li_2O i Na_2O , ponieważ czysty SiO_2 jest nieprzewodzący. Domieszkowanie odbywa się już na etapie stapiania SiO_2 [36].

Kontakt szklanej membrany z roztworem wodnym powoduje wnikanie cząsteczek wody w strukturę szkła i ich reakcję z wiązaniami Si-O i O-Metal w miejscach $\equiv\text{Si-O-Si}\equiv$ i $\equiv\text{Si-O-Metal}$. Atomy wodoru częściowo zastępują atomy krzemu i metalu, tworząc grupy $\equiv\text{Si-O-H}$. Grupy te z kolei oddziałują z cząsteczkami wody oraz cząsteczkami poddanymi hydrolizie, w wyniku czego powstaje grupa $\equiv\text{Si-O}^-$ oraz jony H_3O^+ , które uwalniane są do roztworu – rysunek 15.



Rysunek 15. Schemat reakcji wymiany jonowej (górną) i hydrolizy (dolną).

Oba te procesy są odwracalne i regulują odpowiedź elektrody pH. Wiązanie w grupach $\equiv\text{Si-O-H}$ jest dużo bardziej kowalencyjne niż w grupach $\equiv\text{Si-O-Metal}$. W związku z tym atomy wodoru są bardziej preferowane w fazie szklanej. Dlatego też membrany szklane zawierające w swojej budowie tylko SiO_2 i np. Na_2O lub Li_2O wykazują odpowiedź nernstowską na jony H^+ w bardzo szerokim zakresie pH 1–9. Niektóre wieloskładnikowe membrany szklane pozwalają na pomiar pH nawet w zakresie 1–14, ale w tym przypadku pH w paśmie zasadowym regulowane jest za pomocą zasad z dużym kationem organicznym [36].

II.5.3. Elektrody jonoselektywne z membranami krystalicznymi

Elektrody z membranami krystalicznymi zwykle posiadają obudowy z tworzywa sztucznego, w których membrana umieszczana jest na końcu za pomocą odpowiedniego kleju. Membrany krystaliczne wykonane są z materiałów polikrystalicznych (heterogeniczne) lub monokrystalicznych (homogeniczne). Większość polikrystalicznych membran składa się z mieszaniny kryształów słabo rozpuszczalnych soli srebra i siarczków metali ciężkich.

Pierwsze próby potencjometrycznego oznaczania jonów za pomocą elektrod krystalicznych były przeprowadzone w latach 20-tych i 30-tych ubiegłego stulecia [163-166]. Jednak w pełni użyteczną elektrodę z membraną krystaliczną zaproponował Pungor we wczesnych latach 60-tych [167]. Kolejnym ważnym krokiem było wykonanie elektrody fluoroselektywnej z homogeniczną membraną opartą na monokryształe LaF_3 , zaproponowaną przez Franta i Rossa w 1966 roku [168]. Selektyność odkrytej membrany na jony F^- jest bardzo duża – tylko elektrody pH charakteryzują się większą selektynością względem jonów H^+ . Pomiar elektrody fluorkowej mogły istotnie zakłócać jedynie jony wodorotlenowe. Membrana ta charakteryzuje się głównie przewodnictwem jonowym, dzięki defektom w sieci krystalicznej monokryształu, które sprawiają, że jony fluorkowe są ruchome (15):

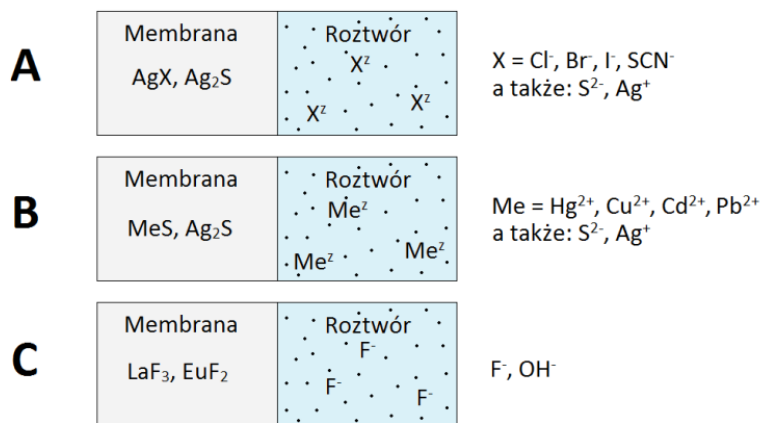


W celu zwiększenia ilości defektów w monokryształe LaF_3 i tym samym zwiększenia jej przewodności, membranę zaczęto domieszkować np. EuF_2 [169].

Elektroda fluorkowa jest wyjątkiem, jeśli chodzi o tak dobre właściwości. Membrany krystaliczne selektywne na inne jony są wykonane z mieszanych materiałów polikrystalicznych w postaci prasowanych pastylek [170-172]. Zazwyczaj składają się z siarczku srebra i innej

słabo rozpuszczalnej soli zawierającej mierzony jon. Dodatek Ag_2S jest konieczny, bo służy zmniejszeniu oporności membrany, ponieważ sól ta oprócz przewodnictwa jonowego posiada także pewne przewodnictwo elektronowe. Bez tego dodatku membrana oprócz stosunkowo wysokiego oporu, generowałaby znaczne zakłócenia pochodzące od otaczającego oświetlenia. Poza tym Ag_2S jest stosowany jako matryca membrany, ponieważ sól ta jest znacznie mniej rozpuszczalna niż inne sole srebra używane w tego typu membranach [170].

Wewnętrzna strona membrany jest pokryta cienką warstwą srebra napyłanego próżniowo, do której przylutowany jest przewód elektryczny. Wówczas ustala się równowaga redoks między jonami $\text{Ag}^{+, mem}$ obecnymi w membranie krystalicznej a atomami Ag^0, Ag w cienkiej warstwie srebra. Elektrody o takiej konstrukcji mogą wykazywać odpowiedzi na anion lub kation. W zależności od użytej soli srebra z odpowiednim anionem, stosuje się je do pomiaru aktywności jonów, takich jak: S^{2-} , Cl^- , Br^- , I^- , SCN^- . Natomiast zastosowanie słabo rozpuszczalnego siarczku odpowiedniego metalu ciężkiego prowadzi do otrzymania membran zdolnych do pomiaru aktywności jonów metali ciężkich, takich jak: Hg^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} i innych. Przykładowe składy różnych membran krystalicznych przedstawiono na [rysunku 16](#).



Rysunek 16. Przykładowe skład membran krystalicznych będących w kontakcie z roztworem mierzonych jonów: a) polikrystaliczne czułe na aniony, b) polikrystaliczne czułe na kationy metali ciężkich, c) monokrystaliczna F^- -selektywna.

II.5.4. Elektrody jonoselektywne typu *All-Solid-State* z polimerem przewodzącym

Zastosowanie EJS w małych objętościach próbek oraz miniaturyzacja czujników jest niewątpliwą zaletą w przypadku analiz klinicznych i biologicznych. Klasyczne EJS, ze względu na konstrukcję, nie są do końca kompatybilne z nowoczesną technologią planarną. Z tego powodu naukowcy przez dekady dążyli do wyeliminowania klasycznego układu redoks (np. Ag/AgCl z ciekłym elektrolitem wewnętrznym), wprowadzając w rezultacie technologię

All-Solid-State (ASS) [6, 30, 84-89]. Elektroda wykonana w tej technologii składa się z powierzchni elektronoprzewodzącej pokrytej warstwą przetwornikową, na którą następnie nałożona jest warstwa membrany [80, 81]. Powierzchnią elektronoprzewodzącą może być platyna, złoto bądź materiał na bazie węgla, jak np. węgiel szklisty, nanorurki. Taka konstrukcja umożliwia miniaturyzację czujnika i tym samym masową produkcję niedrogich EJS.

Wyeliminowanie klasycznego układu redoks i zastąpienie go warstwą przetwornikową spowodowało zasadnicze problemy. Z praktycznego punktu widzenia trudności te dotyczą niewystarczającej długoterminowej stabilności potencjałów i słabej odtwarzalności duplikowanych elektrod, co utrudnia ich wymianę w gotowych analizatorach. Jak dotąd problemy te zostały rozwiązane dla elektrod szklanych i krystalicznych.

Zazwyczaj wartość nachylenia jest stabilna, bez względu na to czy jest to konstrukcja klasyczna, czy typu ASS. Natomiast, potencjał standardowy ASS-EJS często zmienia się w sposób chaotyczny, powodując nieprzewidywalne równoległe przesunięcia krzywej kalibracji, co z kolei obniża dokładność pomiarów. Dlatego w celu zwiększenia dokładności analiz stosuje się częstą kalibrację.

Elektrody typu ASS są bardzo atrakcyjne z punktu widzenia miniaturyzacji, jednak ich mały rozmiar zazwyczaj zwiększa opór elektrody, co w konsekwencji może potęgować szумы i niestabilność potencjału. Ten sam efekt mogą wywołać niektóre CP wrażliwe na światło i układy redoks (np. w obecności tlenu lub zmiany pH), zmieniając stan utlenienia [80, 83, 173-183]. Ponadto, membrany polimerowe wykazują zdolność do sorpcji wody, która z kolei może tworzyć aglomeraty o różnych rozmiarach i współczynnikach dyfuzji [184-188] oraz tworzyć ciągłą warstwę pomiędzy membraną a przetwornikiem [188-191]. Ten wewnętrzny roztwór wodny tworzy się zatem spontanicznie, a jego skład zależy od warunków otoczenia spowodowanych dyfuzją elektrolitu przez membranę. W rezultacie pogarsza się stabilność ASS-EJS, co może być przyczyną dryftu potencjału [6, 116, 191, 192]. Oprócz tego, tak jak ma to miejsce w klasycznych elektrodach, czasem niekorzystne substancje wnikaące do membrany mogą zakłócać charakterystykę odpowiedzi czujnika.

ASS-EJS pozwalają na pomiar stężenia wielu jonów nieorganicznych [6, 193, 194], jonowych surfaktantów [195] i polijonów [196]. Oprócz tego, ich miniaturyzacja umożliwia pomiar jonów w igle strzykawki [197] lub w żywych komórkach [112]. Możliwe jest również zastąpienie podłoża elektronoprzewodzącego, takiego jak metal czy węgiel, specjalnym tworzywem sztucznym [198].

II.5.5. Elektrody zespolone

Elektrody zespolone składają się z elektrody pomiarowej (EJS) i elektrody odniesienia (EO) umieszczonych w jednej obudowie, która składa się z dwóch przestrzeni: jednej dla EJS i drugiej dla EO [199]. Często są to dwa koncentryczne cylindry: wewnętrzny cylinder dla EJS, a przestrzeń pomiędzy cylindrami dla EO. W trakcie pomiarów membrana elektrody pomiarowej jest w bezpośrednim kontakcie z badanym roztworem, zaś ciekłe połączenie EO najczęściej występuje z boku obudowy.

Elektrody zespolone są wygodne w użytkowaniu, szczególnie do monitorowania aktywności tylko jednego jonu. Natomiast, nie jest wskazane użycie kilku elektrod zespolonych w jednej próbce, gdyż prowadzi to do zwiększenia kontaminacji próbki wyciekającym elektrolitem z kilku EO. W takim przypadku używa się oddzielnych półogniw EJS i EO lub platformy wieloczułnikowej.

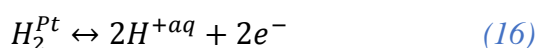
II.5.6. Celki przepływowe z elektrodami jonoselektywnymi

EJS wykorzystuje się również do pomiaru stężenia jonów w przepływającej cieczy – np. elektrody umieszczone w „*by-pasie*” jakiegoś procesu przemysłowego. Możliwe jest również umieszczenie szeregu EJS w celce przepływowej, co umożliwia zmniejszenie objętości badanych próbek. Ostatnie rozwiązanie jest szeroko stosowane w analizatorach klinicznych [7, 36, 200-202]. Dzięki szybkiej przemienności dozowania próbek i roztworów kalibracyjnych przez układ pomiarowy (celkę), uzyskuje się większą wiarygodność pomiarów, niż tych przeprowadzanych manualnie w tradycyjny sposób – np. pomiary w szklanym naczyniu. Wieloczułnikowe układy przepływowe pozwalają na jednoczesny pomiar wielu jonów w przepływającej cieczy skracając czas pełnej analizy.

II.6. Elektroda odniesienia i jej funkcje w pomiarach potencjometrycznych

Potencjometryczny układ pomiarowy wymaga użycia elektrody odniesienia (o czym pisano w punkcie II.1), inaczej pomiar byłby niemożliwy. Wszystkie EJS mierzą siłę elektromotoryczną (SEM) względem EO, która powinna charakteryzować się stałym i niezmiennym w czasie potencjałem [203].

Podstawowym punktem odniesienia potencjału w elektrochemii, której potencjał przyjęto równy zero (w każdej temperaturze), jest tzw. standardowa elektroda wodorowa [204]. Półogniwo to składa się z kawałka platyny pokrytej czernią platynową (o szorstkiej powierzchni), zanurzonego w kwaśnym elektrolicie, który obmywany jest gazowym wodorem. Umieszczony kawałek platyny działa jako katalizator reakcji utleniania wodoru, która odbywa się na jej powierzchni (16):

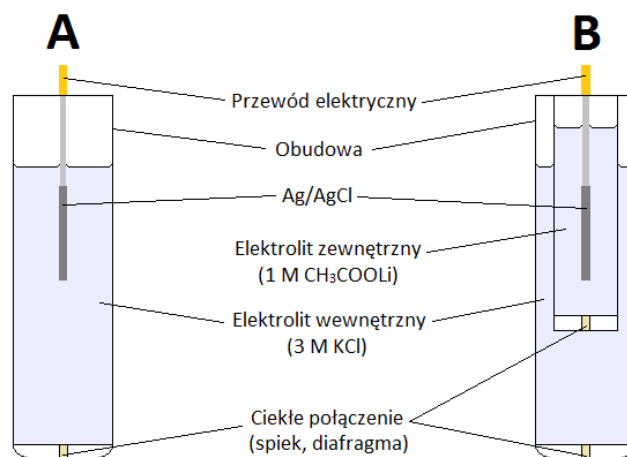


wówczas potencjał takiej elektrody zależy od pH i ciśnienia cząstkowego wodoru (17):

$$E = E^0 - \frac{RT}{F} pH - \frac{RT}{2F} \ln p_{H_2} \quad (17)$$

Zatem, podstawowym odniesieniem dla wszystkich pomiarów potencjometrycznych jest potencjał gazowej elektrody wodorowej zanurzonej w roztworze o $pH = 0$ i pod ciśnieniem 1 atm. W praktyce taka EO jest niewygodna w użyciu, dlatego w rutynowych pomiarach zastąpiono ją elektrodą odniesienia innej konstrukcji. Często używaną EO była elektroda kalomelowa Hg/Hg_2Cl_2 w nasyconym roztworze KCl [203]. Jednak, ze względu na toksyczność zawartej w niej rtęci utworzono jej alternatywę. Dzięki temu, najbardziej popularną EO stała się elektroda chlorosrebrowa $Ag/AgCl$ zanurzona w 3 mol/dm³ roztworze KCl [16, 162]. Ciekłe połączenie elektrolitu wewnętrznego EO z badanym roztworem zapewnia spiek zrobiony np. z porowatej ceramiki lub szkła.

Wyróżnia się elektrody odniesienia z pojedynczym i podwójnym płaszczem. Oznacza to, że EO z pojedynczym płaszczem posiada w swojej konstrukcji jeden elektrolit (np. 3 mol/dm³ KCl), a także jedno ciekłe połączenie (CPE) na granicy faz: $|3 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}||\text{badany roztwór}|$ – rysunek 17a. Natomiast, EO z podwójnym płaszczem posiada dwa oddzielone od siebie elektrolity. Jeden z nich znajduje się w wewnętrznej komorze (np. 3 mol/dm³ KCl), a drugi w zewnętrznej komorze EO (np. 1 mol/dm³ CH₃COOLi). W tym przypadku istnieją dwa CPE na granicach: $|3 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}||1 \text{ mol/dm}^3 \text{ CH}_3\text{COOLi}|$ oraz $|1 \text{ mol/dm}^3 \text{ CH}_3\text{COOLi}||\text{badany roztwór}|$ – rysunek 17b.



Rysunek 17. Schemat konstrukcji klasycznej EO: a) z pojedynczym płaszczem, b) z podwójnym płaszczem.

W pomiarach, gdzie elektrolitem wewnętrznym EO jest tylko KCl, a wyciek jonów (K^+ lub Cl^-) do badanej próbki może zakłócić pomiary, stosuje się właśnie EO z podwójnym płaszczem – elektrolit zewnętrzny zawiera jony różniące się od tych mierzonych. Takie rozwiązanie może być wymagane w czasie oznaczania niskich stężeń jonów K^+ lub Cl^- . W ten sposób możliwe jest wyeliminowanie błędów spowodowanych zanieczyszczeniem próbki przez wyciekające jony z EO.

Poza chlorosrebrową elektrodą odniesienia jest znanych jeszcze wiele innych konstrukcji EO [13, 205-207]. Między innymi prowadzone są poszukiwania nowej konstrukcji EO wykonanej w technologii ASS [208, 209]. Podobnie jak w przypadku ASS-EJS, wyeliminowanie ciekłego elektrolitu wewnętrznego z ASS-EO daje duże korzyści. Mechanizm działania tego typu elektrod oparty jest na powolnym uwalnianiu soli z danego materiału. Często wykonanie takiej ASS-EO polega na rozproszeniu soli o podobnej ruchliwości kationu i anionu w polimerze lub innym materiale, w którym zanurzona jest wewnętrzna elektroda (np. Ag/AgCl). Elektroda tego typu została zaproponowana przez Diamonda [13, 14, 15], rozpraszając KCl w żywicy poliwinylowej w stosunku 1 : 1. Innymi przykładami materiałów użytych jako matryce dla rozproszonej soli są: Al₂O₃-PTFE, żywica formaldehydowa, poliakrylany, polipropylowęgłany, poliestry [210-214]. Odmienne sposoby wykonania ASS-EO zaproponował Vonau ze współpracownikami, zatapiając drucik Ag/AgCl w stopionym KCl [215].

Korzyści wynikające z zastosowania ASS-EO to np.: miniaturyzacja i dowolny kształt całego układu potencjometrycznego zawierającego także ASS-EJS, brak potrzeby uzupełniania elektrolitu wewnętrznego i dowolna pozycja pracy.

II.7. Możliwości wykorzystania elektrod jonoselektywnych do monitorowania ołowiu w środowisku kopalni rud cynku i ołowiu

Współcześnie cynk jest niezbędnym pierwiastkiem ze względu na jego szerokie zastosowania. Wydobycie tego metalu jest na czwartym miejscu spośród wszystkich metali w światowej produkcji zaraz po żelazie, aluminium i miedzi. Znaczące złoża rud tego pierwiastka występują w Chinach, USA, Kanadzie, Australii, Kazachstanie, Peru i Meksyku [216]. W większości przypadków rudy cynku zawierają także rudę ołowiu w takich ilościach, że produkuje się dwa koncentraty: cynku i ołowiu [217, 218]. Znanych jest około 130 minerałów ołowiu i około 50 minerałów cynku. Głównymi minerałami rudnymi tych metali są siarczki: ZnS i PbS. Otrzymuje się z nich 90% światowej produkcji Zn i Pb. Oprócz głównych składników w rudzie mogą występować dodatkowo: złoto, srebro, kadm, antymon, bizmut, cyna, ind, gal i inne [219]. Podczas eksploatacji złóż rud cynku i ołowiu emitowane są zanieczyszczenia obejmujące okoliczne tereny. W czasie wydobywania surowca powstają ścieki w postaci wód drenazowych z kopalni metali. Wszelkie zanieczyszczenia stałe, takie jak pyły powstające przy kruszeniu kopaliny lub jej przeladunku, rozprzestrzeniają się w powietrzu i wraz z wiatrem zwiększają swoją ekspansję. Zanieczyszczenia te trafiają na otaczające grunty, lasy i wody powierzchniowe. Obszary te znajdują się pod stałą presją tych zanieczyszczeń, co powoduje zagrożenie dla środowiska naturalnego oraz zdrowia i życia człowieka ze względu na obecność metali ciężkich i siarczanów. Wiele pierwiastków metalicznych w nieco większych ilościach stają się toksyczne dla bardziej wrażliwych organizmów. W konsekwencji przemiany biochemiczne i chemiczne mogą prowadzić do wzrostu stężenia (kumulacji) niektórych metali w kolejnych ogniwach łańcucha pokarmowego. Zjawisko to ma bardzo szkodliwy wpływ na organizmy tworzące ostatnie ogniwo łańcucha pokarmowego, w tym ludzi. Oczywiście, w przypadku cynku, jest on również elementem koniecznym do prawidłowego wzrostu i rozwoju ludzi, zwierząt i roślin. Jest drugim metalem po żelazie, występującym naturalnie w organizmie człowieka [220]. Jednak w dużych ilościach staje się toksyczny, podobnie jak ołów, który niekorzystnie wpływa na system nerwowy, odpornościowy i sercowo-naczyniowy [221]. Metale ciężkie takie jak ołów, głównie dostają się do organizmu ludzkiego poprzez układ pokarmowy wraz ze spożywanym jedzeniem i piciem oraz układ oddechowy razem z powietrzem zawierającym ziarenka unoszącego się pyłu. W niewielkiej ilości mogą również przenikać do krwioobiegu poprzez skórę. W związku z tym zagrożeniem wymaga się szybkich i skutecznych działań dla poprawy stanu przyrody. Dlatego też, nowo zakładane kopalnie mają charakter głębinowych a nie odkrywkowych,

co pozwala znacząco ograniczyć ich niekorzystne skutki dla otoczenia. Natomiast, ścieki opuszczające kopalnie poddaje się oczyszczaniu na miejscu, stosując np. oczyszczalnie hydrofitowe, które zdolne są zatrzymać metale ciężkie. Tego typu rozwiązania sprawdziły się w oczyszczaniu wód odprowadzanych z kopalni: ołowiu, cynku, srebra, złota, miedzi, niklu i uranu [222, 223]. Jednak wdrożenie takich oczyszczalni powinny poprzedzać wnikliwe badania [224]. W tym celu można użyć elektrod jonoselektywnych z odpowiednio selektywnymi membranami. Ich użyteczną zdolność opisują takie parametry jak granica wykrywalności, czas odpowiedzi, nachylenie (czułość) i selektywność [2, 19]. Dzięki nim możliwy jest monitoring zanieczyszczeń związanych z działalnością kopalni. Gromadząc wiedzę na temat rozprzestrzeniania się zanieczyszczeń, można podejmować stosowne działania w celu redukcji bądź całkowitego wyeliminowania skutków destrukcyjnego działania metali ciężkich, takich jak np. ołów.

Toksyczne właściwości ołowiu skłaniają do poszukiwania precyzyjnych a jednocześnie łatwych i szybkich sposobów monitorowania rozprzestrzeniających się zanieczyszczeń w środowisku naturalnym. Rozwój chemii supramolekularnej stosowanej w EJS umożliwił wybór najlepszych jonoforów, znacznie poprawiając właściwości membran polimerowych w stosunku do wcześniej stosowanych krystalicznych membran heterogenicznych (np. PbS/Ag₂S). Przeprowadzenie wiarygodnej analizy próbek za pomocą potencjometrii wymaga wysokiej jonoselektywności membran i stosunkowo niskiej granicy wykrywalności. Czujniki o takich właściwościach nadają się do monitorowania zanieczyszczeń, które mogą być źródłem informacji w ocenie stopnia zanieczyszczenia wód i gruntów w otoczeniu kopalni. Syntezowano wiele jonoforów selektywnych na jony ołowiu (II) [225]. Główne grupy tych związków to etery koronowe, kaliksareny, amidy i tioamidy. Jako przykład elektrody Pb-selektywnej spełniającej wymagane kryteria użyteczności jest EJS wykorzystująca jako jonofor tioamidową pochodną kaliks[4]arenu ([rysunek 4a](#)). Czujnik ten może być narzędziem do bezpośredniej oceny toksyczności badanego terenu, gdyż toksyczność metali jest związana z aktywnością (stężeniem) ich postaci kationowej (tu Pb²⁺), a nie z całkowitą zawartością metalu [226]. Ołów w wodnych roztworach ulega hydrolizie w wyniku czego powstają różne formy hydroksylowych kompleksów [227]. Skompleksowana część ołowiu nie będzie wykrywalna dla EJS. Jednak występowanie poszczególnych form ołowiu ściśle zależy od pH. Wykazano, że powstawanie kompleksów hydroksylowych występuje przy pH około 5 lub więcej. Zatem całkowitą zawartość jonów Pb²⁺ w badanym roztworze można wyznaczyć ustalając pH próbki w zakresie 1–4 [228]. Biorąc pod uwagę toksyczność ołowiu oraz surowe

przepisy regulujące jego maksymalne zawartości, EJS mogą stać się cennym narzędziem analitycznym w kontrolowaniu migracji Pb^{2+} w środowisku naturalnym [229].

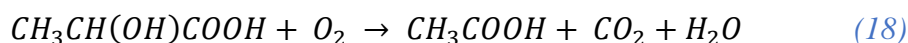
Monitoring metali ciężkich należy prowadzić również po zamknięciu kopalni rud. Istnieje realne niebezpieczeństwo, że po zaprzestaniu wypompowywania wody, poziom wód gruntowych zacznie wracać do stanu poprzedniego. To z kolei, może prowadzić do lokalnych podtopień z jednoczesnym wynoszeniem zanieczyszczeń, w tym metali ciężkich i siarczanów. Konsekwencją tego może być skażenie wody pobieranej na cele komunalne przez mieszkańców żyjących w okolicy byłych kopalni. Poza tym, minerały w postaci siarczków (np. piryt (FeS_2), galena (PbS), sfaleryt (ZnS)) ulegają zwierzaniu w obecności tlenu i wody, w wyniku czego następuje powstawanie siarczanu (kwaśnego środowiska) i wiązanie jonów metali w roztworze [230].

II.8. Możliwości wykorzystania elektrod jonoselektywnych jako biowskaźnik pacjenta w stanie wstrząsu septycznego

Wstrząs organizmu jest stanem zagrażającym życiu, w którym ciało człowieka jest niezdolne do perfuzji najważniejszych organów. W zależności od przyczyny może być między innymi anafilaktyczny, kardiogeny, hipowolemiczny, septyczny. Niezależnie od genezy wstrząsu ciało człowieka musi zmagać się z niedokrwieniem lub niedotlenieniem narządów i tkanek. W przypadku wstrząsu septycznego następuje gwałtowny spadek ciśnienia tętniczego krwi opornego na standardowe leczenie, co powoduje wysoki odsetek śmiertelności. Zaproponowane przez Riversa i współpracowników wczesne leczenie wstrząsu septycznego i ciężkiej posocznicy, doprowadziło do zmian w wykrywaniu i leczeniu tych stanów, obniżając śmiertelność pacjentów z 46,5% do 30,5% [231]. Mimo przyjętej procedury leczenia, śmiertelność pacjentów jest nadal duża [232]. Wstrząs septyczny jest wynikiem szeregu reakcji fizjologicznych organizmu w odpowiedzi na zakażenie. Niezależnie od związku przyczynowego zakażenie w początkowym stadium aktywuje odpowiedź immunologiczną organizmu, zwaną zespołem ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (*SIRS* – *Systemic Inflammatory Response Syndrome*). Stan taki objawia się zmianą parametrów życiowych organizmu oraz zakłóca poziom różnych biomarkerów. Zmianie ulegają przynajmniej dwa parametry życiowe, takie jak: temperatura ciała (poza zakresem $36,0\text{--}38,0^\circ\text{C}$), puls powyżej 90 uderzeń serca/min, częstotliwość oddychania powyżej 20 oddechów/min, pCO_2 we krwi tętniczej poniżej 32 mm Hg, liczba białych krwinek poza zakresem 4–12 tys./ μl lub obecność niedojrzałych granulocytów obojętnochłonnych ponad

10% [233, 234]. Ogólne parametry nie są pomocne w ocenie pogarszającego się stanu pacjenta [235]. Na tym etapie, układ odpornościowy manifestuje jedynie ogólną reakcję organizmu na bodźce, które nie muszą być wynikiem zakażenia mikrobiologicznego. Cechy odpowiadające *SIRS* występują także przy niezakażonych oparzeniach lub po różnych zabiegach na ludzkim organizmie. Pacjenci w stanie *SIRS* wymagają ścisłej obserwacji w celu szybkiego wykrycia większej liczby nieprawidłowych zmian, które towarzyszą zakażeniu. Istotnych informacji mogą również dostarczać próbki moczu i krwi (posiew) lub RTG płuc (zapalenie płuc), dzięki którym możliwe jest wykrycie drobnoustrojów, mogących atakować zazwyczaj sterylne miejsca w organizmie. Jeżeli w którejś próbce zidentyfikuje się zakażenie, to mówi się, że taki pacjent znajduje się w stanie posocznicy lub wstrząsu septycznego [234]. Kolejny etap rozwoju infekcji prowadzi do ciężkiej sepsy, która objawia się niedostatecznym ukrwieniem tkanek i narządów, zaburzając proces ich prawidłowego natleniania. Prowadzi to do hipotonii (trwale utrzymujące się niskie ciśnienie tętnicze), kwasicy mleczanowej (podwyższenie poziomu mleczanów) i oligurii (skąpomocz). W konsekwencji dochodzi do stanu ostrej niewydolności krążenia. Wówczas personel medyczny stara się utrzymać krążenie krwi poprzez wielokrotną resuscytację oraz podawanie płynów dożylnych. Starania te nie dają większych rezultatów ze względu na niskie ciśnienie lub niedostateczny przepływ krwi [234]. Wówczas organizm ludzki nie jest w stanie usuwać produktów przemiany materii (jak CO_2 , elektrolity), ani dostarczać ważnych składników odżywczych niezbędnych do podtrzymania życia komórek (jak O_2 , glukozy, itd.). To z kolei, prowadzi do niewydolności wielonarządowej, która znacznie zwiększa ryzyko zgonu pacjenta [236-238].

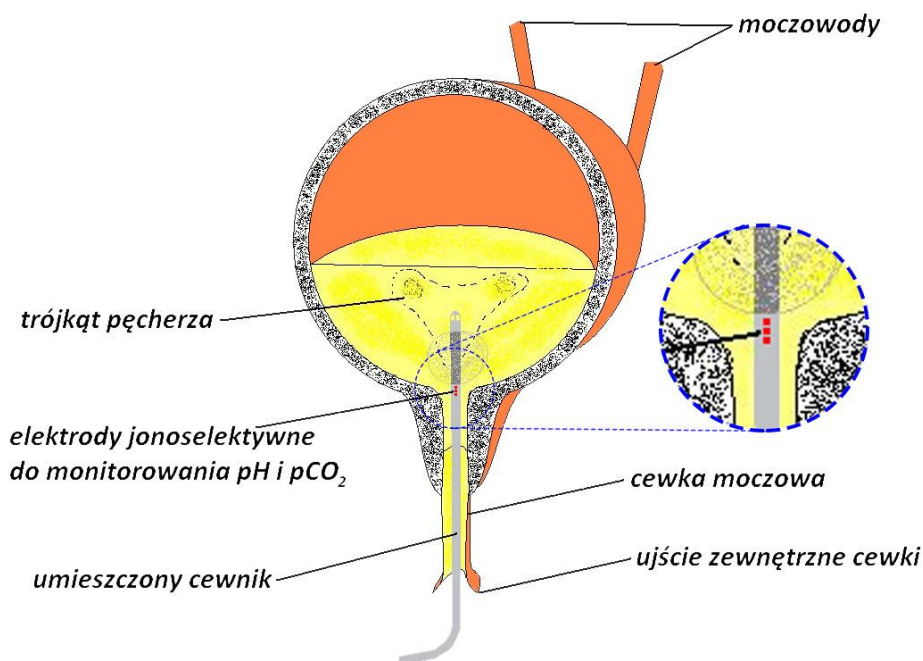
Ciężka sepsa przyczynia się do dużej śmiertelności wśród pacjentów [239-241]. Wczesne jej wykrycie i szybkie leczenie pacjentów z tą chorobą pozwala obniżyć te niepokojące statystyki [235, 242-244]. Precyzyjny pomiar stopnia natlenienia tkanek pozwoliłby wcześniej weryfikować przyczynę zmian parametrów fizjologicznych. Nie ma jeszcze wystarczających technik do dokładnych pomiarów tego typu [241, 245]. Parametrem odzwierciedlającym natlenienie tkanek, np. dla miejscowego przepływu krwi i oddychania komórkowego, jest lokalny pomiar stężenia dwutlenku węgla. Miejscowy spadek przepływu krwi prowadzi do beztlenowego oddychania komórek, co powoduje wytwarzanie kwasu mlekowego, który wywołuje wzrost metabolizmu tlenowego i zwiększa tym samym poziom CO_2 , zgodnie z równaniem [241, 246] (18):



Badania wykazały związek pomiędzy podwyższonym stężeniem dwutlenku węgla w żyłach, a zmniejszonym przepływem krwi i ciężką sepsą [247]. Dzięki temu, zmianę wartości CO_2 można uznać jako wskaźnik stopnia natlenienia tkanek. Doprowadziło to do przeprowadzenia pomiarów zawartości CO_2 w wolnej przestrzeni organów trzewnych, takich jak żołądek. Monitorowanie pCO_2 , w celu oceny stopnia niedotlenienia, jest szybsze w narządach trzewnych niż w innych organach [248-250]. Otrzymane w ten sposób wyniki pomiarów są bardziej dokładne w porównaniu do próbek krwi i mogą dostarczać wskazówek na temat wczesnych, subtelných, ale bardzo ważnych wzorców zmian w przepływie krwi. Szybsze wykrycie infekcji i właściwa ocena stanu zdrowia pacjentów prowadzi do zmniejszenia śmiertelności. Oczywiście poziom pCO_2 ściśle zależy od pH otoczenia, dlatego potrzebny jest jednoczesny pomiar tych parametrów. Wartości pH i pCO_2 w wolnej przestrzeni żołądka mierzone metodą tonometryczną dostarczają informacji na temat lokalnego niedotlenienia tkanek, które korelują ze śmiertelnością [248, 251, 252]. Jednak tonometryczna metoda badania żołądka ma poważne ograniczenia mechaniczne, a także zaburza żywienie i powoduje dyskomfort u badanych pacjentów [241, 253]. Innym narządem ludzkim, mającym wolną przestrzeń jest pęcherz moczowy, który również może stanowić obiecujące źródło cennych informacji w lokalnym monitorowaniu pCO_2 . Badania dwutlenku węgla w moczu wykazały różnicę w zawartości CO_2 między pacjentami stabilnymi i niestabilnymi hemodynamicznie [254]. W normalnych warunkach wiele czynników wpływa na poziom CO_2 w moczu [255-259]. Jednak, w stanie wstrząsu organizmu, w tkance otaczającej pęcherz moczowy, nasilają się czynniki wpływające na emisję dwutlenku węgla, tym samym powodując wysoką zawartość CO_2 w moczu. Mimo, że ukrwienie pęcherza moczowego pochodzi z wewnętrznych tętnic biodrowych, a nie bezpośrednio z krążenia trzewnego, to jest to organ trzewny znajdujący się w pobliżu miednicy [233]. Miejscowe zmniejszenie trzewnego krążenia krwi, może prowadzić do wzrostu zawartości CO_2 także w pęcherzu moczowym. Istnieje wstępnie potwierdzona hipoteza, że podwyższone stężenie dwutlenku węgla w moczu może stać się biowskaźnikiem w ocenie niewydolności wielonarządowej, która często prowadzi do zgonu chorych z ciężką sepsą lub wstrząsem [254].

Zgodnie z tą hipotezą, na *The University of Memphis* w katedrze *Biomedical Engineering* pod kierunkiem prof. Ernő Lindnera, powstał projekt umieszczenia zminiaturyzowanego czujnika CO_2 w cewniku moczowym chorych pacjentów, którzy nie produkują zbyt wiele moczu – [rysunek 18](#). Projekt zakładał umieszczenie w cewniku czujnika CO_2 i pH. Jedną z koncepcji było stworzenie miniaturowej platformy czujnikowej, wykonanej w technologii ASS, składającej się z trzech elektrod: pH, selektywnej na jony CO_3^{2-} i elektrody

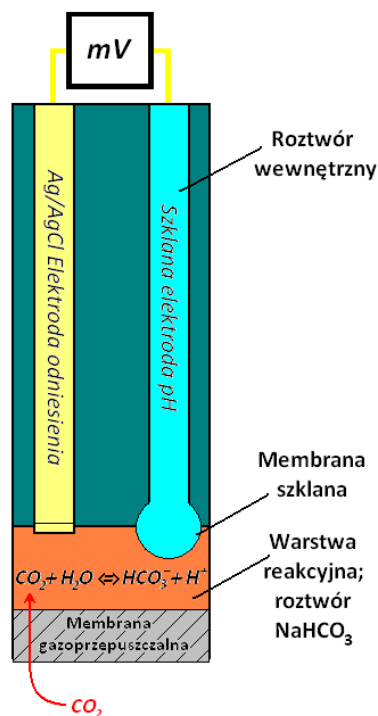
odniesienia. Wówczas możliwy byłby ciągły monitoring CO_2 , pH i jonów CO_3^{2-} , pozwalając jednocześnie bezpośrednio oszacować całkowitą zawartość CO_2 w moczu pacjentów. Zaproponowana platforma mogłaby również służyć do bezpośrednich pomiarów w już wydalonym moczu pacjentów. Jednak, w tym przypadku wiarygodny pomiar CO_2 wymaga odpowiedniej techniki pobierania moczu, ze względu na szybką zmianę zawartości CO_2 .



Rysunek 18. Przykład umiejscowienia EJS (pH i $p\text{CO}_2$) w cewniku w pęcherzu moczowym.

II.9. Rodzaje potencjometrycznych czujników CO_2

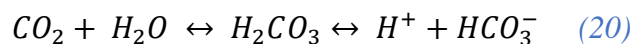
Typowym czujnikiem do pomiaru CO_2 opartym na EJS jest elektroda Severinghausa, którą najczęściej wykorzystuje się do pomiaru dwutlenku węgla w próbkach biologicznych [260]. Elektroda tego typu jest gazowym czujnikiem potencjometrycznym, zbudowanym ze szklanej elektrody pH oraz elektrody odniesienia. Jest to układ pH-metryczny, w którym obie elektrody są w stałym kontakcie z cienką warstwą roztworu NaHCO_3 wewnątrz czujnika, tuż za membraną gazoprzepuszczalną [260]. Czujnik ten, wykrywa przenikający przez membranę gazowy dwutlenek węgla poprzez zmianę pH roztworu wewnętrznego. Wówczas ustala się nowa równowaga, która zmieniając stężenie jonów wodorowych, wpływa na zmianę potencjału szklanej elektrody pH. Membranę gazoprzepuszczalną stanowi guma silikonowa, teflon lub inny polimer, które blokują przejście jonów, pozwalając na przenikanie CO_2 do wnętrza czujnika. Schemat potencjometrycznej elektrody Severinghausa przedstawiono na [rysunku 19](#).



Rysunek 19. Budowa czujnika CO₂ typu Severinghaus.

Poniższe równania opisują zależność odpowiedzi czujnika Severinghaus na gazowy CO₂, wychodząc z funkcji odpowiedzi elektrody pH-metrycznej (19-23):

$$E = E^0 + S_H \log[H^+] \quad (19)$$



Stała równowagi reakcji (20) to:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[CO_2][H_2O]} \quad (21)$$

Wyprowadzając ze stałej równowagi (21) wzór na jony wodorowe i podstawiając je do równania (19) otrzymujemy zależność:

$$E = E^0 + S_H \log \left[\frac{K_{eq}[CO_2][H_2O]}{[HCO_3^-]} \right] \quad (22)$$

Otrzymany logarytm w równaniu (22) możemy zapisać w postaci:

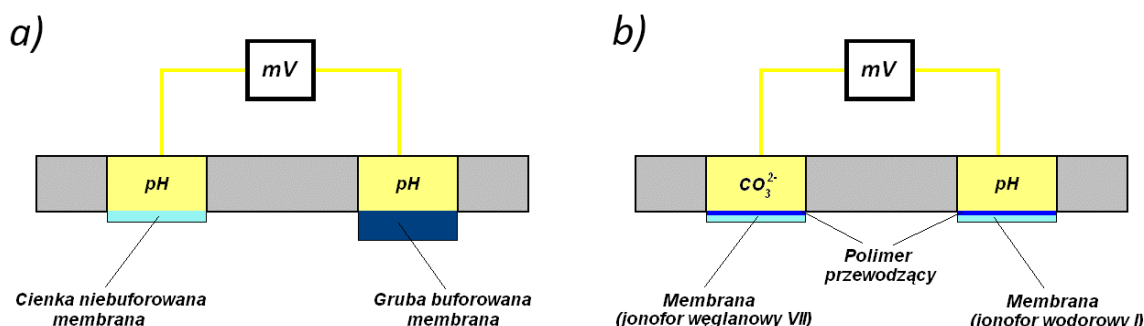
$$E = E^0 + S_H \log \left[\frac{K_{eq}[H_2O]}{[HCO_3^-]} \right] + S_H \log[CO_2] \quad (23)$$

W równaniu (23) $\log(HCO_3^-)$ uznajemy za stały, ponieważ w roztworze wewnętrznym czujnika mamy jony wodorowęglanowe. Zatem sumując potencjały wyrażenia pierwszego i drugiego prawej strony równania (23) do $E^{0'}$ otrzymujemy zależność odpowiedzi czujnika na gazowy dwutlenek węgla:

$$E = E^{0'} + S_H \log[CO_2] \quad (24)$$

Założenie w równaniu (24), że stężenie jonów wodorowęglanowych jest stałe, dla wysokich stężeń nie jest spełnione, ponieważ stężenie tych jonów również zaczyna się zmieniać i czujnik traci liniowość odpowiedzi. Jednakże, w badaniach fizjologicznych nie mierzy się tak wysokich stężeń CO_2 .

Innym typem czujników CO_2 są różnicowe czujniki potencjometryczne. Ich zasada działania polega na pomiarze różnicy potencjałów między dwiema EJS (bez elektrody odniesienia). Przykładem jest czujnik CO_2 w układzie CO_3^{2-} vs pH (rysunek 20a) o znacznie szerszym zakresie liniowej odpowiedzi w porównaniu do czujnika Severinghausa [261]. Czujnik ten składa się z dwóch elektrod potencjometrycznych. Jedna stanowi elektrodę pH (np. szklaną), a druga elektrodę wyposażoną w membranę selektywną na jony węglanowe.



Rysunek 20. Różnicowy czujnik CO_2 typu: a) pH vs pH, b) CO_3^{2-} vs pH.

Kolejnym reprezentantem tej grupy jest czujnik CO_2 w układzie pH vs pH (rysunek 20b) opracowany do badań próbek o niewielkich objętościach [262]. Czujnik ten składa się z dwóch

EJS selektywnych na jony wodorowe (pH). Taki układ pomiarowy najlepiej działa, gdy jedna z elektrod posiada membranę nieprzepuszczalną dla CO₂ (np. szklana pH) lub jedna z membran pH jest znacznie mniej przepuszczalna dla CO₂ niż druga, lub też, jeśli między elektrodami są znaczne różnice w pojemnościach buforowych roztworów wewnętrznych, znajdujących się tuż za membranami. W praktyce, zwykle używa się jednej elektrody z grubą membraną, mającą silnie zbuforowany roztwór wewnętrzny oraz drugiej elektrody z cienką membraną i niebuforowanym roztworem wewnętrznym. Szybkość przenikania CO₂ przez grubszą membranę jest znacznie mniejsza, a wewnętrzny roztwór buforowy blokuje zmianę pH. W przypadku cienkiej membrany przenikanie CO₂ jest szybkie, a pH roztworu wewnętrznego zmienia się wraz ze zmianą stężenia CO₂ w badanych próbkach.

II.10. Wieloczujnikowe platformy potencjometryczne

Czujniki potencjometryczne w postaci elektrod jonoselektywnych oferują szeroki wachlarz dostępnych wariantów konstrukcyjno-użytkowych. Od dawna ich walory doceniane są w przemyśle, medycynie i środowisku naturalnym [2, 3, 5, 7, 22, 36, 200, 201, 202, 263-268]. Przy obecnych możliwościach technologicznych odczyt danych pomiarowych może być realizowany w sposób ciągły lub okresowy, a zgromadzone informacje przesyłane bezprzewodowo [269]. Co więcej, konsolidacja kilku lub kilkunastu czujników potencjometrycznych pozwala stworzyć wieloczujnikową platformę potencjometryczną (WPP) jako jeden zintegrowany system pomiarowy [270-274]. Wymierną korzyścią takiego układu jest możliwość jednoczesnego pomiaru wielu analitów, pozwalając na kompleksową analizę. WPP wykorzystywane są tam, gdzie zachodzi potrzeba monitorowania składu badanej cieczy oraz akwizycja pomiarowa kilku parametrów jednocześnie, lub gdy dostępna objętość próbki jest stosunkowo niewielka. Kompatybilność dzisiejszych technologii pozwala na masową produkcję WPP oraz niemal bezobsługową pracę osiągniętą poprzez zastosowanie systemu automatycznej kalibracji, zmechanizowanego układu dozowania próbek, kontroli kondycji EJS/EO oraz samoczynnej interpretacji i klasyfikacji danych pomiarowych [274]. Obecne trendy badań dążą do zmniejszenia rozmiarów całego układu pomiarowego [209, 270, 275-277]. Tymczasem, komercyjnie dostępne WPP korzystają z klasycznych konstrukcji elektrod odniesienia, co istotnie ogranicza ich miniaturyzację. Wykonanie platformy czujnikowej całkowicie w technologii ASS rozwiązuje ten problem [272, 278]. Rezygnacja z ciekłego elektrolitu wewnętrznego, zarówno w elektrodach pomiarowych, jak i w elektrodzie odniesienia, w rezultacie pozwala na tworzenie znacznie tańszych konstrukcji WPP o niemal

dowolnym kształcie i rozmiarze, co ściśle wiąże się z uniwersalnością ich zastosowań [272, 278]. Wieloczujnikowe układy z użyciem EJS są już powszechnie stosowane w laboratoriach szpitalnych do oznaczania elektrolitów we krwi. Jednakże, w tego typu zastosowaniach często wykorzystuje się EO z przepływającym elektrolitem wewnętrznym. Oznacza to, że drucik Ag/AgCl obmywany jest ciągłym strumieniem świeżego elektrolitu, który łączy się ze strumieniem badanego roztworu zapewniając elektrochemiczne połączenie. Rozwiązanie to wymaga dodatkowego pojemnika z elektrolitem wewnętrznym EO. W badaniach stacjonarnych nie ma to aż takiego znaczenia, natomiast w pomiarach *in-situ* jest to pewne utrudnienie. Wzbogacenie rynku czujników potencjometrycznych o elektrodę odniesienia opracowaną w technologii ASS dałoby sposobność tworzenia mobilnych analizatorów ASS-WPP. Mogłyby one szybko stać się popularnym i przyjaznym narzędziem dla użytkowników nie posiadających dużych umiejętności, ani obszernej wiedzy w tematyce elektrod jonoselektywnych. Badania nad konstrukcjami ASS-EO zapowiadają się bardzo obiecująco [13-17, 208, 209]. Materializacja takiej innowacji zrewolucjonizowałaby rynek, podobnie jak zrobiły to inne medyczne urządzenia diagnostyczne (np. glukometr). Utworzenie ergonomicznego i funkcjonalnego urządzenia zdolnego do łatwej i szybkiej analizy stężenia podstawowych jonów w płynach ustrojowych człowieka, znalazłoby pozytywny wydźwięk u osób chorych, które wymagają ciągłego monitorowania gospodarki elektrolitowej własnego ciała, a także wśród sportowców. Taki osobisty analizator, zintegrowany z systemem precyzyjnego dozowania leków, mógłby np. regulować stężenie potasu we krwi u osób przewlekle chorych (zaburzenia pracy nerek lub serca), bądź informować sportowców o konieczności uzupełnienia elektrolitów po nadmiernym wysiłku fizycznym. Analizator może poprawić komfort życia chorych lub zoptymalizować fizyczne treningi zarówno amatorów, jak i zawodowców.

Bardzo często odpowiednia gospodarka jonowo-kwasowa musi być zachowana również w wielu procesach obserwowanych w przyrodzie. Odpowiednio dostosowane WPP do pomiarów w warunkach środowiska naturalnego lub sztucznie utworzonego przez człowieka, pozwalają na realizację analiz wieloskładnikowych prowadzących np. do polepszenia efektywności produkcji hodowli wodnej lub rolnej.

W praktyce masowa produkcja takich urządzeń wiąże się z szeregiem nakładów finansowych. Z tego powodu wdrożenie innowacji musi mieć ekonomiczne uzasadnienie. Z perspektywy przemysłu należy tu wymienić koszty wewnętrzne i zewnętrzne. Do tych pierwszych zalicza się nakłady związane z produkcją i dostosowaniem urządzeń do potrzeb celu, a także zapewnieniem wiarygodności oznaczeń, serwisu, itp. Koszty zewnętrzne

natomiast, to wydatki związane z wymogami akredytacji, homologacji, marketingiem i atrakcyjnością rynkową [279]. Oprócz tego, podejmowane są także działania dotyczące kontroli jakości, opracowania procedur i instrukcji oraz różnego typu konsultacji. Poza obciążeniami finansowymi, wdrożenie innowacji, często absorbuje dużo czasu liczonego w latach. Zatem, sumaryczny wynik finansowy całej inwestycji musi być na tyle duży, aby było to opłacalne. Wydaje się, że WPP ze względu na wszechstronność zastosowań i niesłabnący rozwój nowych materiałów, dają pewne bezpieczeństwo inwestycji. Od wielu lat obserwuje się duże zapotrzebowanie na tego typu urządzenia, co stanowi pewną niszę rynkową do wypełnienia.

II.10.1. Zalety wieloczujnikowych platform potencjometrycznych w technologii *All-Solid-State*

Wieloczujnikowe platformy potencjometryczne są relatywnie niedrogim i łatwym w obsłudze urządzeniem do szybkiej analizy próbek, dzięki czemu żywiołowo wzrasta ich popularność. Oparte są na EJS, których atuty przejawiają się w łatwym zintegrowaniu ich z systemami *on-line*, *in-line* [280], dostarczając szybkich informacji w czasie rzeczywistym [281-285]. WPP rozwijane w technologii ASS dają szereg korzyści, które czynią je bardziej atrakcyjnymi w porównaniu do ich klasycznych odpowiedników. Między innymi są bardziej wytrzymałe mechanicznie. Większą odporność na uderzenia czy upadki zyskały dzięki zwartej konstrukcji nie posiadającej szklanych i kruchych elementów, co często ma miejsce w układach z konwencjonalną EO. Także klasyczne EJS (zdjęcie 1), z elektrolitem wewnętrznym, zawierają w swojej konstrukcji elementy wykonane ze szkła kwarcowego, które w wyniku zbyt mocnego skręcania korpusu narażone są na uszkodzenia (pęknięcia). Obsługa klasycznych EJS wiąże się również z doбором odpowiedniego elektrolitu wewnętrznego, a także wycięciem membrany o odpowiednim kształcie i precyzyjnego jej umieszczenia w korpusie elektrody. Takie podejście naraża membranę na rozerwanie, rozciągnięcie lub krzywe jej wycięcie za pomocą kształtki. Natomiast, niewielkie przesunięcie centralnie ulokowanej membrany może skutkować niedostateczną szczelnością czujnika. Wyeliminowanie elektrolitu wewnętrznego z EJS likwiduje problem z doбором ciekłego elektrolitu oraz jego wyciekaniem do badanej cieczy, a także pozwoliło na wygodniejszą aplikację membrany [286]. W bardzo łatwy i wygodny sposób koktajl membranowy nakrapia się na powierzchnię elektrody, gdzie po odparowaniu rozpuszczalnika pozostaje MJS. W przypadku EO zastąpienie ciekłego elektrolitu wewnętrznego, elektrolitem stałym (np. wykorzystując metodę zdyspergowanej soli

w polimerze [272, 209]), pozwoliło na dowolne formowanie kształtu całego układu pomiarowego, jakim jest WPP. Ponadto, miniaturyzacja i integracja czujników w jeden układ pomiarowy zmniejsza wymaganą objętość próbki. Dużą zaletą analizatora, wykonanego całkowicie w technologii ASS, jest możliwość niezawodnej pracy urządzenia w dowolnej pozycji. Pozwala to na użycie urządzenia również tam, gdzie występują wstrząsy, obroty lub gwałtowne ruchy, jak ma to miejsce choćby podczas biegania. Z tego powodu czujniki te mogą być zaadaptowane w sporcie [278].

Atrakcyjność rynkowa WPP w stosunku do innych technik pomiarowych uzewnętrznia się w kosztach zakupu i eksploatacji urządzenia. Część aparatury stosowanej, takiej jak ASA czy ICP-MS, lub niektóre metody spektrofotometryczne, chromatograficzne i elektrochemiczne, są stosunkowo drogie. Z uwagi na kosztowną aparaturę, a także koszt pracy obsługi (np. laboranta), często mniejsze firmy lub dopiero wchodzące na rynek produkcyjny, nie są w stanie zapewnić sobie odpowiedniego zaplecza laboratoryjnego. Z tego powodu, co określony czas zmuszone są dostarczać swoje próbki do zewnętrznych pracowni laboratoryjnych. Taka procedura staje się kosztowna i czasochłonna, przez co ważne dla produkcji informacje nie są dostępne od razu, lecz z pewnym opóźnieniem. To z kolei, wpływa na późniejszą korektę negatywnych zmian, co może wiązać się ze stratami. W sytuacji, gdy konieczny jest dokładny monitoring wielojonowy można zastosować WPP. Mając do dyspozycji dostosowaną do potrzeb platformę czujnikową, użytkownicy mogą mieć dostęp do ważnych informacji w czasie rzeczywistym, co pozwala utrzymać harmonijną równowagę badanych składników. Szybkie przeciwdziałanie zmianom nierzadko decyduje o jakości i konkurencyjności finalnego produktu, jak ma to miejsce np. w hodowli wodnej, florystyce i rolnictwie. Uniwersalność zastosowań WPP objawia się w tym, że układy te pozwalają na dowolną konfigurację czujników, a następnie dostosowaniu ich do różnych typów matrycy próbki.

II.10.2. Przykładowe zastosowania wieloczujnikowych platform potencjometrycznych

Wieloczujnikowe platformy potencjometryczne znajdują zastosowanie w pomiarach mobilnych i stacjonarnych. Mobilne WPP to w pewnym sensie małe stacje laboratoryjne mieszczące się w dłoni jednej ręki, które w wygodny i stosunkowo prosty sposób pozwalają przeprowadzić wielojonową analizę we własnym zakresie. To w rezultacie skraca czas analizy próbki oraz ujednolica warunki oznaczania dla wszystkich badanych analitów. Jeszcze kilkadziesiąt lat temu realizacja takiego urządzenia była niemal nierealna. Obecnie ciągle

monitorowanie składu jonowego w czasie rzeczywistym, w warunkach *in-situ*, jest coraz częściej stosowane. Przykładową firmą produkującą mobilne WPP do celów produkcyjno-środowiskowych jest przedsiębiorstwo *CleanGrow* [273]. W swojej ofercie posiada bezprzewodowe platformy potencjometryczne (zdjęcie 3) zawierające EJS zdolne do pomiaru jonów: sodu, potasu, wapnia, magnezu, amonowych, azotanowych i chlorkowych. Platformy te znalazły już zastosowanie w różnych branżach przemysłowych, takich jak [273]:

- Ogrodnictwo – do oceny właściwej równowagi składników odżywczych roślin. Właściwie zinterpretowane pomiary dają szereg korzyści, takich jak: zwiększenie wydajności upraw, poprawę smaku i koloru, większą odporność plonów na choroby, a także wydłużenie ich trwałości.
- Przemysł rafineryjny – proces rafinacji i transportu produktów obarczony jest problemami związanymi z obecnością soli w ropie naftowej. Sól prowadzi do korozji rurociągów, wytrącania się osadów, a także do dezaktywacji katalizatorów wspomagających rafinację ropy, powodując duże straty finansowe. Z tego powodu ropę naftową poddaje się procesowi odsalania, który wymaga pewnej kontroli. W tym przypadku za pomocą WPP można oznaczać jony (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} i Cl^-) w wodnych ekstraktach ropy naftowej.
- Produkcja alg w bioreaktorach – jedną z metod pozyskiwania energii z odnawialnych źródeł biologicznych jest uprawa alg do produkcji biopaliw, które są substytutem paliw produkowanych z ropy naftowej [287]. WPP znalazły zastosowanie przy produkcji alg, gdzie kluczowa jest ścisła kontrola substancji odżywczych (soli mineralnych i mikroelementów). Pozwala to na zwiększenie produkcji biomasy, a tym samym produkcji węglowodorów.
- Akwakultura – jest jedną z najszybciej rozwijających się gałęzi produkcji żywności. Związana jest z hodowlą ryb, skorupiaków oraz roślinności wodnej. Hodowcy za pomocą WPP mają możliwość monitorowania stężenia składników i utrzymywania ich na właściwym poziomie.
- Analiza wina – przykładowo we Francji zawartość amonu w winie ograniczono do 20 ppm. Dzięki odpowiedniemu przygotowaniu czujnika możliwy jest pomiar jonów amonowych na wszystkich etapach produkcji wina. Można przy tym mierzyć zawartość innych jonów, jak choćby wodorowych (pH).



- Analiza wody środowiskowej – głównie dotyczy pomiarów stężenia jonów (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NO_3^- i Cl^-) zarówno w wodzie pitnej i kranowej, jak również w wodach z rzek i jezior.



Zdjęcie 3. Wieloczujnikowa platforma potencjometryczna firmy CleanGrow [273].

Innym przykładem platform wieloczujnikowych są stacjonarne WPP, które często wchodzi w skład bardziej rozbudowanych urządzeń – np. analizatorów medycznych. Urządzenia te są obszernie stosowane w laboratoriach szpitalnych do oznaczania takich elektrolitów jak sód, potas, wapń i chlorki. Wymienione jony należą do najczęściej badanych analitów w ośrodkach szpitalnych, zaraz obok tak ważnych białek i enzymów, które pozwalają wstępnie oceniać ewentualne zaburzenia czynnościowe poszczególnych organów ludzkich. Przykładowym producentem analizatorów medycznych jest firma *Instrumentation Laboratory* [274]. Oferowane urządzenia mają charakter badań stacjonarnych (nie mobilne), których elementem pomiarowym są WPP z przepływową EO. Zdolne są oznaczać np. takie parametry jak: pH, pCO_2 , pO_2 , mocznik, kreatyninę, mlecza, glukozę, jony: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- oraz przewodność. Przykładowym urządzeniem oferowanym przez tą firmę jest analizator medyczny ACL TOP 750 (zdjęcie 4), umożliwiający pomiar próbek krwi z wydajnością 360 próbek/godzinę.



Zdjęcie 4. Analizator medyczny wyposażony w EJS firmy Instrumentation Laboratory [274].

Jeszcze innym typem WPP są analizatory zbudowane z szeregu EJS, których dane pomiarowe przetwarzane są metodami chemometrycznymi. Zazwyczaj liczba czujników w szeregu wynosi około 10–20. Urządzenia te, w pewnym sensie naśladują zmysł węchu lub smaku, i są reprezentowane przez elektroniczny nos [288] i elektroniczny język [289-294]. Obecnie systemy te są powszechnie stosowane do analizy mieszanek wielozadaniowych [295]. W przeciwieństwie do tradycyjnego podejścia, gdy próbuje się używać czujników z możliwie najlepszą selektywnością, systemy te oparte są na czujnikach o umiarkowanej selektywności, czyli tak zwanej czułości krzyżowej. W ten sposób, każdy czujnik w szeregu dostarcza informacji na temat stężenia wielu analitów. Otrzymane sygnały pomiarowe są następnie przetwarzane matematycznie z wykorzystaniem różnych metod chemometrycznych [296]. Co ciekawe, systemy elektronicznego języka mogą również funkcjonować bez elektrody odniesienia. W takim przypadku różnica potencjałów mierzona jest dla wszystkich par elektrod w szeregu [297]. Analiza składowa tego typu WPP pozwala na charakterystykę próbek nie tylko w odniesieniu do stężenia poszczególnych analitów, ale także na rozpoznanie charakteru (matrycy) próbki. Wówczas, rozmaite typy próbek dzielą się na konkretne zbiory w przestrzeni wykresu elementów głównych. W ten sposób można odróżnić różnego rodzaju soki [291, 298], wody mineralne [299], kawę [300], herbatę [301], mleko i produkty mleczne [302, 303]. Elektroniczny język również stosowany jest w zastosowaniach klinicznych: w sztucznych nerkach [304, 305], we krwi [306] i w analizie moczu [307].

Obecnie nowym trendem są WPP rozwijane w technologii *All-Solid-State*. W perspektywie niedalekiej przyszłości mogą one stać się powszechnie stosowanymi urządzeniami, ze względu na ich stosunkowo niski koszt oraz uniwersalność zastosowań.

III. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

III.1. Stosowane odczynniki i urządzenia laboratoryjne

III.1.1. Odczynniki i materiały

<i>Wzór/Skrót</i>	<i>Nazwa/Symbol</i>	<i>Komentarz</i>	<i>Producent</i>
SKŁADNIKI MEMBRAN:			
Jonofor			
<i>Wodoru I</i>	<i>tridodecyloamina</i>	-	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>Ołowiu</i>	<i>25, 26, 27, 28 – tetrakis (piperidynotiokarbonylometylen) – p – tert – butylokaliks [4] aren</i>	-	<i>Synteza KChiTMF</i>
<i>Sodu X</i>	<i>25, 26, 27, 28 – tetraester etylowy tetrakis (karboksylometoksy) 4 – tert – butylokaliks [4] aren</i>	-	<i>Synteza KChiTMF</i>
<i>Potasu I</i>	<i>walinomycyna</i>	-	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>Wapnia IV</i>	<i>ETH 5234</i>	-	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>Węglań VII</i>	<i>N, N – dioctylo – 3α, 12α – bis (4 – trifluoroacetylobenzoksy) – 5β – cholan – 24 – amid</i>	-	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>Amonu I</i>	<i>nonaktyna</i>	-	<i>Sigma-Aldrich</i>
Plastyfikator			
<i>DOS</i>	<i>sebacynian bis(2-etyloheksylu)</i>	<i>cz. \geq 97%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>DOA</i>	<i>adypinian bis(2-etyloheksylu)</i>	<i>cz. \geq 99%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>o-NPOE</i>	<i>eter 2-nitrofenyloowo-oktylowy</i>	<i>cz. \geq 99%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>BBPA</i>	<i>adypinian bis(1-butylopentylu)</i>	<i>cz. \geq 98%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
Sól lipofilowa			
<i>KTpClFB</i>	<i>tetrakis(4-chlorofenylo) boran potasu</i>	<i>cz. \geq 98%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>TDACl</i>	<i>chlerek tetradodecyloamonu</i>	<i>cz. \geq 97%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
Polimer użyty jako matryca polimerowa MJS			
<i>PCW</i>	<i>polichlorek winylu</i>	<i>wysoka masa cząsteczkowa</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
Ropuszczalnik			
<i>THF</i>	<i>tetrahydrofuran</i>	<i>cz. \geq 99,5%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
ODCZYNNIKI UŻYTE DO UTWORZENIA WARSTWY CP			
<i>EDOT</i>	<i>3,4-etyleno-1,4-dioksytiofen</i>	<i>cz. 97%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>NaPSS</i>	<i>polistyreno sulfonian sodu</i>	-	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>PEDOT(PSS)</i>	<i>0,5% m/m PEDOT i 0,8% m/m PSS w wodzie</i>	-	<i>Sigma-Aldrich</i>
ODCZYNNIKI UŻYTE DO UTWORZENIA ASS-EO			
Monomer użyty jako matryca polimerowa EO			
<i>VA</i>	<i>octan winylu</i>	<i>cz. \geq 99%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
Sól			
<i>KCl</i>	<i>chlerek potasu</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
Fotoinicjator			
<i>DMPP</i>	<i>2,2-dimetoksy-2-fenyloacetofenon</i>	<i>cz. 99%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>

<i>Wzór/Skrót</i>	<i>Nazwa/Symbol</i>	<i>Komentarz</i>	<i>Producent</i>
INNE ODCZYNNIKI:			
<i>proszek Al₂O₃</i>	<i>tlenek glinu</i>	<i>wielkość ziaren: 10, 5, 3 i 1 μm</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>CH₃OH</i>	<i>metanol</i>	<i>cz. 99,8%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>NaOH</i>	<i>wodorotlenek sodu</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>KOH</i>	<i>wodorotlenek potasu</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>65% HNO₃</i>	<i>stężony kwas azotowy (V)</i>	<i>cz. 98%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>Mg(NO₃)₂ **</i>	<i>azotan (V) magnezu</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>Ca(NO₃)₂ **</i>	<i>azotan (V) wapnia</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>LiCl **</i>	<i>chlerek litu</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>NaCl **</i>	<i>chlerek sodu</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>KCl **</i>	<i>chlerek potasu</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>CaCl₂ **</i>	<i>chlerek wapnia</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>NaNO₃ **</i>	<i>azotan (V) sodu</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>AgNO₃ **</i>	<i>azotan (V) srebra</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>Zn(NO₃)₂ **</i>	<i>azotan (V) cynku (II)</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>Cu(NO₃)₂ **</i>	<i>azotan (V) miedzi (II)</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>Cd(NO₃)₂ **</i>	<i>azotan (V) kadmu (II)</i>	<i>cz.d.a.</i>	<i>POCH *</i>
<i>Pb(NO₃)₂ **</i>	<i>azotan (V) ołowiu (II)</i>	<i>cz. ≥ 99,99%</i>	<i>POCH *</i>
MATERIAŁY			
Użyte do budowy ASS-EO			
<i>Ag</i>	<i>srebrny drucik o średnicy 2 mm</i>	<i>cz. ≥ 99,9%</i>	<i>Kadoro</i>
Użyte do budowy EJS i WPP			
<i>Au</i>	<i>złoty drucik o średnicy 500 μm</i>	<i>cz. ≥ 99,99%</i>	<i>Sigma-Aldrich</i>
<i>GC</i>	<i>pręciki z węgla szklistego</i>	<i>średnica 3 mm, typu Sigradur G</i>	<i>HTW</i>
<i>PMMA</i>	<i>kwadratowy pręt z polimetakrylanu metylu</i>	<i>-</i>	<i>Artcop</i>
<i>PCW</i>	<i>pręty z polichlorku winylu</i>	<i>średnica 4 mm</i>	<i>Artcop</i>
<i>-</i>	<i>papier ścierny</i>	<i>wielkość ziaren: 600, 2000, 2400 i 4000</i>	<i>Struers</i>
Użyte do badań CO₂ i pH			
<i>BD Plastipak Luer</i>	<i>strzykawka o objętości 70 ml</i>	<i>-</i>	<i>Becton-Dickinson</i>
<i>CO₂</i>	<i>butla z 95% N₂ i 5% CO₂</i>	<i>-</i>	<i>Airgas</i>
<i>Pt (PFA)</i>	<i>platynowy drucik izolowany polimerem perfluoroalkoksylovym o średnicy 127 μm</i>	<i>cz. ≥ 99,99%</i>	<i>A-M Systems</i>

* POCH = Avantor Performance Materials Poland S. A.

** Wodne roztwory soli sporządzono ze świeżo dejonizowaną wodą o przewodności < 0,1 μS/cm.

III.1.2. Urządzenia laboratoryjne

Wszystkie pomiary przeprowadzono w temperaturze otoczenia laboratorium (ok. 20–23°C). Świeżo dejonizowaną wodę o przewodności $< 0,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ uzyskiwano ze stacji HYDRO-Lab (RO). Potrzebne substancje odważano na wadze analitycznej Radwag serii AS R2 z dokładnością do 0,1 mg.

Dane pomiarowe rejestrowano na komputerze za pomocą 16-kanalowego miliwoltomierza EMF-16 LawsonLab (USA) z oprogramowaniem EMF Suite wersja 2.0. W badaniach jako elektrody odniesienia używano: klasyczną elektrodę Ag/AgCl Moeller S.A. (Zurych, Szwajcaria) lub z podwójnym płaszczem ORION 800500U ROSS Ultra D/J Thermo Scientific (USA). W pomiarach EJS wykorzystano komercyjnie dostępne konstrukcje oparte na węglu szklistym firmy Mineral (Warszawa). Do kalibracji metodą 10-krotnego rozcieńczania wykorzystano dwie sprzężone biurety automatyczne TITRONIC Universal SI Analytics.

Do badań referencyjnych wykorzystano: atomową spektrometrię absorpcyjną (ASA) model SensaAA GBC; fotometr płomieniowy model BWB-1 MS Spektrum; analizator medyczny ABL800 FLEX Radiometer; komercyjne testy akwariowe firmy Aquatest. W badaniach oznaczania jonów ołowiu (II) do celów porównawczych użyto również krystalicznej elektrody Pb^{2+} -selektywnej firmy Detektor (Raszyn).

Galwanostatyczną polimeryzację EDOT-u wykonywano za pomocą potencjostatu/galwanostatu PGSTAT302N Metrohm Autolab. Badanie przewodności wyciekającego elektrolitu KCl z ASS-EO przeprowadzono za pomocą multimetru CX-505 z kompensacją temperatury oraz czujnika konduktometrycznego typu EC-60 firmy Elmetron (Polska). Do pomiarów pH użyto elektrody ORION 8102BNUWP ROSS Ultra Thermo Scientific (USA).

W badaniach związanych z oznaczaniem CO_2 w moczu wykorzystano: czujnik CO_2 typu Severinghaus, szklaną elektrodę pH ORION 8202BN oraz elektrodę odniesienia ORION 900200 D/J firmy Thermo Scientific (USA); cyfrowy termometr elektroniczny Ertco-Eutechnics model: 4400; pompkę perystaltyczną Gilson model: Miniplus2 i pompkę infuzyjną Yale Apparatus model: YA-12 Multi-Phases. Do odczytu pomiarów elektrody Severinghaus użyto miliwoltomierza ORION model: 720A, zaś pomiary szklanej elektrody pH odczytywano za pomocą multimetru Mettler Toledo model: SevenMulti. Podczas nakładania membran pod mikroskopem użyto szklanej strzykawki Hamilton o pojemności 0,1 μl .

Wszystkie inne urządzenia i narzędzia były zgodne z powszechnie przyjętymi standardami.

III.2. Stosowane procedury

III.2.1. Przygotowanie powierzchni elektrod jonoselektywnych

Powierzchnie elektrod jonoselektywnych (węgiel szklisty, złoto, platyna) stopniowo polerowano papierem ściernym o różnym rozmiarze ziaren w kolejności: 600, 2000, 2400, 4000, a na końcu proszkiem Al_2O_3 o wielkości ziaren 10, 5, 3 i 1 μm (w zależności od aktualnego wyposażenia) z niewielkim dodatkiem wody. Następnie powierzchnie poddano czyszczeniu w myjce ultradźwiękowej oraz płukaniu chemicznemu poprzez zanurzenie elektrod w roztworach według kolejności: 1 mol/dm^3 HNO_3 , woda dejonizowana, 1 mol/dm^3 KOH w metanolu i ponownie woda dejonizowana.

III.2.2. Synteza polimeru przewodzącego PEDOT(PSS)

Syntezę polimeru przewodzącego przeprowadzono metodą galwanostatycznej polimeryzacji. W tym celu elektrodę pomiarową (z uprzednio przygotowaną powierzchnią), elektrodę pomocniczą (pręcik węgla szklistego) i elektrodę odniesienia ($\text{Ag}/\text{AgCl}/0,1 \text{ mol}/\text{dm}^3$ KCl) zanurzono w roztworze zawierającym: 0,015 mol/dm^3 monomeru EDOT-u i 0,1 mol/dm^3 elektrolitu NaPSS. Przy natężeniu prądu stałego o gęstości 0,2 mA/cm^2 przez 714 sekund, PEDOT osadzał się na elektrodzie pracującej, co można było zaobserwować zmianą barwy światła odbitego od powierzchni [82]. Obliczona, na podstawie równania (25), grubość otrzymanej warstewki polimeru wynosiła ok. 1 μm . W zależności od wielkości powierzchni EJS natężenie prądu stałego zmieniano, obliczając jego wartość według równania (26).

$$g = \frac{4Mit}{nF\rho\pi d^2} \quad (25)$$

$$\frac{d_1^2}{d_2^2} = \frac{i_1}{i_2} \quad (26)$$

gdzie:

g – grubość warstwy polimeru,

M – masa molowa monomeru EDOT = 142 g/mol,

i – natężenie prądu stałego,

t – czas polimeryzacji,

n – liczba elektronów PEDOT-u = 2,25,

ρ – gęstość polimeru,

d – średnica powierzchni EJS.

III.2.3. Przygotowanie membran

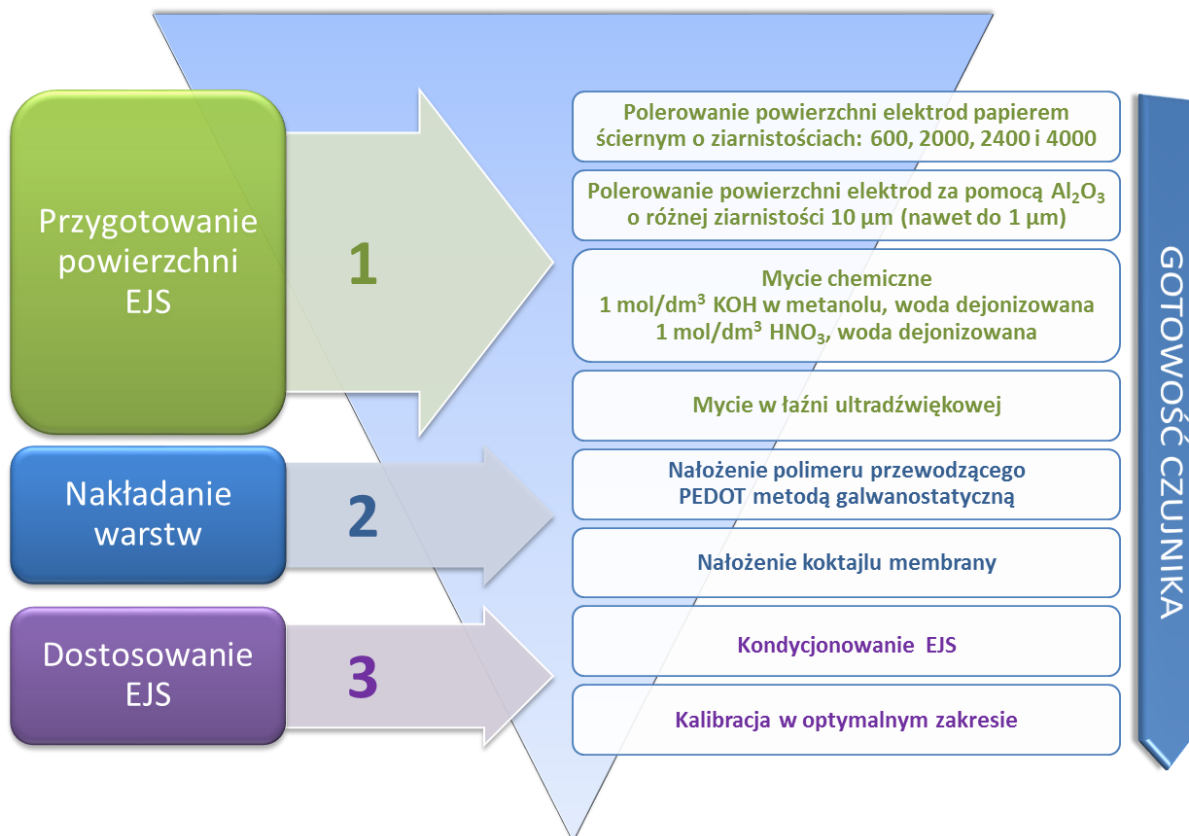
Poszczególne składniki membrany odważano na wadze analitycznej do szklanej fiolki w kolejności według rosnącej masy składnika: sól lipofilowa, jonofor, polimer i plastyfikator. Następnie całość rozpuszczono w świeżo przedestylowanym i wysuszonym THF. Rozpuszczanie składników przyspieszono za pomocą łązni ultradźwiękowej. Otrzymany homogeniczny koktajl membrany nakrapiano na odpowiednio przygotowaną powierzchnię EJS (z polimerem przewodzącym) za pomocą pipety i pozostawiano na około dobę do odparowania rozpuszczalnika (THF). Otrzymane elektrody kondycjonowano następnie w odpowiednim roztworze kondycjonującym. Wszystkie składy membran użytych w badaniach zestawiono w tabeli 1. Kolejność membran uszeregowano według chronologii badań w niniejszej rozprawie.

Tabela 1. Składy membran użytych w badaniach.

Lp.	Membrana	Składniki		Waga [% m/m]
A	Pb ²⁺	Jonofor	Ołowiu	1,2
		Plastyfikator	<i>o</i> -NPOE lub DOS	66,0
		Polimer	PCW	32,5
		Sól lipofilowa	KTpClPB	0,3
B	Na ⁺	Jonofor	Sodowy X	0,7
		Plastyfikator	<i>o</i> -NPOE	66,1
		Polimer	PCW	33,0
		Sól lipofilowa	KTpClPB	0,2
C	K ⁺	Jonofor	Potasowy I	1,0
		Plastyfikator	DOS	49,5
		Polimer	PCW	49,0
		Sól lipofilowa	KTpClPB	0,5
D	Ca ²⁺	Jonofor	Wapniowy IV	3,3
		Plastyfikator	<i>o</i> -NPOE	65,8
		Polimer	PCW	32,9
		Sól lipofilowa	KTpClPB	0,3
E	NH ₄ ⁺	Jonofor	Amonowy I	0,2
		Plastyfikator	<i>o</i> -NPOE	69,0
		Polimer	PCW	30,8
		Sól lipofilowa	-	-
F	H ⁺	Jonofor	Wodorowy I	Skład Instrumentation Laboratory – brak zgody na publikacje danych
		Plastyfikator	DOS	
		Polimer	PCW	
		Sól lipofilowa	KTpClFB	
G	CO ₃ ²⁻	Jonofor	Węglanowy VII	5,1
		Plastyfikator	DOA	56,8
		Polimer	PCW	36,9
		Sól lipofilowa	TDACl	1,2

III.2.4. Schemat wykonania czujnika

Procedura wykonania poszczególnych czujników jonoselektywnych obejmowała etapy zaprezentowane na [rysunku 21](#).



Rysunek 21. Diagram wykonywanych czynności podczas budowy czujnika.

III.2.5. Wykonanie elektrody odniesienia w technologii All-Solid-State

Wykonanie ASS-EO rozpoczęto od zmielenia chlorku potasu w ceramicznym młynku na drobny proszek. Następnie zmieloną sól przesypano do szklanego naczynia, które umieszczono w piecyku elektrycznym w celu wysuszenia soli. Powoli podgrzewano KCl do czasu osiągnięcia temperatury 400°C, po czym utrzymywano te warunki przez 1,5 godziny. Następnie, piecyk wyłączono i pozostawiono sól do ostygnięcia. Równoległe przygotowano drucik Ag/AgCl poprzez elektrolityczne utworzenie warstewki chlorku srebra. W tym celu czysty drucik Ag, razem z elektrodą platynową (lub z węgla szklanego), zanurzono w 0,1 mol/dm³ HCl i uruchomiono zasilacz laboratoryjny z nastawą napięcia 1,5 V i natężenia 40 mA. Po ostygnięciu soli do obudowy EO odważono: octanu winylu i wysuszony KCl w stosunku masowym 1 : 1 oraz niewielką ilość (ok. 2% masy) fotoinicjatora (DMPP).

Otrzymaną mieszaninę naświetlano światłem UV o długości fali równej 365 nm i systematycznie mieszano całość z odpowiednią częstotliwością w celu uzyskania jednorodnego materiału. Po uzyskaniu odpowiedniej konsystencji mieszaniny, włożono do niej wcześniej przygotowany drucik Ag/AgCl. W dalszym ciągu całość naświetlano i mieszano do momentu, gdy KCl nie opadał na dno obudowy. Elektrode naświetlano jeszcze przez 40–50 minut i pozostawiono na dobę, aby dokonała się resztkowa polimeryzacja.

III.2.6. Kalibracja metodą 10-krotnego rozcieńczenia

Roztwory kalibracyjne sporządzono używając soli chlorkowych lub azotanowych. Roztwory soli hydrolizujących dodatkowo zakwaszono kwasem azotowym (V) do pH = 4. Kalibrację czujników metodą rozcieńczenia przeprowadzano jedno- lub wielojonowo w zależności od potrzeb. Wyjściową mieszaninę rozcieńczano 10-krotnie, za pomocą sprzężonych biuret automatycznych (zdjęcie 5), otrzymując krzywe kalibracji dla poszczególnych elektrod w badanym zakresie stężeń. W trakcie badań uwzględniono zmiany aktywności jonów w poszczególnych roztworach za pomocą programów: Visual MINTEQ wersja 3.1 lub PHREEQC wersja 3.1.2.



Zdjęcie 5. Aparatura pomiarowo-kalibracyjna.

III.2.7. Wyznaczanie współczynników selektywności metodą SSM

Współczynniki selektywności wyznaczano metodą oddzielnych roztworów (SSM), którą szczegółowo opisano w punkcie II.4.2, posługując się równaniem (9). Charakterystyki dla poszczególnych jonów wyznaczono przy użyciu metody 10-krotnego rozcieńczania roztworów (II.2.6).

III.2.8. Procedura oznaczania próbek techniką ASA

Analizę oznaczania jonów Pb^{2+} i Ca^{2+} w badanych próbkach przeprowadzono w podobny sposób. Krzywą kalibracji wykonano na podstawie 5 roztworów wzorcowych przygotowanych w kolbkach o objętości 25 ml. Każdy roztwór wzorcowy oraz każdą badaną próbkę zmierzono 4-krotnie, na podstawie czego obliczono średnią wartość i względne odchylenie standardowe (%RSD).

W przypadku oznaczania jonów Pb^{2+} w obecności wysokiego stężenia jonów Zn^{2+} , najpierw przeprowadzono pomiar samych jonów cynku o stężeniu $0,01 \text{ mol/dm}^3$ w celu sprawdzenia czy matryca próbek nie będzie zakłócać pomiarów Pb^{2+} . Stwierdzono, że jony cynku nie wpływają na oznaczanie jonów ołowiu (II) techniką ASA. Krzywą kalibracji uzyskano mierząc roztwory wzorcowe, zawierające stężenie jonów Pb^{2+} na poziomie: 2, 4, 6, 8, 10 mg/dm^3 (ppm). W celu łatwiejszego porównania wyników badań EJS- Pb^{2+} i z ASA uzyskane wartości przedstawiono w dwóch jednostkach: mg/dm^3 i pPb. Jednostki przeliczano na podstawie równań przedstawionych poniżej (27 i 28):

$$pPb = -\log a_{Pb} \quad (27)$$

$$C_{Pb} = (10^{-pPb} \cdot M_{Pb} \cdot 1000) \left[\frac{\text{mg}}{\text{dm}^3} \right] \quad (28)$$

Krzywą kalibracji dla jonów Ca^{2+} otrzymano mierząc roztwory wzorcowe o następujących stężeniach jonów Ca^{2+} : 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 i 2,5 mg/dm^3 (ppm). Analizę próbki potu ludzkiego wykonano, rozcieńczając wcześniej 1 ml próbki z wodą w stosunku 1 : 5. Wartość oznaczonych jonów Ca^{2+} wyrażono jako mmol/dm^3 .

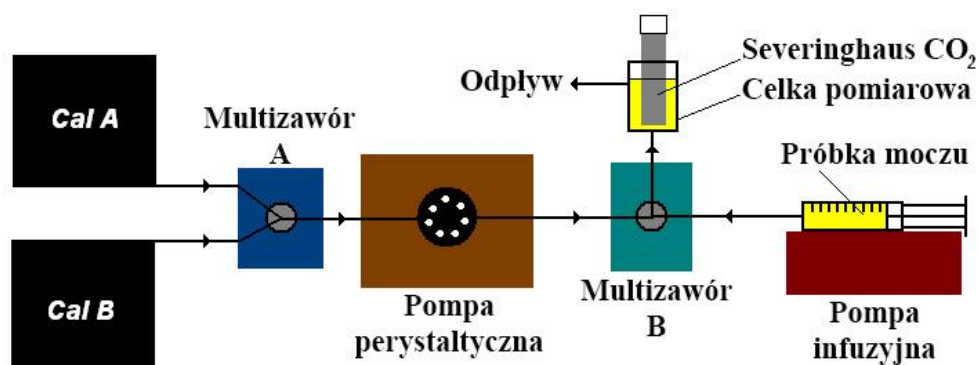
III.2.9. Procedura oznaczania próbek za pomocą fotometrii płomieniowej

Krzywą kalibracji dla poszczególnych jonów uzyskano analizując odpowiednio przygotowane roztwory wzorcowe. W badaniu oznaczania jonów w próbce potu ludzkiego, za pomocą wykonanej WPP, porównawczo zmierzono poziom zawartości jonów Na^+ i K^+ . W tym celu przygotowano szereg 6 roztworów wzorcowych dla każdego z jonów, zawierających następujące stężenia: 4, 8, 12, 16, 20 i 24 mg/dm^3 (ppm) Na^+ lub K^+ . Na podstawie wyznaczonych krzywych kalibracji zmierzono stężenie jonów sodu i potasu w próbce potu ludzkiego, którą wcześniej rozcieńczono z wodą w stosunku 1 : 100.

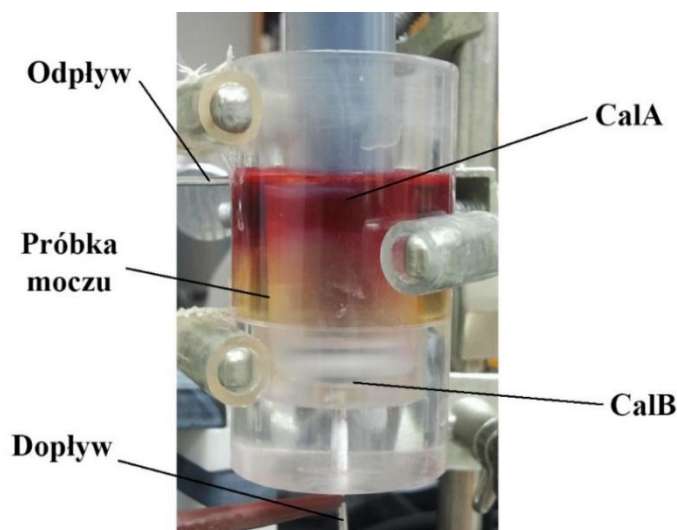
W badaniu oznaczania jonów w próbce wody akwariowej, za pomocą przepływowej WPP, porównawczo zmierzono poziom zawartości jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} . W tym celu przygotowano dwa roztwory wzorcowe R1 i R2, zawierające mieszaninę badanych jonów na różnym poziomie stężeń (R1: $\text{Na}^+ = 5$, $\text{K}^+ = 5$ i $\text{Ca}^{2+} = 15$ mol/dm^3 ; R2: $\text{Na}^+ = 50$, $\text{K}^+ = 30$ i $\text{Ca}^{2+} = 100$ mol/dm^3). Krzywe kalibracji dla poszczególnych jonów uzyskano na podstawie R1 i R2, a badaną próbkę akwariową analizowano bez jej rozcieńczania.

III.2.10. Oznaczanie poziomu zawartości CO_2 za pomocą elektrody typu Severinghaus

Układ pomiarowy składał się z kilku elementów, którego schemat przedstawiono na [rysunku 22](#). Kalibrację przeprowadzano na podstawie dwóch roztworów kalibracyjnych: CalA i CalB – dostarczonych przez *Instrumentation Laboratory*, które różniły się między innymi zawartością CO_2 (odpowiednio 67,5 i 33,3 mmHg) i pH (odpowiednio 6,91 i 7,41). Roztwory te były bezpośrednio połączone z *multizaworem A*, do którego podłączona była także *pompka perystaltyczna*, dozująca CalA i CalB do celki pomiarowej typu *wall-jet*, przechodząc przez *multizawór B*. Celkę stanowił cylindryczny pojemnik z PMMA, w którym znajdował się czujnik CO_2 typu Severinghaus. Strzykawki z próbką moczu umieszczano w automatycznej *pompce infuzyjnej*, podłączonej do *multizaworu B*, skąd następnie trafiały do celki pomiarowej. Pomiar stężenia CO_2 w moczu przeprowadzano w sekwencji: CalA, próbka moczu, CalB, dozując roztwory od dołu pojemnika – [zdjęcie 6](#). Osiągnięcie przez czujnik stanu równowagi mierzonego CO_2 trwało ok. 5min – w tym układzie, każdy pomiar wymagał zużycia ok. 10 ml próbki moczu. *Multizawór A* służył do przełączania pomiędzy roztworami CalA i CalB, zaś *Multizawór B* pomiędzy aktualnie wybranym roztworem kalibracyjnym a badaną próbką moczu.



Rysunek 22. Schemat układu pomiarowego z czujnikiem CO₂ typu Severinghaus.



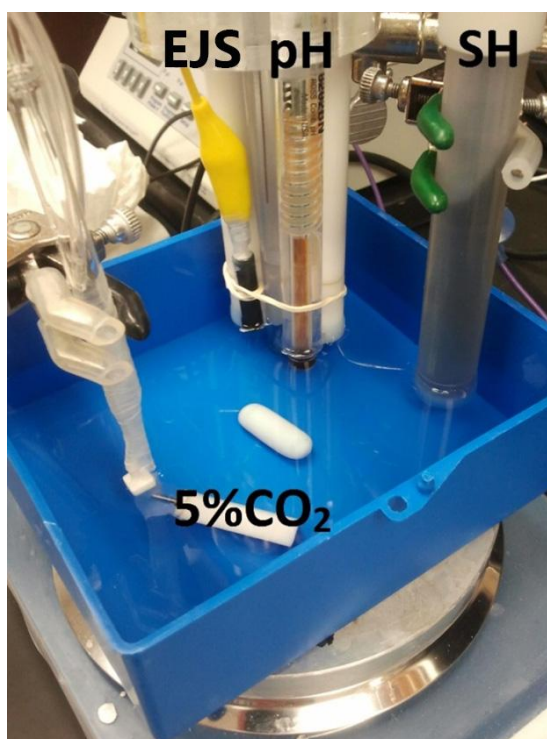
Zdjęcie 6. Celka pomiarowa typu wall-jet.

III.2.11. Procedura kalibracji czujników CO₂ typu CO₃²⁻ vs pH

Badane klasyczne EJS, a także ASS-EJS, selektywne na jony H⁺ i CO₃²⁻, zanurzone w pojemniku z wodą, do którego stale dozowano gaz zawierający 5% CO₂ i 95% N₂. Równolegle w pojemniku zanurzone szklaną elektrodę pH ORION 8202BN, elektrodę odniesienia ORION 900200 oraz elektrodę Severinghaus. W celu szybkiej homogenizacji, roztwór stale mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego.

Pomiar poziomu zawartości CO₂ mierzono w układach elektrod: EJS-CO₃²⁻ vs szklana elektroda pH oraz ASS-EJS-CO₃²⁻ vs szklana elektroda pH. Pomiar jonów CO₃²⁻ odbywał się w układach elektrod: EJS-CO₃²⁻ vs EO oraz ASS-EJS-CO₃²⁻ vs EO. Natomiast, pomiar pH realizowano za pomocą szklanej elektrody pH (zopolonej z EO) oraz ASS-pH vs EO. Dzięki takiemu zestawowi układów monitorowano pracę zarówno czujników CO₂, jak i poszczególnych elektrod.

Charakterystyki odpowiedzi elektrod uzyskano dozując do roztworu różne ilości wodorowęglanu sodu tak, aby osiągnąć zakres stężeń 10^{-5} – 10^{-1} mol/dm³ NaHCO₃ z interwałem zmiany stężenia $\log(c) = 0,5$. Dozowany gaz (5% CO₂) miał za zadanie utrzymywać zawartość CO₂ na stałym poziomie – przesuwając równowagę jonową w stronę zwiększającego się stężenia jonów CO₃²⁻. Ustalanie się równowagi jonowej kontrolowano za pomocą elektrody Severinghausa. Układ pomiarowy pokazano na [zdjęciu 7](#).



Zdjęcie 7. Zestaw pomiarowy do kalibracji czujników CO₂ typu CO₃²⁻ vs pH.

III.3. Elektrody jonoselektywne w oznaczaniu jonów ołowiu (II)

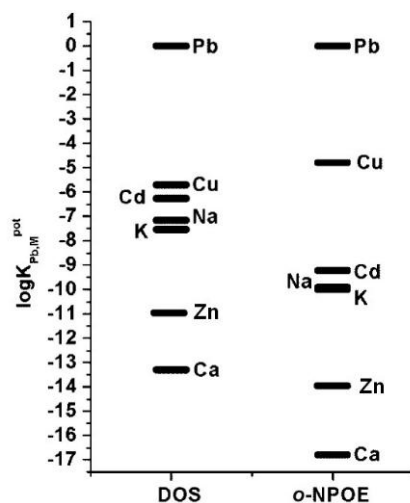
III.3.1. Badanie wpływu wysokiego stężenia jonów przeszkadzających na odpowiedź elektrody Pb²⁺-selektywnej

Metale ciężkie, takie jak ołów, stanowią poważne zagrożenie dla środowiska naturalnego. Ich toksyczność i zdolność do gromadzenia się w tkankach żywych organizmów przyczynia się do wielu komplikacji zdrowotnych [308-310]. Dlatego też, szybkie i łatwe monitorowanie tego rodzaju zanieczyszczeń ma ogromne znaczenie, szczególnie tam, gdzie ryzyko ekspozycji na nie jest wysokie. EJS należą do narzędzi analitycznych o niezwykle pożądanych zaletach, takich jak szybka odpowiedź i prostota pomiarów. Równie istotne są selektywność i granica wykrywalności, które decydują o użyteczności danego czujnika. Wiele jonoforów przebadano pod kątem zastosowania w EJS-Pb²⁺ w celu uzyskania elektrody zdolnej oznaczać bardzo niskie stężenia jonów ołowiu (II), dając wiarygodne wyniki. Mimo to, nadal nie ma komercyjnie dostępnej elektrody do oznaczania śladowych ilości jonów ołowiu (II) w próbkach, gdzie panuje wysokie stężenie jonów przeszkadzających [225, 311]. Jonoforem spełniającym kryteria wystarczająco wysokiej selektywności i niskiej granicy wykrywalności jest 25, 26, 27, 28 – tetrakis (piperydynotiokarbonylometylen) – p – tert – butylokaliks[4]aren [225,312].

Prezentowane wyniki badań miały na celu określić wpływ wysokiego stężenia jonów przeszkadzających, takich jak: Na⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺ i Mg²⁺ na odpowiedź potencjometryczną EJS-Pb²⁺ z jonoforem 25, 26, 27, 28 – tetrakis (piperydynotiokarbonylometylen) – p – tert – butylokaliks[4]aren. Synteza jonoforu była prowadzona w Katedrze Chemii i Technologii Materiałów Funkcjonalnych na Politechnice Gdańskiej [312].

Do badań przygotowano dwie membrany zgodnie z procedurą opisaną w punkcie III.2.3. Membrany różniły się między sobą rodzajem plastyfikatora – jedna z *o*-NPOE, druga z DOS, a ich pełny skład podano w tabeli 1/A. Gotowy koktajl każdej z membran nakrapiano 2-krotnie po 20 µl (w 10-minutowym odstępie) na odpowiednio przygotowane powierzchnie EJS (procedura III.2.1) z galwanostatycznie nałożonym PEDOT(PSS) (procedura III.2.2). W badaniach wykorzystano elektrody oparte na konstrukcji komercyjnej (Mineral), otrzymując EJS o budowie: GC/PEDOT(PSS)/MJS-Pb²⁺ (*o*-NPOE lub DOS).

Potencjometryczne współczynniki selektywności wyznaczono metodą SSM zgodnie z procedurą III.2.7, a otrzymany diagram selektywności pokazano na rysunku 23.



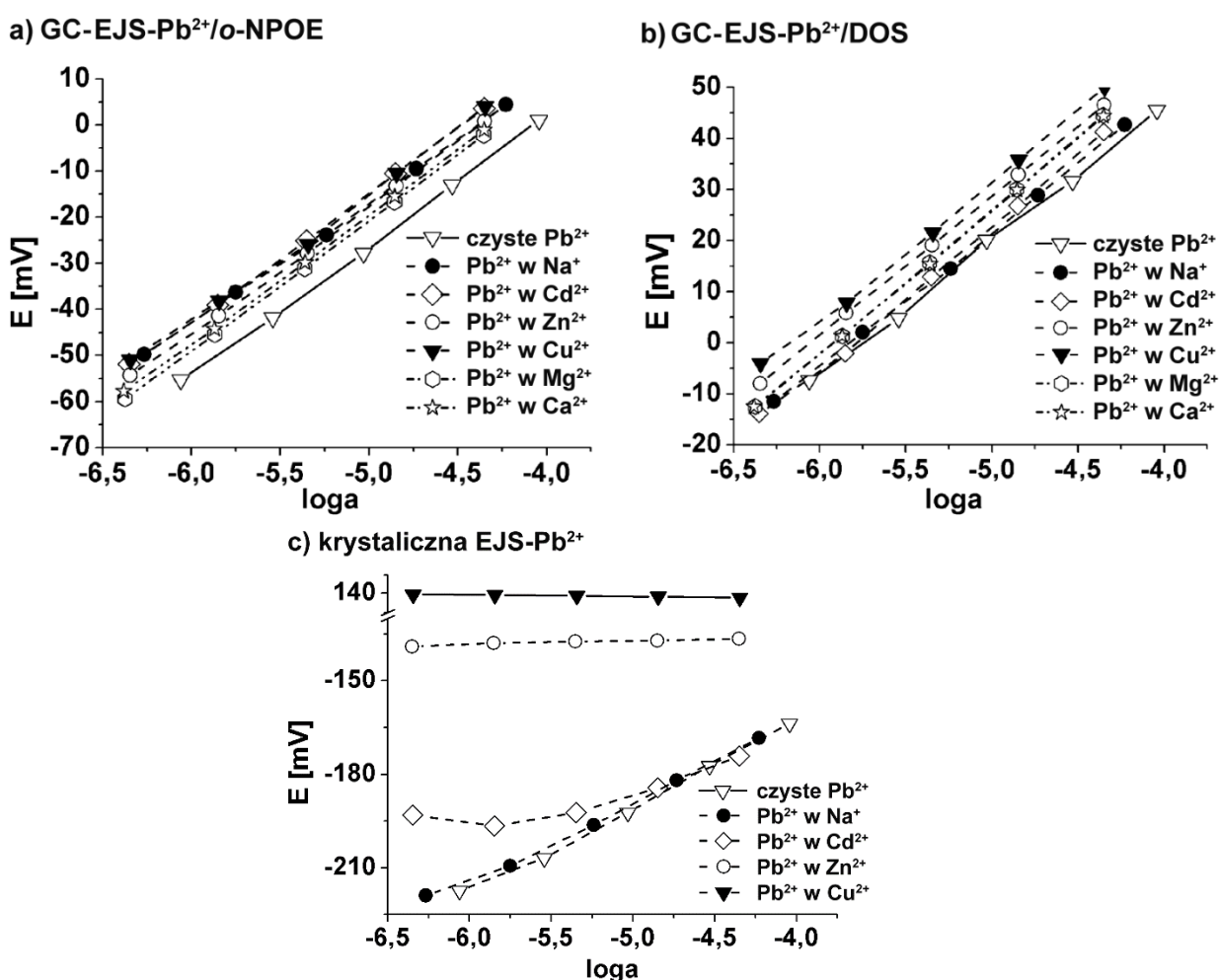
Rysunek 23. Diagram selektywności GC-EJS-Pb²⁺ z różnym plastyfikatorem: o-NPOE lub DOS.

Niezależnie od użytego plastyfikatora selektywność elektrod w stosunku do ołowiu (II) względem innych jonów przeszkadzających była zgodna z następującym szeregiem (od najbardziej przeszkadzającego jonu): Cu²⁺ > Cd²⁺ > Na⁺ > Zn²⁺ > Mg²⁺ > Ca²⁺. Natomiast, liczbowe wartości K_{IJ}^{pot} różniły się od siebie. Elektroda zawierająca DOS jako plastyfikator wykazała większą selektywność w relacji jonów Pb²⁺/Cu²⁺, a gorszą wobec relacji Pb²⁺ z innymi badanymi kationami, niż elektroda zawierająca o-NPOE. Niemniej jednak, obie elektrody z dodatkiem jonoforu charakteryzowały się zdecydowanie lepszą selektywnością na Pb²⁺ niż na pozostałe badane jony. Na podstawie analizy wyników zasugerowano możliwość użycia tego typu GC-EJS w oznaczaniu jonów ołowiu (II) w wysokiej sile jonowej Na⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺ i Mg²⁺.

W kolejnym etapie badań użyto sześciu GC-EJS-Pb²⁺, trzy z plastyfikatorem o-NPOE i trzy z DOS, które przed pomiarami kondycjonowano przez 12 godzin w 10⁻⁴ mol/dm³ Pb(NO₃)₂, a następnie dokładnie opłukano wodą dejonizowaną. Pomiary przeprowadzono najpierw w czystych roztworach jonów ołowiu (II) w zakresie stężeń 10⁻⁶–10⁻⁴ mol/dm³. Po czym, badania rozpoczęto w roztworach zawierających 0,01 mol/dm³ odpowiedniego jonu przeszkadzającego (jako matryca próbki), do których dodawano określone porcje jonów ołowiu (II). Dodatek jonów Pb²⁺ realizowany był w taki sposób, aby uzyskać zakres stężeń 10⁻⁶ – 10⁻⁴ mol/dm³ z interwałem zmiany aktywności log(*a*_{Pb}) = 0,5 zachowując przy tym stałe stężenie jonów przeszkadzających. Wszystkie roztwory zakwaszono kwasem azotowym (V) do pH = 4. Według tej procedury zbadano wpływ wysokiego stężenia jonów przeszkadzających (Na⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺ i Mg²⁺) na krzywą odpowiedzi na jony ołowiu (II).

W celach porównawczych do pomiaru jonów ołowiu (II) przy dużej sile jonowej ($0,01 \text{ mol/dm}^3$) Na^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} i Zn^{2+} , użyto komercyjnej elektrody krystalicznej Pb^{2+} -selektywnej z membraną $\text{Ag}_2\text{S/PbS}$. Spodziewano się, że wpływ jonów przeszkadzających, takich jak Cu^{2+} , Cd^{2+} i Zn^{2+} , będzie znaczący na charakterystykę odpowiedzi Pb^{2+} z uwagi na niedostateczną selektywność czujnika na jony ołowiu (II) [313].

Aktywność jonów ołowiu (II) w poszczególnych roztworach oszacowano za pomocą programu Visual MINTEQ (wersja 3.1), uwzględniając pH i skład jonowy cieczy. Uzyskane charakterystyki odpowiedzi wybranych GC-EJS z membranami polimerowymi (jednej z *o*-NPOE i drugiej z DOS) oraz z membraną krystaliczną przedstawiono na wykresach 1a-1c.



Wykres 1. Charakterystyki odpowiedzi elektrod na jony ołowiu (II) w różnych roztworach: a) GC-EJS-Pb²⁺ z *o*-NPOE, b) GC-EJS-Pb²⁺ z DOS, c) krystaliczna EJS-Pb²⁺.

Uzyskane nachylenia odpowiedzi GC-EJS-Pb²⁺ z membranami polimerowymi (*o*-NPOE i DOS) były zgodne z charakterem nernstowskiej odpowiedzi, zarówno w pomiarach roztworów z czystym elektrolitem Pb²⁺, jak i w roztworach z wysokim stężeniem jonów przeszkadzających. Jednakże, większą powtarzalność charakterystyki odpowiedzi (elektrody

do elektrody) otrzymano dla GC-EJS-Pb²⁺ z *o*-NPOE, niż z DOS. Oprócz tego, wartości nachylenia GC-EJS-Pb²⁺/DOS dla poszczególnych roztworów były nieco gorsze w porównaniu do GC-EJS-Pb²⁺/*o*-NPOE, co wykazano w tabeli 2. Przedstawione wartości parametrów nachylenia (*S*) i potencjału standardowego (*E*⁰) dla GC-EJS-Pb²⁺ z plastyfikatorami *o*-NPOE i DOS są średnią wyników z trzech elektrod o tej samej budowie.

Tabela 2. Parametry *S* i *E*⁰ potencjometrycznych charakterystyk GC-EJS-Pb²⁺ z dwoma różnymi plastyfikatorami (*o*-NPOE i DOS) oraz EJS z membraną krystaliczną.

Roztwór:		czyste Pb ²⁺	Pb ²⁺ w Na ⁺	Pb ²⁺ w Cu ²⁺	Pb ²⁺ w Cd ²⁺	Pb ²⁺ w Zn ²⁺	Pb ²⁺ w Mg ²⁺	Pb ²⁺ w Ca ²⁺
DOS	<i>S</i>	27,5±1,1	24,4±3,2	27,7±1,0	26,91±0,88	27,36±0,19	27,6±1,4	27,9±1,1
	<i>E</i> ⁰	156,5±8,4	151,1±9,8	177±16	160,2±9,5	165±10	166,2±9,1	162±12
<i>o</i> -NPOE	<i>S</i>	28,58±0,5	26,77±0,26	27,24±0,27	27,79±0,16	28,35±0,58	28,31±0,49	28,01±0,21
	<i>E</i> ⁰	110,1±3,7	113,2±4,9	116,4±6,2	119,3±5,7	118,8±3,1	115,8±4,7	116,31±5,2
Ag ₂ S/PbS	<i>S</i>	27,40	25,20	-0,88	1,16	10,04	no	no
	<i>E</i> ⁰	-54,52	-54,04	133,83*	-131,38*	-134,40*	no	no

* wartości uzyskane bez nernstowskiej odpowiedzi EJS, no – nie oznaczano

Największe zakłócenia charakterystyki odpowiedzi zauważono w pomiarach GC-EJS-Pb²⁺/DOS przy wysokim stężeniu jonów Na⁺, gdzie średnie nachylenie wyniosło 24,4±3,2 mV/dek. Podobnie, ale nieco mniej zaniżoną wartość *S*, w obecności 0,01 mol/dm³ Na⁺, uzyskano dla GC-EJS-Pb²⁺/*o*-NPOE. Pozostałe jony przeszkadzające nie miały znaczącego wpływu na wartości nachylenia odpowiedzi elektrod (z *o*-NPOE i DOS) w porównaniu do wartości uzyskanych dla roztworów czystego elektrolitu Pb²⁺. Wyniki otrzymane dla krystalicznej EJS wykazały istotne różnice w wartościach *S* pomiędzy roztworami czystego elektrolitu Pb²⁺, a roztworami zawierającymi wysokie stężenie jonów przeszkadzających. Obecność jonów Cu²⁺, Cd²⁺ i Zn²⁺ nie pozwoliła osiągnąć nernstowskiej odpowiedzi elektrody krystalicznej, co dyskwalifikuje użyteczność czujnika w tych warunkach. Jedynie, otoczenie jonów Na⁺ nie wpłynęło na charakter odpowiedzi tej elektrody.

Porównując elektrody pod względem potencjału standardowego można stwierdzić, że wartości uzyskane dla GC-EJS-Pb²⁺/*o*-NPOE były lepsze w porównaniu do GC-EJS-Pb²⁺/DOS. Rozbieżności w wartościach tego parametru dla różnych roztworów były mniejsze w przypadku użycia GC-EJS-Pb²⁺/*o*-NPOE. Ponadto, większą powtarzalność (elektrody do elektrody) w stosunku do *E*⁰ uzyskano dla elektrod z plastyfikatorem *o*-NPOE. W przypadku elektrody krystalicznej wartość potencjału standardowego dla czystych roztworów Pb²⁺ była podobna do wartości *E*⁰ jedynie dla roztworów z jonami Na⁺. W środowisku jonów Cu²⁺, Cd²⁺ i Zn²⁺, w związku z brakiem nernstowskiej odpowiedzi, wartości *E*⁰ znacząco odbiegały od

wartości E^0 dla czystych roztworów Pb^{2+} – wykres 1c. Częściowo, przebieg taki można tłumaczyć tym, że użyta elektroda krystaliczna w rzeczywistości była bardziej selektywna na jony Cu^{2+} niż Pb^{2+} .

Obecność jonów przeszkadzających w próbce może wykluczyć możliwość zastosowania danego czujnika, jak np. krystalicznej EJS z membraną Ag_2S/PbS w próbkach zawierających wysokie stężenie jonów Cu^{2+} , Cd^{2+} i Zn^{2+} . W większości przypadków dokładny skład próbki jest nieznan, jak również mechanizm w jaki sposób substancje zawarte w badanym roztworze (jonowe lub niejonowe) wpływają na skład membrany i pracę elektrody [130]. Wysokie stężenia jonów przeszkadzających w próbce wpływają na aktywność i równowagę chemiczną jonów. Co więcej, wysoka siła jonowa może powodować równoczesną ko-ekstrakcję anionów z jonem głównym z roztworu do membrany, zmieniając tym samym skład MJS, co w konsekwencji wpływa na wartość SEM całego układu potencjometrycznego. W niektórych przypadkach prowadzi to do utraty nernstowskiej odpowiedzi [314].

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdzają, że GC-EJS- Pb^{2+}/o -NPOE, z jonoforem w postaci tioamidowej pochodnej p – tert – butylolaliks[4]arenu, mogą stanowić wiarygodne narzędzie analityczne w oznaczaniu śladowych ilości jonów ołowiu (II) w próbkach środowiskowych o wysokim stężeniu jonów przeszkadzających, takich jak: Na^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} i Mg^{2+} .

III.3.2. Pomiar jonów ołowiu (II) w syntetycznych próbkach zawierających wysokie stężenie jonów cynku

W celu zademonstrowania zdolności pomiarowych GC-EJS- Pb^{2+} opartych na jonoforze 25, 26, 27, 28 – tetrakis (piperydynotiokarbonylometylen) – p – tert – butylolaliks[4]aren, przeprowadzono analizę jonów Pb^{2+} w próbkach o wysokiej sile jonowej Zn^{2+} . Wybór matrycy próbki podyktowany był możliwością oznaczania jonów Pb^{2+} w minerałach cynku i ołowiu. W poprzednim badaniu (III.3.1) elektrody z plastyfikatorem *o*-NPOE, w stosunku do badanych jonów przeszkadzających, były bardziej niezawodne pod względem powtarzalności charakterystyki odpowiedzi oraz selektywności na jony Pb^{2+} , niż elektrody z plastyfikatorem DOS. Ze względu na korzystniejsze właściwości do badań wybrano elektrody GC-EJS- Pb^{2+}/o -NPOE.

Przygotowano pięć próbek syntetycznych zawierających stężenie $0,01 \text{ mol/dm}^3$ $Zn(NO_3)_2$, do których dodano znaną ilość $Pb(NO_3)_2$. Ostateczne stężenie jonów ołowiu (II)

wyznaczono za pomocą wybranych GC-EJS-Pb²⁺ oraz techniką ASA (procedura III.2.8). Wyniki otrzymane z ASA uznano za wartości referencyjne.

Krzywą kalibracji elektrod na Pb²⁺ wyznaczono w zakresie stężeń 10⁻⁶ – 10⁻⁴ mol/dm³ Pb²⁺ w obecności 0,01 mol/dm³ Zn(NO₃)₂ (matryca podobna jak w próbkach). Roztwory kalibracyjne zakwaszono kwasem azotanowym (V) do pH = 4. Otrzymana charakterystyka wyrażona była w funkcji log(c_{Pb}), ponieważ siła jonowa w tym przypadku utrzymywała się na stałym poziomie. Następnie, zbadano pięć próbek syntetycznych. Po każdej zmierzonej próbce elektrody płukano wodą dejonizowaną. W ostatnim etapie badań jeszcze raz powtórzono krzywą kalibracji. Czas pomiaru SEM każdego roztworu wynosił 5 minut. Zawartość jonów ołowiu (II) badanych próbek wyznaczono na podstawie średniej z dwóch kalibracji – wykonanych przed i po pomiarach. Wyniki przedstawiono w tabeli 3, a dla przejrzystości zastosowano jednostki charakterystyczne dla EJS [-log(c_{Pb})] oraz ASA [mg/dm³].

Tabela 3. Wyznaczone stężenia jonów Pb²⁺ w syntetycznych próbkach zawierających 0,01 mol/dm³ jonów Zn²⁺ za pomocą GC-EJS-Pb²⁺/o-NPOE oraz ASA.

Próbka	ASA	GC-EJS-Pb ²⁺ /o-NPOE	ASA	GC-EJS-Pb ²⁺ /o-NPOE
	pPb±U(k=2) (-logc _{Pb})	pPb±U(k=2) (-logc _{Pb})	C _{Pb} ±U(k=2) mg/dm ³	C _{Pb} ±U(k=2) mg/dm ³
1	5,436±0,037	5,391±0,033	0,760±0,032	0,842±0,063
2	4,210±0,010	4,144±0,021	12,78±0,12	14,87±0,72
3	5,77±0,11	5,699±0,045	0,352±0,045	0,414±0,043
4	4,607±0,047	4,596±0,023	5,12±0,28	5,25±0,28
5	5,241±0,067	5,256±0,032	1,189±0,091	1,149±0,085

Otrzymane wartości stężenia jonów ołowiu (II) w 5 próbkach syntetycznych za pomocą GC-EJS-Pb²⁺ z plastyfikatorem o-NPOE były podobne do wartości uzyskanych techniką ASA. Największą rozbieżność wyników zauważono dla próbki 2, w której zawartość jonów Pb²⁺ była największa. Różnica ta mogła być skutkiem 2-krotnego rozcieńczenia próbki przed pomiarem techniką ASA – wartość stężenia Pb²⁺ była poza zakresem kalibracji ASA. Na podstawie badań próbek syntetycznych, nie stwierdzono znaczącego wpływu jonów przeszkadzających (Zn²⁺) na pomiary jonów Pb²⁺ wykonanych za pomocą GC-EJS-Pb²⁺/o-NPOE.

III.3.3. Oznaczanie jonów ołowiu (II) w próbce złomu cynkowo-ołowiowego

Do analizy wykorzystano te same roztwory kalibracyjne, co w badaniu jonów Pb²⁺ w próbkach syntetycznych (punkt III.3.2). Kawałek cynkowo-ołowiowego złomu o masie 2,97913 g umieszczono w zlewce o pojemności 100 ml, a następnie wlało kilka mililitrów 65%

HNO₃ i pozostawiono na 12 godzin w celu całkowitego rozтворzenia metali. Po uzupełnieniu zlewki wodą dejonizowaną do objętości 100 ml, odmierzone 2 ml otrzymanego roztworu i 50-krotnie rozcieńczono w drugiej zlewce. Zmierzone pH rozcieńczonego roztworu zawierało się pomiędzy 1,2–1,3. Dla osiągnięcia pH = 4 (takiego samego pH jak roztworów kalibracyjnych) roztwór miareczkowano 0,06 mol/dm³ NaOH. Otrzymany roztwór poddano analizie pod względem zawartości jonów ołowiu (II) za pomocą GC-EJS-Pb²⁺ z plastyfikatorem *o*-NPOE i techniką ASA (procedura III.2.8). Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 4.

*Tabela 4. Wyznaczone stężenia jonów Pb²⁺ w próbce złomu cynkowo-ołowiowego za pomocą GC-EJS-Pb²⁺/*o*-NPOE oraz ASA.*

	pPb±U(k=2) (-logC _{Pb})*	C _{Pb} ±U(k=2) mg/dm ³ *	% ołowiu w próbce złomu
ASA	5,466±0,035	0,708±0,026	0,273±0,017
GC-EJS-Pb ²⁺	5,504±0,056	0,648±0,081	0,250±0,031

*wyznaczone w sporządzonym roztworze

Wyniki otrzymane dla próbki złomu za pomocą GC-EJS-Pb²⁺ i ASA były ze sobą bardzo zbliżone, mimo, że badany roztwór zawierał dodatkowo wysokie stężenie jonów sodu (0,03 mol/dm³) – dodanych podczas miareczkowania próbki, a także śladowe stężenia innych metali. Obliczona na podstawie wyników procentowa zawartość ołowiu w złomie wyniosła odpowiednio: 0,250±0,031% (GC-EJS-Pb²⁺) i 0,273±0,017% (ASA). Prezentowane wyniki potwierdziły możliwość stosowania czujników GC-EJS-Pb²⁺/*o*-NPOE do oznaczania jonów ołowiu (II) w próbkach o wysokim stężeniu jonów przeszkadzających. Zgodność wyników, w tak trudnych warunkach, osiągnięto stosując wysoko selektywny jonofor na jony Pb²⁺ w postaci tioamidowej pochodnej p – tert – butylokaliks[4]arenu. Na podstawie wyników udowodniono, że w tego typu próbkach, zamiast bardziej skomplikowanych i dużo droższych technik pomiarowych (np. ICP-MS lub ASA), z powodzeniem można stosować EJS.

Kopalnie rud cynku i ołowiu, ze względu na swój wydobywczy charakter, stanowią poważne zagrożenie dla otaczającego środowiska. Zatem, ciągły nadzór nad migracją Pb²⁺ jest niezwykle istotny. Wykorzystując fakt, że toksyczność metali wiąże się z ich stężeniem w postaci kationowej [226], możliwa jest bezpośrednia ocena stopnia skażenia wód i gleb, będących w otoczeniu kopalni. EJS-Pb²⁺/*o*-NPOE z zastosowanym jonoforem byłoby dobrym narzędziem do monitorowania bardzo niskich stężeń ołowiu w warunkach *in-situ*. Monitoring tego typu powinien być prowadzony zarówno dla aktywnych, jak i już zamkniętych kopalni.

Ponadto, czujniki te mogłyby być stosowane również do określania zawartości ołowiu we wstępnie skoncentrowanej frakcji rudy cynku lub ołowiu (po wstępnej obróbce próbki).

III.3.4. Wykonanie miniaturowych elektrod Pb^{2+} -selektywnych opartych na graficie

Pomysł na wykorzystanie potencjału, jaki niesie ze sobą miniaturyzacja, oparto na graficie stosowanym w ogólnodostępnych materiałach. Wybór materiału podyktowany był ideą skonstruowania prostego, taniego i dobrze funkcjonującego czujnika selektywnego na jony Pb^{2+} , który mógłby być umieszczony np. w platformie wieloczujnikowej. Pracę rozpoczęto od wykonania miniaturowych EJS, co pozwoliło nabrać umiejętności i warsztatu w konstruowaniu czujników opartych na graficie. Praktyka ta, stanowiła preludeum do opracowania wieloczujnikowej platformy potencjometrycznej (WPP) własnej konstrukcji.

Jako podłoże EJS zastosowano powszechnie dostępne w handlu grafitowe pręciki stosowane w ołówkach automatycznych o średnicy 0,5 mm i twardości HB (zdjęcie 8). Grafit, ze względu na swoje właściwości przewodzące, jest z powodzeniem stosowany w niektórych EJS – np. do produkcji elektrod sitodrukowanych. Jednak, nie jest on tak trwały i odporny mechanicznie jak szeroko stosowany węgiel szklisty. Mimo to, ze względu na łatwą dostępność i niski koszt zakupu, może okazać się dobrym materiałem zamiennym w niektórych zastosowaniach.

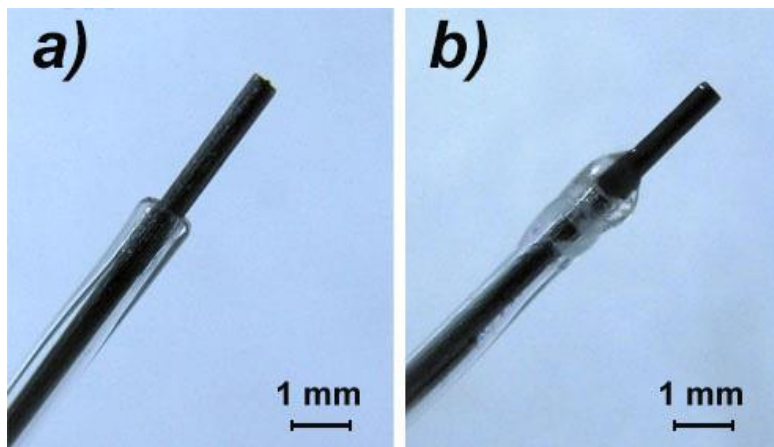


Zdjęcie 8. Komercyjne pręciki grafitowe użyte do badań.

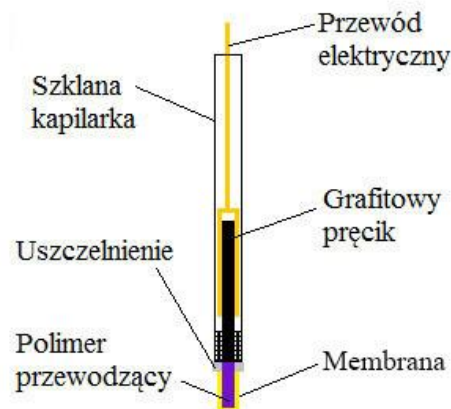
Budowę EJS rozpoczęto od umieszczenia grafitowych pręcików w szklanych rurkach (kapilarkach). Koniec rurki ogrzano nad palnikiem gazowym, w skutek czego rurka zwężyła się do średnicy pręcika (zdjęcie 9a). Czynność ta pozwoliła połączyć ze sobą oba elementy i wstępnie uszczelnić przestrzeń między materiałami.

Wnikanie roztworu do wnętrza elektrody wyeliminowano stosując dodatkowe uszczelnienie w miejscu ogrzanej rurki. Materiałem uszczelniającym był polioctan winylu otrzymany metodą polimeryzacji octanu winylu w świetle UV, w obecności fotoinicjatora DMPP. Przewodzenie elektronowe zapewniał miedziany drucik wciśnięty z drugiej strony rurki

w przestrzeń między szkłem a grafitem. Wystający odcinek pręcika grafitowego pokryto gotową zawiesiną polimeru przewodzącego PEDOT(PSS). Następnie po 4 godzinach zanurzano go 5-krotnie, w odstępach co 5 sekund, w koktajlu membrany o składzie podanym w tabeli 1/A. Przygotowaną elektrodę pozostawiono na ok. 12 godzin – zdjęcie 9b. W ten sposób przygotowano trzy sztuki EJS, których schemat konstrukcji przedstawia rysunek 24.

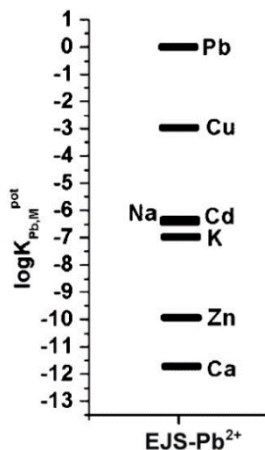


Zdjęcie 9. Elektroda grafitowa: a) po ogrzaniu nad palnikiem gazowym, b) C/PEDOT(PSS)/MJS-Pb.



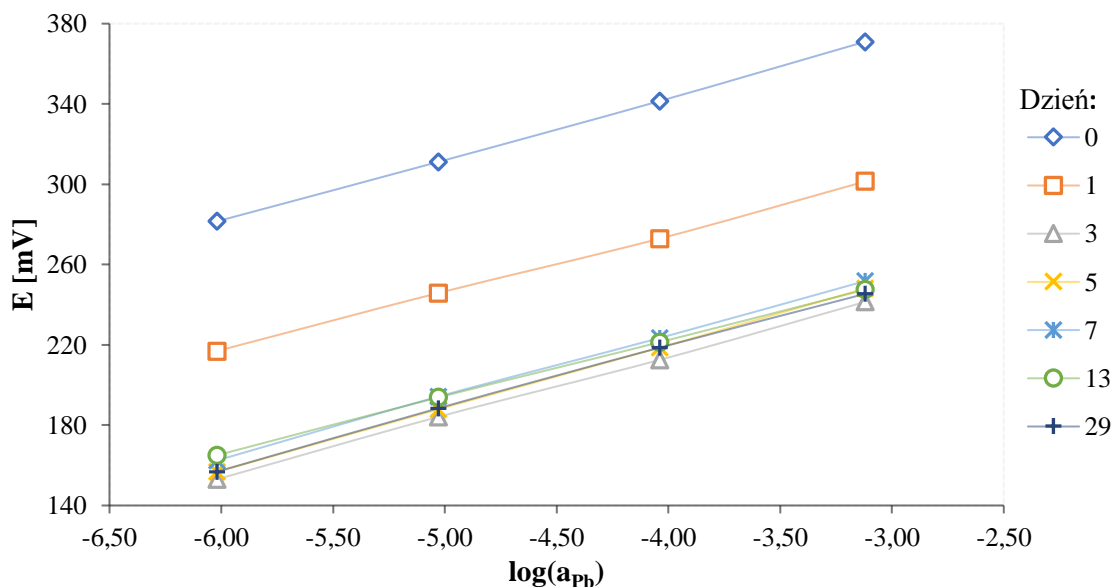
Rysunek 24. Schemat konstrukcji grafitowej EJS.

Współczynniki selektywności wyznaczono metodą SSM według procedury opisanej w punkcie III.2.7, a ich graficzny rozkład dla wybranej EJS przedstawiono na rysunku 25. Uzyskane wartości K_{IJ}^{pot} były wyższe (gorsze) w porównaniu do tych otrzymanych dla GC-EJS-Pb²⁺ z plastyfikatorem *o*-NPOE opartych na komercyjnych konstrukcjach z węglem szklistym (patrz rysunek 23). Niemniej jednak, wartości te były dobre biorąc pod uwagę możliwość zastosowania takich EJS w oznaczaniu Pb²⁺ w roztworach o wysokiej sile jonowej badanych kationów.

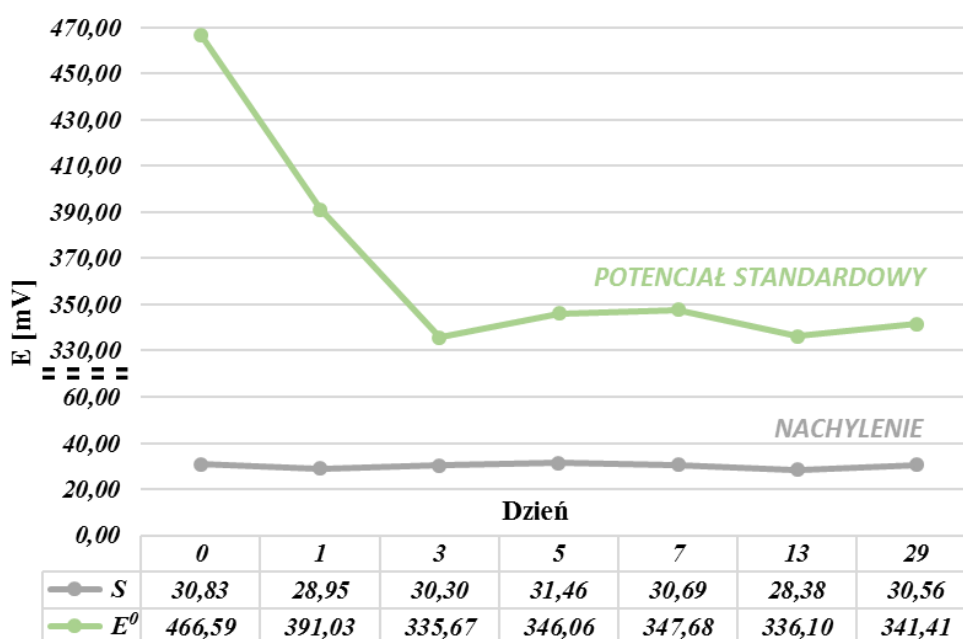


Rysunek 25. Diagram selektywności wykonanej grafitowej EJS-Pb²⁺.

Dlatego też, przeprowadzono badanie powtarzalności kalibracji wybranej grafitowej EJS-Pb²⁺ metodą 10-krotnego rozcieńczania (punkt III.2.6) w okresie 29 dni. Badany zakres stężeń wynosił od 10⁻³ do 10⁻⁶ mol/dm³ jonów Pb²⁺. Po tym okresie otrzymano siedem charakterystyk po 1, 3, 5, 7, 13 i 29 dobie, które zestawiono razem na wykresie 2, a wartości *S* i *E*⁰ każdej z nich porównano na wykresie 3.



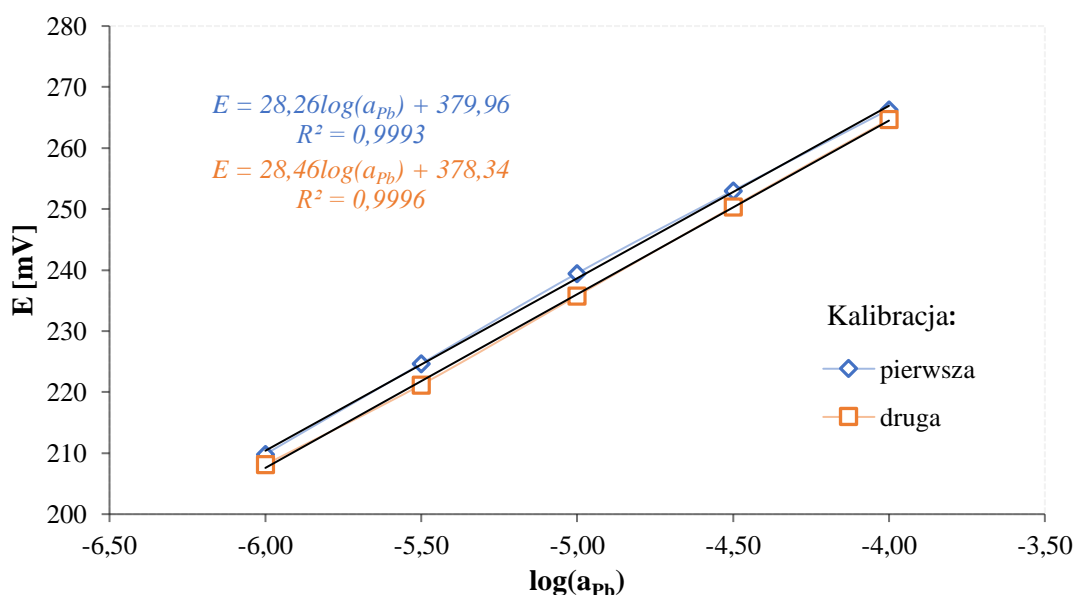
Wykres 2. Otrzymane charakterystyki odpowiedzi grafitowej EJS-Pb²⁺ na jony ołowiu (II) w badaniu powtarzalności.



Wykres 3. Wartości nachylenia (*S*) i potencjału standardowego (*E*⁰) grafitowej EJS-Pb²⁺ w badaniu powtarzalności odpowiedzi na jony ołowiu (II).

Zaprezentowane badania wykazały, że długoterminowa stabilność nachylenia jest znacznie lepsza niż potencjału standardowego. W tego typu elektrodach (ze stałym kontaktem) są to typowe trendy tych parametrów [82, 314]. Wartości nachylenia w całym okresie badania mieściły się w granicach 28,38–31,46 mV/dek, których średnia arytmetyczna wyniosła $30,17 \pm 1,02$ mV/dek. Początkowo odnotowano dość gwałtowny spadek potencjału standardowego w pierwszych 3 dobach. Opierając się na danych pomiarowych w pierwszej dobie zaobserwowano dryft E^0 wynoszący średnio $-3,15$ mV/h, zaś w kolejnych dwóch dobach $-1,15$ mV/h. Od 3 do 29 doby dryft potencjału standardowego był już znacznie łagodniejszy, a średnia wartość E^0 w tym okresie wyniosła $341,38 \pm 4,94$ mV.

Inną elektrodę, tej samej konstrukcji, włączono równolegle do badań oznaczania jonów ołowiu (II) w syntetycznych próbkach o wysokiej sile jonowej Zn^{2+} . W tym celu elektrodę kondycjonowano przez dobę w 10^{-4} mol/dm³ $Pb(NO_3)_2$. Badanie przebiegało zgodnie z procedurą opisaną w punkcie III.3.2. Obie krzywe kalibracji przedstawia wykres 4.



Wykres 4. Krzywe kalibracji grafitowej EJS dla jonów Pb^{2+} w $0,01$ mol/dm³ Zn^{2+} .

Wyniki uzyskane za pomocą ASA uznano za wartości referencyjne, dlatego w tabeli 5 zestawiono i porównano rezultaty z ASA, grafitowej EJS- Pb^{2+} oraz GC-EJS- Pb^{2+}/o -NPOE stosowanych w tym samym badaniu (punkt III.3.2). Oba rodzaje elektrod (grafitowe i z węglem szklistym) posiadały membrany o tym samym składzie (tabela 1/A).

Tabela 5. Stężenie jonów Pb²⁺ wyznaczone za pomocą ASA (referencyjnie), grafitowej EJS-Pb²⁺ oraz GC-EJS-Pb²⁺/o-NPOE w próbkach zawierających 0,01 mol/dm³ Zn²⁺.

Próbka	ASA pPb±U(k=2) (-logC _{Pb})	Grafitowa EJS-Pb ²⁺ pPb±U(k=2) (-logC _{Pb})	GC-EJS-Pb ²⁺ /o-NPOE pPb±U(k=2) (-logC _{Pb})
1	5,436±0,037	5,410±0,048	5,391±0,033
2	4,210±0,010	4,035±0,043	4,144±0,021
3	5,77±0,11	5,622±0,048	5,699±0,045
4	4,607±0,047	4,579±0,045	4,596±0,023
5	5,241±0,067	5,303±0,047	5,256±0,032

Próbka	ASA C _{Pb} ±U(k=2) mg/dm ³	Grafitowa EJS-Pb ²⁺ C _{Pb} ±U(k=2) mg/dm ³	GC-EJS-Pb ²⁺ /o-NPOE C _{Pb} ±U(k=2) mg/dm ³
1	0,760±0,032	0,811±0,089	0,842±0,063
2	12,78±0,12	19,21±1,89	14,87±0,72
3	0,352±0,045	0,498±0,055	0,414±0,043
4	5,12±0,28	5,49±0,56	5,25±0,28
5	1,189±0,091	1,04±0,11	1,149±0,085

Wyniki oznaczeń grafitowej EJS-Pb²⁺ w porównaniu do wyników z ASA były zbliżone. Największą różnicę zanotowano dla próbek o największym i najmniejszym stężeniu jonów ołowiu (II) – oznaczonych jako 2 i 3. Wartości uzyskane z ASA dla tych próbek wyniosły odpowiednio: 12,78±0,12 i 0,352±0,045 mg/dm³, a dla grafitowej elektrody: 19,21±1,89 i 0,498±0,055 mg/dm³, dając wobec tego rozbieżność wyników rzędu: +6,43 mg/dm³ (próbka 2) i +0,146 mg/dm³ (próbka 3) w stosunku do wartości referencyjnych. Natomiast, porównanie rezultatów elektrod o różnej konstrukcji dla tych samych próbek dało wzrost wartości o +4,34 mg/dm³ (próbka 2) i +0,084 mg/dm³ (próbka 3) mierząc elektrodą grafitową. Najmniejszą różnicę wartości odnotowano dla próbki 1 podczas badania elektrodą grafitową EJS-Pb²⁺ i techniką ASA, gdzie różnica wynosiła +0,051 mg/dm³. Dla tej próbki GC-EJS-Pb²⁺ miały większe odchylenie standardowe od wartości z ASA, które wynosiło +0,082 mg/dm³. Pomiędzy elektrodami różnica ta wyniosła zaledwie 0,031 mg/dm³. Rozbieżność wyników grafitowej EJS-Pb²⁺ w stosunku do wartości z ASA dla próbek 4 i 5 wyniosły odpowiednio: +0,37 i -0,149 mg/dm³, a w porównaniu do GC-EJS: +0,24 i -0,109 mg/dm³.

Do budowy elektrod wykorzystano grafit o twardości HB. Producenci pręcików grafitowych w swojej technologii produkcji stosują różne mieszanki grafitu ze składnikami takimi, jak: kaolin, żywica syntetyczna, polimery czy inne odmiany węgla. W zależności od mieszanki otrzymują bardziej elastyczne i wytrzymałe produkty o różnej twardości.

Zastosowanie pręcików grafitowych o innej twardości (innej mieszance) być może wpłynęłoby na nieco inny przebieg charakterystyki odpowiedzi na jony ołowiu (II), ze względu na możliwość zmiany przewodności elektronów oraz pogorszenia lub polepszenia się adhezji polimeru przewodzącego do powierzchni danej mieszanki. Zaprezentowane elektrody grafitowe charakteryzują się nieskomplikowaną budową i bardzo niskim kosztem produkcji. Ponadto, aplikacja gotowej zawiesiny PEDOT(PSS) pozwoliła uniknąć stosowania zaawansowanej aparatury w postaci galwanostatu/potencjostatu. Dodatkowo, obniżono opór elektryczny membrany zwiększając powierzchnię użytkową grafitowych elektrod, poprzez wysunięcie pręcika grafitowego ze szklanej kapilarki na długość 3 mm. Mimo prostoty wykonania EJS-Pb²⁺, osiągnięto zamierzony stopień miniaturyzacji.

Badanie stabilności parametrów w okresie 29 dni wykazało relatywnie dobrą stabilność nachylenia w czasie. Natomiast, dryft potencjału standardowego w pierwszych trzech dobach był dość gwałtowny, przechodząc później w bardziej łagodne trendy zmian. Na podstawie badania stwierdzono, że częsta kalibracja czujnika dostarcza wiarygodnych wyników oznaczeń ołowiu (II) w próbkach wodnych. Wykonane grafitowe EJS-Pb²⁺ zastosowano do szybkiej i bezpośredniej analizy jonów Pb²⁺ w próbkach zawierających wysokie stężenie jonów cynku (0,01 mol/dm³). Rezultat badań dowiódł możliwość zastosowania grafitowych elektrod w tym konkretnym przypadku. Uzyskane wartości były zbliżone do wyników z ASA, choć pojawiły się pewne rozbieżności. Większą zbieżność wartości osiągnięto porównując wyniki grafitowej EJS-Pb²⁺ i GC-EJS-Pb²⁺.

Wykazano, że zaprojektowane i wykonane miniaturowe elektrody mogą być prostą i bardzo tanią alternatywą w niektórych zastosowaniach. Pomiar śladowych ilości Pb²⁺ w syntetycznych próbkach wodnych z użyciem grafitowej elektrody był możliwy.

III.3.5. Potencjometryczny układ wykonany w technologii *All-Solid-State* do oznaczania jonów ołowiu (II)

Celem tej części pracy było zebranie doświadczenia w budowaniu elektrod zarówno EJS, jak i EO w technologii *All-Solid-State*, które później posłużyło do opracowania wieloczujnikowej platformy potencjometrycznej. Działania skupiły się na zaprojektowaniu i wykonaniu układu pomiarowego w technologii ASS, dając możliwość wstępnej oceny wykonalności tego typu układu we własnym zakresie. Wobec powyższego zadania przyjęto założenie, że projektowany układ będzie się składał z EJS na bazie GC, zaś EO zostanie wykonana metodą rozproszonej soli w polimerze.

III.3.5.1. Wykonanie jonoselektywnej elektrody pomiarowej

Pręcik z węgla szklistego o średnicy 3 mm przecięto precyzyjną tarczą diamentową tak, aby otrzymać kawałek walca o długości 2 mm. Otrzymany dysk GC wsunięto do polipropylenowej rurki o średnicy zewnętrznej 5 mm i połączono za pomocą kleju epoksydowego. Z drugiej strony rurki wsunięto metalową sprężynkę, którą dociśnięto miedzianym korkiem z wyprowadzonym przewodem. W ten sposób, lekko naprężona sprężynka zapewniała elektryczny kontakt GC z miedzianym przewodem podłączonym do miliwoltomierza. Powierzchnię elektrody przygotowano według procedury III.2.1 otrzymując gładką powierzchnię węgla szklistego – [zdjęcie 10](#).



Zdjęcie 10. Powierzchnia elektrody pomiarowej według procedury III.2.1.

Rolę przetwornika jonowo-elektronowego pełnił polimer przewodzący, którego warstewkę otrzymano zwilżając powierzchnię GC kroplą gotowej zawiesiny PEDOT(PSS). Następnego dnia nakropiono gotowy koktajl membrany 2-krotnie po 16 μl (w 10-minutowym odstępie), którego skład podano w [tabeli 1/A](#). Gotową elektrodę kondycjonowano około doby w roztworze 10^{-4} mol/dm³ Pb(NO₃)₂.

III.3.5.2. Wykonanie elektrody odniesienia

Elektrodę odniesienia wykonano w technologii *All-Solid-State* stosując metodę zdyspergowanej soli w polimerze – w tym przypadku KCl w polioctanie winylu. Procedurę wykonania elektrody opisano w punkcie III.2.5. Obudowę stanowiła szklana fiolka z odciętym dnem o objętości 2 ml, a elektrodę wewnętrzną stanowił drucik Ag/AgCl o średnicy 2 mm.

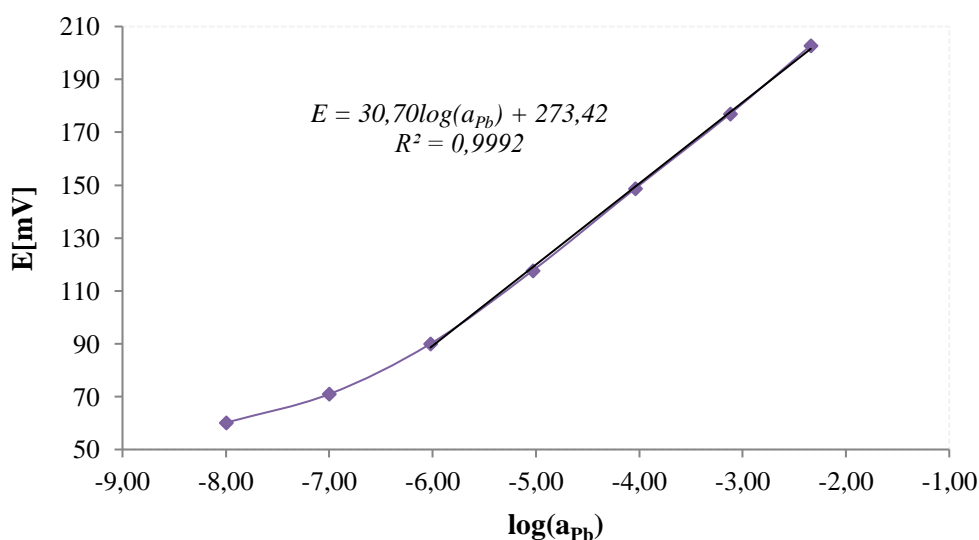
Otrzymałą elektrodę odniesienia kondycjonowano około doby w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$. Wykonaną EO przedstawia [zdjęcie 11](#).



Zdjęcie 11. Elektroda odniesienia w technologii ASS.

III.3.5.3. Badanie wykonanego układu pomiarowego

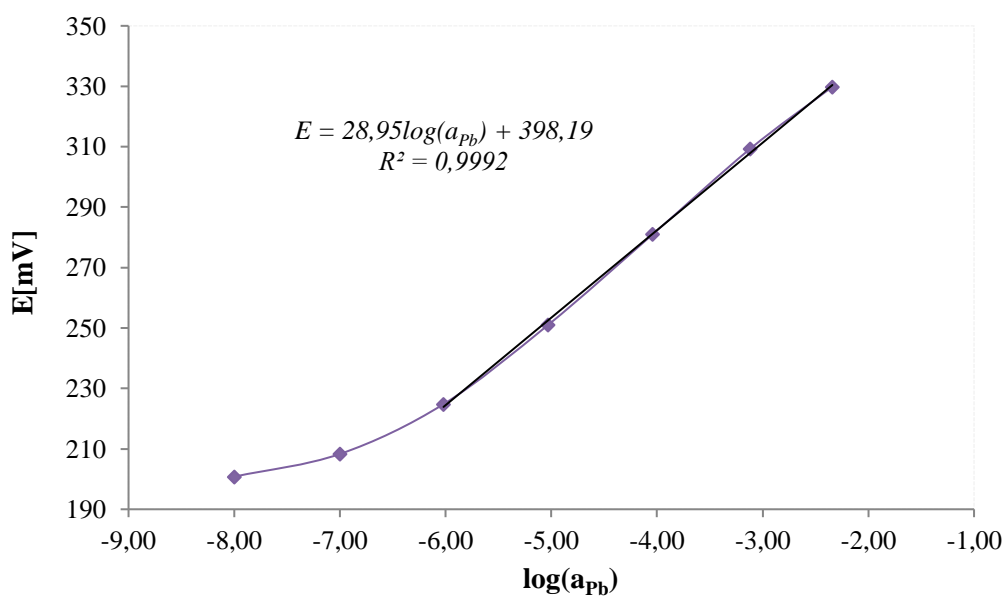
Układ pomiarowy składał się z EJS i EO wykonanych we własnym zakresie. Do celów porównawczych wykorzystano jedną GC-EJS-Pb²⁺/o-NPOE, przygotowaną do badań opisanych w punkcie [III.3.2](#). Wybór tej elektrody podyktowany był takim samym składem MJS oraz podobieństwem konstrukcji opartej na GC, w stosunku do samodzielnie wykonanej EJS-Pb²⁺. Pracę układu pomiarowego sprawdzono wyznaczając charakterystyki odpowiedzi na jony ołowiu (II), zgodnie z procedurą opisaną w punkcie [III.2.6](#) w zakresie stężeń od 10^{-2} do $10^{-8} \text{ mol/dm}^3 \text{ Pb}^{2+}$. W pierwszym wariancie oceniono działanie wykonanej elektrody pomiarowej (EJS-Pb²⁺) względem klasycznej elektrody odniesienia (Moeller), a otrzymaną charakterystykę przedstawiono na [wykresie 5](#).



Wykres 5. Charakterystyka odpowiedzi na jony ołowiu (II) wykonanej EJS-Pb²⁺ względem klasycznej elektrody odniesienia.

Uzyskano krzywą odpowiedzi zbliżoną do linii nernstowskiej w zakresie stężeń od 10^{-2} do 10^{-6} mol/dm³ Pb²⁺. Otrzymana wartość nachylenia wynosiła 30,70 mV/dek. Wynik ten wstępnie potwierdził działanie wykonanej elektrody pomiarowej.

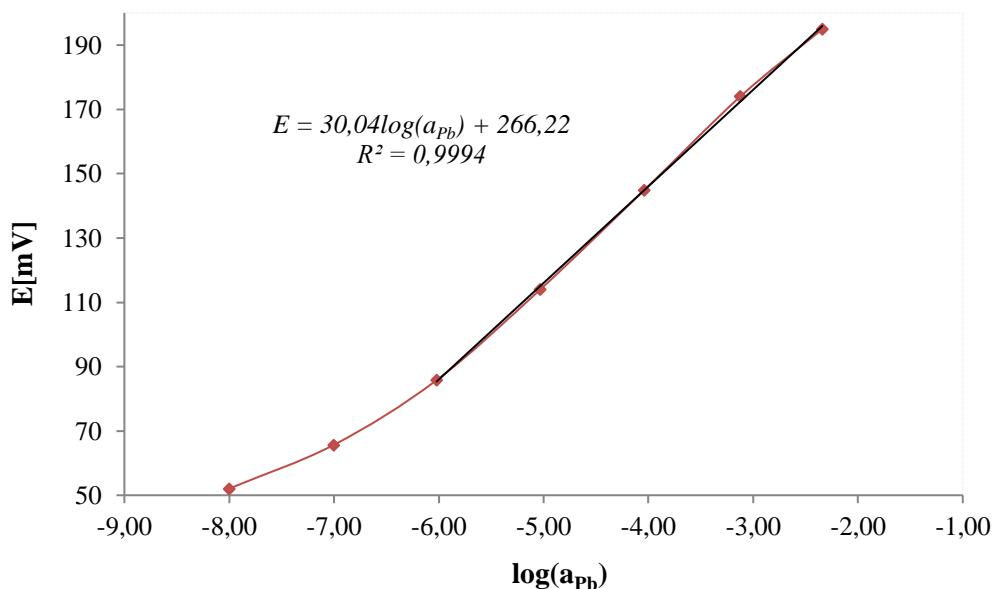
Drugi wariant obejmował ocenę wykonanej elektrody odniesienia względem komercyjnej konstrukcji (Mineral) GC-EJS-Pb²⁺/o-NPOE. Charakterystykę przedstawiono na [wykresie 6](#).



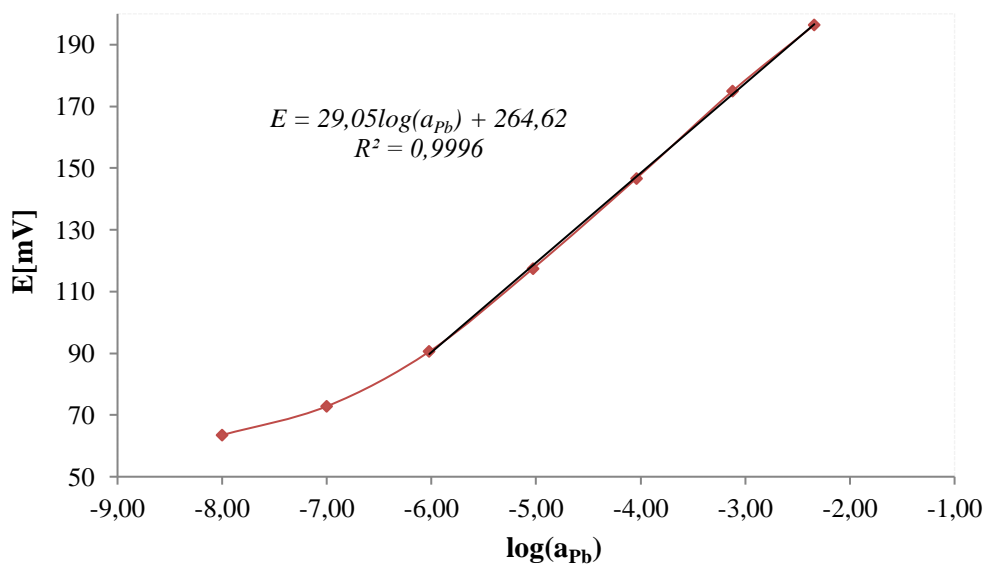
Wykres 6. Charakterystyka odpowiedzi na jony ołowiu (II) GC-EJS-Pb²⁺/o-NPOE względem wykonanej elektrody odniesienia.

Krzywa odpowiedzi, podobnie jak w poprzednim badaniu, charakteryzowała się liniowym zakresem stężeń od 10^{-2} do 10^{-6} mol/dm³ Pb²⁺. Nachylenie wynoszące 28,95 mV/dek. było bliższe nernstowskiej odpowiedzi, niż to osiągnięte w poprzednim układzie. Zanotowano również wyraźną zmianę wartości potencjału standardowego, która skutkowałą przesunięciem całej charakterystyki w górę o 124,77 mV, w porównaniu do poprzedniej krzywej odpowiedzi. Różnica ta, zapewne głównie była konsekwencją użycia innego układu pomiarowego, charakteryzującego się innymi wartościami potencjałów międzyfazowych, zmieniając tym samym mierzone wartości SEM.

Ostatnim etapem badań było sprawdzenie pracy całego układu pomiarowego wykonanego w technologii ASS. Pomiary stężenia jonów Pb²⁺ zrealizowano jak poprzednio. Badanie dodatkowo powtórzono po 48 godzinach. Wyniki przedstawiono na [wykresach 7 i 8](#).



Wykres 7. Charakterystyka odpowiedzi na jony Pb^{2+} wykonanego układu pomiarowego.

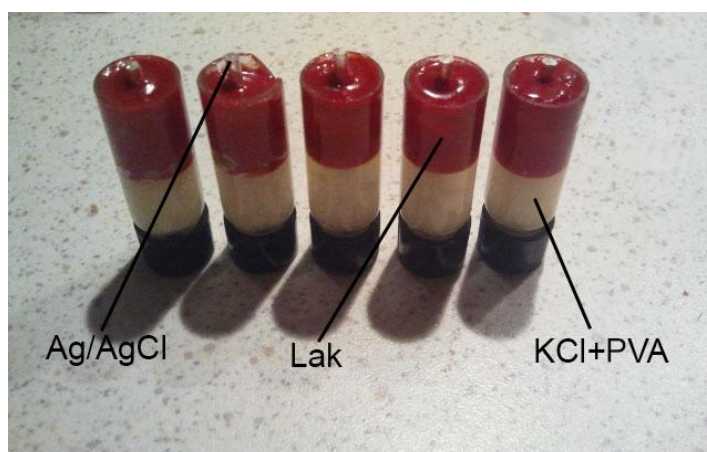


Wykres 8. Charakterystyka odpowiedzi na jony Pb^{2+} wykonanego układu pomiarowego po 48 godzinach.

Obie charakterystyki utrzymywały zbliżoną odpowiedź nernstowska w zakresie stężeń od 10^{-2} do 10^{-6} mol/dm³ Pb^{2+} . Otrzymane nachylenia wyniosły odpowiednio: 30,04 i 29,05 mV/dek., a potencjały standardowe: 266,22 i 264,62 mV.

Porównując otrzymane charakterystyki SEM EJS dla różnych wariantów układu pomiarowego, stwierdzono duże podobieństwo ich przebiegu. Wszystkie wykazywały liniową odpowiedź w zakresie stężeń od 10^{-2} do 10^{-6} mol/dm³ Pb^{2+} i podobną czułość mieszczącą się w granicach 28,95–30,70 mV/dek. dając średnie nachylenie $29,69 \pm 0,72$ mV/dek.

Analiza wyników wykazała, że odpowiedź zarówno wykonanej EJS-Pb²⁺, jak i GC-EJS-Pb²⁺/o-NPOE jest bardzo podobna. Charakterystyki obu elektrod były zbliżone do odpowiedzi nernstowskiej w zakresie 10⁻²–10⁻⁶ mol/dm³ Pb²⁺. Podobną prawidłowość zauważono analizując wyniki otrzymane dla układu pomiarowego wykonanego w pełni w technologii ASS. Na tej podstawie wyciągnięto ogólny wniosek, że próba wykonania elektrody odniesienia w technologii ASS powiodła się, a cały układ pomiarowy pracuje prawidłowo. Jednakże, do pełniejszej oceny należałoby dodatkowo zbadać czas użyteczności (żywoćności) opisanego układu, a także stopień wyciekania elektrolitu z elektrody odniesienia do badanych roztworów. Obudowę EJS stanowiła polipropylenowa rurka, chociaż zastosowanie PCW prawdopodobnie zapewniłoby lepsze zespolenie obudowy z membraną PCW, z uwagi na ten sam polimer. Zauważono również, że woda wnikaćca w elektrodę odniesienia powoduje z czasem wykrystalizowanie soli na druciku Ag w bliskim sąsiedztwie przewodu łączącego ją z miliwoltomierzem. Wynoszenie soli z głębi EO prawdopodobnie skraca czas jej użyteczności. Elektrodę EO można zabezpieczyć np. wypełniając lakiem wewnętrzną przestrzeń nad elektrodą – [zdjęcie 12](#).



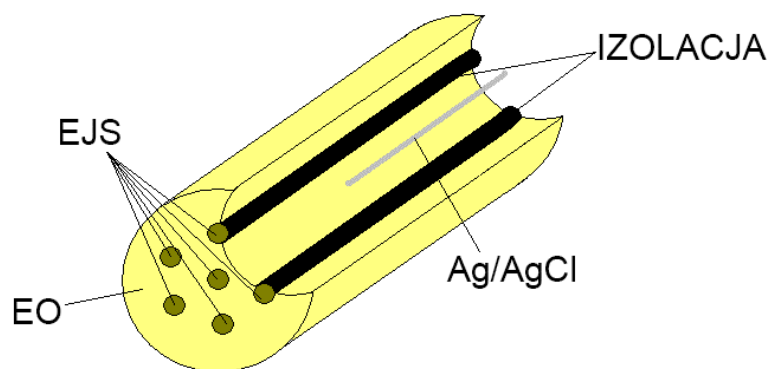
Zdjęcie 12. Przykładowy sposób zabezpieczenia EO przed krystalizacją soli na druciku Ag.

Skonstruowany układ pomiarowy był jedynie wstępnym sprawdzianem możliwości wykonywania tego typu instrumentów analitycznych, ale w pewnym stopniu nakreślił sposób realizacji bardziej złożonego układu jakim jest wieloczułnikowa platforma potencjometryczna.

III.4. WieloczuJNIKOWA platforma potencjometryczna typu *All-Solid-State* do oznaczania kilku jonów w pocie ludzkim

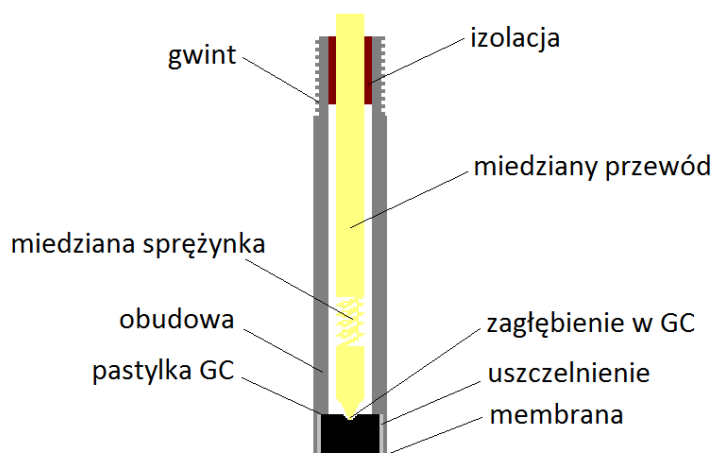
III.4.1. Opis wykonania wieloczuJNIKOWEJ platformy potencjometrycznej

Z uwagi na złożoność czynności jakie należało wykonać, aby zbudować wieloczuJNIKOWĄ platformę ASS, pracę podzielono na kilka etapów. Wstępnie zaprojektowano schemat konstrukcji WPP przedstawionej na [rysunku 26](#), na podstawie którego planowano zrealizować cel.



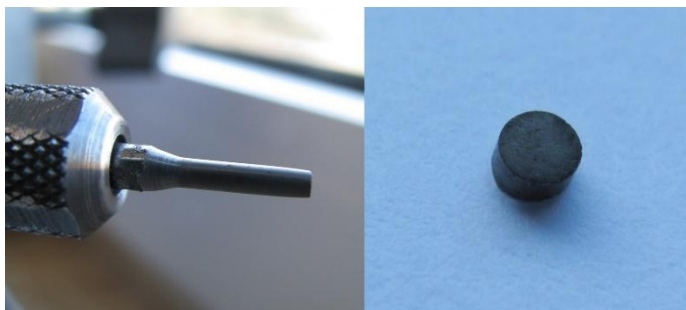
Rysunek 26. Schemat zaproponowanej platformy wieloczuJNIKOWEJ.

Na schemacie powyżej pojedyncza EJS miała być utworzona z pręcika węgla szklanego o długości podobnej do długości platformy i zabezpieczonego odpowiednio dobraną izolacją. Ze względów ekonomicznych, konstrukcja EJS została zmodyfikowana tak, aby węgiel szklany znajdował się tylko na „czole” elektrody w postaci pastylki – [rysunek 27](#).



Rysunek 27. Schemat konstrukcji pojedynczej EJS.

Wykonanie platformy wieloczułnikowej rozpoczęto od mechanicznej obróbki pręcika GC. W celu pomniejszenia rozmiarów całego układu pomiarowego, dostępne pręciki o średnicy 3 mm, zmniejszono do średnicy 1,8 mm. Dokonano tego za pomocą mini-wiertarki umieszczając pręcik w tulei mocującej i stopniowo szlifując go w czasie obracania. Za pomocą precyzyjnej tarczy diamentowej pręcik pocięto na dyski o grubości około 1 mm. Etap ten pokazano na [zdjęciu 13](#).



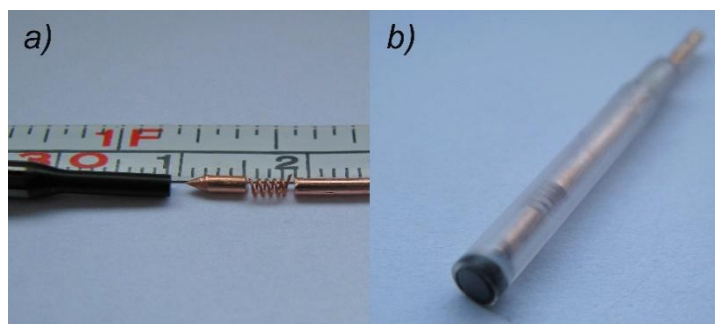
Zdjęcie 13. Obróbka pręcika z węgla szklanego do postaci dysku.

Następnie przystąpiono do formowania obudowy elektrod pomiarowych z tworzywa sztucznego. Wykorzystano do tego rurki z polichloru winylu, które pocięto na odcinki po 25 mm. W celu umieszczenia dysku z węgla szklanego, każdą rurkę rozwiercano z jednej strony. Natomiast, drugą stronę rurek nagwintowano, aby wkręcić je w podstawę modułu EJS – [zdjęcie 14](#).



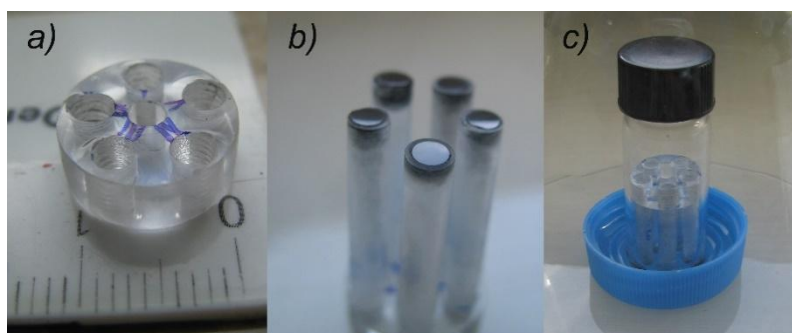
Zdjęcie 14. Przygotowanie obudowy elektrod pomiarowych.

Połączenie elektryczne zapewnił umieszczony wewnątrz obudowy miedziany przewodnik, składający się ze stożkowej główki, sprężynki i drucika – [zdjęcie 15a](#). Na środku dysku z węgla szklanego wydrążono małe zagłębienie tak, aby zapadła się w nim główka miedzianego stożka ([rysunek 27](#)). Dysk GC z obudową połączono klejem epoksydowym, co również spełniało funkcję uszczelnienia. Gotową elektrodę pomiarową przedstawia [zdjęcie 15b](#).



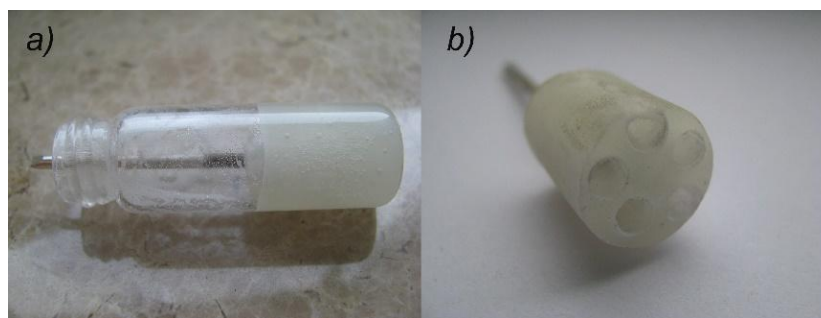
Zdjęcie 15. Konstrukcja: a) połączenia elektrycznego, b) pojedynczej elektrody pomiarowej.

Kolejnym etapem było złożenie modułu składającego się z 5 elektrod jonoselektywnych. Podstawę modułu wykonano z polimetakrylanu metylu (PMMA). Jej kształt uzyskano poprzez odpowiednią obróbkę mechaniczną (zdjęcie 16a). Do gotowej podstawy wkręcono elektrody (zdjęcie 16b). Otrzymany moduł EJS poddano testowi szczelności, zanurzając końce elektrod pomiarowych w alkoholu etylowym (zdjęcie 16c). Mniejsze napięcie powierzchniowe alkoholu w stosunku do wody, pozwoliło przeprowadzić test w bardziej rygorystycznych warunkach niż docelowe warunki pracy platformy. Test trwał dobę, w tym czasie nie zauważono żadnych nieszczelności.



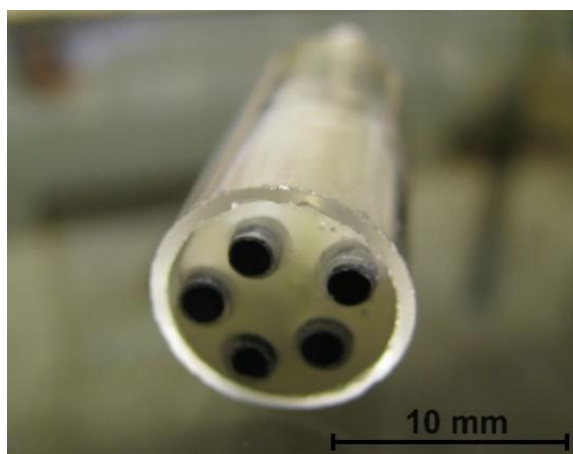
Zdjęcie 16. Moduł elektrod jonoselektywnych: a) podstawa EJS, b) moduł EJS, c) test szczelności.

Elektrodę odniesienia wykonano według procedury III.2.5. Jako formę do utworzenia kształtu EO zastosowano szklaną fiolkę o objętości 2ml. Zdjęcie 17a przedstawia elektrodę odniesienia przed obróbką. Ze względu na trudności w oddzieleniu szklanej formy od elektrody, całą fiolkę zeszlifowano. Następnie wywiercono otwory w uformowanej EO tak, aby można było wsunąć w nią moduł elektrod pomiarowych – zdjęcie 17b.



Zdjęcie 17. Elektroda odniesienia All-Solid-State: a) przed obróbką, b) po obróbce.

Po umieszczeniu modułu EJS w elektrodzie odniesienia, a także po nałożeniu docelowej szklanej obudowy ochronnej i przylutowaniu miedzianych obwodów, otrzymano gotową wieloczujnikową platformę potencjometryczną przedstawioną na [zdjęciu 18](#).



Zdjęcie 18. Wieloczujnikowa platforma potencjometryczna.

III.4.2. Przygotowanie elektrod jonoselektywnych

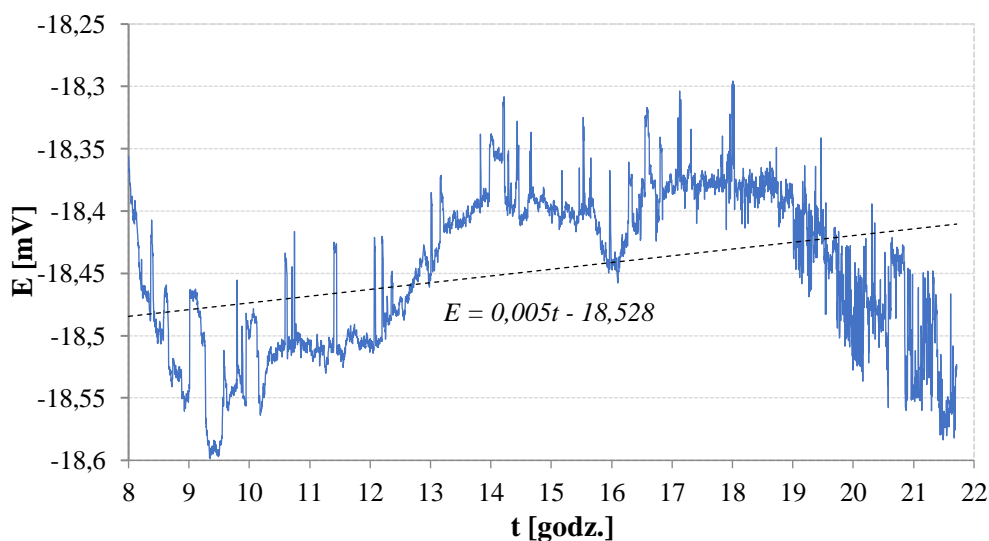
Pracę rozpoczęto od przygotowania powierzchni EJS zgodnie z procedurą [III.2.1](#). Następnie na powierzchnię węgla szklanego nałożono polimer przewodzący w postaci gotowej zawiesiny PEDOT(PSS). Po upływie doby, za pomocą szklanej kapilary, nałożono odpowiednie membrany 2-krotnie po 3 μl (w 5-minutowym odstępie), których składy pokazano w [tabeli 1/B-D](#). Do badań wybrano jonofory selektywne na jony Na^+ , K^+ i Ca^{2+} . Na koniec, elektrody pozostawiono na 12 godzin pod przykryciem w celu odparowania rozpuszczalnika. W rezultacie otrzymano po dwie elektrody czułe na jony Na^+ i K^+ oraz jedną na jony Ca^{2+} .

III.4.3. Badanie wykonanej elektrody odniesienia

Prawidłowa praca układu pomiarowego zależy między innymi od stabilności elektrody odniesienia. Dlatego też, podczas kondycjonowania zmierzono jej stabilność względem komercyjnie dostępnej elektrody odniesienia ORION 800500U. Cały przebieg kondycjonowania przedstawiono na wykresie 9. Natomiast, po ustabilizowaniu się potencjału, ostatnie 14 godzin pokazano na wykresie 10.



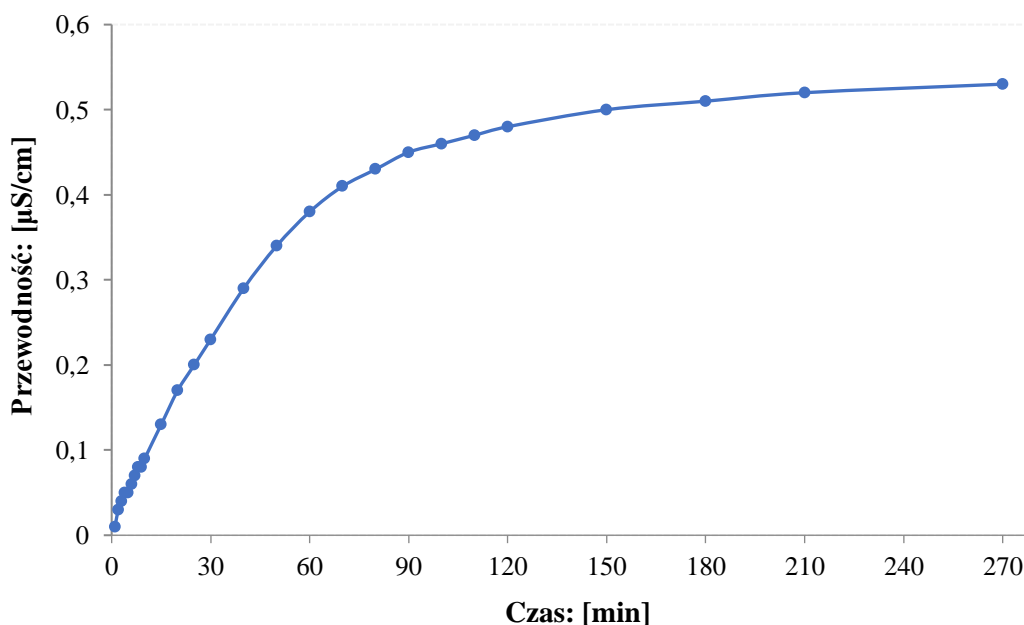
Wykres 9. Pomiar stabilności podczas kondycjonowania wykonanej elektrody odniesienia względem ORION 800500U.



Wykres 10. Pomiar stabilności podczas kondycjonowania wykonanej elektrody odniesienia względem ORION 800500U – ostatnie 14 godzin.

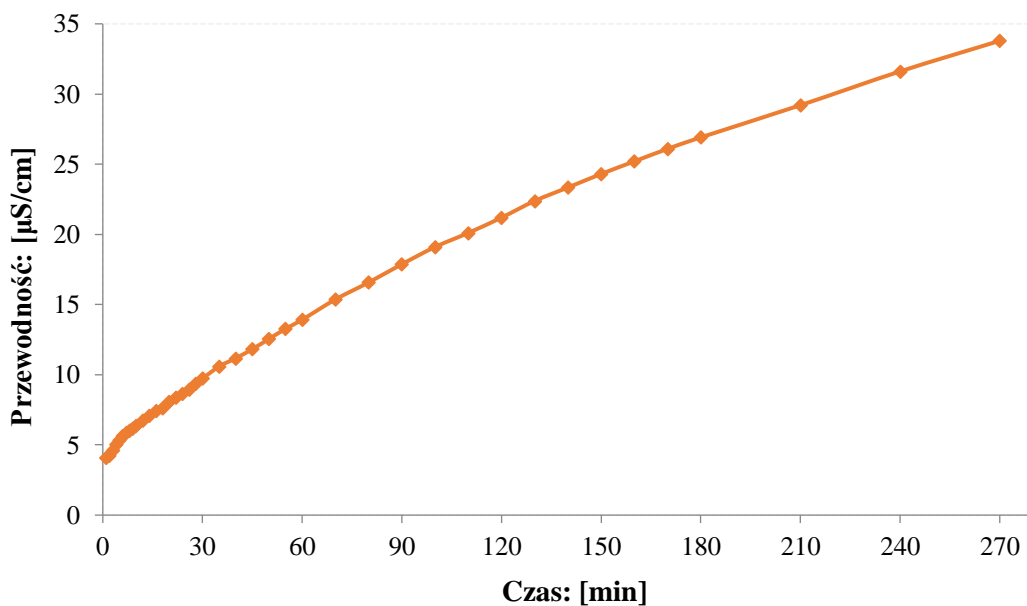
Na [wykresie 9](#) zauważono, że potencjał wykonanej elektrody odniesienia zaczął stabilizować się już po ponad 2 godzinach od rozpoczęcia kondycjonowania. Po kolejnych 5,5 godzinach odnotowano stabilny sygnał. Dryft potencjału w ostatnich 14 godzinach wyniósł tylko 0,005 mV, co jest dobrym wynikiem, a wahania potencjału spośród 4929 punktów pomiarowych mieściły się w zakresie 0,3 mV.

Elektrodę odniesienia po kondycjonowaniu dokładnie opłukano wodą dejonizowaną i zanurzono w zlewce z tworzywa sztucznego ze świeżo dejonizowaną wodą o objętości 40 ml. W zlewce umieszczono mieszadło i ustawiono prędkość mieszania na 350 min^{-1} . W takich warunkach przeprowadzono pomiar wyciekania elektrolitu (KCl) z EO do potencjalnej próbki, za pomocą czujnika konduktometrycznego Elmetron EC-60. Mierzona wartość przewodnictwa elektrolitycznego zmieniała się wraz ze zmianą stężenia jonów wyciekających do badanej wody. W pomiarach zastosowano kompensację temperatury. Rozpuszczanie się powietrza w wodzie dejonizowanej, mogło nieznacznie zmieniać jej przewodnictwo w czasie. Dlatego przeprowadzono równoległe, takim samym zestawem pomiarowym, badanie wpływu otaczającego powietrza na zmianę przewodności wody dejonizowanej. Po uwzględnieniu początkowego przewodnictwa świeżo dejonizowanej wody, wpływ samego powietrza okazał się mało istotny dla tego badania – [wykres 11](#).



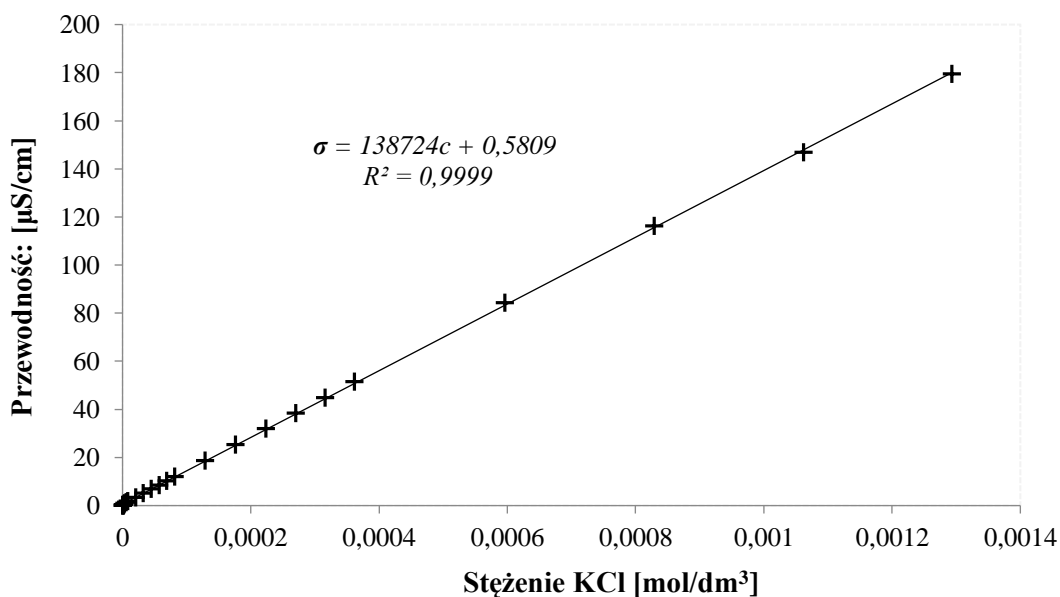
Wykres 11. Konduktometryczny pomiar rozpuszczania się gazów z powietrza w wodzie dejonizowanej.

W ciągu 270 minut badane przewodnictwo elektrolityczne (w wyniku rozpuszczającego się powietrza) wzrosło o $0,53 \mu\text{S}/\text{cm}$, a pod koniec tego czasu dynamika jego zmian zmalała. Mimo to, zależność tą uwzględniono. Szybkość wyciekania elektrolitu z elektrody odniesienia pokazano na [wykresie 12](#).



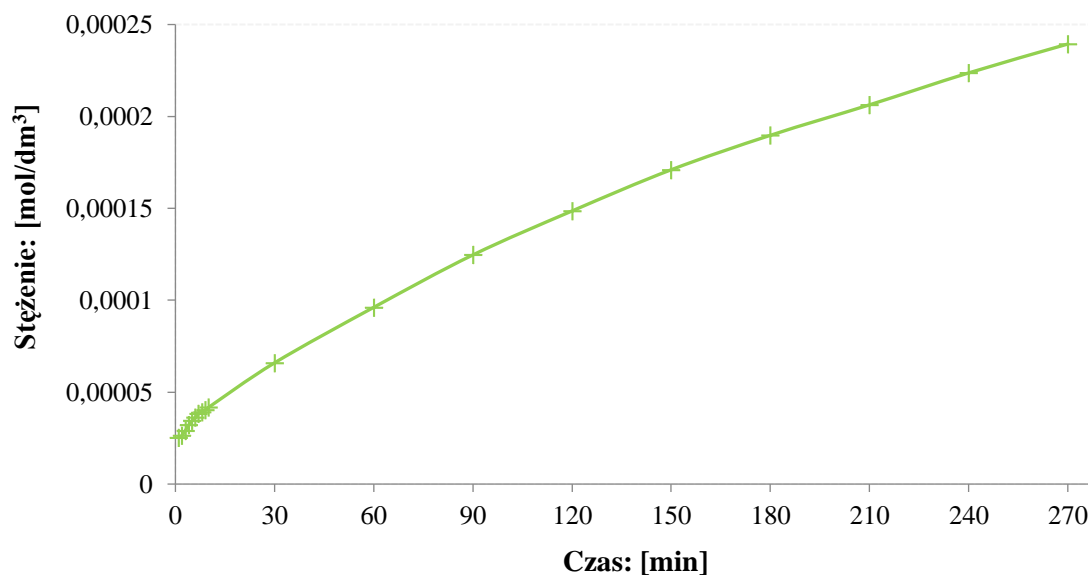
Wykres 12. Konduktometryczny pomiar wyciekania KCl z wykonanej elektrody odniesienia.

Ocena stopnia wyciekania KCl z EO była możliwa po wyznaczeniu krzywej wzorcowej, opisującej zależność przewodności od stężenia soli (KCl) w ustalonym zakresie – [wykres 13](#).



Wykres 13. Konduktometryczny pomiar KCl - krzywa wzorcowa.

Na podstawie otrzymanej krzywej wzorcowej obliczono przyrost stężenia wyciekającego elektrolitu w czasie 270 minut – wykres 14.

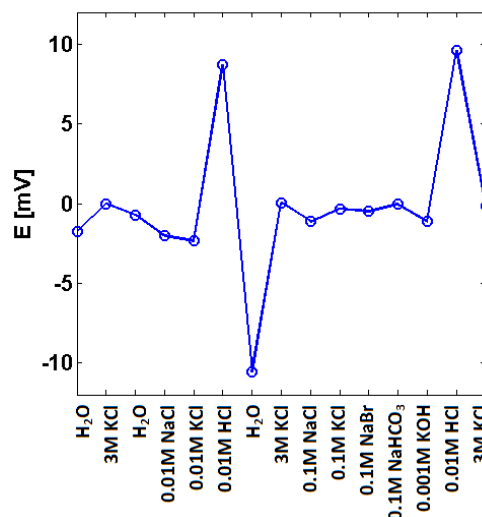


Wykres 14. Przyrost stężenia wyciekającego elektrolitu w czasie.

Stwierdzono, że wyciek KCl z elektrody odniesienia był znaczący z punktu widzenia oznaczania niskich stężeń jonów Cl^- i K^+ , gdyż może zmienić dolną granicę wykrywalności lub zakłócać pomiary tych jonów. Pomimo wystąpienia takiego rodzaju zakłóceń, możliwe jest przeprowadzenie poprawnej analizy. Strumień wyciekających jonów z elektrody odniesienia jest zjawiskiem powszechnym i występuje także w modelach klasycznych. Jednakże, krótki czas odpowiedzi czujników minimalizuje ten efekt, a przy pomiarach w przepływie lub w dużej objętości próbki jest praktycznie niezauważalny.

Ocenę stabilności wykonanej EO w różnym środowisku, przeprowadzono za pomocą testu wielu roztworów (MSP) względem elektrody odniesienia ORION 800500U. Otrzymany wynik testu przedstawiono na wykresie 15.

Idealna elektroda odniesienia powinna charakteryzować się stałą wartością potencjału niezależnie od środowiska. Test przeprowadzono zanurzając elektrodę w każdym roztworze na 5 minut, w kolejności pokazanej na wykresie 15. Wynik testu pokazał, że stabilność elektrody powinna być wystarczająca do wybranego zastosowania. Duże zakłócenia występowały w środowisku o wartości pH około 2, jednak po dłuższym czasie trwania pomiaru, trend potencjału zmierzał w stronę punktu wyjściowego.



Wykres 15. Test wielu roztworów dla wykonanej elektrody odniesienia względem ORION 800500U.

III.4.4. Badanie wykonanej potencjometrycznej platformy wieloczułkowej

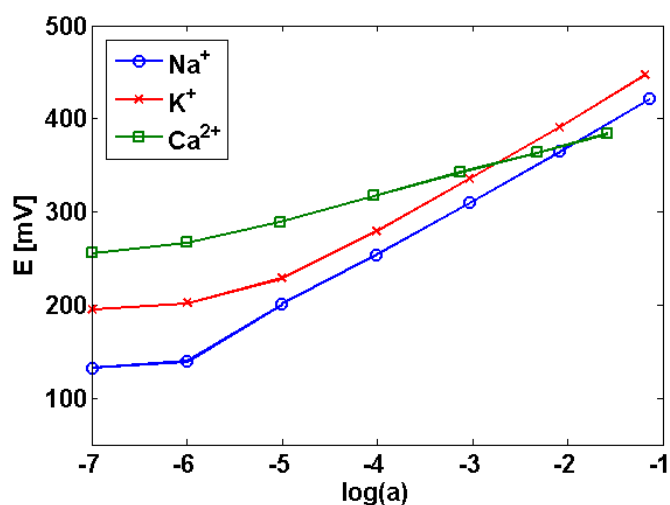
Ten etap badania prowadzono we współpracy z mgr inż. Marcinem Urbanowiczem (pomysłodawcą zastosowania EJS w próbkach potu). Badania rozpoczęto od wyznaczenia współczynników selektywności metodą SSM (procedura III.2.7) dla umieszczonych w platformie elektrod jonoselektywnych. W celach porównawczych przygotowano także EJS z tymi samymi membranami, wykorzystując komercyjne konstrukcje elektrod (Mineral) – EJS-MKK, dla których również wyznaczono współczynniki selektywności. W tej fazie badań, wszystkie EJS badano względem elektrody odniesienia ORION 800500U. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 6 łącznie z wartościami K_{IJ}^{pot} według Sigma-Aldrich [315] (SA) oraz wymaganymi współczynnikami (WW) obliczonymi na podstawie [142].

Tabela 6. Współczynniki selektywności badanych EJS (WPP i MKK) wyznaczonych metodą SSM w porównaniu z wartościami podanymi przez Sigma-Aldrich (SA) oraz wymaganymi współczynnikami dla oznaczeń jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w pocie ludzkim (WW).

Współczynnik selektywności:		Na^+	K^+	Ca^{2+}
$logK_{Na,M}^{pot}$	MKK	-	-2,4	-2,8
	WPP	-	-2,5	-2,8
	SA	-	-1,9	-2,5
	WW	-	-0,9	-1,4
$logK_{K,M}^{pot}$	MKK	-3,8	-	-5,0
	WPP	-3,7	-	-4,9
	SA	-4,0	-	-4,2
	WW	-2,6	-	-2,1
$logK_{Ca,M}^{pot}$	MKK	-5,4	-6,9	-
	WPP	-5,5	-6,5	-
	SA	-5,9	-7,5	-
	WW	-2,8	-0,8	-

Wyznaczone współczynniki selektywności były zbliżone do wartości podanych przez SA oraz spełniły wymagania selektywności dla jednoczesnych oznaczeń jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w pocie ludzkim. Uznano, że wykonane EJS zdolne są do jednoczesnego pomiaru wybranych jonów w badanych zakresach stężeń.

Wobec powyższych wniosków pracę całej platformy wieloczuJNIkowej sprawdzono na podstawie jednoczesnego oznaczenia jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w próbkach syntetycznego potu ludzkiego, a następnie w rzeczywistej próbce potu sportowca. Przed pomiarami moduł EJS kondycjonowano przez dobę w mieszaninie jonów o składzie 10^{-3} mol/dm³ NaCl, 10^{-3} mol/dm³ KCl i 10^{-4} mol/dm³ CaCl₂. Kalibrację czujników przeprowadzono zgodnie z procedurą III.2.6, zaczynając od mieszaniny zawierającej stężenie 0,1 mol/dm³ każdego z badanych jonów. Otrzymane krzywe kalibracji wybranych EJS przedstawiono na wykresie 16. Aktywności jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w roztworach oszacowano za pomocą PHREEQC wersja 3.1.2.



Wykres 16. Wielojonowa kalibracja wykonanej WPP dla jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} .

Nachylenia odpowiedzi poszczególnych EJS były bliskie odpowiedzi nernstowskiej, które dla jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} wyniosły odpowiednio: 57,59 mV ($10^{-1} \pm 10^{-6}$ mol/dm³), 58,09 mV ($10^{-1} \pm 10^{-5}$ mol/dm³) i 27,29 mV ($10^{-1} \pm 10^{-6}$ mol/dm³).

Przygotowano dwie syntetyczne próbki potu ludzkiego, o składzie podanym w tabeli 7, które zbadano za pomocą wykonanej WPP.

Tabela 7. Trójjonowy skład syntetycznych próbek potu ludzkiego.

Jon	Stężenie [mmol/dm ³]		[-log(c)]	
	Próbka 1	Próbka 2	Próbka 1	Próbka 2
Na ⁺	38,51±0,24	20,50±0,12	-1,41	-1,69
K ⁺	5,23±0,03	0,943±0,051	-2,28	-3,03
Ca ²⁺	0,365±0,011	0,091±0,014	-3,44	-4,04

Równolegle przeprowadzono to samo badanie z użyciem EJS-MKK względem elektrody odniesienia ORION 800500U. Każda z próbek została 3-krotnie oznaczona. Wyniki zestawiono w tabeli 8.

Tabela 8. Zestawienie wyników EJS (WPP i MKK) dla syntetycznych próbek potu ludzkiego.

Elektroda (jon)	Wartość oznaczona* [mmol/dm ³]	Wartość referencyjna [mmol/dm ³]	Błąd [%]
Próbka 1			
WPP (Na ⁺)	37,95±1,04	38,51±0,24	1,45
MKK (Na ⁺)	37,54±0,58		2,52
WPP (K ⁺)	5,06±0,03	5,23±0,03	3,25
MKK (K ⁺)	5,05±0,01		3,44
WPP (Ca ⁺)	0,357±0,018	0,365±0,011	2,19
MKK (Ca ⁺)	0,373±0,012		2,19
Próbka 2			
WPP (Na ⁺)	19,47±0,39	20,50±0,12	5,02
MKK (Na ⁺)	19,62±0,24		4,29
WPP (K ⁺)	0,986±0,009	0,943±0,051	4,56
MKK (K ⁺)	0,981±0,010		4,03
WPP (Ca ⁺)	0,107±0,016	0,091±0,014	17,58
MKK (Ca ⁺)	0,105±0,005		15,38

* oznaczone wartości są średnią wyników z trzech pomiarów z odchyleniem standardowym

Wartości stężeń oznaczonych jonów Na⁺, K⁺ i Ca²⁺ w syntetycznych próbkach potu ludzkiego uzyskanych za pomocą WPP oraz EJS z konstrukcjami komercyjnymi (MKK) były do siebie bardzo zbliżone. Otrzymane wartości były także blisko tych referencyjnych. Wyniki pomiarów przy użyciu WPP charakteryzowały się zazwyczaj wyższym odchyleniem standardowym niż te przy użyciu EJS-MKK w połączeniu z komercyjną EO. Bezwzględne różnice (wyrażone jako % błędu), między wartością oznaczoną a referencyjną, dla próbki 2 mieściły się w zakresie od 4,03 do 17,58%, a dla próbki 1 od 1,45 do 3,44%. Zatem, lepszą zbieżność wyników uzyskano dla próbki 1.

Największą rozbieżność wartości zauważono dla oznaczeń jonów Ca²⁺ w próbce 2, gdzie dla WPP błąd ten wyniósł 17,58%, a dla EJS-MKK 15,38%, co dało pewną spójność pomiarów elektrod selektywnych na jony Ca²⁺. Natomiast, dla próbki 1 rozbieżność ta wyniosła 2,19% dla obu układów potencjometrycznych.

Różnice w wartościach oznaczonych jonów Na⁺ i K⁺ dla obu próbek wyniosły odpowiednio: dla WPP 1,45 i 3,25% (próbka 1), 5,02 i 4,56% (próbka 2), dla EJS-MKK 2,52 i 3,44% (próbka 1), 4,29 i 4,03% (próbka 2). Na podstawie przeprowadzonego badania stwierdzono, że jednoczesne oznaczanie jonów Na⁺, K⁺ i Ca²⁺ w próbkach syntetycznego potu

ludzkiego było możliwe. Wobec powyższego, uznano za zasadne oznaczenie tych jonów w rzeczywistej próbce potu ludzkiego. Oznaczenie jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w rzeczywistej próbce potu ludzkiego wykonano za pomocą WPP oraz EJS-MKK (w układzie z komercyjną EO). Dodatkowo, dla porównania wykorzystano fotometrię płomieniową (FP) do oznaczenia jonów Na^+ , K^+ oraz technikę ASA dla jonów Ca^{2+} .

Próbka do badań została zebrana do sterylnej szklanej fiolki w ilości 25 ml z powierzchni ciała sportowca po 20-minutowym treningu wydolnościowym. Próbkę umieszczono w lodówce (ok. 4°C) na 12 godzin. Następnie zbadano ją 3-krotnie za pomocą WPP i EJS-MKK oraz porównawczo FP (procedura III.2.9) i ASA (procedura III.2.8). Wartości z FP i ASA uznano jako referencyjne. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Wyniki oznaczeń jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w pocie ludzkim uzyskane za pomocą WPP oraz EJS-MKK w porównaniu do FP (jony Na^+ i K^+) oraz ASA (jony Ca^{2+}).

Elektroda (jon)	Wartość oznaczona* [mmol/dm ³]	FP [mmol/dm ³]	Błąd [%]
WPP (Na^+)	84,51±2,03	92,64±0,56	8,77
MKK (Na^+)	86,45±1,83		6,68
WPP (K^+)	6,96±0,62	7,49±0,34	7,07
MKK (K^+)	6,69±0,86		10,68
		ASA [mmol/dm ³]	
WPP (Ca^+)	0,268±0,25	0,219±0,09	22,37
MKK (Ca^+)	0,255±0,31		16,44

* oznaczone wartości są średnią wyników z trzech pomiarów

Otrzymane wyniki obu układów elektrodowych (WPP i EJS-MKK vs EO) były ze sobą zbieżne i powtarzalne. Wartości stężenia jonów Na^+ i K^+ w porównaniu z wartościami uzyskanymi za pomocą FP są niższe. W przypadku jonów sodu wartości te różnią się o 8,77% (WPP) i 6,68% (EJS-MKK) od wartości uznanej jako wartość referencyjna wynosząca 92,64 mmol/dm³. Podobna sytuacja dotyczy jonów potasu, gdzie różnice te wyniosły 7,07% (WPP) i 10,68% (EJS-MKK) w stosunku do wartości referencyjnej wynoszącej 7,49 mmol/dm³. Największe różnice spośród wszystkich badanych jonów odnotowano dla jonów Ca^{2+} . W porównaniu z wynikami z ASA wartość błędu obliczono na 22,37% (WPP) i 16,44% (EJS-MKK) w stosunku do wartości referencyjnej wynoszącej 0,219 mmol/dm³.

Zaprezentowana wielocujnikowa platforma potencjometryczna umożliwiła jednoczesny pomiar kilku jonów zarówno w syntetycznych próbkach ludzkiego potu, jak i w próbce rzeczywistej. Wyniki uzyskane dla WPP odpowiadają charakterystykom EJS-MKK

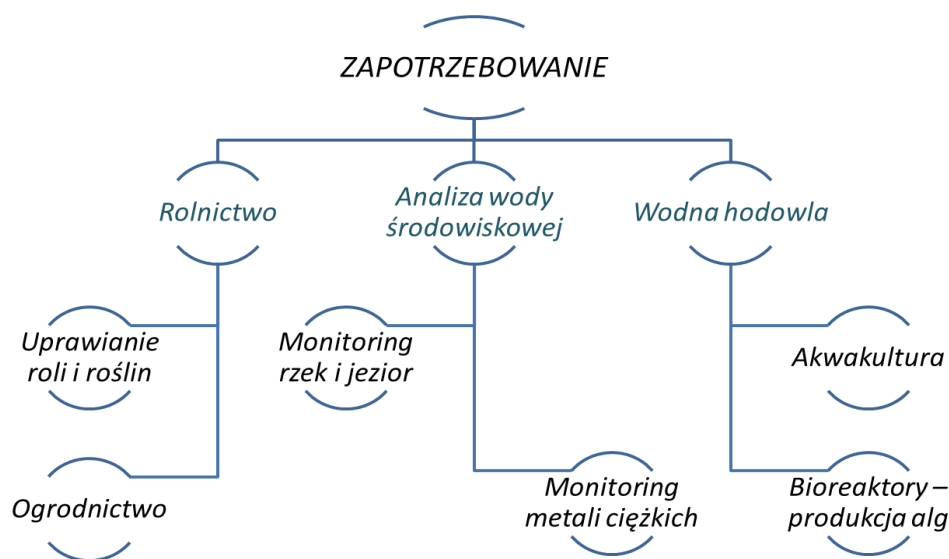
w układzie z komercyjną EO i są względem siebie bardzo zbieżne. Jednakże, odnosząc się do oznaczeń wykonanych dla jonów Ca^{2+} , należy zauważyć, że mimo zbieżności wyników uzyskanych dla układów WPP i EJS-MKK vs EO, występuje mniejsza zgodność w ich porównaniu do wyników z ASA. Prawdopodobnie zwiększona wartość błędu w opisanym porównaniu wynika z nieodpowiednio dobranej kalibracji wielojonowej. Być może, lepszą zbieżność można by osiągnąć stosując kalibrację dedykowaną, a więc zaprojektowaną do powyższego zastosowania. Zaproponowana konstrukcja wymagała oddzielenia modułu EJS od EO w celu przechowywania WPP po pomiarach. Należałoby rozwiązać tę kwestię w aspekcie technicznym.

Opracowanie EJS i EO całkowicie w technologii ASS umożliwiło zaprojektowanie i wykonanie WPP o wybranym kształcie. Zaproponowana konstrukcja sprawdziła się do jednoczesnego pomiaru jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w pocie ludzkim, niemniej jednak spektrum możliwości zastosowania można by rozszerzyć na inne płyny ustrojowe – np. ślinę. Wówczas należałoby sprawdzić czy zarówno przyjęte procedury, jak i sama konstrukcja odpowiada konkretnym warunkom pomiaru i dokonać ewentualnych modyfikacji.

III.5. Wielozujnikowa platforma potencjometryczna typu *All-Solid-State* do oznaczania kilku jonów w przepływie zamkniętego ekosystemu wodnego

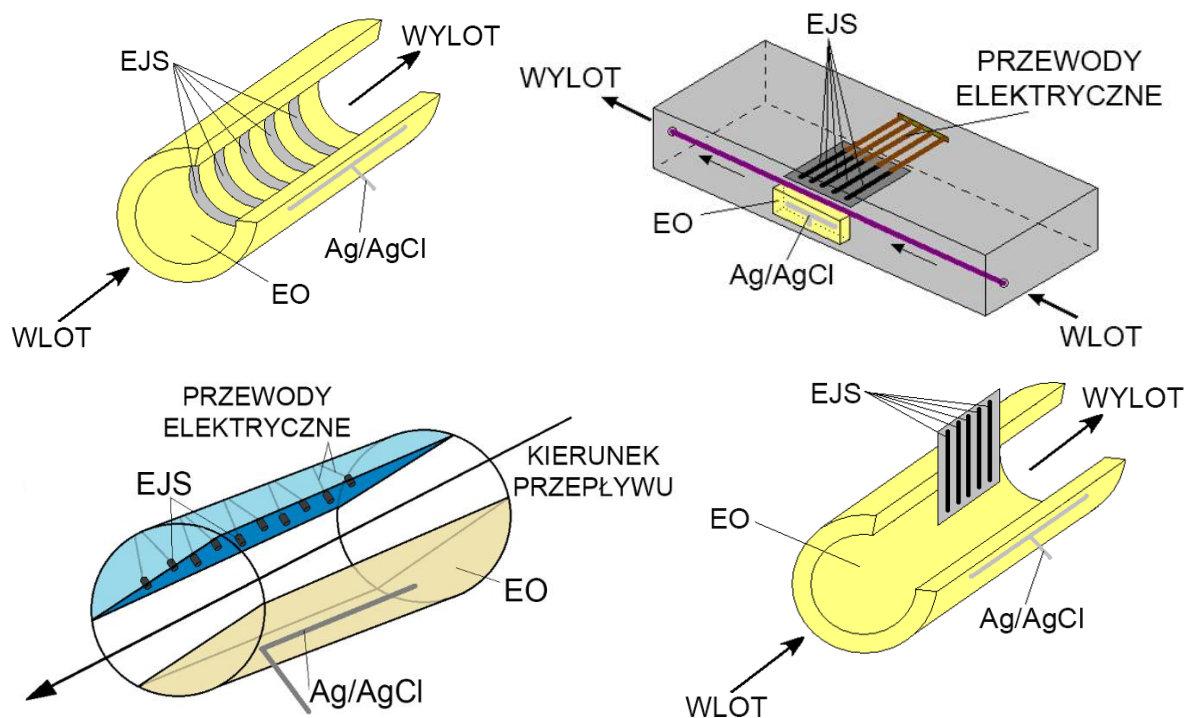
Zapotrzebowanie na wielozujnikowe platformy potencjometryczne jest stosunkowo duże. Rozważając same zastosowania środowiskowe, możemy wymienić (rysunek 28):

- rolnictwo – powodzenie uprawy w dużej mierze zależy od właściwości jonowo-kwasowych gleby,
- analiza wody środowiskowej – ocena gospodarki jonowej i/lub zawartości niektórych metali ciężkich,
- wodna hodowla – monitoring wybranych parametrów ekosystemów wodnych. Tego typu urządzenia ułatwiłyby kontrolę parametrów również w szeroko pojętej akwarystyce.



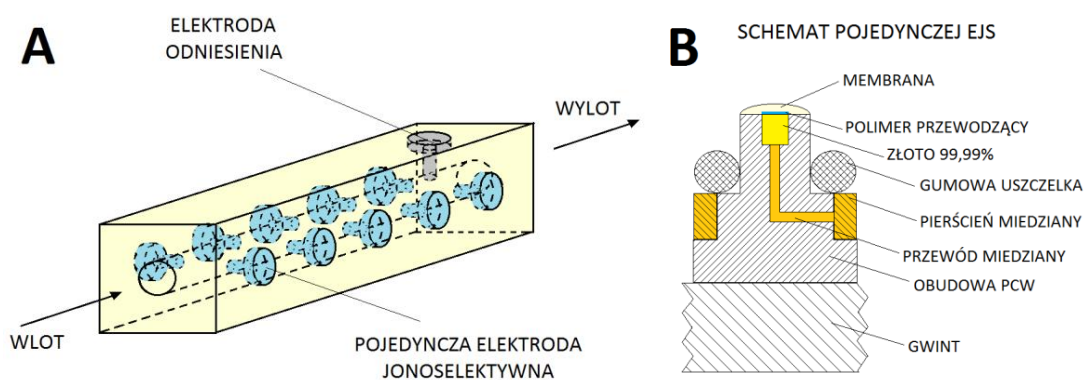
Rysunek 28. Potencjalne obszary zapotrzebowania na WPP.

Zwrócono uwagę, że niektóre układy pomiarowe (np. analizatory medyczne), pracujące w systemie przepływowym, pozwalają na automatyzację pomiarów, zwiększając wydajność oznaczeń nawet do kilkuset próbek na godzinę (punkt II.10.2). Dlatego też, kolejna propozycja badań dotyczyła prac nad przepływową platformą potencjometryczną. Rozważano kilka modeli przepływowych WPP. Przykłady niektórych schematów pokazano na rysunku 29.



Rysunek 29. Przykłady rozważanych schematów konstrukcji wieloelektrowej platformy przepływowej.

Ostatecznie wybrano konstrukcję pozwalającą na łatwą i szybką wymianę zarówno EJS, jak i EO, przy jednoczesnym zachowaniu możliwości zwiększenia liczby czujników w platformie. Schemat wybranej konstrukcji platformy przepływowej przedstawiono na [rysunku 30a](#), zaś pojedynczej EJS na [rysunku 30b](#).

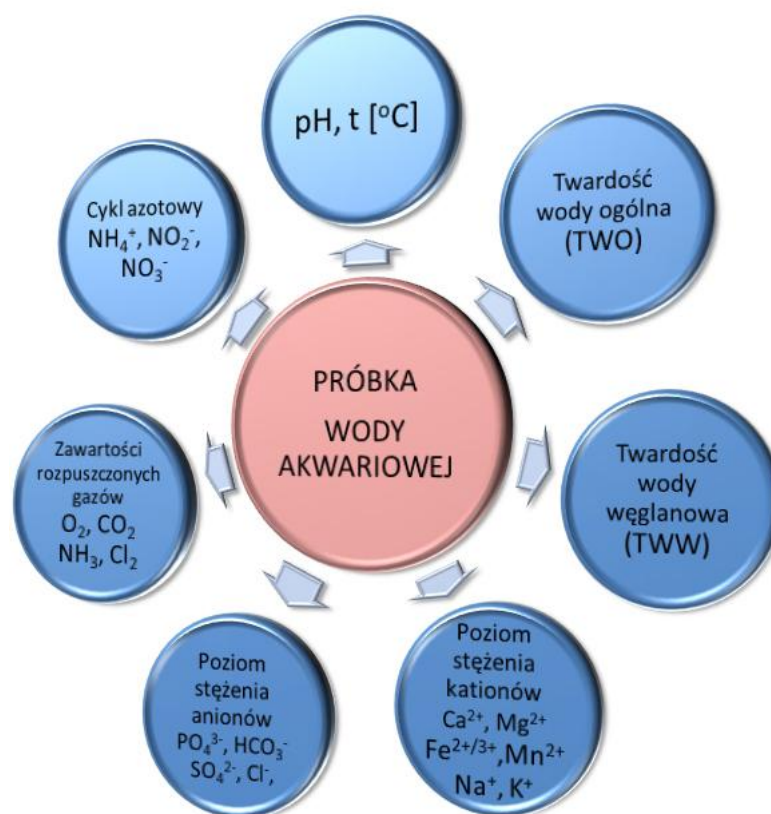


Rysunek 30. Schemat wybranej konstrukcji: a) przepływowej platformy wieloelektrowej, b) pojedynczej EJS.

W odniesieniu do wybranej konstrukcji dążono do zbudowania przepływowego układu potencjometrycznego w technologii *All-Solid-State* realizując następujące etapy:

- wykonanie pojedynczych EJS,
- wykonanie kompatybilnej celki pomiarowej do pomiarów w przepływie,
- wykonanie EO.

Do badań wybrano próbkę akwariową (słodkowodną). Ze względu na mnogość procesów zachodzących w ekosystemie, które należy monitorować na bieżąco by utrzymać równowagę biologiczną, kontrola wszystkich parametrów jest wymagająca – [rysunek 31](#). Zastosowanie przepływowej WPP znacznie ułatwiłoby bieżący monitoring parametrów w porównaniu do popularnych testów akwariowych. Dałoby to komfort użytkownika i skróciło czas pełnej analizy próbki.

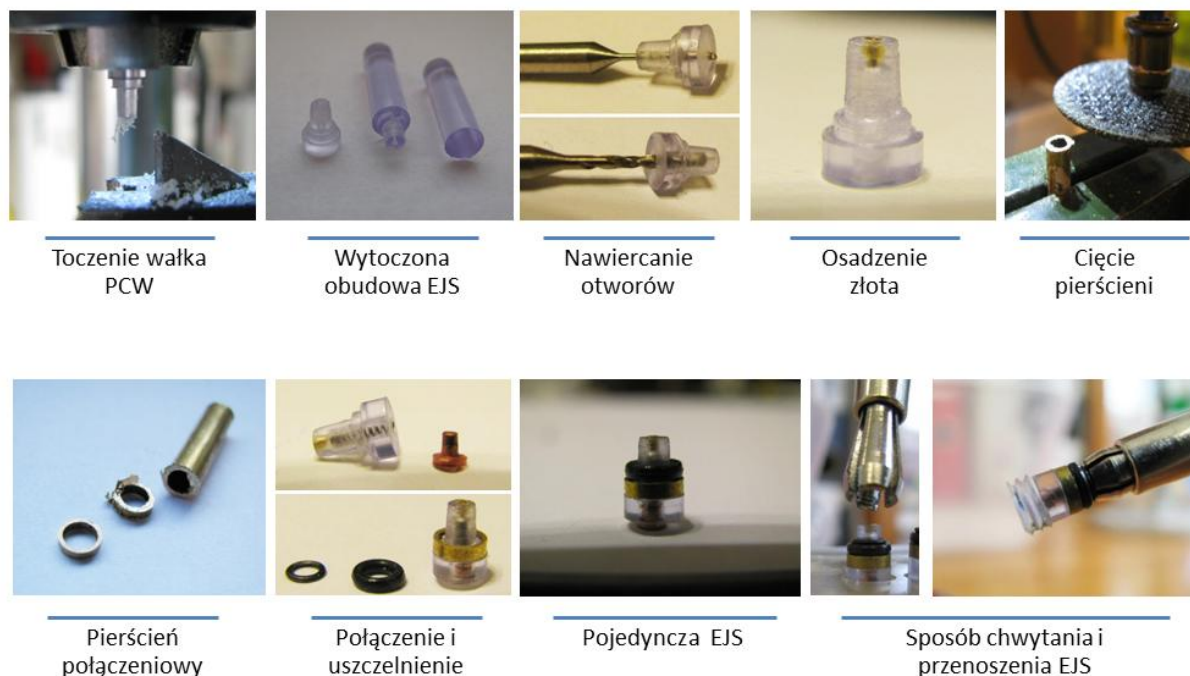


Rysunek 31. Diagram parametrów wody akwariowej.

Do analizy eksperymentalnie wybrano cztery jony (NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+}), które pozwoliły przetestować wykonaną platformę wieloczujnikową. Jednak, dysponując odpowiednim zapleczem chemicznym, analizator można dodatkowo wyposażać w monitoring niemal wszystkich potrzebnych parametrów – np. wykonując wielomodułową platformę, działającą na zasadzie oddzielnych kalibracji dla każdego z modułów.

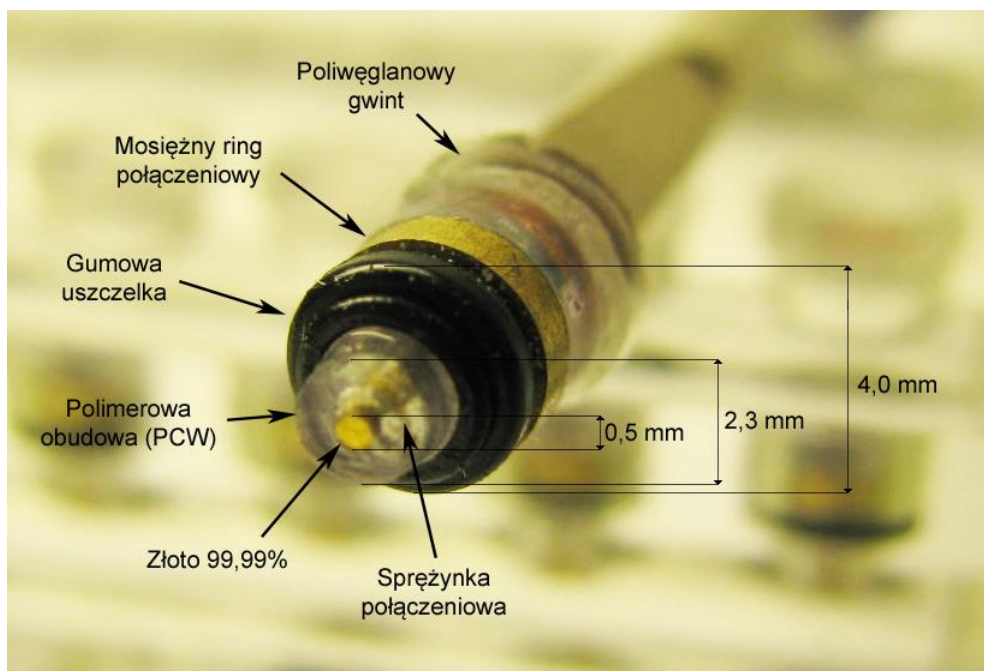
III.5.1. Wykonanie elektrod jonoselektywnych

Mając zarys konstrukcji, przystąpiono do budowy pojedynczych EJS. Realizacja koncepcji wymagała zachowania precyzji oraz pokonania problemów natury konstrukcyjnej na poszczególnych etapach wykonania, które przedstawiono na [zdjęciu 19](#).



Zdjęcie 19. Poszczególne etapy tworzenia pojedynczych EJS w technologii ASS.

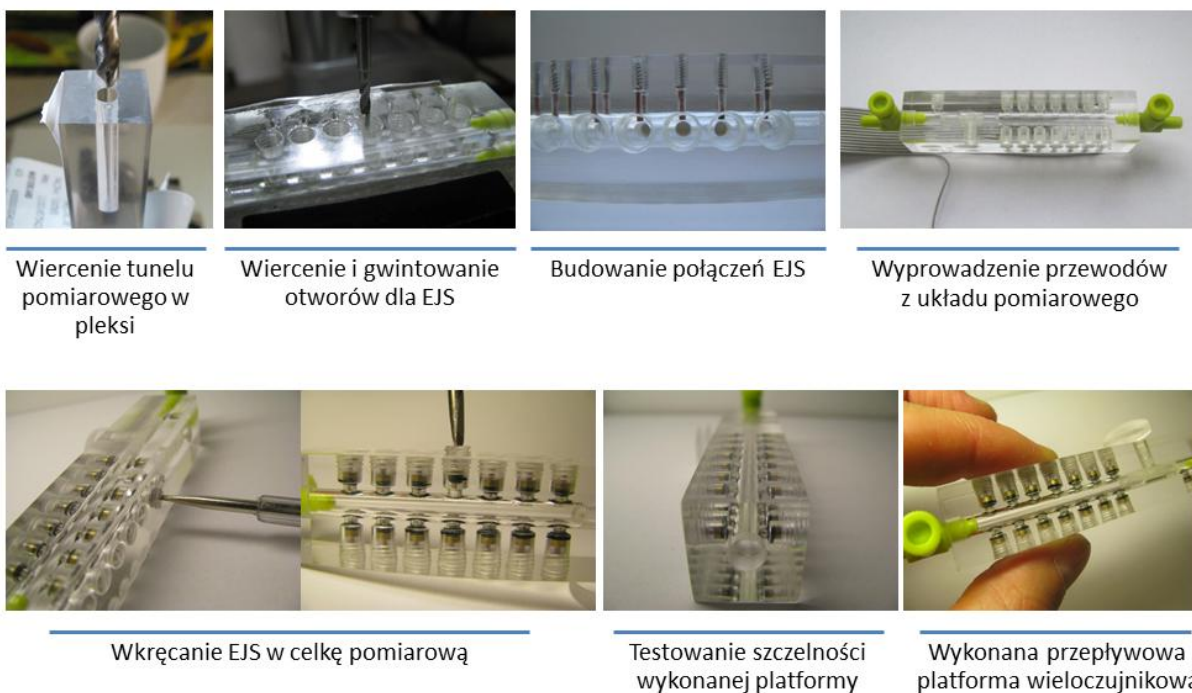
Pierwszym krokiem był dobór odpowiednich materiałów. Obudowę EJS wykonano z polichlorku winylu (PCW), ponieważ był on kompatybilny z polimerową matrycą membran (tj. PCW). Takie podejście zapewniło dobre połączenie membrany z powierzchnią obudowy. Następnie jako podłoże elektroprzewodzące, zastosowano czyste złoto w postaci walca o średnicy 0,5 mm, które było osadzone w obudowie EJS metodą wcisku. Wymagało to uprzedniego nawiercenia otworu w obudowie EJS o mniejszej średnicy niż średnica walca. Połączenie elektryczne zapewniała odpowiednia kombinacja miedzianych sprężynek o średnicy 0,8 mm i mosiężna obręcz o średnicy 4 mm, jako „ring” połączeniowy, wciśnięta w obudowę EJS. Połączenie elektryczne czujnika było oddzielone od strumienia badanego roztworu za pomocą dwóch gumowych uszczelek, o różnej średnicy, nałożonych jedna na drugą. Na końcu obudowy EJS, za pomocą kleju, przymocowano nagwintowany walec z poliwęglanu. Dzięki temu wykonane EJS można było z łatwością wymieniać poprzez ich wkręcanie i wykręcanie w przepływowej celce pomiarowej. Działania przeprowadzone w taki sposób doprowadziły do stworzenia konstrukcji EJS przedstawionej na [zdjęciu 20](#).



Zdjęcie 20. Budowa wykonanej pojedynczej EJS.

III.5.2. Wykonanie przepływowej celki pomiarowej

Przepływową celkę pomiarową wykonano zgodnie z poszczególnymi etapami pokazanymi na [zdjęciu 21](#).



Wiercenie tunelu pomiarowego w pleksi

Wiercenie i gwintowanie otworów dla EJS

Budowanie połączeń EJS

Wyprowadzenie przewodów z układu pomiarowego

Wkręcanie EJS w celkę pomiarową

Testowanie szczelności wykonanej platformy

Wykonana przepływowa platforma wieloczułnikowa

Zdjęcie 21. Poszczególne etapy tworzenia przepływowej celki pomiarowej.

Do budowy celki użyto kawałek kwadratowego pręta z PMMA. Otwory wiercono i gwintowano za pomocą wiertarki stołowej z prędkością ok. 200 obrotów na minutę w obecności oleju. Wyprowadzenia elektryczne od każdej EJS wykonano z miedzianego pręcika o średnicy 0,7 mm i sprężynki o średnicy 0,8 mm z nasadzonym metalowym grzybkiem, do którego przylutowano miedziany przewód. Celkę pomiarową wyposażono w dwa zaworki, odcinające jej wlot i wylot, a także w wewnętrzny zaworek oddzielający komorę elektrod pomiarowych od komory elektrody odniesienia. Podział celki pomiarowej na dwie komory umożliwia wypełnienie jej dwoma różnymi roztworami kondycjonującymi – jeden dla EJS, drugi dla EO. Pozwala to na prawidłowe przechowywanie układu potencjometrycznego po pomiarach bez konieczności demontowania elektrod i umieszczania ich w odpowiednich roztworach kondycjonujących.

Po wykonaniu celki pomiarowej w wyżej opisany sposób, wkręcono w nią wcześniej wykonane EJS otrzymując przepływową WPP o objętości komory pomiarowej $\approx 1,3$ ml – [zdjęcie 22](#). Tunel przepływowy, w którym strumień badanej cieczy opływa elektrody jonoselektywne pokazano na [zdjęciu 23](#).



Zdjęcie 22. Konstrukcja przepływowej WPP.

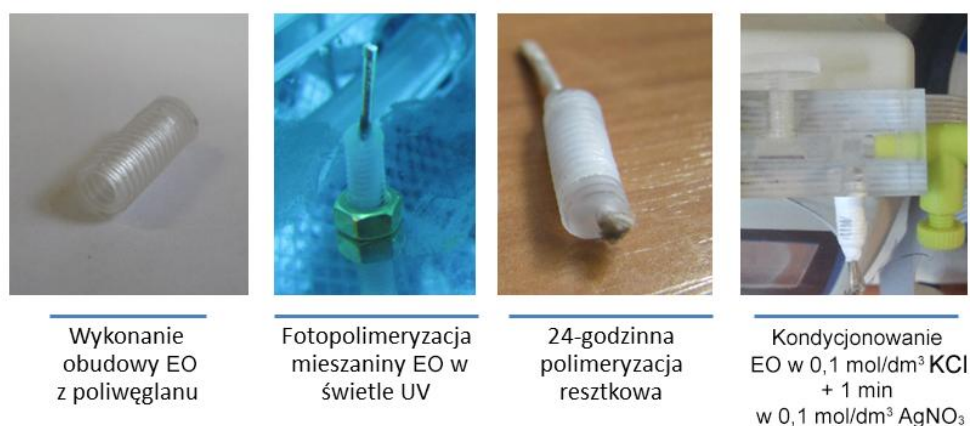


Zdjęcie 23. Tunel celki przepływowej.

III.5.3. Wykonanie elektrody odniesienia

Elektrodę odniesienia wykonano w technologii ASS według procedury [III.2.5](#). W tym przypadku obudowę EO wykonano z wydrążonego w środku i nagwintowanego walca z poliwęglanu. Na dnie walca wywiercono otwór dla ciekłego połączenia z przepływającym roztworem. W wywiercony otwór wciśnięto, zwilżony wodą dejonizowaną, sprasowany

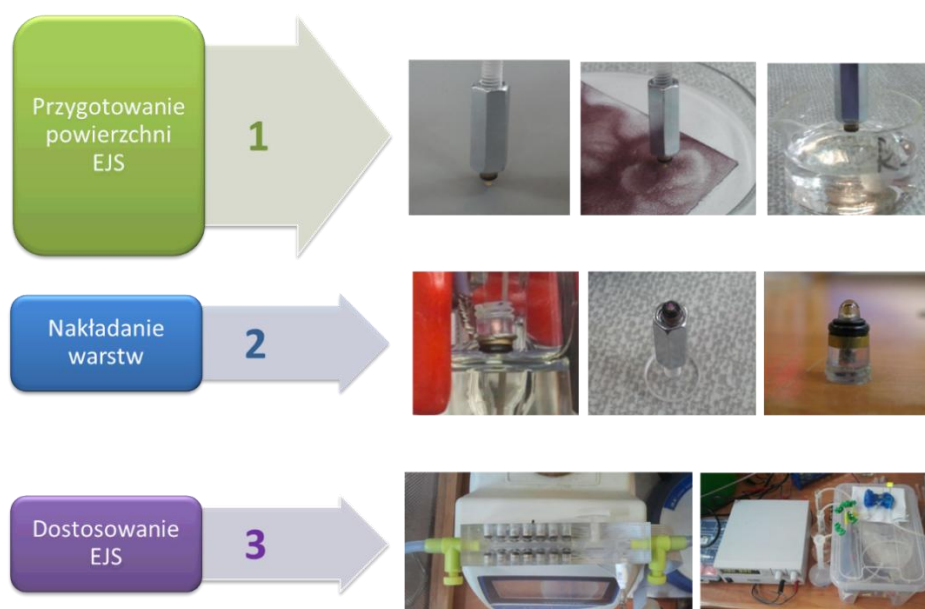
naturalny len, który miał za zadanie w pewnym stopniu ograniczyć uwalnianie jonów K^+ i Cl^- do roztworu. Ponadto, elektrodę kondycjonowano w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ AgNO}_3$ przez 1 minutę w celu częściowego utworzenia słabo rozpuszczalnej soli $AgCl$ na powierzchni styku $|EO||\text{mierzony roztwór}|$, co utworzyło dodatkową barierę spowalniającą uwalnianie elektrolitu z EO. Następnie elektrodę kondycjonowano przez dobę w $0,1 \text{ mol/dm}^3 \text{ KCl}$. Poszczególne etapy wykonania EO przedstawiono na [zdjęciu 24](#).



Zdjęcie 24. Poszczególne etapy tworzenia EO w technologii ASS.

III.5.4. Przygotowanie elektrod jonoselektywnych

Mając już kompletny układ pomiarowy przystąpiono do wykonania poszczególnych czujników jonoselektywnych. W tym celu wykonano 3 etapy, które obejmowały: przygotowanie powierzchni EJS, nakładanie odpowiednich warstw oraz dostosowanie czujników – [zdjęcie 25](#).



Zdjęcie 25. Etapy wykonania czujników.

Przygotowanie czujników rozpoczęto od stopniowego polerowania powierzchni elektrod według procedury III.2.1. Drugi etap obejmował nałożenie warstwy polimeru przewodzącego (procedura III.2.2) oraz odpowiednich membran, których składy podano w tabeli 1/B-E. Ostatnim etapem było dostosowanie otrzymanych czujników do wybranego zastosowania poprzez kondycjonowanie ich w odpowiednio skomponowanym roztworze wielojonowym.

III.5.5. Opracowanie roztworów kalibracyjnych

Podczas projektowania roztworów kalibracyjnych, pozwalających wyznaczyć stężenia wybranych jonów w próbce wody akwariowej, wzięto pod uwagę:

- *wymagane współczynniki selektywności* – projektowany skład wielojonowy powinien być tak dobrany, aby spełnione były wymagane współczynniki selektywności dla stosowanych EJS,
- *optymalny zakres pomiarowy* – badane anality powinny znajdować się w zakresie kalibracji bądź w relatywnie bliskim jego sąsiedztwie,
- *utrzymanie stałej siły jonowej* – roztwory kalibracyjne powinny mieć zbliżoną siłę jonową do badanej próbki (czasem można zasugerować się przewodnictwem jonowym próbki i sprowadzić roztwory kalibracyjne do takiej samej wartości [36]),
- *odpowiednie pH* – zbliżone pH próbek i roztworów kalibracyjnych (bądź w zakresie wiarygodności odpowiedzi czujników).

Biorąc pod uwagę powyższe warunki utworzono arkusz kalkulacyjny, który pozwolił zaprojektować roztwory kalibracyjne odpowiednie dla konkretnego zastosowania. Wymagane współczynniki selektywności wyliczono według równania (14) [143]. W obliczeniach założono 5-procentowy poziom błędu.

Ze względu na mały rozmiar wykonanych EJS, pod względem technicznym trudno było wyznaczyć dla nich współczynniki selektywności. Z tego powodu, zasugerowano się współczynnikami selektywności wyznaczonymi za pomocą elektrod z konstrukcjami komercyjnymi (Mineral), które przygotowano w taki sam sposób, jak te miniaturowe, czyli z polimerem PEDOT(PSS) i membranami o składzie podanym w tabeli 1/B-E. Współczynniki wyznaczono metodą SSM (procedura III.2.7) i zestawiono w tabeli 10, w której znalazły się także współczynniki wyznaczone względem jonów litu. Jony Li^+ były domieszkowane (w postaci LiCl) w celu wyrównania siły jonowej wszystkich roztworów (kalibracyjnych i kondycjonującego).

Tabela 10. Wyznaczone współczynniki selektywności metodą SSM dla poszczególnych czujników.

Jon główny	względem:	NH ₄ ⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Li ⁺
NH ₄ ⁺	=	x	-2,51	-1,54	-3,08	-2,81
Na ⁺	=	-2,94	x	-2,85	-2,56	-2,40
K ⁺	=	-1,77	-3,92	x	-4,91	-3,88
Ca ²⁺	=	-3,76	-5,24	-6,94	x	-5,68

Obliczone wymagane współczynniki selektywności porównano z wyznaczonymi współczynnikami (tabela 10). W ten sposób, mając na uwadze optymalny zakres pomiarowy dla słodkowodnych próbek akwariowych, dobrano odpowiedni skład jonowy projektowanych roztworów przy użyciu wspomnianego arkusza kalkulacyjnego – tabela 11.

Tabela 11. Fragment obliczeń arkusza kalkulacyjnego, pozwalającego dobrać skład projektowanych roztworów spełniających wymagane współczynniki selektywności.

TABELA ZGODNOŚCI R1 - wymagane współczynniki selektywności								KONTROLA STĘŻEŃ
Jon główny	względem:	NH ₄ ⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Li ⁺		
NH ₄ ⁺	=	x	✓ -1,70	✓ -1,51	✓ -2,95	✓ -2,74	Bezwzględna różnica logcR1-logcR2	
Na ⁺	=	-	x	✓ -1,12	✓ -2,56	✓ -2,34	NH ₄ ✓ 0,398	
K ⁺	=	✓ -1,09	✓ -1,48	x	✓ -2,74	✓ -2,52	Na ✓ 0,410	
Ca ²⁺	=	-	✓ 1,21	✓ 1,58	x	✓ -0,87	K ✓ 0,387	
TABELA ZGODNOŚCI KOND - wymagane współczynniki selektywności								Ca ✓ 0,405
Jon główny	względem:	NH ₄ ⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Li ⁺		
NH ₄ ⁺	=	x	✓ -1,70	✓ -1,50	✓ -2,83	✓ -2,20	% błędu= 5	
Na ⁺	=	-	x	✓ -1,11	✓ -2,43	✓ -1,80		
K ⁺	=	✓ -1,10	✓ -1,50	x	✓ -2,63	✓ -2,00		
Ca ²⁺	=	-	✓ 0,96	✓ 1,35	x	✓ -0,04		
TABELA ZGODNOŚCI R2 - wymagane współczynniki selektywności								
Jon główny	względem:	NH ₄ ⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Li ⁺		
NH ₄ ⁺	=	x	✓ -1,71	✓ -1,50	✓ -2,76	✓ 0,02		
Na ⁺	=	-	x	✓ -1,09	✓ -2,35	✓ 0,43		
K ⁺	=	✓ -1,10	✓ -1,51	x	✓ -2,56	✓ 0,23		
Ca ²⁺	=	-	✓ 0,79	✓ 1,21	x	✓ 4,26		

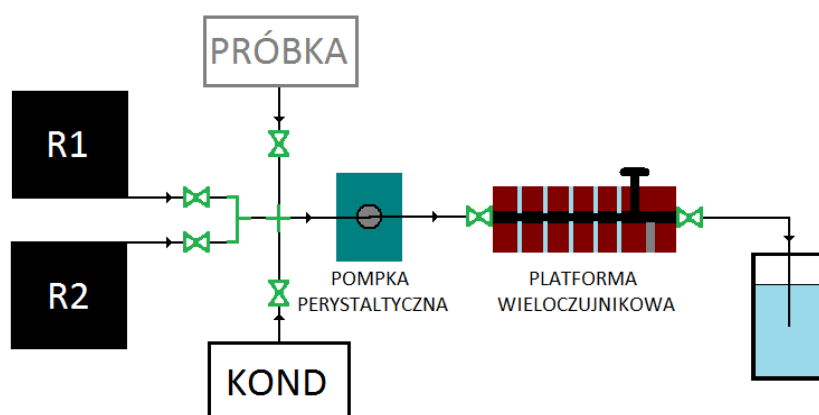
Siła jonowa badanej próbki akwariowej nie była znana. Wobec tego, zasugerowano się przewodnictwem jonowym badanej próbki i na tej podstawie zaprojektowano pierwszy roztwór kondycjonujący, o zbliżonej wartości przewodnictwa. Znając skład zaprojektowanego roztworu kondycjonującego obliczono jego siłę jonową, która stała się wartością docelową dla projektowanych następnych dwóch roztworów kalibracyjnych.

Następnie, roztwory kalibracyjne i kondycjonujący doprowadzono do średniej wartości pH jakie występuje w wodzie akwariowej (słodkowodnej) za pomocą miareczkowania zasadą LiOH do pH = 7,5. Po dodaniu zasady, skład roztworów zmienił się, dlatego wprowadzono odpowiednie korekty.

III.5.6. Schemat układu pomiarowego

Cały układ pomiarowy składał się z następujących elementów (rysunek 32):

- *wykonanej przepływowej platformy wieloczuńnikowej* – wyposażonej w 14 sztuk EJS i 1 sztuki EO, wykonanych w technologii ASS,
- *pompki perystaltycznej* – podłączonej do zasilacza laboratoryjnego z zadanymi parametrami tak, aby wydajność pompki wynosiła 15 ml na minutę,
- *roztworu kondycjonującego* – połączonego silikonowym wężem z pompką perystaltyczną poprzez zaworek, służący do kondycjonowania i przechowywania EJS,
- *dwóch roztworów kalibracyjnych (R1 i R2)* – połączonych silikonowymi wężami z pompką perystaltyczną poprzez zaworki, służące do utworzenia dwupunktowej kalibracji,
- *punktu zasysania badanej próbki środowiskowej* – wąż silikonowy połączony z pompką perystaltyczną poprzez zaworek,
- *pojemnika na ciecz po pomiarach.*



Rysunek 32. Schemat przygotowanego układu pomiarowego.

Przygotowany układ pomiarowy pozwala również na wykonywanie kalibracji trójpunktowej, ponieważ roztwór kondycjonujący może służyć także jako trzeci roztwór kalibracyjny.

Stwierdzono jednak, że kalibracja dwupunktowa nie odbiega znacząco od tej trójpunktowej, wobec czego używano tylko dwóch roztworów kalibracyjnych o najniższym i najwyższym stężeniu oznaczanych jonów.

III.5.7. Opracowanie procedury pomiarowej

W trakcie pomiarów zauważono, że drobne pęcherzyki gazu przyklejały się do ścianek komory przepływowej lub powierzchni membrany, co powodowało drobne zakłócenia pomiaru. Zastosowanie surfaktanta, który zmniejszyłby napięcie powierzchniowe cieczy, powinno wyeliminować ten efekt. Jednak znaleziono inne rozwiązanie tego problemu. Otóż w pierwszym etapie procedury pomiarowej tłoczono powietrze do celki pomiarowej przez 10 sekund. Przetłaczane powietrze przez tunel celki pomiarowej z EJS, porywało ewentualne pęcherzyki powietrza, dzięki czemu komora mogła całkowicie wypełnić się przepływającą cieczą – [zdjęcie 26](#).



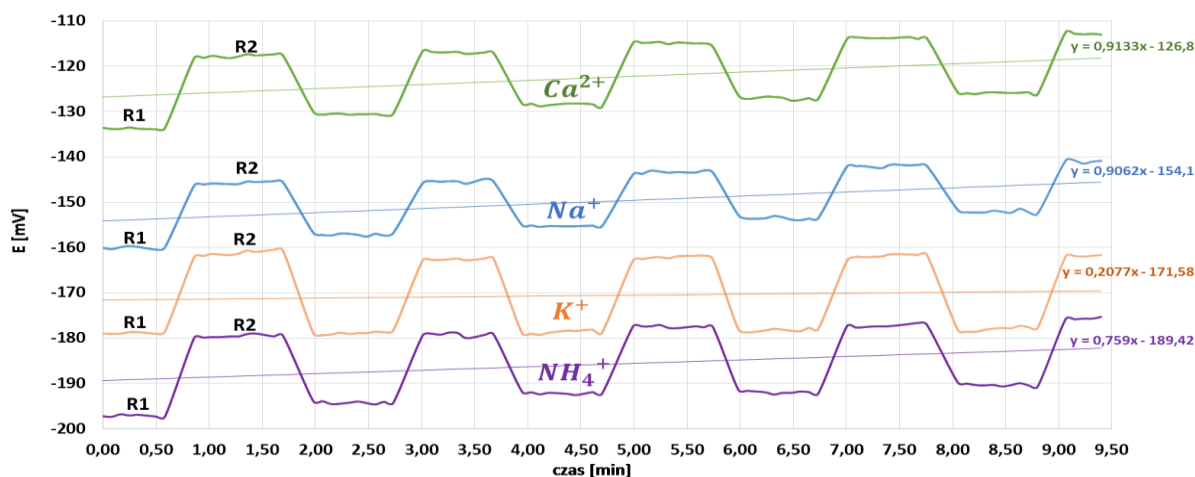
Zdjęcie 26. Przetłaczanie powietrza przez tunel celki pomiarowej.

W kolejnym etapie przez celkę pomiarową pompowano roztwór przez 50 sekund, a po 15-sekundowej przerwie ponownie pompowano przez następne 10 sekund (razem 15 ml roztworu na jeden pomiar). Etap ten miał na celu zniwelować efekt „pamięci membrany”, gdy np. wyciekanie większego stężenia jonów z membrany do roztworu, po uprzednim pomiarze, mogło generować błędy pomiarowe. W ten sposób równowaga na granicy faz $|membrana||roztwór|$ ustalała się 2-krotnie dla tego samego roztworu. W ostatnim etapie procedury dokonano 60-sekundowego pomiaru cieczy zatrzymanej w celce pomiarowej, którego wynikiem była średnia z ostatnich 30 sekund pomiaru (6 ostatnich odczytów).

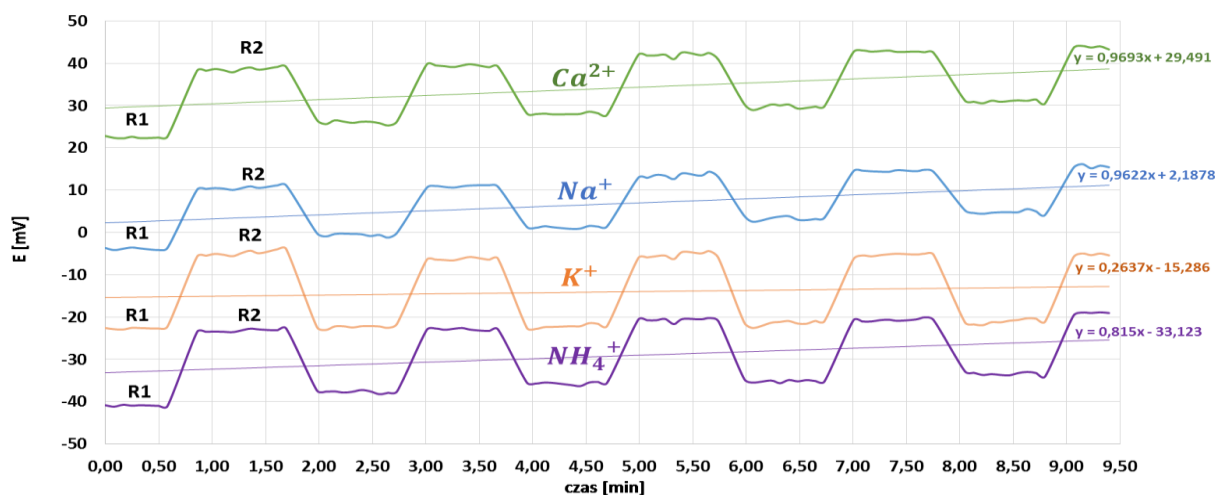


III.5.8. Badanie wykonanej potencjometrycznej platformy wieloczułnikowej

Badania rozpoczęto od sprawdzenia powtarzalności odpowiedzi EJS, na same roztwory kalibracyjne (w sekwencji R1 i R2), zarówno względem komercyjnej elektrody odniesienia ORION 800500U, jak i wykonanej w technologii ASS. W tym celu powtórzono 5-krotnie kalibrację dwupunktową zgodnie z wcześniej opisaną procedurą pomiarową. Wyniki badań przedstawiono na wykresach 17 i 18.



Wykres 17. Powtarzalność kalibracji EJS względem EO ORION dla roztworów R1 i R2.

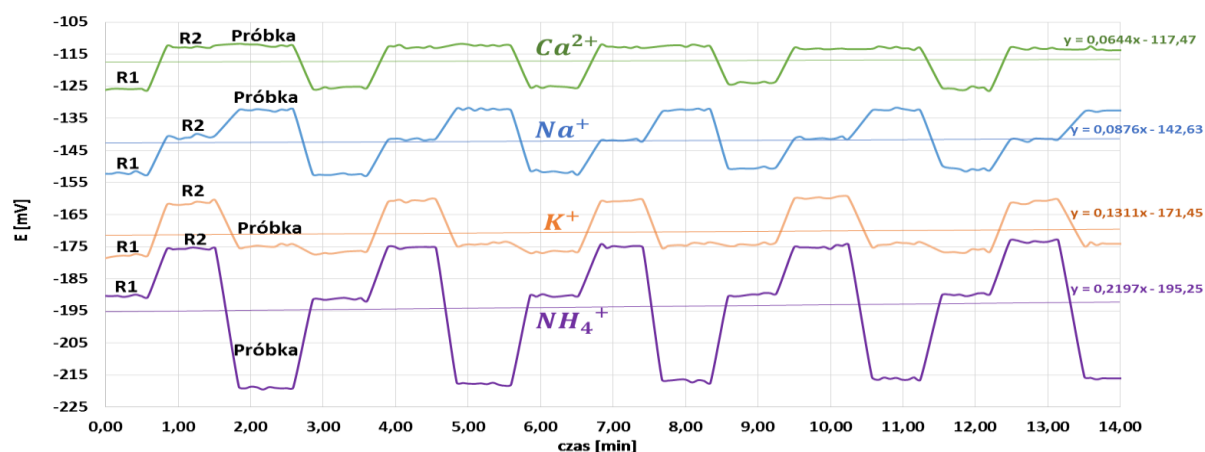


Wykres 18. Powtarzalność kalibracji EJS względem ASS-EO dla roztworów R1 i R2.

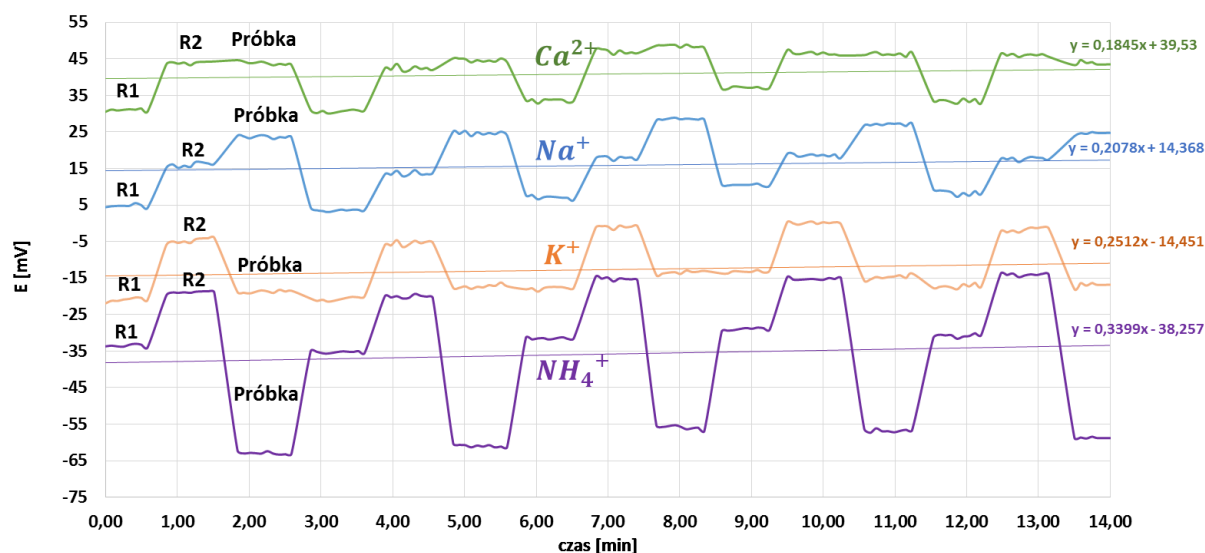
Dryfty potencjałów odpowiedzi EJS miały podobny poziom względem obu EO. Biorąc pod uwagę krótki czas trwania badania były jednak znaczące – tabela 12. Po części, mogło to wynikać z niedostatecznego kondycjonowania elektrod. Średnie nachylenia z 5-powtórzeń dla poszczególnych EJS były również bardzo zbliżone względem obu EO – tabela 13. Uznano

jednak, że relatywnie szybka kalibracja powinna pozwolić na wystarczająco dokładny monitoring wybranych parametrów próbek środowiskowych.

Następnie przeprowadzono to samo badanie, ale tym razem w sekwencji roztworów R1, R2 i badana próbka – wykresy 19 i 20. Dryfty potencjałów były niższe niż w przypadku dryftów w sekwencji R1 i R2 (tabela 12), a uzyskane odpowiedzi EJS dla badanej próbki akwariowej powtarzalne. Średnie nachylenia z 5-powtórzeń dla poszczególnych EJS były zazwyczaj niższe od wartości uzyskanych w poprzednim badaniu (tabela 13).



Wykres 19. Powtarzalność kalibracji EJS względem EO ORION dla roztworów R1, R2 i badanej próbki akwariowej.



Wykres 20. Powtarzalność kalibracji EJS względem ASS-EO dla roztworów R1, R2 i badanej próbki akwariowej.

Tabela 12. Dryfty potencjałów w badaniach powtarzalności odpowiedzi EJS względem EO ORION i ASS-EO.

<i>Pomiary względem EO:</i>	<i>Sekwencja roztworów:</i>	<i>NH₄⁺ [mV/min]</i>	<i>Na⁺ [mV/min]</i>	<i>K⁺ [mV/min]</i>	<i>Ca²⁺ [mV/min]</i>
ORION	R1/R2	0,76	0,91	0,21	0,91
ASS-EO		0,82	0,96	0,26	0,97
ORION	R1/R2/Próbka	0,22	0,09	0,13	0,06
ASS-EO		0,34	0,21	0,25	0,18

Tabela 13. Średnie wartości nachyleń EJS z 5-powtórzeń.

<i>Pomiary względem EO:</i>	<i>Sekwencja roztworów:</i>	<i>NH₄⁺ [mV/dek.]</i>	<i>Na⁺ [mV/dek.]</i>	<i>K⁺ [mV/dek.]</i>	<i>Ca²⁺ [mV/dek.]</i>
ORION	R1/R2	51,90±3,92	53,39±3,18	56,79±2,13	29,66±1,47
ASS-EO		51,60±4,37	51,86±2,87	56,49±2,70	29,87±2,44
ORION	R1/R2/Próbka	52,06±2,31	51,16±1,70	54,13±0,97	25,04±1,64
ASS-EO		51,16±3,63	50,58±2,02	54,41±2,05	25,48±1,41

Wyniki badań dla wybranych jonów w próbce akwariowej porównano z wynikami otrzymanymi za pomocą analizatora medycznego RADIOMETER ABL800 FLEX oraz fotometru płomieniowego MS Spektrum BWB-1, a także popularnych testów akwariowych (Aquatest). Wszystkie otrzymane wyniki zestawiono w tabeli 14.

Tabela 14. Zestawienie wyników badań dla próbki akwariowej otrzymanych za pomocą różnych pomiarów.

<i>Badany analit</i>	<i>Pomiary EJS PLATFORMA vs EO ORION</i>	<i>Pomiary EJS PLATFORMA vs ASS-EO</i>	<i>Analizator medyczny RADIOMETER ABL800 FLEX</i>	<i>FP MS Spektrum BWB-1</i>	<i>Komercyjne testy akwariowe</i>
	<i>C±U (n=5) mg/dm³</i>	<i>C±U (n=5) mg/dm³</i>	<i>C±U (n=2) mg/dm³</i>	<i>C±U (n=3) mg/dm³</i>	<i>C±U (n=3) mg/dm³</i>
NH₄⁺	0,76±0,06	0,74±0,10	brak	brak	0,1±0,02
Na⁺	31,55±2,93	32,26±4,17	poniżej zakresu	27,46±1,48	brak
K⁺	10,01±0,44	9,91±0,90	poniżej zakresu	11,78±0,62	9,83±0,62
Ca²⁺	82,53±2,68	82,48±4,65	74,14±1,89	67,49±1,79	78,33±6,24

Wyniki badań dla próbki akwariowej otrzymane za pomocą wybranych technik pomiarowych wykazały pewne rozbieżności. Największą różnicę zaobserwowano dla jonów amonowych. Według popularnych testów akwariowych ich poziom wyniósł 0,1±0,02 mg/dm³, zaś według WPP znacznie więcej, bo 0,76±0,06 mg/dm³ (vs EO ORION) i 0,74±0,10 mg/dm³ (vs ASS-EO). Przyczyną dużej rozbieżności był fakt, że wartość rzędu 0,1 mg/dm³ znajdowała

się znacznie poza zakresem kalibracji elektrody NH_4^+ -selektywnej, ponieważ współczynniki selektywności w tych warunkach pozwalały jedynie na rozpoczęcie kalibracji od $2,2 \text{ mg/dm}^3$. Wobec tego nie można było oznaczyć tak niskiego stężenia jonów, jakie wynikało z testów akwariowych. Mimo to, uważa się za zasadne umieszczenie czujnika jonów amonowych w platformie. Może on alarmować o wysokim stężeniu jonów NH_4^+ w środowisku akwariowym, gdy wartość ta osiągnie poziom kilku lub kilkunastu mg/dm^3 . Dzięki temu, można zapobiec wyniszczeniu całego ekosystemu.

Zgodność wyników stężenia jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} zaobserwowano dla pomiarów przeprowadzonych za pomocą EJS przepływowej platformy wieloczujnikowej względem dwóch różnych elektrod odniesienia. Co więcej, wartości stężeń jonów K^+ i Ca^{2+} dobrze korelowały z wartościami otrzymanymi dzięki testom akwariowym.

Z kolei analizator medyczny nie pozwolił oznaczyć tak niskich stężeń jonów Na^+ i K^+ . Wynikało to z tego, że elektrody jonoselektywne, w które wyposażony był analizator, były dostosowane do pomiaru jonów w płynach ustrojowych człowieka. Natomiast, zmierzone stężenie jonów Ca^{2+} wyniosło $74,14 \pm 1,89 \text{ mg/dm}^3$, zatem blisko wartości innych pomiarów (tabela 14).

Największe odchylenia w wynikach zaobserwowano na fotometrze płomieniowym (FP), gdzie wartości te wyniosły odpowiednio $27,46 \pm 1,48 \text{ mg Na}^+/\text{dm}^3$, $11,78 \pm 0,62 \text{ mg K}^+/\text{dm}^3$ i $67,49 \pm 1,79 \text{ mg Ca}^{2+}/\text{dm}^3$. Po części, mogło to wynikać z przygotowania roztworów kalibracyjnych o szerszym zakresie stężeń tych jonów niż typowe zakresy dla próbek akwariowych. Oprócz tego, w czasie pomiarów na FP zauważalny był dryft mierzonego sygnału, który mógł wprowadzać zafałszowanie wyników. Wybrana procedura pomiaru, tj. 3-krotny pomiar każdego z roztworów pod rząd (R1 x 3, R2 x 3, Próbkę x 3), prawdopodobnie spowodowała „kumulację” dryftu. Być może bardziej odpowiednią procedurą byłby pomiar seriami tj. (R1 x 1, R2 x 1, Próbkę x 1) x 3. Wówczas wartość dryftu miałaby mniejszy wpływ na odchylenia mierzonych wartości.

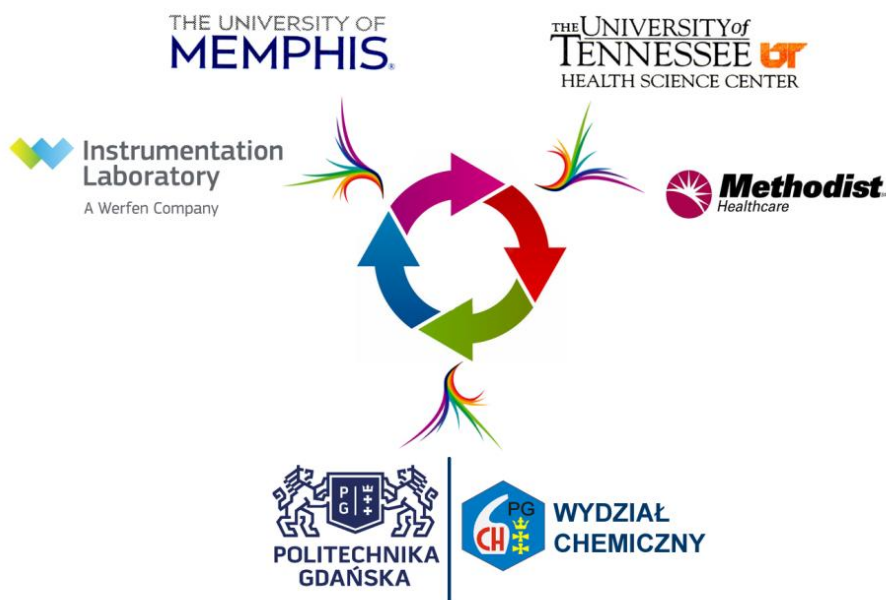
Na podstawie wyników przeprowadzonych badań stwierdzono, że tak zaprojektowana, wykonana i przystosowana wieloczujnikowa platforma przepływowa jest wiarygodnym urządzeniem pomiarowym. Jego konstrukcja pozwala na monitoring wielu parametrów jednocześnie przy stosunkowo małej objętości próbki. Ponadto, istnieje możliwość doboru szerokiej konfiguracji czujników w zależności od potrzeb. Opracowana platforma charakteryzuje się możliwością wykonania stosunkowo szybkiej analizy (3 min), a także prostotą obsługi. Dodatkowym atutem konstrukcji był wewnętrzny podział platformy na dwie

komory (EJS i EO), co ułatwia przechowywanie WPP po pomiarach bez konieczności jej demontowania.

Wybór przezroczystej pleksi do budowy celki pomiarowej był celowy z uwagi na możliwość wizualizacji rozmiarów i konstrukcji poszczególnych elementów. Niemniej jednak, dobór materiału powinien być podyktowany jego odpornością chemiczną oraz nieprzenikalnością światła, które może powodować częściowe utlenianie się polimeru przewodzącego.

III.6. Potencjometryczny układ do oznaczania CO₂ i pH w moczu ludzkim

Badania przeprowadzono w ramach projektu *InterPhD* na stażu wyjazdowym na *The University of Memphis, TN, USA* na wydziale *Biomedical Engineering* pod kierunkiem prof. Ernő Lindnera. W projekt monitorowania CO₂ w moczu pacjentów, w stanie wstrząsu septycznego, zaangażowany był szpital *Methodist University Hospital in Memphis, TN, USA* będący w ścisłej współpracy z *The University of Tennessee, TN, USA*. Badania wspierane były również przez firmę *Instrumentation Laboratory, Bedford, MA, USA* (rysunek 33).



Rysunek 33. Podmioty zaangażowane w projekt oznaczania poziomu CO₂ i pH w moczu ludzkim.

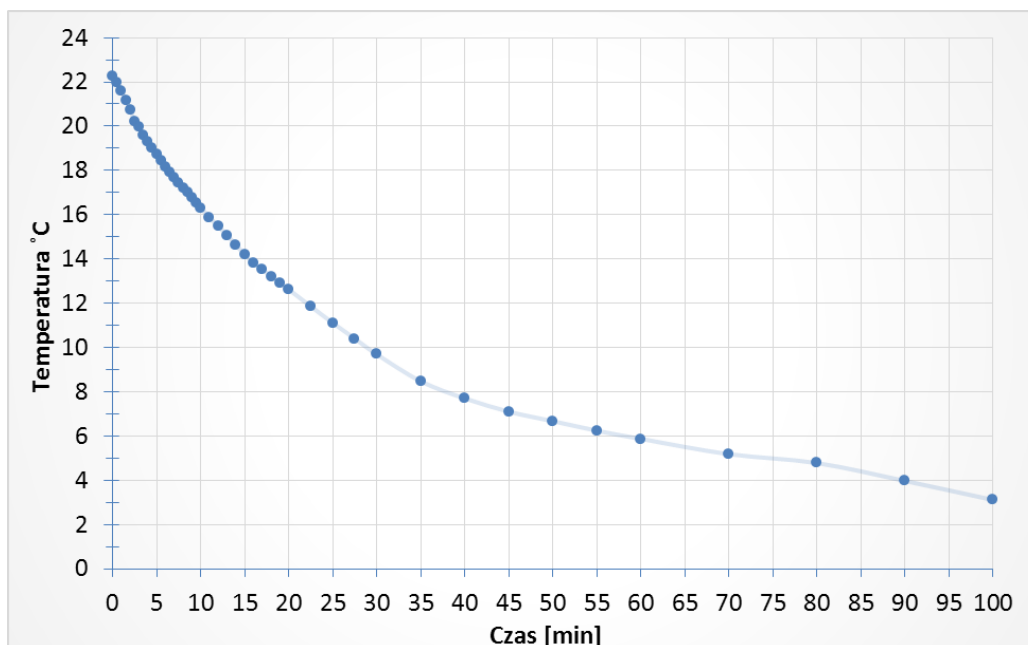
Głównym celem projektu było opracowanie i skonstruowanie układu pomiarowego do oznaczania poziomu zawartości CO₂ i pH w moczu pacjentów w stanie wstrząsu septycznego. Konstrukcja układu miała zapewnić możliwość pomiarów przy niewielkich objętościach próbki z uwagi na skąpomocz, z którym boryka się docelowa grupa pacjentów.

W ramach stażu zbadano wpływ temperatury i czasu magazynowania próbki na zawartość CO₂ w moczu ludzkim, a także oceniono użyteczność różnicowego czujnika CO₂ typu: pH vs pH do oznaczania dwutlenku węgla w moczu ludzkim. Ponadto, wykonano nową konstrukcję różnicowego czujnika CO₂ typu: CO₃²⁻ vs pH opartego na polimerze przewodzącym o właściwościach hydrofobowych, a także oceniono jego pracę. Dodatkowo, opracowano i wykonano miniaturową elektrodę pH.

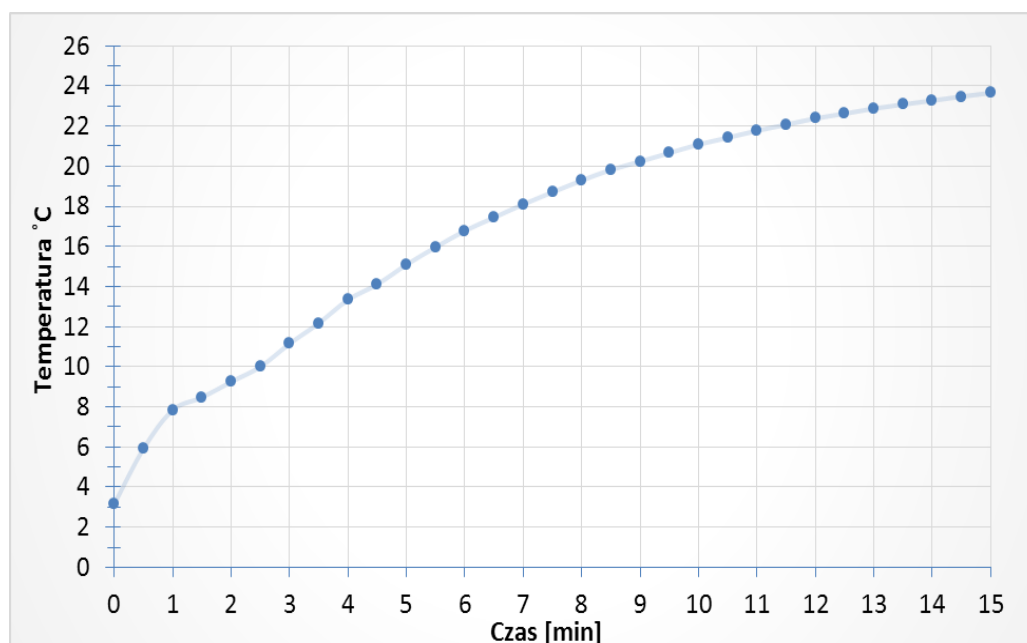
III.6.1. Badanie wpływu temperatury i czasu na zawartość CO₂ w moczu ludzkim

W projekcie badane próbki moczu były pobierane od pacjentów szpitala *Methodist University Hospital*, a następnie transportowane do laboratorium *The University of Memphis*. Pobieranie próbek odbywało się o różnych porach, w zależności od stanu pacjenta i dostępności personelu medycznego. Często, zanim zostały one przetransportowane do analizy, przez pewien czas musiały być przechowywane. Stąd, zaistniała potrzeba oceny stopnia wpływu temperatury i czasu przechowywania na zawartość CO₂ w badanych próbkach, ponieważ istnieje ścisła zależność między tymi parametrami.

Wstępny etap badań obejmował tylko sprawdzenie czasu potrzebnego na schładzanie i ogrzanie próbki, dlatego posłużono się próbką czystej wody, która miała odzwierciedlać próbkę moczu. Badania rozpoczęto od zmierzenia czasu potrzebnego na schłodzenie próbki wody do temperatury panującej w lodówce (ok. 3°C). Pomiaru temperatury dokonano w strzykawce zawierającej 50 ml wody, w której szczelnie umieszczono czujnik temperatury podłączony z cyfrowym termometrem. Następnie całość uszczelniono parafilmem i wstawiono do lodówki. W ten sposób monitorowano w czasie rzeczywistym spadek temperatury schładzanej cieczy. Drugi pomiar temperatury dotyczył wyznaczenia minimalnego czasu potrzebnego do ogrzania schłodzonej cieczy do temperatury otoczenia (ok. 23°C). Proces ogrzewania przeprowadzono w podobny sposób. Schłodzoną wodę w strzykawce razem z czujnikiem temperatury przeniesiono do termostatowanej łaźni wodnej o temperaturze ok. 26°C i monitorowano wzrost temperatury w czasie rzeczywistym. Przebieg schładzania próbki wody przedstawia [wykres 21](#), a ogrzewania [wykres 22](#).



Wykres 21. Przebieg schładzania 50 ml wody symbolizującej próbkę moczu.



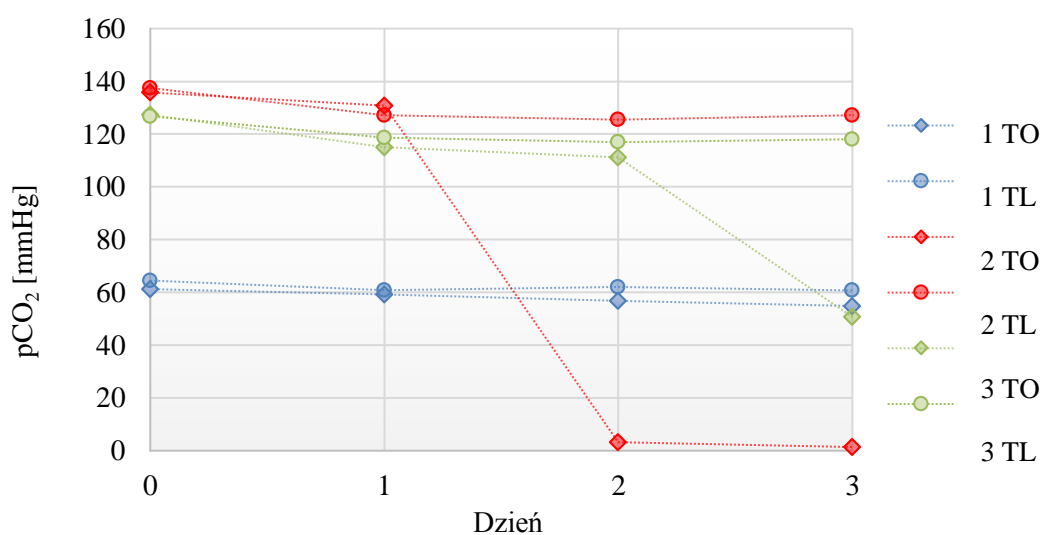
Wykres 22. Przebieg ogrzewania 50 ml wody symbolizującej próbkę moczu.

Stwierdzono, że czas potrzebny na schłodzenie 50 ml cieczy wynosi ok. 100 minut, natomiast ponowne jej ogrzanie do temperatury otoczenia trwa ok. 15 minut. W kolejnym etapie zbadano wpływ czasu na zmianę zawartości CO₂ w moczu. Badania rozpoczęto od zebrania próbek moczu od trzech ochotników. Każda osoba dostarczyła po dwie próbki o objętości 50 ml (razem po 100 ml). Wszystkie zgromadzone próbki, po osiągnięciu temperatury otoczenia, natychmiast zbadano pod względem zawartości CO₂. Od tego momentu rozpoczęto pomiar czasu magazynowania próbek. Analizę CO₂ w próbkach moczu dokonano za pomocą czujnika CO₂

typu Severinghaus – procedura III.2.10. Po pomiarach jedną próbkę moczu od każdej osoby umieszczono w lodówce w celu schłodzenia do temperatury $\approx 3^{\circ}\text{C}$. Pozostałe próbki przechowywano w temperaturze otoczenia $\approx 23^{\circ}\text{C}$. Badania trwały 3 dni, w ciągu których dokonano 4 pomiarów. Schłodzone próbki przed każdym pomiarem były wyjmowane z lodówki i umieszczane w pojemniku z wodą, gdzie po 15 minutach osiągały temperaturę otoczenia. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 15 oraz na wykresie 23, gdzie dopisek TO oznacza próbkę przechowywaną w temperaturze otoczenia, a TL w lodówce.

Tabela 15. Stabilność poziomu $p\text{CO}_2$ w próbkach moczu ochotników w czasie 3 dni.

Próbka	Czas przechowywania [dni]				Średnia \pm SD
	0	1	2	3	
1 TO	61	59	57	55	58 \pm 2
1 TL	64	61	62	61	62 \pm 1
2 TO	136	131	3	1	-
2 TL	137	127	125	127	129 \pm 5
3 TO	127	115	111	51	-
3 TL	127	119	117	118	120 \pm 4



Wykres 23. Stabilność poziomu $p\text{CO}_2$ w próbkach moczu ochotników w czasie 3 dni.

Na podstawie wyników nie zauważono istotnych zmian poziomu CO_2 w analizowanych próbkach moczu, które przechowywane były w temperaturze $\approx 3^{\circ}\text{C}$, przez cały okres pomiarów. Natomiast w próbce 2, przechowywanej w temperaturze otoczenia, po 48-godzinach, poziom CO_2 gwałtownie spadł. Po kolejnej dobie odnotowano znaczny spadek CO_2 także w próbce 3. Jedynie próbka 1 wykazywała stabilność CO_2 niezależnie od temperatury

przechowywania. Niemniej jednak, wszystkie badane próbki charakteryzowały się stosunkowo dobrą stabilnością poziomu dwutlenku węgla w czasie pierwszej doby. Biorąc pod uwagę otrzymane wyniki stwierdzono, że próbki moczu pacjentów w stanie wstrząsu septycznego powinny być zbadane najszybciej jak to możliwe, lecz nie później niż w ciągu 24-godzin od pobrania i w razie potrzeby szczelnie przechowywane w warunkach niskiej temperatury.

Dodatkowym badaniem było porównanie wartości CO₂ próbek bezpośrednio wyjętych z lodówki z tymi będącymi w temperaturze otoczenia. W tym celu otrzymano świeżo pobrane próbki moczu od dwóch osób (dwie próbki po 50 ml od każdej osoby). Próbki, po osiągnięciu temperatury otoczenia, natychmiast zbadano pod względem zawartości CO₂, a następnie jedną próbkę od każdej osoby umieszczono w lodówce na 2 godziny. Po tym czasie wykonano drugi pomiar wszystkich próbek, gdzie schłodzone próbki zostały zbadane bezpośrednio po wyjęciu z lodówki (bez ogrzewania). Trzeci pomiar wykonano tylko dla próbek schłodzonych po ociepleniu ich do temperatury otoczenia. Wyniki wszystkich trzech pomiarów przedstawiono w tabeli 16.

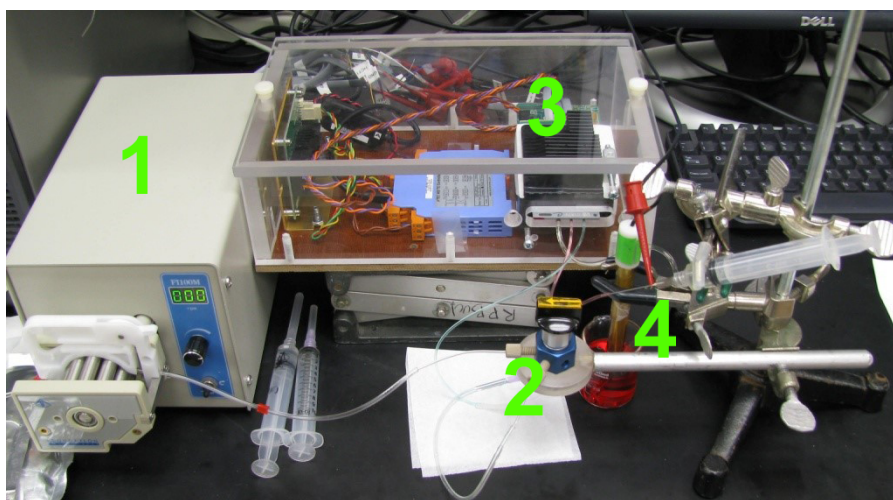
Tabela 16. Wpływ temperatury na zmianę pCO₂ w próbkach moczu.

Próbka	Pomiar		
	I	II	III
1 TO	64	64	-
1 TL	61	59	61
2 TO	84	84	-
2 TL	82	78	83

Badania wykazały lekki spadek oznaczanego CO₂ w próbkach o temperaturze $\approx 3-5^{\circ}\text{C}$ w stosunku do wartości z pierwszego pomiaru ($\approx 23^{\circ}\text{C}$). Efekt ten był spodziewany, ponieważ temperatura wpływa na odpowiedź czujnika potencjometrycznego zgodnie z równaniem Nernsta. Wyniki dla tych samych próbek, po osiągnięciu temperatury otoczenia, były zgodne. Stwierdzono, że przechowywane próbki moczu w warunkach niskiej temperatury lepiej jest oznaczać po ich ociepleniu do temperatury otoczenia.

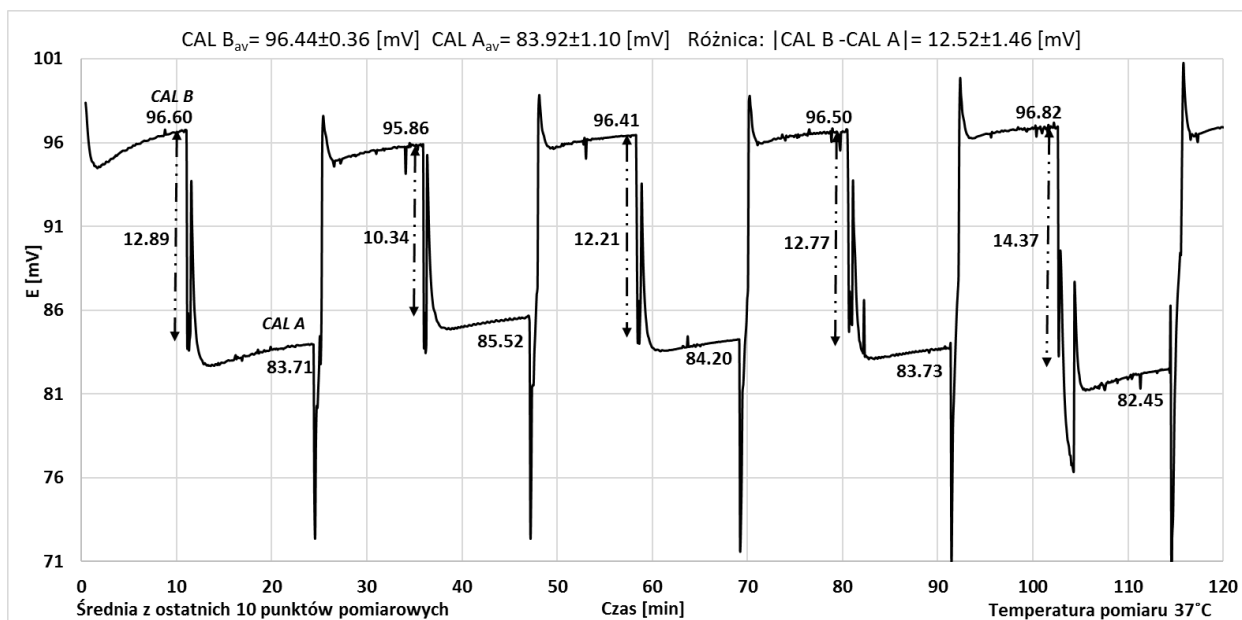
III.6.2. Pomiar CO₂ za pomocą różnicowego czujnika CO₂ typu: pH vs pH

Do badań wykorzystany został potencjometryczny czujnik dwutlenku węgla dostarczony przez firmę *Instrumentation Laboratory*, który zaprojektowany był do oznaczania CO₂ w krwi ludzkiej. Czujnik analizował próbki w systemie przepływowym i składał się z dwóch miniaturowych elektrod pH o konstrukcji: Ag/AgCl/Hydrożel+KCl/MJS (opis konstrukcji czujnika CO₂ typu pH vs pH w punkcie II.9). Skład użytych membran został specjalnie opracowany przez firmę *Instrumentation Laboratory* – brak zgody na publikację danych (spis składników membrany podano w tabeli 1/F). Głównym celem badania było sprawdzenie możliwości zastosowania tego czujnika do oznaczania CO₂ w próbkach moczu. Procedura pomiaru była podobna do opisanej w punkcie III.2.10 dla czujnika typu Severinghaus, ale tym razem zestaw pomiarowy wyposażono w funkcję termostatowania badanych cieczy – zdjęcie 27. Jako EO użyto elektrodę ORION 900200.

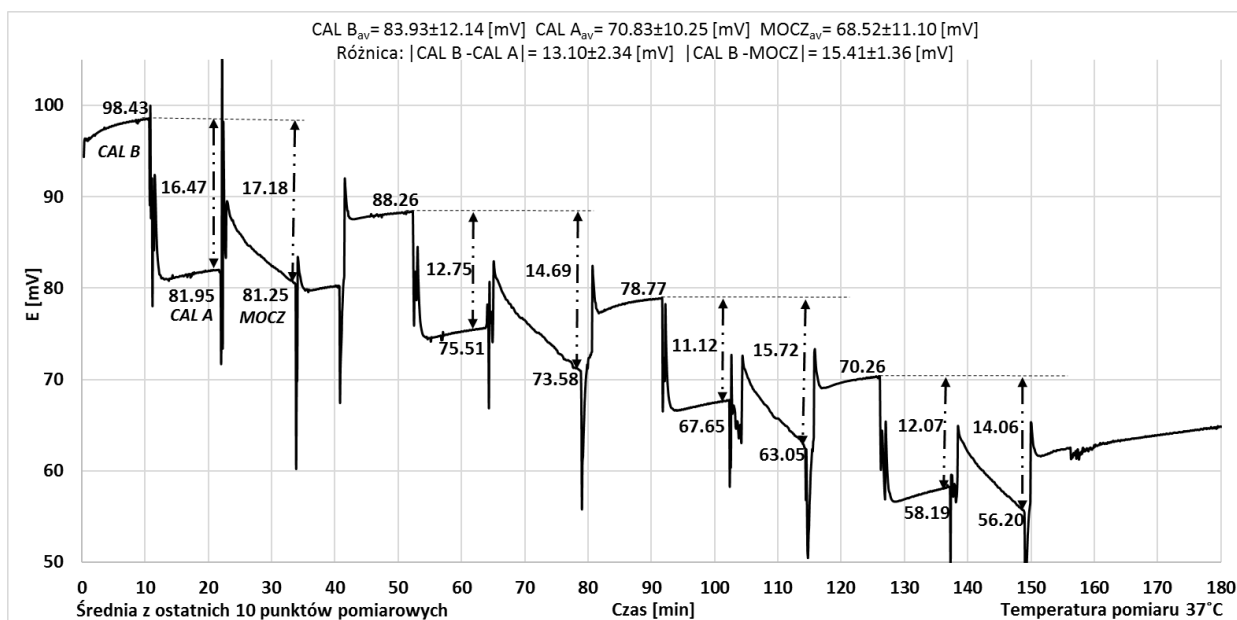


Zdjęcie 27. Zestaw pomiarowy czujnika CO₂ typu pH vs pH z termostatem: 1) pompa perystaltyczna, 2) multizawór, 3) system termostatowania badanego roztworu oraz EJS, 4) elektroda odniesienia.

Chcąc umieścić miniaturowe czujniki w cewniku moczowym pacjentów, próbkę moczu i roztwory kalibracyjne badano w temperaturze 37°C (bliskiej temperatury ludzkiego ciała), podgrzewając badane roztwory za pomocą termostatu (z funkcją grzania i chłodzenia). W pierwszej fazie badań sprawdzono powtarzalność odczytów czujnika w układzie samych roztworów kalibracyjnych – CalB/CalA, zaś w drugiej, w układzie z próbką moczu – CalB/CalA/próbka. Otrzymane wyniki zaprezentowano na wykresach 24-25.

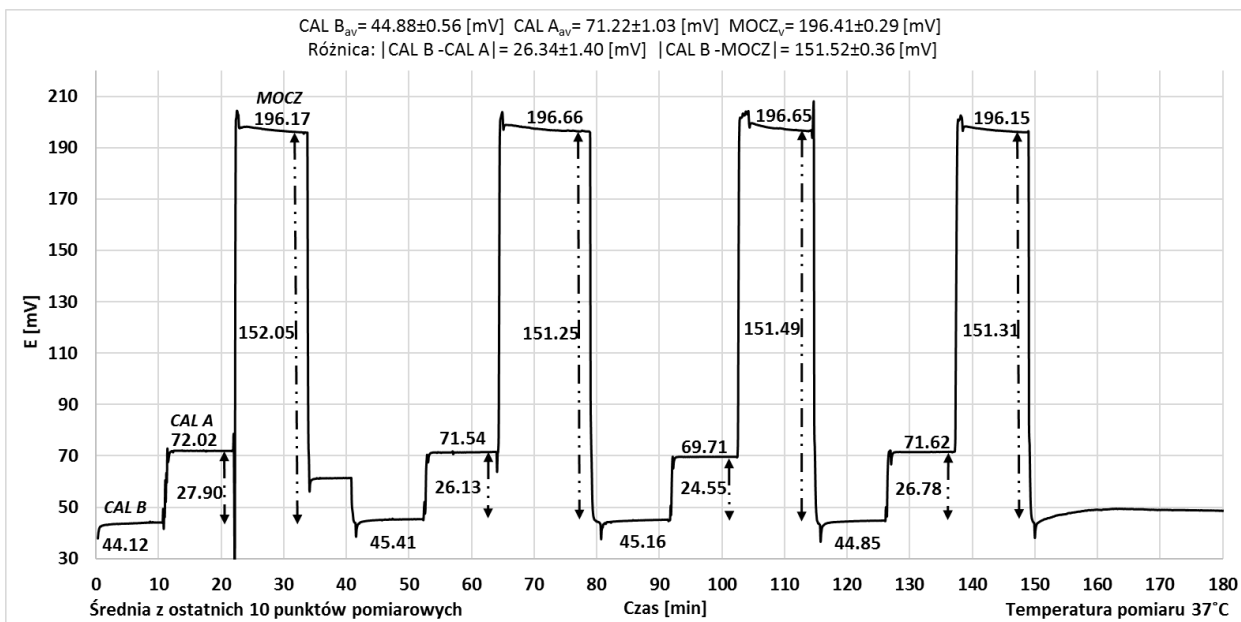


Wykres 24. Powtarzalność czujnika CO₂ typu pH vs pH w układzie CalB/CalA.

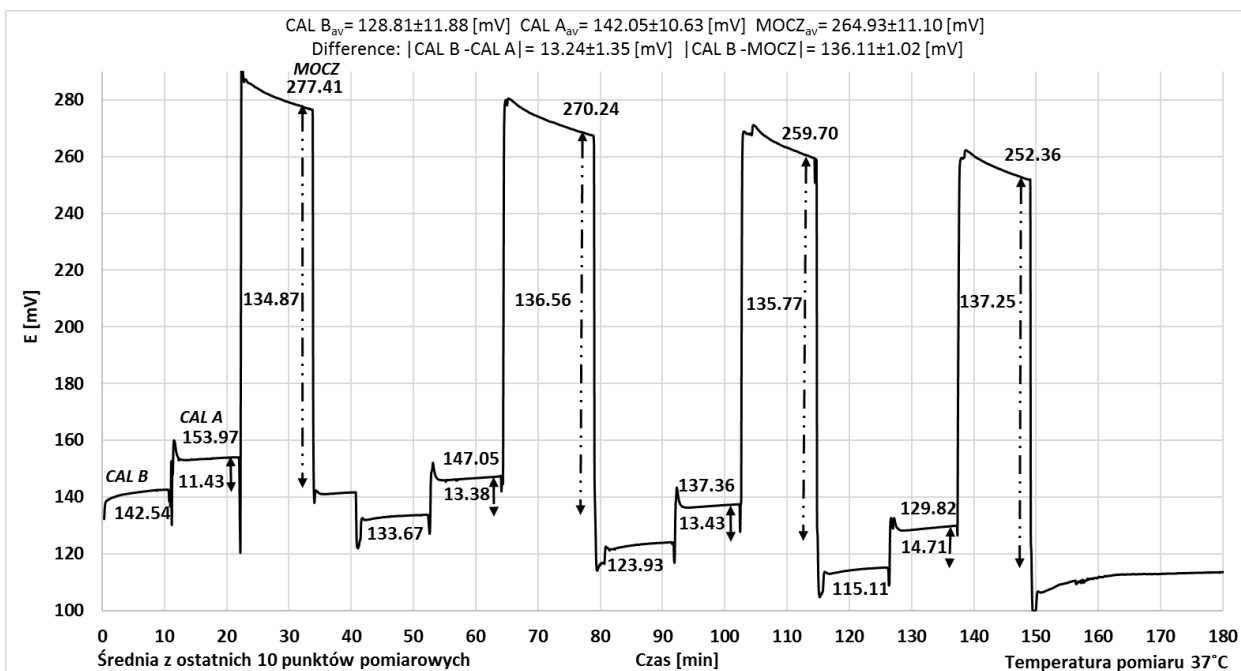


Wykres 25. Powtarzalność czujnika CO₂ typu pH vs pH w układzie CalB/CalA/próbka.

Praca czujnika CO₂ w układzie CalB/CalA była stabilna. Natomiast, w układzie CalB/CalA/próbka badania wykazały negatywny wpływ próbki moczu na powtarzalność odpowiedzi czujnika, co wywołało silny dryft spadkowy (wykres 25). W tym przypadku elektroda pH z grubszą i buforowaną membraną nie uległa zakłóceniom ze strony próbki moczu – wykres 26, w przeciwieństwie do elektrody z cieńszą i niebuforowaną membraną – wykres 27.



Wykres 26. Powtarzalność pH z grubszą i buforowaną membraną w układzie CalB/CalA/próbka.



Wykres 27. Powtarzalność pH z cieńszą i niebuforowaną membraną w układzie CalB/CalA/próbka.

Powstałe zakłócenia wykluczyły możliwość zastosowania opisanego czujnika do oznaczania dwutlenku węgla w próbkach moczu. Mimo, że roztwory kalibracyjne (CalA i CalB) zawierały w swoim składzie niepieniące surfaktanty, usuwające przyklejone do powierzchni MJS cząsteczki organiczne, to prawdopodobnym źródłem niekorzystnych zmian była ekstrakcja

lipofilowych substancji (zawartych w moczu) do membrany, zmieniając jej skład i powodując dryft (niebuforowanej membrany). Być może czujnik o innej konstrukcji i ze zmienionym składem membran umożliwiłby pomiar CO₂ w próbkach moczu. Dlatego też, podjęto próbę wykonania czujnika CO₂ typu: CO₃²⁻ vs pH o nowej konstrukcji, którą również można poddać miniaturyzacji – punkt III.6.3.

III.6.3. Pomiar CO₂ za pomocą różnicowego czujnika CO₂ typu: CO₃²⁻ vs pH

Do badań przygotowano trzy konstrukcje czujników CO₂. Dwa czujniki wykonano w technologii ASS z polimerem przewodzącym, zaś trzeci wykonano jako układ klasycznych elektrod – który użyto w pomiarach do celów porównawczych. Klasyczny układ czujnika wykonano na podstawie opracowania pomysłodawców konstrukcji Xie'go i Bakker [261]. Opis budowy przedstawiono w punkcie II.9.

Pierwsze dwa czujniki wykonane w technologii ASS zróżnicowano poprzez zastosowanie odmiennych polimerów przewodzących – jeden zawierał PEDOT(PSS), zaś drugi specjalny polimer hydrofobowy (PHY). Warstwę PEDOT(PSS)-u otrzymano według procedury III.2.2. Natomiast dane dotyczące struktury i sposobu nakładania użytego polimeru o właściwościach hydrofobowych, ze względu na toczący się proces patentowy, pozostają poufne.

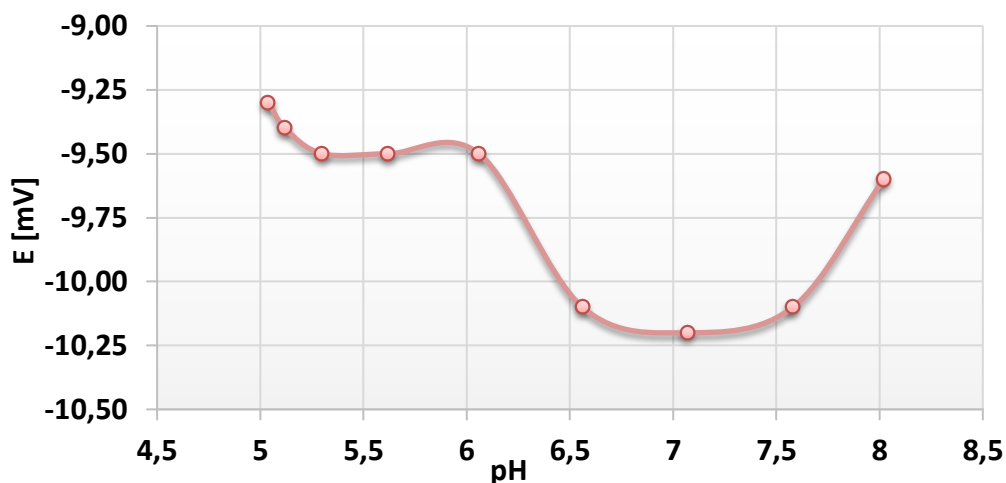
Czujnik oparty na klasycznych elektrodach wykonano w następujący sposób: przygotowano membrany zgodnie z procedurą III.2.3, o składzie podanym w tabeli 1/F-G, wlano je do szklanych pierścieni o średnicy 22 mm i pozostawiono na dobę dla odparowania rozpuszczalnika (THF). Następnie wycięto membranowe dyski o średnicy 7 mm, które umieszczono w klasycznych obudowach. Do elektrody pH jako elektrolit wewnętrzny użyto: buforu uniwersalnego pH ≈ 5 i 10⁻³ mol/dm³ KCl. Natomiast do EJS CO₃²⁻-selektywnej elektrolitem był roztwór zawierający: 5·10⁻³ mol/dm³ NaHCO₃ i 5·10⁻³ mol/dm³ Na₂CO₃. Tak otrzymane EJS reprezentowały czujnik CO₂ w układzie klasycznym.

Pozostałe części membran ponownie rozpuszczono w THF-ie i nakropiono na przygotowane powierzchnie EJS (z odpowiednimi CP) opartych na GC, otrzymując czujniki CO₂ w technologii ASS.

Powyższe czujniki powielono 3- krotnie, aby uzyskać zestaw pomiarowy, dający serię odczytów. Pomiarzy miały na celu ocenić pracę EJS z polimerem o właściwościach hydrofobowych w porównaniu do pozostałych dwóch konstrukcji czujników. Badanie przeprowadzono zgodnie z przebiegiem opisanym w punkcie III.2.11. Charakterystykę



odpowiedzi czujnika typu Severinghaus na zawartość CO₂ w czasie badań przedstawia wykres 28.

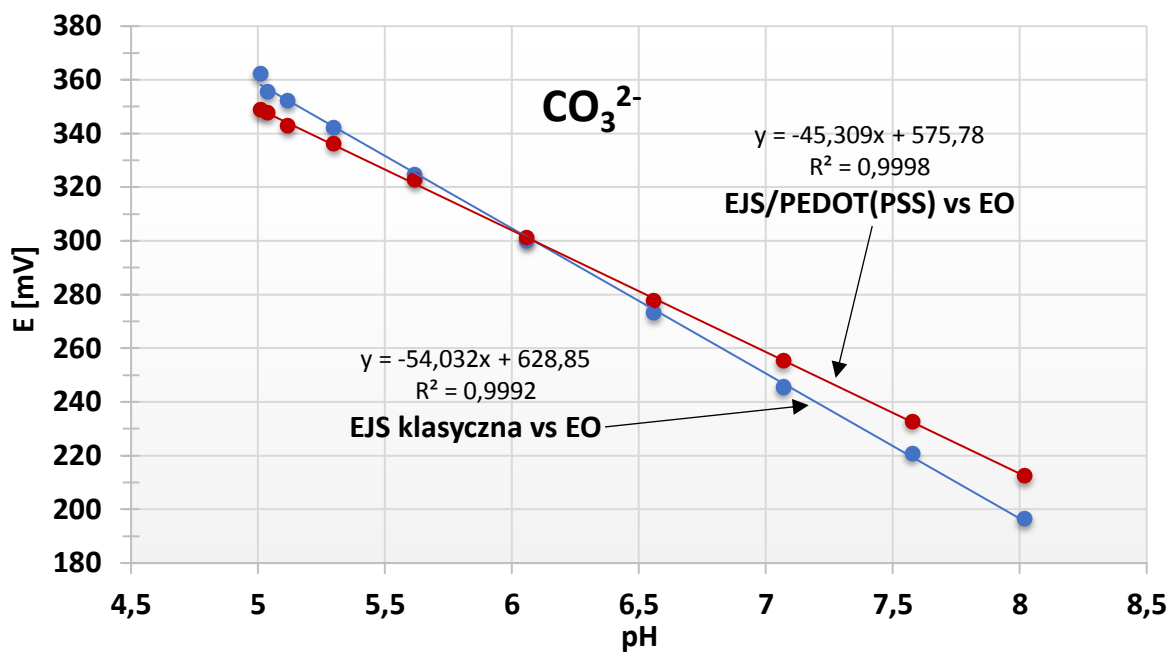


Wykres 28. Odpowiedź elektrody Severinghausa na zawartość CO₂ w czasie trwania całego badania.

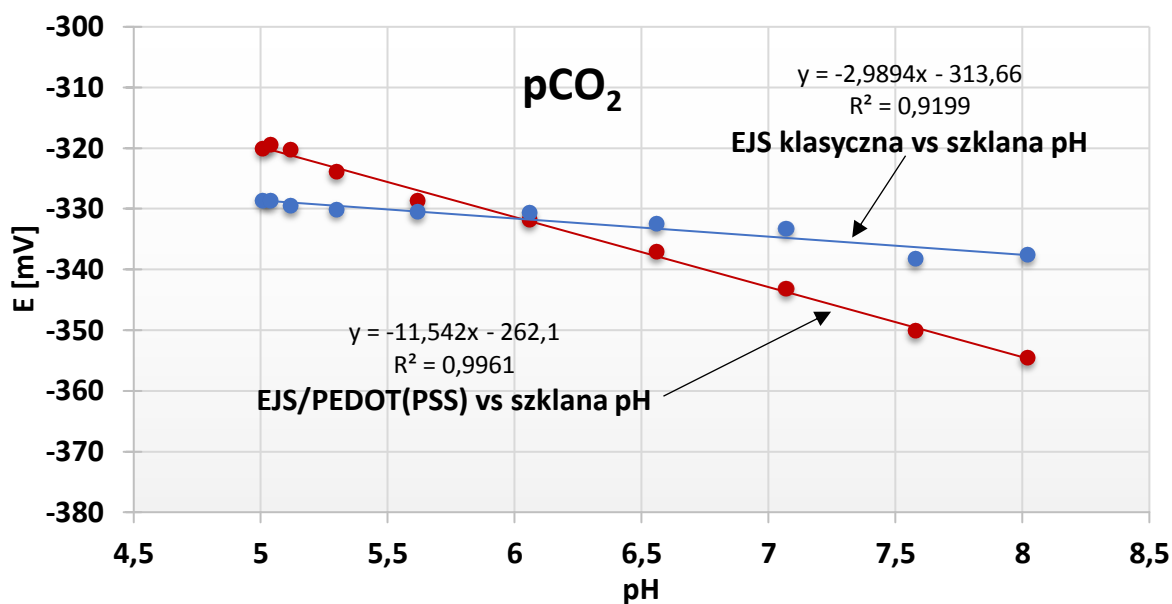
Stężenie CO₂ w czasie trwania pomiarów badanego roztworu przyjęto za stałe, ponieważ zakres odpowiedzi elektrody Severinghausa zawierał się w granicach -9,3 – -10,2 (był praktycznie stały). Pracę szklanej elektrody pH (ORION 8202BN), monitorowano za pomocą multimetra pH-meter model: SevenMulti.

Przed pomiarami wszystkie elektrody CO₃²⁻-selektywne kondycjonowano w roztworze zawierającym: 5·10⁻³ mol/dm³ NaHCO₃ i 5·10⁻³ mol/dm³ Na₂CO₃, a elektrody pH w buforze uniwersalnym o pH = 6,5.

Otrzymaną charakterystykę czujnika CO₂ opartego na klasycznych EJS porównano z charakterystykami odpowiedzi czujników ASS/PEDOT(PSS) i ASS/PHY. Porównania dokonano pod względem odpowiedzi elektrod CO₃²⁻-selektywnych vs elektroda odniesienia (ORION 900200) w zakresie pH 5–8 (zakres większości próbek moczu [316]), a także pod względem odpowiedzi różnicowego czujnika mierzącego pCO₂ (elektrody CO₃²⁻-selektywne vs elektroda pH). Pierwsze porównanie, tj. klasyczne EJS vs EJS/PEDOT(PSS), przedstawiono na wykresach 29 i 30 – wybrane charakterystyki.

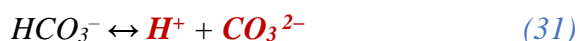
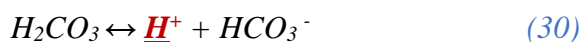
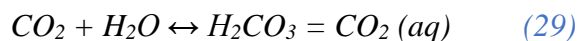


Wykres 29. Porównanie charakterystyk odpowiedzi na jony CO_3^{2-} EJS klasycznej i EJS/PEDOT(PSS) względem EO w zakresie pH 5–8.

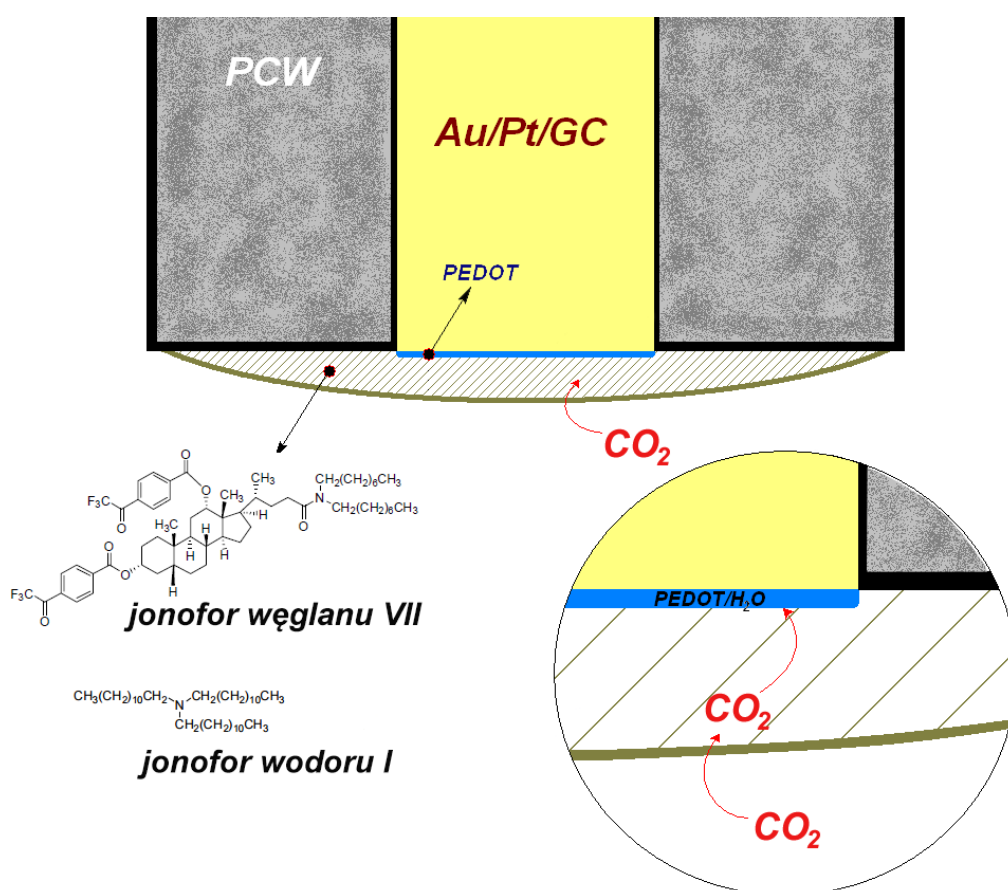


Wykres 30. Porównanie charakterystyk odpowiedzi na pCO_2 różnicowego czujnika CO_2 EJS klasycznej i EJS/PEDOT(PSS) względem szklanej elektrody pH w zakresie pH 5–8.

Zaobserwowano znaczne różnice charakterystyki EJS/PEDOT(PSS) w porównaniu do EJS klasycznej. Różnice te wynikały z tego, że PEDOT, absorbując niewielką ilość wody, podatny jest na zakłócenia wywołane reakcjami ubocznymi. Po przeniknięciu dwutlenku węgla przez membranę, woda obecna w polimerze zaczyna reagować z CO₂ według równań (29-31) i rysunku 34:



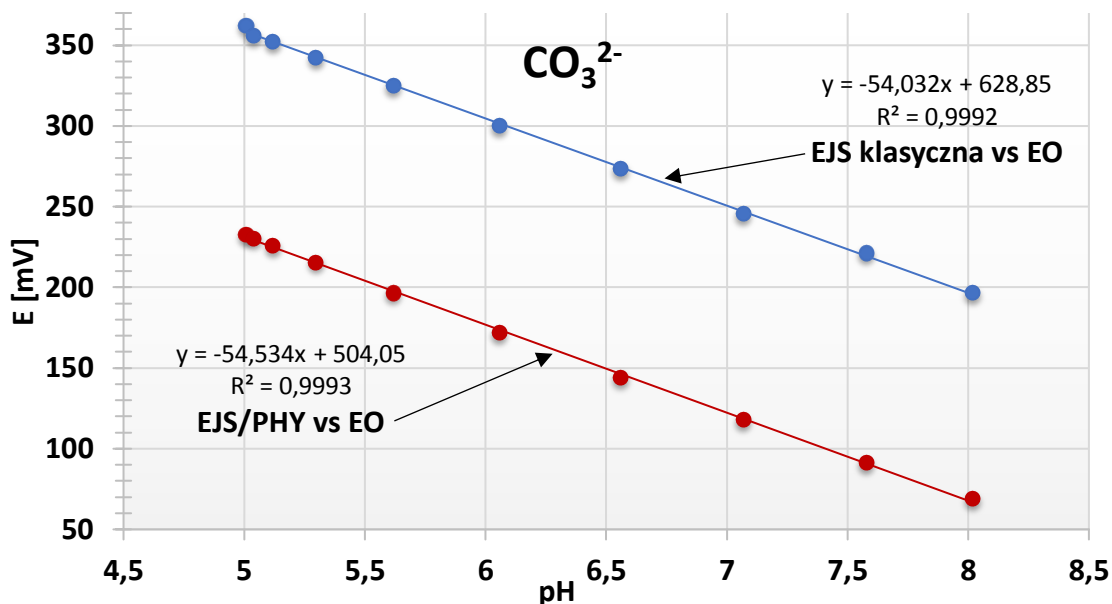
ZAKŁÓCENIA!



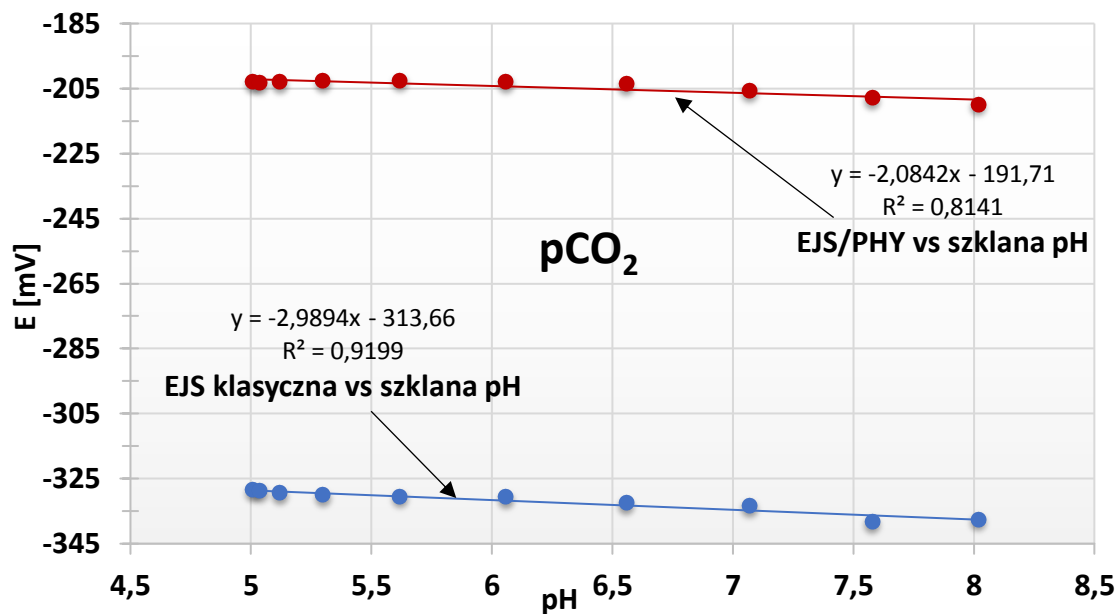
Rysunek 34. Powstające na granicy faz |PEDOT||membrana| zakłócenia w EJS/PEDOT(PSS) selektywnych na jony H⁺ i CO₃²⁻.

Wymienione reakcje (29-31) ilustrują powstawanie jonów H⁺ i CO₃²⁻, które zakłócają pracę elektrod (EJS/PEDOT(PSS)-CO₃²⁻ i pH/PEDOT(PSS)) w czasie pomiaru CO₂. Wówczas, są dwie granice faz, na których zmienia się potencjał: |PEDOT(PSS)||membrana| i |membrana||próbka|. Mechanizm ten wyklucza możliwość zastosowania czujnika o takiej konstrukcji do oznaczania CO₂.

Drugie porównanie przeprowadzono dla klasycznych EJS vs EJS/PHY, które przedstawiono na wykresach 31 i 32 – wybrane charakterystyki.



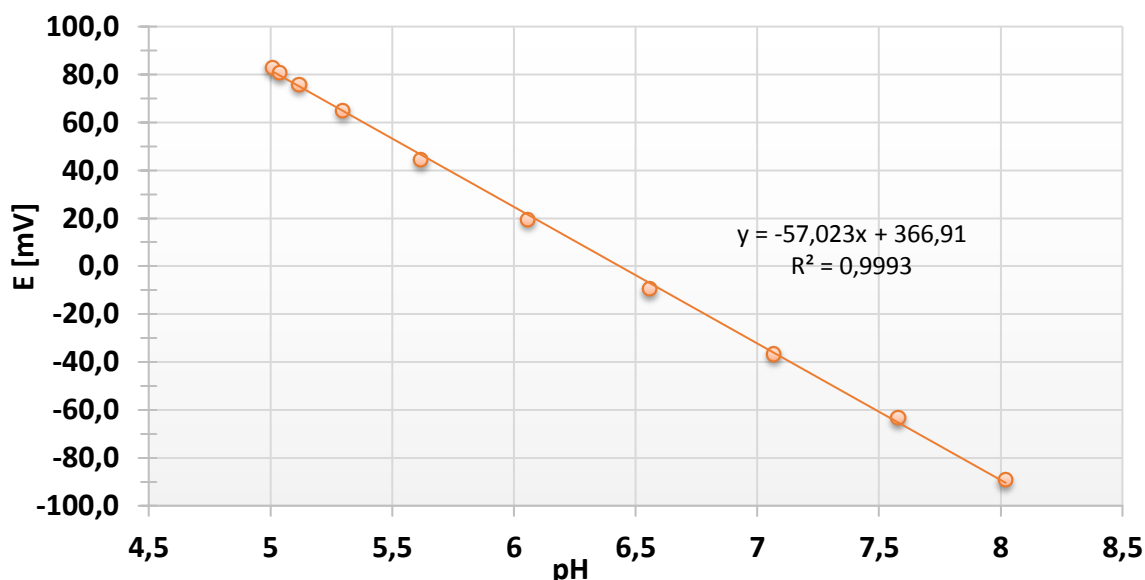
Wykres 31. Porównanie charakterystyk odpowiedzi na jony CO_3^{2-} EJS klasycznej i EJS/PHY względem EO w zakresie pH 5–8.



Wykres 32. Porównanie charakterystyk odpowiedzi na $p\text{CO}_2$ różnicowego czujnika CO_2 EJS klasycznej i EJS/PHY względem szklanej elektrody pH w zakresie pH 5–8.

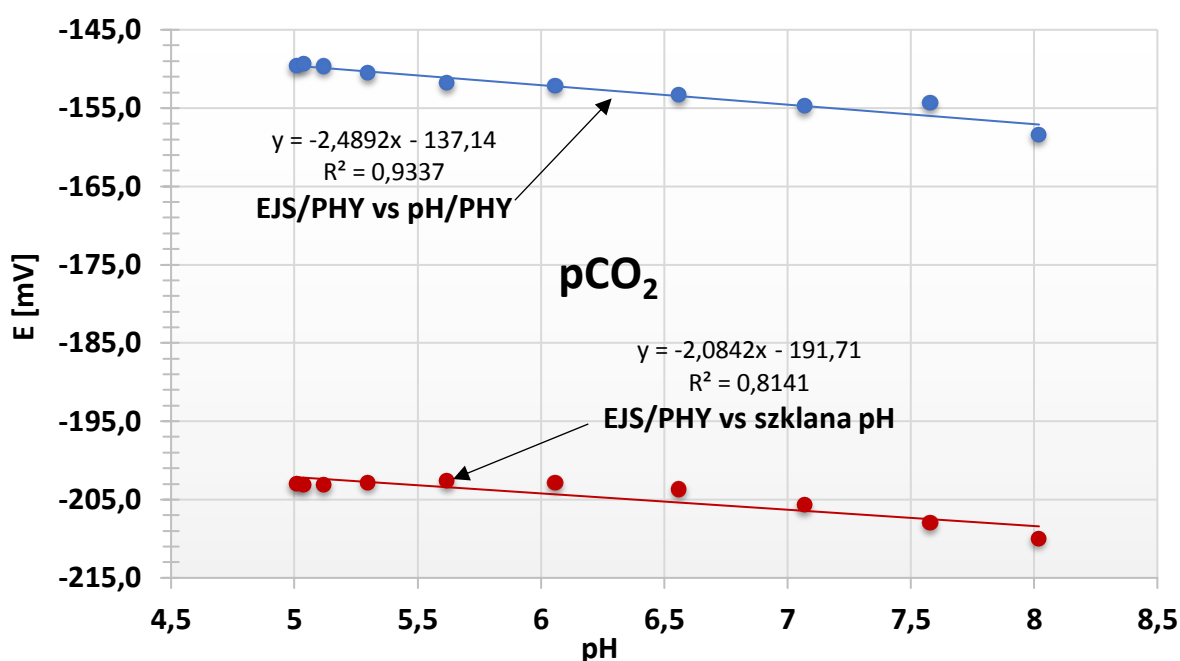
Efekt pokazany na rysunku 34 nie zachodzi w przypadku zastosowania EJS z przewodzącym polimerem hydrofobowym. Stwierdzono zgodność charakterystyki EJS/PHY z charakterystyką klasycznych EJS, ze względu na to, że polimer ten nie absorbuje wody, co potwierdziły zaprezentowane badania (wykresy 31 i 32).

W trakcie badań monitorowano pracę elektrody pH/PHY. Na [wykresie 33](#) przedstawiono jej charakterystykę odpowiedzi.



Wykres 33. Charakterystyka odpowiedzi elektrody pH/PHY.

Otrzymana krzywa odpowiedzi była zgodna z charakterem nernstowskiej odpowiedzi, wobec czego porównano pracę elektrody pH/PHY ze szklaną pH, pod względem odpowiedzi różnicowego czujnika mierzącego $p\text{CO}_2$ (porównano ze sobą układ: EJS/PHY CO_3^{2-} -selektywna vs pH/PHY z układem: EJS/PHY CO_3^{2-} -selektywna vs szklana pH). Otrzymane charakterystyki przedstawiono na [wykresie 34](#).



Wykres 34. Porównanie charakterystyk odpowiedzi na $p\text{CO}_2$ różnicowego czujnika CO_2 w układzie EJS/PHY/ CO_3^{2-} vs pH/PHY i EJS/PHY/ CO_3^{2-} vs szklana pH w zakresie pH 5–8.

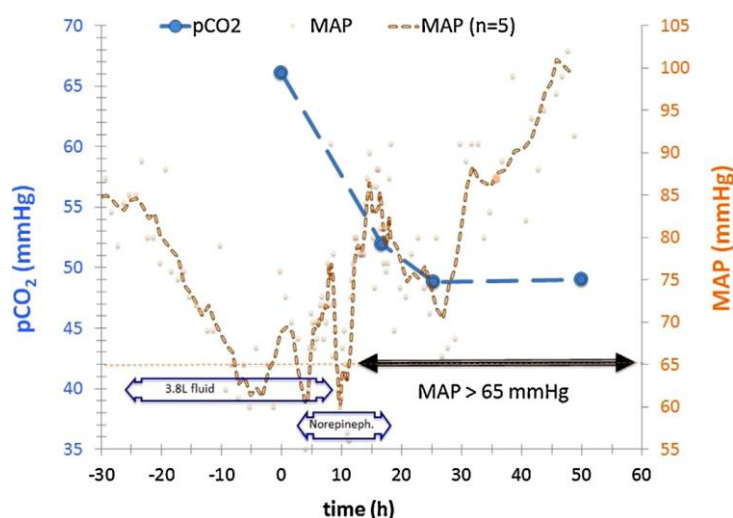
Stwierdzono zgodność charakterystyk obu układów względem siebie. Zatem, niewrażliwość obu EJS/PHY (selektywnych na jony CO_3^{2-} i H^+) na wnikający CO_2 , umożliwia wykonanie miniaturowego czujnika CO_2 .

Wiarygodny pomiar dwutlenku węgla w moczu ludzkim nie jest łatwy ze względu na szereg zależności wpływających na jego ostateczny poziom. Zawartość CO_2 zależy od takich parametrów jak np. ciężar właściwy moczu, pH oraz zdolności buforowej moczu w postaci fosforanów lub wodorowęglanów [255-259]. Natomiast, biorąc pod uwagę styl życia, wpływ na poziom CO_2 ma dieta, aktywność fizyczna oraz stan zdrowia. Trudno jest uchwycić wszystkie zależności mające jednoczesny wpływ na jego poziom w moczu. Jednakże, zgodnie ze wstępnie potwierdzoną hipotezą (opisaną w punkcie II.8), monitorowanie zmiany jego stężenia w czasie może pomóc w ocenie skuteczności wdrożonego leczenia i tym samym ocenić czy kondycja pacjentów w stanie wstrząsu septycznego się poprawia czy też nie. W przypadku, gdy pobrane próbki moczu nie są od razu analizowane, wpływ czasu przechowywania próbki oraz temperatury otoczenia jest istotny. Badanie przeprowadzone w punkcie III.6.1 potwierdziło, że poziom zawartości CO_2 ściśle zależał od temperatury i czasu przechowywania próbki. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że czas analizy próbki moczu powinien być krótszy niż 24 godziny. Ponadto, próbka powinna być przechowywana w niskiej temperaturze.

Badania przeprowadzone podczas wyjazdowego stażu wykazały, że czujnik CO_2 typu pH vs pH, dostarczony przez firmę *Instrumentation Laboratory*, nie sprawdził się w pomiarze CO_2 w moczu ludzkim. Natomiast, badając konstrukcje czujnika CO_2 typu CO_3^{2-} vs pH, zaobserwowano, że PEDOT (zastosowany w pierwszej z konstrukcji) absorbując niewielką ilość wody, podatny jest na interakcje z gazowym CO_2 , w konsekwencji zakłócając działanie całego czujnika. Z kolei, zastosowanie hydrofobowego polimeru przewodzącego (w drugiej konstrukcji) pozwoliło wykonać czujnik CO_2 , który jest niewrażliwy na zakłócenia powodowane przez wnikający CO_2 do MJS. Być może czujnik o takiej konstrukcji ma szansę być zastosowany w pomiarach CO_2 w próbkach moczu. Jednakże, ze względu na krótki czas stażu i z uwagi fakt, że projekt jest wciąż rozwijany, nie został on jeszcze dokładnie przetestowany. Technologia ASS pozwala na miniaturyzację czujnika CO_2 , na tyle, aby można było go umieścić w cewniku chorych pacjentów, jednak potrzeba jeszcze czasu na ich dalszy rozwój. Dodatkowo została dopracowana procedura oznaczania i przechowywania próbek moczu.

Prezentowane w rozprawie wyniki zawartości CO_2 w moczu dotyczą jedynie próbek pobranych od zdrowych ochotników. Niemniej jednak, prowadzono również badania kilku

próbek moczu pacjentów w stanie szoku septycznego. Otrzymane pojedyncze wyniki nie zostały przedstawione, ponieważ stanowią one tylko fragment projektu realizowanego na *The University of Memphis* i mają sens dopiero jako całość badania. Część tych badań została opublikowana w czasopiśmie *Sensors and Actuators B* [316], którego jestem współautorem. Na tym etapie badań hipoteza, że CO_2 jako biowskaźnik może posłużyć do oceny stopnia niedotlenienia tkanek, została wstępnie potwierdzona przez lekarzy uczestniczących w projekcie. Udowodnili to, poprzez bardzo wnikliwą analizę stanu każdego pacjenta i metody jego leczenia, z wynikami zawartości pCO_2 w ich próbkach moczu. Wykres 35 przedstawia przykład spadku CO_2 w moczu pacjenta, leczonego z szoku septycznego. Wraz z normowaniem się średniego ciśnienia tętniczego u pacjenta (czyli wzrostem poziomu dotlenienia tkanek), obserwowano wyraźny spadek zawartości CO_2 w moczu.

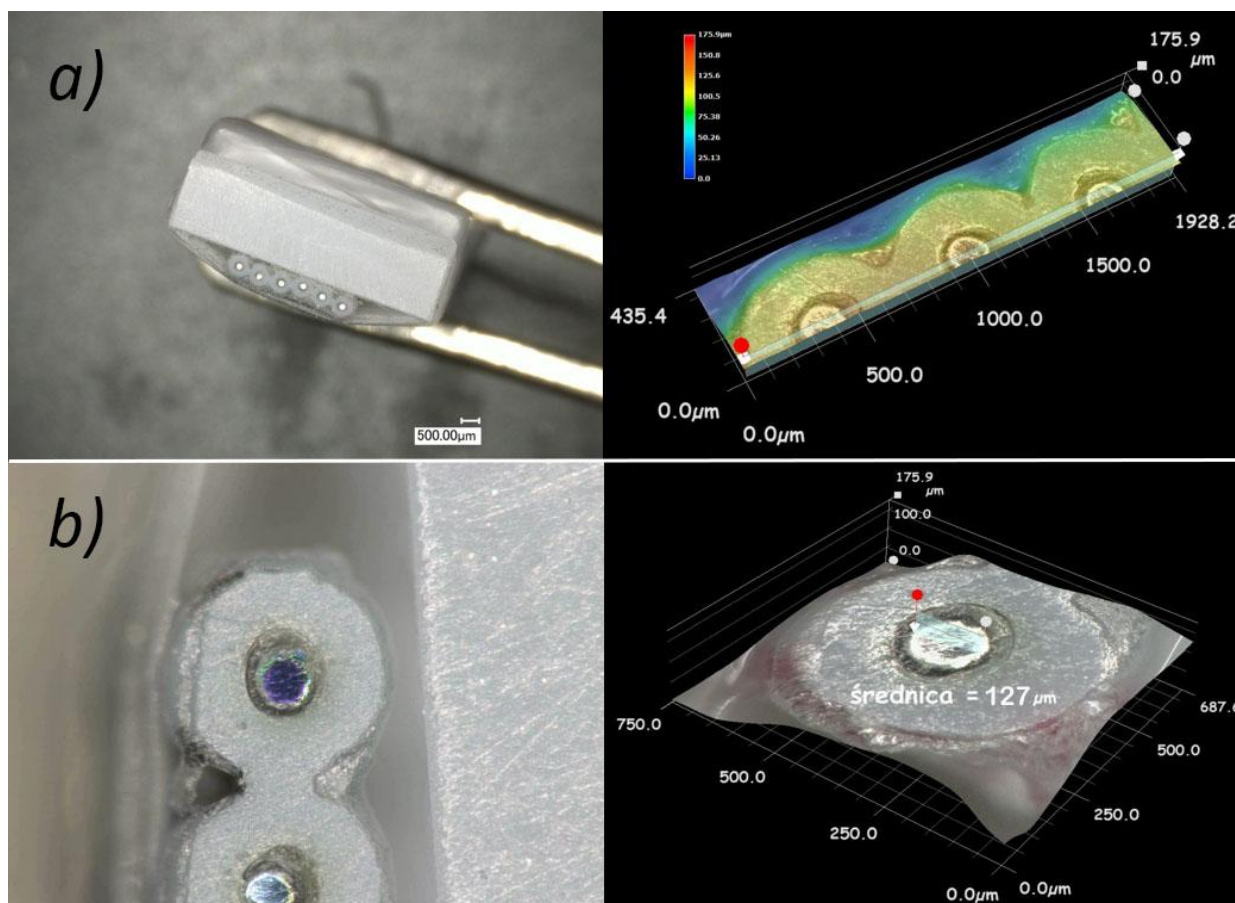


Wykres 35. Przykład zależności poziomu CO_2 w moczu pacjenta leczonego z szoku septycznego [316].

III.6.4. Wykonanie miniaturowej elektrody pH

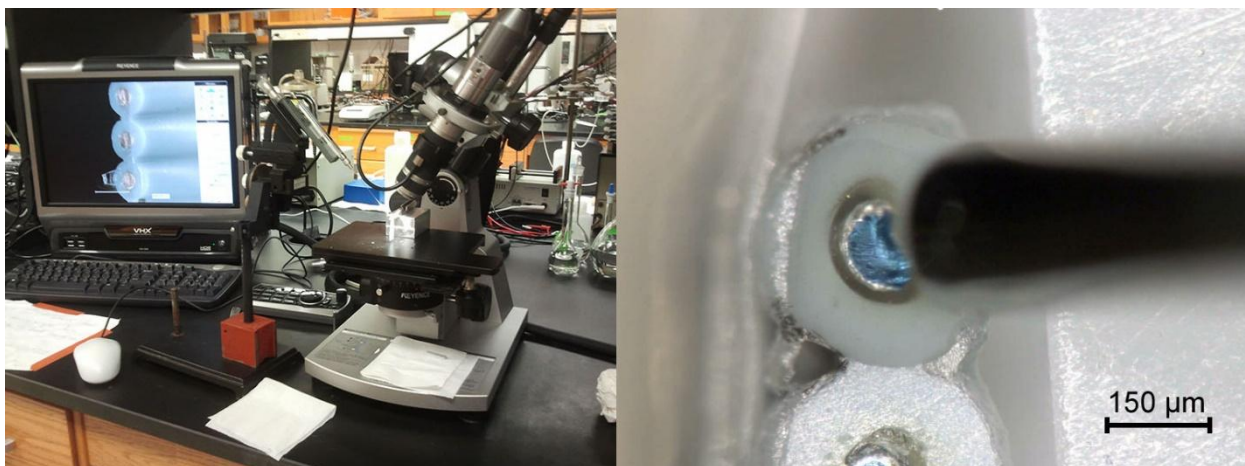
Jednym z głównych elementów składowych układu pomiarowego, projektowanego czujnika CO_2 , jest elektroda pH-metryczna. Osiągnięcie pożądanego stopnia jej miniaturyzacji pozwoliłoby nie tylko na pomiary w moczu u pacjentów ze skąpomoczem występującym przy szoku septycznym, ale również w innych próbkach, gdzie dostępna objętość jest znikoma. Rozwiązania zastosowane przy budowaniu poprzednich elektrod pomiarowych wzbogaciły warsztat umiejętności, co pozwoliło sprostać nowym, bardziej wymagającym konstrukcjom. Wypracowane w poprzednich badaniach procedury i techniki zostały dostosowane do niniejszego zadania.

Do budowy elektrod pH wykorzystano platynowy drucik o średnicy 127 μm izolowany polimerem perfluoroalkoksylowym (PFA) o bardzo wysokiej odporności chemicznej. Obudowę elektrody stanowiła izolacja z PCW powszechnie stosowana w elektronice do izolacji miedzianych przewodów. Platynowy drucik pokryto klejem epoksydowym, a następnie wsunięto w izolację PCW po uprzednim usunięciu przewodu Cu. Klej pozwolił połączyć ze sobą oba materiały. Wysunięty z jednej strony drucik Pt bezpośrednio podłączono do miliwoltomierza. Wykonano sześć sztuk elektrod pH. Otrzymane konstrukcje przymocowano do kawałka tworzywa sztucznego za pomocą parafilmu, aby usztywnić całość konstrukcji – [zdjęcie 28a](#). Taki układ pozwolił przygotować powierzchnie EJS zgodnie z procedurą [III.2.1](#). Na powierzchnie EJS nałożono PEDOT(PSS) według procedury [III.2.2](#) – [zdjęcie 28b](#).



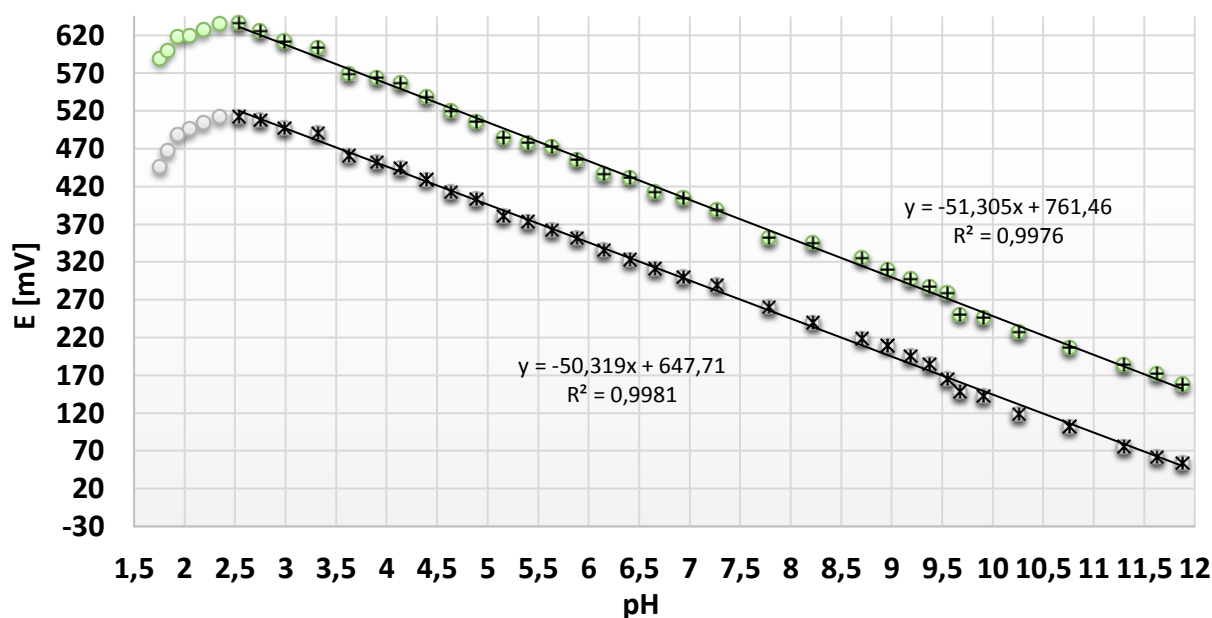
Zdjęcie 28. Miniaturowe elektrody pH: a) konstrukcja szeregu EJS, b) przygotowana powierzchnia EJS.

Ze względu na mały rozmiar konstrukcji, nakrapianie membrany na powierzchnię EJS przeprowadzono pod mikroskopem używając szklanej strzykawki Hamilton o pojemności 0,1 μl – [zdjęcie 29](#). Skład membrany podano w [tabeli 1/F](#).



Zdjęcie 29. Aplikacja membrany pH pod mikroskopem.

Otrzymane elektrody pH kondycjonowano w uniwersalnym buforze o $\text{pH} = 6,5$. Ich pracę wstępnie oceniono na podstawie kalibracji w zakresie $\text{pH} 1,76\text{--}11,88$, którą przeprowadzono zanurzając je w 200 ml uniwersalnego buforu o składzie: $0,0286 \text{ mol/dm}^3$ kwasu cytrynowego, $0,0286 \text{ mol/dm}^3$ KH_2PO_4 , $0,0286 \text{ mol/dm}^3$ kwasu borowego i $0,0286 \text{ mol/dm}^3$ kwasu dietylobarbiturowego. Następnie dodawano określone porcje $0,2 \text{ mol/dm}^3$ NaOH według przebiegu: po 5 ml do $\text{pH} 7,8$; po 3 ml do $\text{pH} 9,9$; na końcu dwie porcje po 4 ml, dwie porcje po 8 ml i jedna 10 ml. Pomiary prowadzono względem elektrody odniesienia ORION 900500. Odczyty wartości pH roztworu realizowano za pomocą szklanej elektrody pH ORION 8202BN, której 3-punktowa kalibracja posiadała nachylenie $-56,72 \text{ mV/pH}$. Ze względu na trudność precyzyjnego nałożenia membrany na niewielką powierzchnię EJS, ostatecznie zbadano tylko dwie elektrody pH . Wyniki zaprezentowano na wykresie 36.



Wykres 36. Przebieg krzywych kalibracji miniaturowych elektrod pH .

Uzyskane wartości nachyleń były poniżej typowej odpowiedzi nernstowskiej, czego powodem mogła być niedostateczna precyzja nakładania poszczególnych warstw z uwagi na mały rozmiar elektrod. Natomiast, zakres pH roztworu, w jakim ASS-pH pracowały był szeroki (2,54–11,88). Być może poprawa techniki wykonania EJS w tak małej skali, pozwoliłoby osiągnąć charakterystyki bliższe nernstowskiej. Mimo wymagającej konstrukcji, zastosowane rozwiązanie pozwoliło na przyjęty stopień miniaturyzacji elektrod pH, jednak czujnik ten należy dopracować.

IV. Podsumowanie

W ramach badań stanowiących przedmiot rozprawy przedstawiono dwa warianty elektrody (GC-EJS) selektywnej na jony Pb^{2+} z membranami zawierającymi jonofor 25, 26, 27, 28 – tetrakis (piperydynotiokarbonylometylen) – p – tert – butylkaliks[4]aren, różniące się rodzajem plastyfikatora (DOS lub *o*-NPOE). Elektrody z plastyfikatorem *o*-NPOE, w stosunku do badanych jonów przeszkadzających, takich jak: Na^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} i Mg^{2+} , były bardziej niezawodne pod względem charakterystyki odpowiedzi oraz lepiej selektywne na jony Pb^{2+} , w porównaniu do GC-EJS z plastyfikatorem DOS. Na podstawie wyników badań próbek syntetycznych i próbki złomu, udowodniono, że GC-EJS- Pb^{2+} z plastyfikatorem *o*-NPOE umożliwia wiarygodny pomiar śladowych ilości jonów ołowiu (II) w próbkach o wysokim stężeniu jonów przeszkadzających. Wykazano, że komercyjna EJS- Pb^{2+} , z krystaliczną membraną Ag_2S/PbS , nie posiada takich możliwości. Ponadto, zaprezentowano wykonanie miniaturowej wersji EJS- Pb^{2+} z opisaną membraną polimerową (z *o*-NPOE), o prostej konstrukcji na bazie łatwo dostępnych pręcików grafitowych o średnicy 0,5 mm. Dla wykonanej EJS wyznaczono podstawowe parametry (czułość i współczynniki selektywności). Współczynniki selektywności były gorsze w porównaniu do GC-EJS- Pb^{2+} z *o*-NPOE, mimo to, wykazano jej prawidłową pracę w próbkach syntetycznych o wysokiej sile jonowej Zn^{2+} na podstawie porównania wyników uzyskanych z ASA i GC-EJS- Pb^{2+} .

Przedstawiono także układ pomiarowy, wykonany we własnym zakresie, w technologii *All-Solid-State* (ASS), składający się z EJS- Pb^{2+} opartej na węglu szklistym oraz z EO wykonanej metodą rozproszonej soli w polimerze (ASS-EO). Wykonany układ wykazywał pracę zgodną z charakterystyką odpowiedzi nernstowskiej. Zauważono, że woda wnikać w ASS-EO powoduje z czasem wykrywanie soli na druciku Ag w bliskim sąsiedztwie przewodu łączącego ją z miliwoltomierzem. Wynoszenie soli z głębi EO prawdopodobnie skraca czas jej użyteczności. Jako zabezpieczenie elektrody zaproponowano wypełnienie lakiem wewnętrznej przestrzeni nad elektrodą.

Powyższe badania potwierdziły manualne i merytoryczne przygotowanie do realizacji bardziej złożonych układów takim były wieloczuJNIKOWE platformy potencjometryczne (WPP).

W rozprawie przedstawiono dwie, zaprojektowane i wykonane we własnym zakresie, WPP w technologii ASS do jednoczesnego oznaczania kilku jonów w roztworach wodnych. Pierwszą platformę wieloczuJNIKOWĄ dostosowano do pomiaru jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w pocie ludzkim. Dla elektrod pomiarowych, umieszczonych w WPP, wyznaczono nachylenia



i współczynniki selektywności, natomiast dla elektrody odniesienia (EO) zbadano stabilność potencjału w różnym środowisku oraz stopień uwalniania z niej elektrolitu (KCl). Wykazano, że kontaminacja próbki, wyciekającym KCl z EO w czasie 4 godzin, może być znacząca w oznaczaniu niskich stężeń jonów K^+ i Cl^- . Jednakże, krótki czas odpowiedzi czujników minimalizuje ten efekt, a przy pomiarach w przepływie lub w dużej objętości próbki jest praktycznie niezauważalny. Pracę wykonanej WPP oceniono na podstawie badań próbek syntetycznych i próbki rzeczywistej potu ludzkiego. Możliwość jednoczesnego oznaczania kilku jonów potwierdzono porównując uzyskane wartości pomiarów z wartościami otrzymanymi za pomocą: EJS opartych na konstrukcji komercyjnej z węglem szklistym, fotometrii płomieniowej (FP) – jony Na^+ , K^+ oraz ASA – jony Ca^{2+} . Stwierdzono, że większą zbieżność wyników można by uzyskać modyfikując procedurę kalibracji do tego zastosowania. Opracowanie EJS i EO w technologii ASS umożliwiło zaprojektowanie i wykonanie WPP o wybranym kształcie.

Drugą WPP, wyposażoną w EO o małym rozmiarze, dedykowano pomiarom w systemie przepływowym. Wyciek elektrolitu z EO ograniczono przez kondycjonowanie jej w $AgNO_3$, częściowo wytrącając na jej powierzchni słabo rozpuszczalną sól $AgCl$. WPP zastosowano do jednoczesnego oznaczania jonów Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i NH_4^+ w próbce wody akwariowej. Do tego celu opracowano metodykę projektowania roztworów kalibracyjnych i roztworu kondycjonującego, sporządzając arkusz kalkulacyjny, a także procedurę pomiaru, zorientowane na powyższe zastosowanie. Działanie analizatora oceniono konfrontując otrzymane wyniki z wartościami uzyskanymi za pomocą analizatora medycznego, FP i testów akwariowych. Potwierdzono możliwość jednoczesnego i prawidłowego monitorowania kilku parametrów w systemie przepływowym, przy stosunkowo małej objętości próbki. Sposób wykonania platformy umożliwiał prawidłowe przechowywanie układu potencjometrycznego po pomiarach, bez konieczności demontażu elektrod (EJS i EO).

Zbadano wpływ temperatury i czasu na zawartość CO_2 w moczu ludzkim oraz określono sposób przechowywania ich po pobraniu. Zauważono, że gwałtowne zmiany poziomu CO_2 analizowanych próbek mogą zachodzić już po drugiej dobie ich przechowywania w temperaturze otoczenia (ok. $23^\circ C$). Stwierdzono, że próbki powinny być przechowywane w warunkach niskiej temperatury i zbadane najszybciej jak to możliwe, lecz nie później niż 24 godziny, a pomiar powinien odbywać się po ociepleniu ich do temperatury otoczenia.

Sprawdzono funkcjonalność różnicowego czujnika CO_2 typu pH vs pH w analizie próbek moczu. Elektroda pH z grubszą i buforowaną membraną wykazywała stabilną pracę, w przeciwieństwie do elektrody pH z membraną cieńszą i niebuforowaną. Zakłócona praca

jednej z elektrod pH w konsekwencji zaburzyła odpowiedź całego czujnika. Brak powtarzalności wyników wykluczył możliwość zastosowania tego czujnika w pomiarach CO₂ w moczu ludzkim.

Ponadto, wykonano dwa czujniki CO₂ typu CO₃²⁻ vs pH, jeden z polimerem przewodzącym PEDOT, drugi z hydrofobowym. Pracę obu czujników porównano z charakterystyką czujnika o konstrukcji opartej na klasycznych EJS. Badania wykazały, że PEDOT absorbując niewielką ilość wody, podatny jest na interakcje z gazowym CO₂ na granicy faz [PEDOT/membrana], zakłócając działanie całego czujnika i tym samym zmieniając charakterystykę odpowiedzi w stosunku do klasycznych EJS. Czujnik z polimerem o właściwościach hydrofobowych, wykazywał zgodność odpowiedzi z charakterystyką dla klasycznych EJS, z powodu braku wrażliwości na przenikający CO₂ do membrany. Czujnik o takiej konstrukcji ma szansę być zastosowany w pomiarach CO₂ w próbkach moczu. Jednakże, ze względu na krótki czas stażu i z powodu tego, że projekt jest wciąż rozwijany, nie został on jeszcze dokładnie przetestowany.

Zaprojektowano i wykonano miniaturowe elektrody pH na bazie platyny, które mogłyby pozwolić na pomiar w próbkach o niewielkiej objętości. Oceniono pracę wybranych elektrod na podstawie kalibracji w szerokim zakresie pH (1,76–11,88). Uzyskano charakterystyki poniżej typowej odpowiedzi nernstowskiej. Osiągnięto liniowy zakres pracy elektrod w przedziale pH od 2,54 do 11,88, a także założony stopień miniaturyzacji. Jednak, z uwagi na mały rozmiar elektrod, prawdopodobnie większa precyzja nakładania poszczególnych warstw, pozwoliłaby osiągnąć charakterystyki bliższe nernstowskiej.

V. Streszczenie

W rozprawie doktorskiej przedstawiono charakterystykę i konstrukcje różnych elektrod jonoselektywnych (EJS), a także opisano elektrodę odniesienia i jej funkcję. Przybliżono możliwości zastosowania EJS do monitorowania śladowych ilości ołowiu (II) w otoczeniu kopalni rud cynku i ołowiu, oraz jako biowskaźnik stanu pacjenta w czasie wstrząsu septycznego. Scharakteryzowano wieloczujnikowe platformy potencjometryczne (WPP) w technologii *All-Solid-State* (ASS).

W części doświadczalnej przedstawiono wyniki badań EJS Pb^{2+} -selektywnej z membraną polimerową opartą na jonoforze w postaci tioamidowej pochodnej p – tert – butyllokaliks[4]arenu. Zbadano wpływ wysokiego stężenia jonów przeszkadzających na charakterystykę odpowiedzi EJS- Pb^{2+} , która umożliwiła pomiar śladowych ilości jonów ołowiu (II). Wykonano we własnym zakresie miniaturowe grafitowe EJS- Pb^{2+} oraz układ pomiarowy w technologii ASS. Praca elektrod była zgodna z charakterystyką odpowiedzi nernstowskiej.

Szczegółowo opisano dwie konstrukcje WPP, zaprojektowane i wykonane we własnym zakresie w technologii ASS, umożliwiające jednoczesny pomiar kilku jonów w roztworach wodnych. Pierwszą WPP zastosowano do analizy jonów Na^+ , K^+ i Ca^{2+} w próbce potu ludzkiego. Otrzymane wyniki porównano z wartościami pomiarów uzyskanych za pomocą: EJS opartych na konstrukcji komercyjnej, fotometrii płomieniowej (FP) oraz ASA. Stwierdzono, że większą zbieżność wyników można by uzyskać modyfikując procedurę kalibracji do tego zastosowania. Drugą WPP zastosowano do analizy jonów Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i NH_4^+ w próbce wody akwariowej w systemie przepływowym. Opracowano metodykę projektowania roztworów kalibracyjnych, a także procedurę pomiaru, zorientowane na powyższe zastosowanie. Pracę analizatora oceniono porównując otrzymane wyniki z wartościami uzyskanymi za pomocą analizatora medycznego, FP i testów akwariowych. Potwierdzono możliwość jednoczesnego monitorowania kilku parametrów przy stosunkowo małej objętości próbki.

Zbadano wpływ temperatury i czasu na zawartość CO_2 w moczu ludzkim oraz określono sposób przechowywania ich po pobraniu. Sprawdzone funkcjonalność różnicowego czujnika CO_2 typu pH vs pH w analizie próbek moczu. Wykonano dwa czujniki CO_2 typu CO_3^{2-} vs pH, jeden z polimerem przewodzącym PEDOT, drugi z hydrofobowym. Pracę czujników porównano z charakterystyką czujnika o konstrukcji opartej na klasycznych EJS. Czujnik z polimerem o właściwościach hydrofobowych, wykazywał zgodność odpowiedzi z charakterystyką dla klasycznych EJS. Zaprojektowano i wykonano miniaturowe elektrody pH na bazie platyny pozwalające na pomiar w próbkach o małej objętości.

VI. Abstract

Characteristic and constructions of the various ion-selective electrodes (ISEs) and the reference electrode with its function has been presented in this dissertation. The possibilities of using ISEs to monitor trace concentration of lead (II) in the environment of Zn-Pb mines and as a biomarker of the patient's condition during septic shock has been described. The multi-sensor platform (MSP) in All-Solid-State (ASS) has been characterized.

In the experimental section, the research results of Pb^{2+} -ISE with ionophore membrane based on thioamide derivative of *p-tert*-butylcalix[4]arene were presented.

The influence of a high activity of interfering ions on the calibration curve of Pb^{2+} -ISEs was studied. The results show that solid-contact Pb^{2+} -ISEs have the ability to become a useful tool for the determination of trace level of lead (II). Self-made miniature graphite Pb^{2+} -ISE and self-made measurement system in ASS were done. All investigated electrodes work were consistent with the characteristic of the Nernstein response.

Two self-made constructions of MSP in ASS have been detail described. The MSPs allowed for simultaneous measurement of several ions in water solutions. The first MSP was used to analyze Na^+ , K^+ and Ca^{2+} ions in a sample of human sweat. The results were compared with the values obtained with ISEs based on commercial construction, flame photometry (FP) and ASA. It was found that a greater convergence of results could be obtained by modifying the calibration procedure for this application. The second MSP was used to analyze Na^+ , K^+ , Ca^{2+} and NH_4^+ ions in a sample of aquarium water in a flow system. The methodology of designing calibration solutions has been developed, as well as the measurement procedure, oriented on the above application. The analyzer work was evaluated by comparing obtained results with the values obtained by medical analyzer, FP and the commercial aquarium tests. It was confirmed that several parameters could be simultaneously monitored at a relatively small sample volume. The effect of time and temperature on the CO_2 level of human urine was determined and it was defined how to store them after collecting. The functionality of the differential CO_2 sensor type of pH vs pH in the analysis of urine samples was tested. Two differential CO_2 sensors type of CO_3^{2-} vs pH were made, one with PEDOT and second with hydrophobic polymer as a conducting layer. The sensors work were compared with the sensor characteristics based on the classical ISEs. The sensor with hydrophobic polymer showed a consistent response to the characteristics of the classical ISEs. Miniature pH electrodes based on platinum wire have been designed and manufactured to allow measurement in low volume samples.



VII. Dorobek naukowy

PUBLIKACJE:

- 1.) M. Bocheńska, P. Cragg, M. Guziński, A. Jasiński, J. Kulesza, P. Marcos, R. Pomećko, *Ion-selective electrodes based on p-tert-butyl-homooxalixarene di(ethyl)amides*, *Supramolecular Chemistry*, 2009, 21, 732. DOI: 10.1080/10610270902853043 [Impact Factor 1,264]
- 2.) M. Guziński, G. Lisak, J. Kupis, A. Jasiński, M. Bocheńska, *Lead(II)-selective ionophores for ion-selective electrodes: A review*, *Analytica Chimica Acta*, 2013, 791, 1. DOI: 10.1016/j.aca.2013.04.044 [Impact Factor: 4,950]
- 3.) A. Jasiński, M. Urbanowicz, M. Guziński, M. Bocheńska; *Potentiometric Solid-Contact Multisensor System for Simultaneous Measurement of Several Ions*; *Electroanalysis*, 2015, 27, 745. DOI: 10.1002/elan.201400585 [Impact Factor: 2,471]
- 4.) A. Jasiński, M. Guziński, G. Lisak, J. Bobacka, M. Bocheńska; *Solid-contact lead(II) ion-selective electrodes for potentiometric determination of lead(II) in presence of high concentrations of Na(I), Cu(II), Cd(II), Zn(II), Ca(II) and Mg(II)*; *Sensors and Actuators B*, 2015, 218, 25. DOI: 10.1016/j.snb.2015.04.089 [Impact Factor: 4,758]
- 5.) M. Urbanowicz, M. Moderhak, K. Żelechowska, A. Jasiński, R. Pomećko, M. Bocheńska, *Fotometryczny czujnik glukozy oparty na enzymatycznych paskach testowych*, *Elektronika - Konstrukcje, Technologie, Zastosowania* 2015/10, DOI: 10.15199/13.2015.10.15
- 6.) J. Atherton, W. E. King III, M. Guziński, A. Jasiński, B. Pendley, E. Lindner; *A Method to Monitor Urinary Carbon Dioxide in Patients with Septic Shock*, *Sensors and Actuators B*, 2016, 236, 77. DOI: 10.1016/j.snb.2016.05.076 [Impact Factor: 4,758]
- 7.) M. Urbanowicz, A. Jasiński, M. Jasińska, K. Drucis, M. Ekman, A. Szarmach, R. Suchodolski, R. Pomećko, M. Bocheńska; *Simultaneous determination of Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ and Cl⁻ in unstimulated and stimulated human saliva using all solid state multisensor platform*, *Electroanalysis*, 2017, 29, DOI: 10.1002/elan.201700149 [Impact Factor: 2,471]
- 8.) Postępy Elektroanalizy pod red. B. Baś, M. Jakubowska, W. W. Kubiak, rozdział pt.: *Oznaczanie stężenia jonów w płynach ustrojowych za pomocą miniaturowanych elektrod jonoselektywnych typu solid-contact*, M. Urbanowicz, A. Jasiński, K. Drucis, M. Ekman, A. Szarmach, R. Suchodolski, R. Pomećko, M. Bocheńska, Kraków, AGH, 2017.

KONFERENCJE:

- 1.) XII Konferencja „Elektroanaliza w teorii i praktyce”, Kraków, 6-7 czerwca 2013, przedstawienie posteru: *Zastosowanie elektrod jonoselektywnych typu All-Solid-State do oznaczania ołowiu (II) w próbkach o wysokiej sile jonowej kationów przeszkadzających*, A. Jasiński, M. Guziński, G. Lisak, J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam, M. Bocheńska.
 - 2.) X Konferencja PTCh „Chemia ma wiele twarzy”, CEN w Gdańsku, 11 czerwca 2013, przedstawienie posteru: *Antymateria – przyszłością ludzkości?*, A. Jasiński.
 - 3.) XIII Konferencja „Elektroanaliza w teorii i praktyce”, Kraków, 5-6 czerwca 2014, przedstawienie posteru: *Wieloczujnikowa platforma potencjometryczna, wykonana całkowicie w technologii Solid Contact, oparta na membranowych elektrodach jonoselektywnych*, A. Jasiński, M. Guziński, M. Urbanowicz, M. Bocheńska.
 - 4.) “International Conference on Electrochemical Sensors Mátrafüred 2014”, Visegrad, Hungary, 15-20 June 2014, title poster presentation: *Potentiometric multi-sensor platform made entirely in Solid-Contact technology, based on ion-selective membrane electrodes*, A. Jasiński, M. Guziński, M. Urbanowicz, M. Bocheńska.
- oraz:
- title poster presentation: *Study of ion-selective electrodes dynamic of the response for the possibility of use in biomedical measurements in real time*, M. Urbanowicz, A. Jasiński, M. Bocheńska.
- 5.) “11th International Symposium on Systems with Fast Ionic Transport”, Gdańsk Sobieszewo, 28 June 2014, title poster presentation: *The All-Solid-State multisensor platform designed for flow measurements to simultaneous determination of several metal ions using ion-selective electrodes*, A. Jasiński, M. Jasińska, M. Bocheńska.
 - 6.) “Pittcon Conference & Expo Pittcon”, Atlanta, Georgia, USA, 6-10 March 2016, presentation: *Measurement of Carbon Dioxide in Urine to Guide the Treatment of Patients in Severe Sepsis or Septic Shock*, E. Lindner, J. Atherton, M. Guziński, A. Jasiński, B. D. Pendley.
 - 7.) XV Konferencja „Elektroanaliza w teorii i praktyce”, Kraków, 2-3 czerwca 2016, przedstawienie posteru: *Wieloczujnikowa platforma potencjometryczna do monitorowania parametrów jakości wód w ekosystemach wodnych*, A. Jasiński, M. Urbanowicz, M. Jasińska, R. Pomećko, M. Bocheńska.

oraz:

przedstawienie posteru: *Oznaczanie stężenia wybranych jonów w ludzkiej ślinie i pocie za pomocą miniaturowych elektrod jonoselektywnych typu Solid-Contact*, M. Urbanowicz, A. Jasiński, K. Drucis, M. Ekman, A. Szarmach, R. Suchodolski, R. Pomećko, M. Bocheńska.

PRZYZNANE STYPENDIA:

- 1.) Stypendium doktoranckie za osiągnięcia naukowe ze środków z projektu „Rozwój interdyscyplinarnych studiów doktoranckich na Politechnice Gdańskiej w zakresie nowoczesnych technologii” z funduszy strukturalnych POKL przyznane na rok akademicki 2012/2013
- 2.) Stypendium doktoranckie za osiągnięcia naukowe ze środków projakościowych Politechniki Gdańskiej przyznane na rok akademicki 2013/2014
- 3.) Stypendium wyjazdowe na 3-miesięczny staż zagraniczny przyznane w ramach konkursu ze środków z projektu „Rozwój interdyscyplinarnych studiów doktoranckich na Politechnice Gdańskiej w zakresie nowoczesnych technologii” z funduszy strukturalnych POKL w roku akademickim 2014/2015
- 4.) Stypendium doktoranckie Rektora dla najlepszych doktorantów przyznane na rok akademicki 2015/2016
- 5.) Stypendium doktoranckie za osiągnięcia naukowe ze środków projakościowych Politechniki Gdańskiej przyznane na rok akademicki 2015/2016

STAŻ:

Trzy miesięczny staż wyjazdowy na *The University of Memphis, TN, USA* do grupy naukowej prof. Dr Ernő Lindnera w katedrze Technologii Bioinżynierii trwającym od 01.06.2015 do 31.08.2015.

VIII. Literatura

1. A. Hulanicki, S. Glab, F. Ingman, *Pure Appl. Chem.*, **1991**, 63, 1247.
2. J. Janata, *Principles of Chemical Sensors*, Springer, **2009**.
3. J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed., Wiley-VCH, Hoboken, N. J. **2006**.
4. M. Gerard, A. Chaubey, B. D. Malhotra, *Biosens. Bioelectron.*, **2002**, 17, 345.
5. J. R. Stetter, W. R. Penrose, S. Yao, *J. Electrochem. Soc.*, **2003**, 150, 11.
6. J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam, *Chem. Rev.*, **2008**, 108, 329.
7. E. Pretsch, *Trends Anal. Chem.*, **2007**, 26, 46.
8. E. Lindner, R. E. Gyurcsányi, *J. Solid State Electrochem.*, **2009**, 13, 51.
9. E. Bakker, K. Chumbimuni-Torres, *J. Braz., Chem. Soc.*, **2008**, 19, 621.
10. E. Bakker, E. Pretsch, *Trends Anal. Chem.*, **2005**, 24, 199.
11. E. Bakker, E. Pretsch, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 5660.
12. C. Z. Lai, M. M. Joyer, M. A. Fierke, N. D. Petkovich, A. Stein, P. Bühlmann, *J. Solid State Electrochem.*, **2009**, 13, 123.
13. D. Diamond, E. McEnroe, M. McCarrick, A. Lewenstam, *Electroanalysis*, **1994**, 6, 962.
14. D. Rehm, E. McEnroe, D. Diamond, *Anal. Proc.*, **1995**, 32, 319.
15. D. Desmond, B. Lane, J. Alderman, J. D. Glennon, D. Diamond, D. W. M. Arrigan, *Sensors and Actuat. B*, **1997**, 44, 389.
16. G. Inzelt, A. Lewenstam, F. Scholz, *Handbook of Reference Electrodes*, Springer, **2013**.
17. Z. Mousavi, K. Granholm, T. Sokalski, A. Lewenstam, *Sensors and Actuat. B*, **2015**, 207, 895.
18. *Pure Appl. Chem.*, **1976**, 48, 127.
19. E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 3083.
20. P. Bühlmann, L. D. Chen, *Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*, 1st ed., John Wiley & Sons, **2012**.
21. R. D. Armstrong, G. Horvai, *Electrochim. Acta*, **1990**, 35, 1.
22. U. E. Spichiger-Keller, *Chemical sensors and biosensors for medical and biological applications*, Wiley-VCH, **1998**.
23. U. Oesch, W. Simon, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 692.
24. P. Bühlmann, M. Hayakawa, T. Ohshiro, S. Amemiya, Y. Umezawa, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, 3199.
25. E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Electroanalysis*, **1999**, 11, 915.
26. P. Bühlmann, E. Pretsch, E. Bakker, *Chem. Rev.*, **1998**, 98, 1593.
27. R. D. Johnson, L. G. Bachas, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2003**, 376, 328.
28. U. Schaller, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 3123.
29. A. M. Cadogan, D. Diamond, M. R. Smyth, M. Deasy, M. A. McKervey, S. J. Harris, *The Analyst*, **1989**, 114, 1551.
30. A. Cadogan, Z. Q. Gao, A. Lewenstam, A. Ivaska, D. Diamond, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 2496.
31. E. Malinowska, Z. Brzózka, K. Kasiura, R. J. M. Egberink, D. N. Reinhoudt, *Anal. Chim. Acta.*, **1994**, 298, 245.

32. E. Malinowska, Z. Brzózka, K. Kasiura, R. J. M. Egberink, D. N. Reinhoudt, *Anal. Chim. Acta.*, **1994**, 298, 253.
33. T. McKittrick, D. Diamond, D. J. Marrs, P. Ohagan, M. A. McKervey, *Talanta*, **1996**, 43, 1145.
34. F. Hofmeister, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, **1888**, 24, 247.
35. F. Helfferich, *Ion Exchange*, McGraw-Hill, New York, **1962**.
36. K. N. Mikhelson, *Ion-Selective Electrodes*, Springer, **2013**.
37. G. J. Moody, R. B. Oke, J. D. R. Thomas, *Analyst*, **1970**, 95, 910.
38. L. Y. Heng, E. A. H. Hall, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 42.
39. V. J. Wotring, P. K. Prince, L. G. Bachas, *Analyst*, **1991**, 116, 581.
40. A. Michalska, C. Appaih-Kusi, L. Y. Heng, S. Walkiewicz, E. A. H. Hall, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 2031.
41. J. Sutter, A. Radu, S. Pepper, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 523, 53.
42. K. Y. Chumbimuni-Torres, N. Rubinova, A. Radu, L. T. Kubota, E. Bakker, *Anal. Chem.*, **2006**, 78, 1318.
43. Y. Qin, E. Bakker, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 4379.
44. Y. Qin, S. Peper, A. Radu, A. Ceresa, E. Bakker, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, 3038.
45. E. Malinowska, L. Gawart, P. Parzuchowski, G. Rokicki, Z. Brzózka, *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 421, 93.
46. G. S. Cha, D. Liu, M. E. Meyerhoff, H. C. Cantor, A. R. Midgley, H. D. Goldberg, R. B. Brown, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 1666.
47. I. J. Yoon, D. K. Lee, H. Nam, G. S. Cha, T. D. Strong, R. B. Brown, *J. Electroanal. Chem.*, **1999**, 464, 135.
48. U. Fiedler, J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1973**, 67, 179.
49. J. Pick, E. Pungor, M. Vasak, W. Simon, *Anal. Chim. Acta.*, **1973**, 64, 477.
50. K. Kimura, T. Matsuba, Y. Tsujimura, M. Yokoyama, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 2508.
51. M. E. Poplawski, R. B. Brown, K. L. Rho, S. Y. Yun, H. J. Lee, G. S. Cha, K. J. Paeng, *Anal. Chim. Acta.*, **1997**, 355, 249.
52. H. J. Lee, H. J. Oh, G. Cui, G. S. Cha, H. Nam, *Anal. Sci.*, **1997**, 13, 289.
53. B. K. Oh, C. Y. Kim, H. J. Lee, K. L. Rho, G. S. Cha, H. Nam, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 503.
54. K. Wyglądacz, M. Durnaś, P. Parzuchowski, Z. Brzózka, E. Malinowska, *Sensors and Actuat. B*, **2003**, 95, 366.
55. E. Lindner, V. V. Cosofret, S. Ufer, R. P. Buck, W. J. Kao, M. R. Neuman, J. M. Anderson, *Biomed. Mater. Res.*, **1994**, 28, 591.
56. C. Z. Lai, S. S. Koseoglu, E. C. Lugert, P. G. Boswell, J. Rabai, T. P. Lodge, P. Bühlmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 1598.
57. G. Marrazza, M. Mascini, *Electroanalysis*, **1992**, 4, 41.
58. M. Mascini, G. Marrazza, *Anal. Chim. Acta.*, **1990**, 231, 125.
59. E. Lindner, Z. Niegresh, K. Tóth, E. Pungor, T.R. Berube, R.P. Buck, *J. Electroanal. Chem.*, **1989**, 259, 67.
60. E. Lindner, E. Graf, Z. Niegresh, K. Tóth, E. Pungor, R. P. Buck, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 295.
61. V. V. Cosofret, R. P. Buck, M. Erdosy, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 3592.



62. R. P. Kusy, J. Q. Whitley, R. P. Buck, V. V. Cosofret, E. Lindner, *Polymer*, **1994**, 35, 2141.
63. A. D. C. Chan, D. J. Harrison, *Talanta*, **1994**, 41, 849.
64. G. J. Moody, B. Saad, J. D. R. Thomas, *Analyst*, **1987**, 112, 1143.
65. M.A. Simon, R.P. Kusy, *Polymer*, **1993**, 34, 5106.
66. R. Bloch, A. Shatkay, H.A. Saroff, *Biophys. J.*, **1967**, 7, 865.
67. M. Puntener, M. Fibbioli, E. Bakker, E. Pretsch, *Electroanalysis*, **2002**, 14, 1329.
68. U. Schaller, E. Bakker, U. E. Spichiger, E. Pretsch, *Anal. Chem.*, **1994**, 66, 391.
69. G. Horvai, E. Graf, K. Tóth, E. Pungor, R.P. Buck, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 2735.
70. A. Vandenberg, P. D. Vanderwal, M. Skowrońska-Ptasińska, E. J. R. Sudholter, D. N. Reinhoudt, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 2827.
71. P. Bühlmann, S. Yajima, K. Tohda, Y. Umezawa, *Electrochim. Acta*, **1995**, 40, 3021.
72. S. Yajima, K. Tohda, P. Bühlmann, Y. Umezawa, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 1919.
73. P. Bühlmann, S. Yajima, K. Tohda, K. Umezawa, S. Nishizawa, Y. Umezawa, *Electroanalysis*, **1995**, 7, 811.
74. P. C. Meier, W. E. Morf, M. Laubli, W. Simon, *Anal. Chim. Acta.*, **1984**, 156, 1.
75. D. Ammann, E. Pretsch, W. Simon, E. Lindner, A. Bezegh, E. Pungor, *Anal. Chim. Acta.*, **1985**, 171, 119.
76. T. A. Nieman, G. Horvai, *Anal. Chim. Acta.*, **1985**, 170, 359.
77. A. Leo, C. Hansch, D. Elkins, *Chem. Rev.*, **1971**, 71, 515.
78. O. Dinten, U. Spichiger, N. Chaniotakis, P. Gehrig, E. Rusterholz, W.E. Morf, W. Simon, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 596.
79. E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chim. Acta.*, **1995**, 309, 7.
80. J. Bobacka, Z.Q. Gao, A. Ivaska, A. Lewenstam, *J. Electroanal. Chem.*, **1994**, 368, 33.
81. A. Lewenstam, J. Bobacka, A. Ivaska, *J. Electroanal. Chem.*, **1994**, 368, 23.
82. J. Bobacka, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 4932.
83. M. Vazquez, J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam, *Sensors and Actuat. B*, **2002**, 82, 7.
84. N. Oyama, T. Hirokawa, S. Yamaguchi, N. Ushizawa, T. Shimomura, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 258.
85. N. Oyama, T. Ohsaka, F. Yoshimura, M. Mizunuma, S. Yamaguchi, N. Ushizawa, T. Shimomura, *J. Macromol. Sci. Chem.*, **1988**, 25, 1463.
86. J. Bobacka, T. Lindfors, M. McCarrick, A. Ivaska, A. Lewenstam, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 3819.
87. J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam, *Electroanalysis*, **2003**, 15, 366.
88. C. A. Grimes, E. C. Dickey, M. V. Pishko, P. R. A. Marcus, *Encyclopedia of Sensors*, American Scientific Publishers, **2006**.
89. F. Garnier, *Agnew. Chem. Int. Ed.*, **1989**, 28, 513.
90. T. Lindfors, P. Sjöberg, J. Bobacka, A. Lewenstam, A. Ivaska, *Anal. Chim. Acta.*, **1999**, 385, 163.
91. T. Lindfors, J. Bobacka, A. Lewenstam, A. Ivaska, *The Analyst*, **1996**, 121, 1823.
92. A. G. MacDiarmid, *Synthetic Met.*, **2001**, 11, 125.
93. T. A. Skotheim, R. L. Elsenbaumer, J. R. Reynolds, *Handbook of Conducting Polymers*, M. Dekker, **1998**.

94. L. Dai, *Intelligent Macromolecules for Smart Devices: From Materials Synthesis to Device Applications*, Springer, **2004**.
95. D. T. McQuade, A. E. Pullen, T. M. Swager, *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 2537.
96. J. Bobacka, A. Lewenstam, A. Ivaska, *J. Electroanal. Chem.*, **2001**, 509, 27.
97. J. Bobacka, T. Lahtinen, J. Nordman, S. Haggstrom, K. Rissanen, A. Lewenstam, A. Ivaska, *Electroanalysis*, **2001**, 13, 723.
98. J. Bobacka, T. Lahtinen, H. Koskinen, K. Rissanen, A. Lewenstam, A. Ivaska, *Electroanalysis*, **2002**, 14, 1353.
99. A. Michalska, K. Maksymiuk, *Anal. Chim. Acta* **2004**, 523, 97.
100. M. Vazquez, J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam, *Talanta*, **2004**, 62, 57.
101. M. Vazquez, P. Danielsson, J. Bobacka, A. Lewenstam, A. Ivaska, *Sensor. Actuat. B-Chem.*, **2004**, 97, 182.
102. J. Bobacka, V. Vaananen, A. Lewenstam, A. Ivaska, *Talanta*, **2004**, 63, 135.
103. A. Michalska, M. Ocypta, K. Maksymiuk, *Electroanalysis*, **2005**, 17, 327.
104. J. Bobacka, *Electroanalysis*, **2006**, 18, 7.
105. F. Sundfors, R. Bereczki, J. Bobacka, K. Tóth, A. Ivaska, R.E. Gyurcsanyi, *Electroanalysis*, **2006**, 18, 1372.
106. M. Ocypta, A. Michalska, K. Maksymiuk, *Electrochim. Acta*, **2006**, 51, 2298.
107. A. Kisiel, A. Michalska, K. Maksymiuk, *Bioelectrochemistry*, **2007**, 71, 75.
108. F. Faridbod, M.R. Ganjali, R. Dinarvand, P. Norouzi, *Sensors*, **2008**, 8, 2331.
109. Z. Mousavi, J. Bobacka, A. Lewenstam, A. Ivaska, *J. Electroanal. Chem.*, **2009**, 633, 246.
110. S. Anastasova-Ivanova, U. Mattinen, A. Radu, J. Bobacka, A. Lewenstam, J. Migdalski, M. Danielewski, D. Diamond, *Sensor. Actuat. B-Chem.*, **2010**, 146, 199.
111. R. Paciorek, P. van der Wal, N. F. de Rooij, M. Maj-Żurawska, *Electroanalysis*, **2003**, 15, 1314.
112. N. Rubinova, K. Chumbimuni-Torrez, E. Bakker, *Sensors and Actuat. B*, **2007**, 121, 135.
113. A. Michalska, A. Konopka, M. Maj-Żurawska, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, 141.
114. A. Michalska, M. Skompska, J. Mieczkowski, M. Zagórska, K. Maksymiuk, *Electroanalysis*, **2006**, 18, 763.
115. E. Grygolicz-Pawlak, K. Wygladacz, S. Sek, R. Bilewicz, Z. Brzózka, E. Malinowska, *Sensors and Actuat. B*, **2005**, 111, 310.
116. M. Fibbioli, K. Bandyopadhyay, S. G. Liu, L. Echegoyen, O. Enger, F. Diederich, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Chem. Commun.*, **2000**, 5, 339.
117. M. Fibbioli, K. Bandyopadhyay, S. G. Liu, L. Echegoyen, O. Enger, F. Diederich, D. Gingery, P. Bühlmann, H. Persson, U.W. Suter, E. Pretsch, *Chem. Mater.*, **2002**, 14, 1721.
118. Ł. Górski, E. Grygolicz-Pawlak, A. Rudzka, K. Plachecka, E. Malinowska, *Chem. Anal.*, **2006**, 51, 909.
119. E. Grygolicz-Pawlak, K. Plachecka, Z. Brzózka, E. Malinowska, *Sensors and Actuat. B*, **2007**, 123, 480.
120. C. Z. Lai, M. A. Fierke, A. Stein, P. Bühlmann, *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 4621.
121. C. Z. Lai, M. A. Fierke, R. C. da Costa, J. A. Gladysz, A. Stein, P. Bühlmann, *Anal. Chem.*, **2010**, 82, 7634.
122. G. A. Crespo, S. Macho, F. Xavier Rius, *Anal. Chem.*, **2008**, 80, 1316.

123. J. Ampurdanes, G. A. Crespo, A. Maroto, M. Angeles Sarmentero, P. Ballester, F. Xavier Rius, *Biosens. Bioelectron.*, **2009**, 25, 344.
124. G. A. Crespo, D. Gugsa, S. Macho, F. Xavier Rius, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2009**, 395, 2371.
125. G. A. Crespo, S. Macho, J. Bobacka, F. X. Rius, *Anal. Chem.*, **2009**, 81, 676.
126. E. J. Parra, G. A. Crespo, J. Riu, A. Ruiz, F. X. Rius, *The Analyst*, **2009**, 134, 1905.
127. G. Eisenman, D. O. Rudin, J. U. Casby, *Science*, **1957**, 126, 831.
128. R. P. Buck, E. Lindner, *Pure Appl. Chem.*, **1994**, 66, 2527.
129. T. Sokalski, T. Zwickl, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 1204.
130. E. Lindner, Y. Umezawa, *Pure Appl. Chem.*, **2008**, 80, 85.
131. T. Sokalski, A. Ceresa, T. Zwickl, E. Pretsch, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, 119, 11347.
132. E. Bakker, *J. Electrochem. Soc.*, **1996**, 143, L83.
133. W. Kucza, M. Danielewski, A. Lewenstam, *Electroanal. Chem.*, **2006**, 8, 416.
134. Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato, *Pure Appl. Chem.*, **1995**, 67, 507.
135. Y. Umezawa, P. Bühlmann, K. Umezawa, K. Tohda, S. Amemiya, *Pure Appl. Chem.*, **2000**, 72, 1851.
136. M. Nägele, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 1041.
137. E. Bakker, P. Bühlmann, E. Pretsch, *Talanta*, **2004**, 63, 3.
138. E. Bakker, E. Pretsch, P. Bühlmann, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 1127.
139. E. Bakker, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 1061.
140. T. Sokalski, A. Ceresa, M. Fibbioli, T. Zwickl, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 1210.
141. A. Lewenstam, A. Hulanicki, *Sel. Electrode Rev.*, **1990**, 12, 161.
142. I. Bedlechowicz-Śliwakowska, P. Lingenfelter, T. Sokalski, A. Lewenstam, M. Maj-Żurawska, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2006**, 385, 1477.
143. E. Bakker, *Electroanal.*, **1997**, 9, 7.
144. P. L. Markovic, J. O. Osburn, *Aiche J.*, **1973**, 19, 504.
145. W. E. Morf, E. Lindner, W. Simon, *Anal. Chem.*, **1975**, 47, 1596.
146. R. P. Buck, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1975**, 5, 323.
147. E. Lindner, K. Tóth, E. Pungor, CRC Press, **1988**, 136.
148. U. Oesch, W. Simon, *Helv. Chim. Acta*, **1979**, 62, 754.
149. P. Bühlmann, Y. Umezawa, S. Rondinini, A. Vertova, A. Pigliucci, L. Bertesago, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 1843.
150. J.J. Griffin, G.D. Christian, *Talanta*, **1983**, 30, 201.
151. N. M. Ivanova, M. B. Levin, K. N. Mikhelson, *Russ. Chem. Bull*, **2012**, 5, 926.
152. A. Michalska, *Electroanalysis*, **2012**, 24, 1253.
153. M. M. Shultz, O. S. Ershov, G. P. Lepnev, T. M. Grekovich, A. S. Sergeev, *J. Appl. Chem.*, **1979**, 52, 2487.
154. Yu. G. Vlasov, Y. E. Ermolenko, O. A. Iskhakova, *J. Anal. Chem.*, **1979**, 34, 1175.
155. M. Cremer, *Z. Biol.*, **1906**, 47, 562.
156. F. Haber, Z. Klemensiewicz, *Phys. Chem. Stoechiom.*, **1909**, 64, 385.
157. K. N. Mikhelson, J. Bobacka, A. Lewenstam, A. Ivaska, *Electroanalysis*, **2001**, 13, 876.

158. K. N. Mikhelson, J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam, M. Bocheńska, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, 518.
159. B. P. Nicol'sky, *Acta Physicochim. URSS*, **1937**, 7, 597.
160. M. Dole, *The glass electrode. Methods, applications, and theory.*, Wiley, N. Y., **1941**.
161. G. Eisenmann, *Glass electrodes for hydrogen and other cations. Principles and practice.* Dekker, N. Y., **1967**.
162. D. Harvey, *Modern Analytical Chemistry*, McGraw-Hill, **1999**.
163. G. Trumpler, *Z. Phys. Chem.*, **1921**, 99, 9.
164. H. J. C. Tendeloo, *J. Biol. Chem.*, **1936**, 113, 333.
165. I. M. Kolthoff, H. L. Sanders, *J. Am. Chem. Soc.*, **1937**, 59, 416.
166. B. P. Nikolsky, V. M. Vdovenko, *Doklady Akademii Nauk USRR*, **1937**, 16, 101.
167. E. Pungor, E. Holoss-Rokosinyi, *Acta Chem. Hung.*, **1961**, 27, 63.
168. M. S. Frant, J. W. Ross, *Science*, **1966**, 154, 1553.
169. Yu. G. Vlasov, Yu. E. Ermolenko, V. V. Kolodnikov, M. S. Miloshova, *Russ. J. Anal. Chem.*, **1980**, 35, 691.
170. R. A. Durst, ed., *Ion-selective Electrodes*, NBS spec. publ. 314, **1969**, Washington DC.
171. E. H. Hansen, C. G. Lamm, J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **1972**, 59, 403.
172. J. Vesely, *Coll. Czech. Chem. Comm.*, **1974**, 39, 710.
173. Q. B. Pei, R. Y. Qian, *Electrochim. Acta*, **1992**, 37, 1075.
174. A. Michalska, K. Maksymiuk, A. Hulanicki, *J. Electroanal. Chem.*, **1995**, 392, 63.
175. D. L. Wise, *Electrical and Optical Polymer Systems*, M. Dekker, **1998**.
176. A. Michalska, K. Maksymiuk, *Electrochim. Acta*, **1999**, 44, 2125.
177. K. Maksymiuk, J. Bobacka, A. Ivaska, A. Lewenstam, *Anal. Lett.*, **2000**, 33, 1339.
178. A. Michalska, U. Nadrzycka, K. Maksymiuk, *Electrochim. Acta*, **2001**, 46, 4113.
179. J. Dumańska, K. Maksymiuk, *Electroanalysis*, **2001**, 13, 567.
180. A. Michalska, J. Dumańska, K. Maksymiuk, *Anal. Chem.*, **2003**, 75, 4964.
181. A. Michalska, K. Maksymiuk, *Talanta*, **2004**, 63, 109.
182. A. Michalska, *Electroanalysis*, **2005**, 17, 400.
183. K. Maksymiuk, *Electroanalysis*, **2006**, 18, 1537.
184. N. V. Rozhdestvenskaya, O. K. Stefanova, *Sov. Electrochem.*, **1982**, 18, 1379.
185. J. D. Harrison, X. Li, *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 2168.
186. Z. Li, X. Li, S. Petrovic, J. D. Harrison, *Anal. Chem.* **1996**, 68, 1717.
187. Z. Li, X. Li, M. Rothmaier, J. D. Harrison, *Anal. Chem.* **1996**, 68, 1726.
188. T. Lindfors, F. Sundfors, L. Hofler, R. E. Gyurcsanyi, *Electroanalysis*, **2009**, 21, 1914.
189. F. Sundfors, L. Hofler, R. E. Gyurcsanyi, T. Lindfors, *Electroanalysis*, **2011**, 23, 1769.
190. Ł. Górski, A. Matusevich, M. Pietrzak, L. Wang, M. E. Meyerhoff, E. Malinowska, *J. Solid State Electrochem.*, **2009**, 13, 157.
191. R. De Marco, J. P. Veder, G. Clarke, A. Nalson, K. Prince, E. Pretsch, E. Bakker, *Phys. Chem.*, **2008**, 10, 73.
192. E. Lindner, R.E. Gyurcsanyi, *J. Solid State Electr.*, **2009**, 13, 51.
193. T. Lindfors, H. Aarnio, A. Ivaska, *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 8571.
194. A. Michalska, A. Ivaska, A. Lewenstam, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 4060.

195. A. Kovacs, B. Csoka, G. Nagy, A. Ivaska, *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 437, 67.
196. K. Fortyce, A. Shvarev, *Anal. Chem.*, **2008**, 80, 827.
197. S. V. Lamaka, M. G. Taryba, M. L. Zheludkevich, M. G. S. Ferreira, *Electroanalysis*, **2009**, 21, 2447.
198. A. Michalska, K. Maksymiuk, *Anal. Chim. Acta*, **2014**, 523, 97.
199. W. Szczepaniak, *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, WNT, Warszawa **2007**.
200. E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **2002**, 74, 420A.
201. E. Bakker, E. Pretsch, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 5660.
202. A. Lewenstam, *Anal. Proc.*, **1991**, 28, 106.
203. D. J. G. Ives, G. J. Janz, *Reference electrode theory and practice*, Academic Press, **1961**.
204. A. D. McNaught, A. Wilkinson, *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology (Gold Book)*, Oksford: Blackwell Scientific Publications, **1997**.
205. H. J. Lee, U. S. Hong, D. K. Lee, J. H. Shin, H. Nam, G. S. Cha, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 3377.
206. Y. Mi, S. Mathison, E. Bakker, *Electrochem. Solid-State Lett.*, **1999**, 2, 198.
207. M. E. Meyerhoff, B. Fu, E. Bakker, J. H. Yun, V. C. Yang, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 168A.
208. A. Lewenstam, T. Blaz, J. Migdalski, *Anal. Chem.*, **2016**, 89, 1068.
209. Z. Mousavi, K. Granholm, T. Sokalski, A. Lewenstam, *Sensors and Actuat. B*, **2015**, 207, 895.
210. R. Jermann, M. L. Tercier, J. Buffle, *Anal. Chim. Acta*, **1992**, 269, 49.
211. C. L. Huang, J. J. Ren, D. F. Xu, *Chinese Chem. Lett.*, **1996**, 7, 1019.
212. J. Vondrak, M. Sedlarikova, J. Velicka, B. Klapste, V. Novak, J. Reiter, *Electrochim. Acta*, **2003**, 48, 1001.
213. J. Reiter, J. Vondrak, Z. Micka, *Solid State Ionics*, **2007**, 177, 3501.
214. J. Gabel, W. Vonau, P. Shuk, U. Guth, *Solid State Ionics*, **2004**, 169, 75.
215. W. Vonau, W. Oelssner, U. Guth, J. Henze, *Sensors and Actuat. B*, **2010**, 144, 368.
216. U. S. Geological Survey, *Mineral Commodity Summaries*, www.minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/zinc/mcs-2017-zinc.pdf - informacje dostępne w **2017** r.
217. A. M. Gaudin, *Flotacja*, tł. J. Olszewski, T. Piaseczny, Wyd. "Śląsk", Katowice, **1963**.
218. J. Girczys, J. Sobik-Szołtysek, *Odpady przemysłu cynkowo-ołowiowego*, Wyd. Politechnika Częstochowska, Monograf, **2002**, Nr 87.
219. S. Takuski, *Technika podziemnej eksploatacji złóż rud*, Część 1, AGH, Nr 769, Kraków, **1980**.
220. U.S. Geological Survey, *Mineral Commodity Summaries*, www.minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/zinc/(w tekście) - informacje dostępne w **2014** r.
221. B. J. Alloway, D. C. Ayres, *Chemical Principles of Environmental Pollution*, Stanley Thornes Publishers, Cheltenham, **1998**.
222. B. N. Noller, P. H. Woods, B. J. Ross, **1994**, 29, 257.
223. P. Eger, G. Melchert, D. Antonson, J. Wagner, Boca Raton, FL, USA: Lewis Publishers, **1993**, 283.

224. H. Obarska-Pempkowiak, M. Gajewska, E. Wojciechowska, „Hydrofitowe oczyszczanie wód i ścieków”, Wyd. PWN, Warszawa, **2010**.
225. M. Guziński, G. Lisak, J. Kupis, A. Jasiński, M. Bocheńska, *Anal. Chim. Acta*, **2013**, 791, 1.
226. R. De Marco, G. Clarke, B. Pejčić, *Electroanalysis*, **2007**, 19, 1987.
227. C. F. Baes and R. E. Mesmer, *The hydrolysis of cations*, Wiley, **1976**.
228. G. Lisak, F. Ciepiela, J. Bobacka, T. Sokalski, L. Harju, A. Lewenstam, *Electroanalysis*, **2013**, 25, 123.
229. D. R. Lynam, L. Piantanida and J. F. Cole, *Environmental lead*, Academic Press, **1981**.
230. C. Wolkersdorfer, *Water management at abandoned flooded underground mines.*, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, **2008**.
231. E. Rivers, et al., *The New England Journal of Medicine*, **2001**, 345, 1368.
232. M. M. Levy, A. Artigas, G. S. Phillips, A. Rhodes, R. Beale, T. Osborn, et al., *Lancet Infect. Dis.*, **2012**, 12, 919.
233. A. Bochenek, M. Reicher, *Anatomia człowieka*, PZWL, Wydanie 9, Warszawa, **2010**.
234. M. M. Levy, M. P. Fink, J. C. Marshall, E. Abraham, D. Angus, D. Cook, J. Cohen, S. M. Opal, J. L. Vincent, G. Ramsay, *Critical care medicine*, **2003**, 31, 1250.
235. E. Rivers, B. Nguyen, S. Havstad, J. Ressler, A. Muzzin, B. Knoblich, E. Peterson, M. Tomlanovich, *The New England journal of medicine*, **2001**, 345, 1368.
236. R. Neviere, UpToDate, in: P. Parsons (Ed.) *Sepsis and the Systemic inflammatory Response Syndrome.*, Waltham, MA., **2014**.
237. G. S. Martin, D. M. Mannino, S. Eaton, M. Moss, *The New England journal of medicine*, **2003**, 348, 1546.
238. V. Y. Dombrowskiy, A. A. Martin, J. Sunderram, H. L. Paz, *Critical care medicine*, **2007**, 35, 1244.
239. C. Ince, M. Sinaasappel, *Critical care medicine*, **1999**, 27, 1369.
240. M. P. Fink, *Critical care*, **2002**, 6, 491.
241. P. E. Marik, *Current opinion in critical care*, **2005**, 11, 245.
242. M. M. Levy, W. L. Macias, J. L. Vincent, J. A. Russell, E. Silva, B. Trzaskoma, M. D. Williams, *Critical care medicine*, **2005**, 33, 2194.
243. H. B. Nguyen, E. P. Rivers, B. P. Knoblich, G. Jacobsen, A. Muzzin, J. A. Ressler, M. C. Tomlanovich, *Critical care medicine*, **2004**, 32, 1637.
244. G. R. Bernard, B. D. Margolis, H. M. Shanies, E. W. Ely, A. P. Wheeler, H. Levy, K. Wong, T. J. Wright, *Chest*, **2004**, 125, 2206.
245. S. Vaughn, V. K. Puri, *Critical care medicine*, **1988**, 16, 495.
246. S. M. Pastores, D. P. Katz, V. Kvetan, *The American journal of gastroenterology*, **1996**, 91, 1697.
247. C. E. Mecher, E. C. Rackow, M. E. Astiz, M. H. Weil, *Critical care medicine*, **1990**, 18, 585.
248. D. R. Dantzker, *Jama*, **1993**, 270, 1247.
249. M. P. Fink, *Chest*, **1998**, 114, 667.
250. P. M. Reilly, S. MacGowan, M. Miyachi, H. J. Schiller, S. Vickers, G. B. Bulkley, *Gastroenterology*, **1992**, 102, 1968.
251. B. Levy, P. Gawalkiewicz, B. Vallet, S. Briancon, L. Nace, P. E. Bollaert, *Critical care medicine*, **2003**, 31, 474.
252. G. Gutierrez, S. D. Brown, Baltimore, Md., **1996**, 4, 413.

253. A. Dullenkopf, A. Cornelius, A.C. Gerber, M. Weiss, *Anaesthesia and intensive care*, **2002**, 30, 794.
254. M. S. Lin, T. C. Lien, W. C. Yang, S. C. Wu, W. W. Tsai, J. H. Wang, *Chinese medical journal*, **1996**, 57, 112.
255. S. S. J. Sendroy, D. D. Van Slyke, *J. Biol. Chem.*, **1934**, 106, 479.
256. R. F. Pitts, W. D. Lotspeich, *Am. J. Physiol.*, **1946**, 147, 138.
257. C. Ryberg, *Acta Physiol. Scand.*, **1948**, 15, 123.
258. T. J. Kennedy Jr., J. Orloff, R. W. Berliner, *Am. J. Physiol.*, **1952**, 169, 596.
259. E. L. Reid, A. G. Hills, *Clin. Sci.*, **1965**, 28, 15.
260. J. W. Severinghaus, A. F. Bradley, *Journal of applied physiology*, **1958**, 13, 515.
261. X. Xie, E. Bakker, *Analytical chemistry*, **2013**, 85, 1332.
262. M. E. Meyerhoff, *Clinical chemistry*, **1990**, 36, 1567.
263. U. Guth, W. Vonau, J. Zosel, *Meas. Sci. Technol.*, **2009**, 20.
264. K. Cammann, Z. Łada, *Zastosowanie elektrod jonoselektywnych*, Wydaw. Nauk.-Techn, **1977**.
265. M. Trojanowicz, *Automatyzacja w analizie chemicznej*, Wydaw. Nauk.-Techn., **1992**.
266. Z. Brzózka, W. Wróblewski, *Sensory chemiczne*, Oficyna Wydawnicza PW, **1999**.
267. S. Alegret, A. Merkoçi, *Electrochemical Sensor Analysis*, Vol. 49, Elsevier, **2007**.
268. M. Guziński, G. Lisak, T. Sokalski, J. Bobacka, A. Ivaska, M. Bocheńska, A. Lewenstam, *Anal. Chem.*, **2013**, 85, 1555
269. P. Kassal, I. M. Steinberg, M. D. Steinberg, *Sensors and Actuat. B*, **2013**, 184, 254
270. B. Paczosa-Bator, L. Cabaj, M. Raś, B. Baś, R. Piech, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2014**, 9, 2816.
271. J. Hu, A. Stein, P. Bühlmann, *Angewandte Chemie*, **2016**, 55, 7544.
272. A. Jasiński, M. Urbanowicz, M. Guziński, M. Bocheńska, *Electroanalysis*, **2015**, 27, 745.
273. Clean Grow Company, www.cleangrow.com - informacje dostępne w **2014** r.
274. Instrumentation Laboratory Company, www.instrumentationlaboratory.com - informacje dostępne w **2017** r.
275. T. Blaz, B. Baś, J. Kupis, J. Migdalski, A. Lewenstam, *Electrochem. Commun.*, **2013**, 34, 181.
276. R. Toczyłowska-Mamińska, A. Lewenstam, K. Dołowy, *Anal. Chem.*, **2014**, 86, 390.
277. P. Sjöberg, A. Määttänen, U. Vanamo, M. Novell, P. Ihalainen, F. J. Andrade, J. Bobacka, J. Peltonen, *Sensors and Actuat. B*, **2016**, 224, 325.
278. A. J. Bandodkar, V. W. S. Hung, W. Jia, G. Valdes-Ramirez, J. R. Windmiller, A. G. Martinez, J. Ramirez, G. Chan, K. Kerman, J. Wang, *Analyst*, **2013**, 138, 123.
279. A. Lewenstam, *Electroanalysis*, **2014**, 26, 1171.
280. Chemical Sensors Research Group, www.csrg.ch.pw.edu.pl - informacje dostępne w **2014** r.
281. G. C. Luca, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto, M. Conceicao, B. S. M. Montenegro, A. N. Araujo, J. Lima, *Anal. Chim. Acta.*, **1998**, 366, 193.
282. S. P. Theocharopoulos, I. K. Mitsios, I. Arvanitoyannis, *Trac-Trend. Anal. Chem.*, **2004**, 23, 237.
283. C. C. Rundle, *A Beginners Guide to Ion-Selective Electrode Measurements*, Nico2000 Ltd, London, UK., **2000**.

284. S. Ito, K. Baba, Y. Asano, H. Takesako, H. Wada, *Talanta*, **1996**, 43, 1869.
285. R. Perez-Olmos, I. Yoldi, M. P. Ruiz, J. M. Merino, *Anal. Sci.*, **1998**, 14, 1001.
286. B. P. Nikolski, E. A. Materova, *Ion-Sel. Electrode Rev.* **1985**, 7, 3.
287. Klaster Bioenergia dla Regionu, artykuł „Uprawa glonów do produkcji biopaliw”, www.bioenergiadlaregionu.eu - informacje dostępne w **2014** r.
288. K. Persaud, G.H. Dodd, *Nature*, **1982**, 299, 352.
289. K. Hayashi, M. Yamanaka, K. Toko, K. Yamafuji, *Sensors and Actuat. B*, **1990**, 2, 205.
290. C. Di Natale, A. D'Amico, Yu.G. Vlasov, A.V. Legin, *Proc. of the Int. Conf. Eurosensors IX, Stockholm*, **1995**, 512.
291. A.V. Legin, A.M. Rudnitskaya, Yu.G. Vlasov, C. Di Natale, F. Davide, A. D'Amico, *Sensors and Actuat. B*, **1997**, 44, 291.
292. Yu. Vlasov, A. Legin, A. Rudnitskaya, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, 373, 136.
293. A. Legin, A. Rudnitskaya, Yu. Vlasov, *Integrated Analytical Systems. Comprehensive Analytical Chemistry 36.*, Amsterdam, Elsevier, **2003**, 437.
294. A. Rudnitskaya, A. Legin, *J. Industr. Microbiol. Biotechnol.*, **2008**, 35, 443.
295. S. S. Schiffman, T. C. Pearce, *Handbook of Machine Olfaction. Electronic Nose technology*, Darmstadt, Wiley-VCH, **2003**.
296. B. Lavine, J. J. Workman, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 3365.
297. A. Legin, A. Rudnitskaya, Yu. Vlasov, A. D'Amico, C. Di Natale, *Proc. 8th Inter. Conf. Electroanalysis. Bonn*, **2000**, A27.
298. F. Winquist, P. Wide, I. Lundstrom, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, 357, 21.
299. A. Legin, A. Rudnitskaya, Yu. Vlasov, C. Di Natale, E. Mazzone, A. D'Amico, *Electroanalysis*, **1999**, 11, 814.
300. T. Fukinaga, K. Toko, S. Mori, Y. Nakabayashi, M. Kanda, *Sens. Mater.*, **1996**, 8, 47.
301. L. Lvova, A. Legin, Yu. Vlasov, G. S. Cha, H. Nam, *Sensors and Actuat. B*, **2003**, 91, 32.
302. M. Hruskar, N. Major, M. Krpan, I. P. Krbavcic, G. Saric, K. Markovic, N. Vahcic, *Mljikarstvo*, **2009**, 59, 193.
303. L. G. Dias, A. M. Peres, A. C. A. Veloso, F. S. Reis, M. Vilas-Boas, A.A.S.C. Machado, *Sensors and Actuat. B*, **2009**, 136, 209.
304. A. Legin, A. Smirnova, A. Rudnitskaya, L. Lvova, Yu. Vlasov, *Anal. Chim. Acta*, **1999**, 385, 131.
305. P. Ciosek, L. Grabowska, Z. Brzózka, W. Wróblewski, *Microchim. Acta*, **2008**, 163, 139.
306. M. Gutierrez, S. Alegret, M. del Valle, *Biosens. Bioelectronics*, **2008**, 23, 795.
307. L. Lvova, E. Martinelli, F. Dini, A. Bergamini, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico, *Talanta*, **2009**, 77, 1097.
308. G. F. Nordberg, B. A. Fowler, M. Nordberg, L. Friberg (Eds.), *Handbook on the Toxicology of Metals*, third ed., Academic Press, Elsevier, **2007**.
309. J. K. Piotrowski, *Podstawy toksykologii*, WNT, Warszawa, **2008**.
310. W. Seńczuk, *Toksykologia współczesna*, PZWL, Warszawa, **2005**.
311. V. V. Egorov, E. A. Zdrachek, V. A. Nazarov, *Anal. Chem.*, **2014**, 86, 3693.
312. J. Kulesza, M. Guziński, V. Hubscher-Bruder, F. Arnaud-Neu, M. Bocheńska, *Polyhedron*, **2011**, 30, 98.
313. G. Lisak, T. Sokalski, J. Bobacka, L. Harju, A. Lewenstam, *Talanta*, **2010**, 83, 436.

314. E. Lindner, B.D. Pendley, *Anal. Chim. Acta*, **2013**, 762, 1.
315. Sigma-Aldrich, www.sigmaaldrich.com - informacje dostępne w **2014** r.
316. J. Atherton, W. E. King III, M. Guziński, A. Jasiński, B. Pendley, E. Lindner, *Sensors and Actuat. B*, **2016**, 236, 77.