Elektrochemický skenovací mikroskop (SECM) pro charakterizaci kovových částic

Teorie

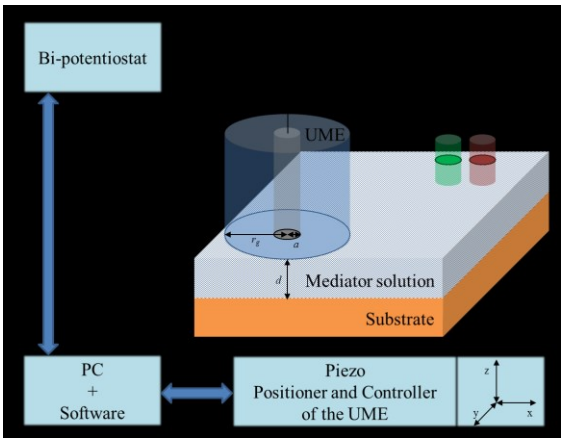
PRINCIP SECM

SECM je technika, kdy nad zkoumaným povrchem je diskontinuálně pohybováno sondou (mikroelektrodou) a v každém bodě jsou změřeny elektrochemické vlastnosti – tok faradaických proudů vyvolaných elektrochemickými procesy. Během pohybu mikroelektrody je z měřených elektrochemických vlastností získávána informace o skenovaném povrchu. Tato informace je spojena buď s elektrochemickými vlastnosti nebo s topografií studovaného povrchu. Rozlišení této metody je jako u podobných technik odvíjí od velikosti sondy, nejčastěji v řádech mikrometrů až nanometrů. Nejčastěji se měří ve dvou základních režimech. Ten první se nazývá negativní zpětná vazba. K té dochází k redoxní recyklaci elektrochemicky aktivní látky během měření. Pokud se mikroelektroda přibližuje k nevodiči, který brání přístupu mediátoru a nebude volně difundovat z okolí a odezva bude tak klesat. V opačném případě, kdy se mikroelektroda bude přibližovat ve vodivému povrchu situace bude opačná a proto bude odezva, v našem případě proudová hladina, klesat. Tento jev se nazývá pozitivní zpětná vazba jako druhý ze základních měřících režimů.

Kovové částice, v našem případě reprezentované nano-krystaly, neboli kvantovými tečkami (QDs), mají oproti organickým barvivům nebo značkám speciální vlastnosti a výhody (fluorescenční aktivitu, fotostabilitu, elektroaktivitu a možnost si podle velikosti tečky stanovit emisní vlnovou délku). Výše zmíněné výhody vedou k jejich širokému využití v praxi (fluorescenční značka v in vivo zobrazování, součást biosenzorů, imunotesty založené na QDs). Pro naše použití je rozhodující elektroaktivita kvantových teček. Tuto vlastnost využívá elektrochemický mikroskop (SECM), který je vhodným nástrojem pro sledování takových elektroaktivních částic. Modifikace povrchu kvantových teček pomocí různých molekul je častou cestou při jejich specializaci. Náplní této práce je právě sledování změn

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

elektrochemického chování takto modifikovaných částic (různé aminokyseliny) pomocí SECM.



Obr. 1: Schéma SECM [2].

PRINCIP SECM

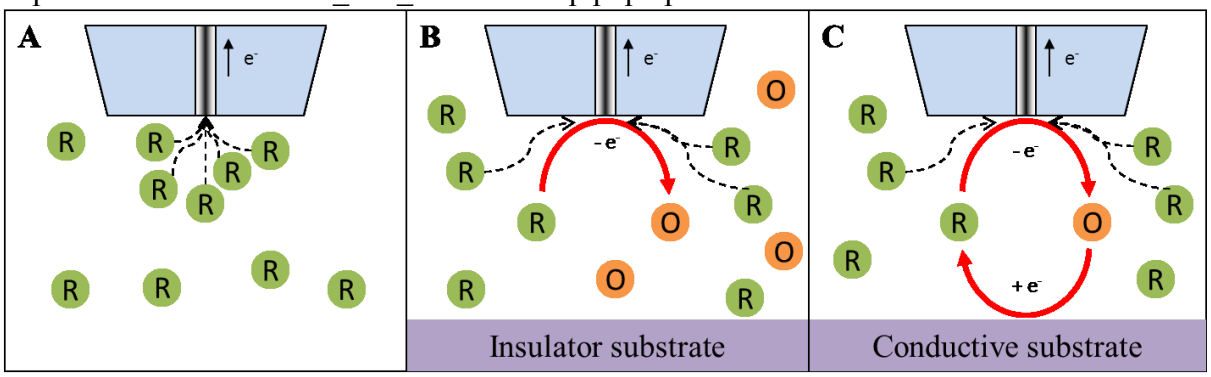
Pro režim zpětné vazby se obvykle používá mikroelektroda (ME), která slouží jako pracovní elektroda v systému tří nebo čtyř elektrod. Čtyř elektrodový systém je doplněn o substrátovou elektrodu, která slouží jako druhá pracovní elektroda. Elektrody se ponoří do roztoku, který obsahuje redoxní mediátor.

V nejjednodušším případě, ME je vložena do mediátoru, potenciál je aplikován na hrot elektrody a dochází k difuzně řízené konverzi mediátoru podle rovnice:

$$R \rightarrow O + ne^-$$

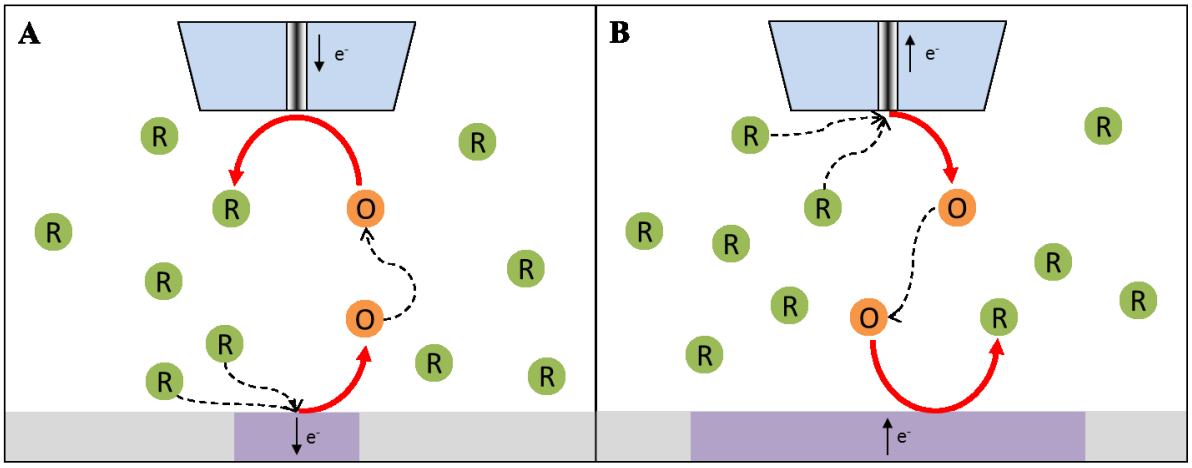
A proto v ustáleném stavu může být detekován faradaický proud. Tuto situaci je nutno brát jako mezní případ, kdy je vzdálenost hrotu elektrodu od substrátové elektrody nekonečná (Obr. 2A). Je-li ME v blízkosti substrátové elektrody (izolant), tento povrch brání difuzi R směrem k ME (Obr. 2B) a faradaický proud se snižuje. Taková situace se nazývá negativní zpětná vazba. Opačná situace se nazývá pozitivní zpětná vazba a ta se liší tím, že jako substrátová elektroda je vodič, kde probíhají heterogenní reakce. Tato reakce regeneruje R elektrochemickou konverzí, které se stává nový a dostupný zdroj reagentu (Obr. 2C)

Mód Tip-generation/sample-collection (TG/SC)se liší od režimu zpětné negativní vazby v jedné důležité věci. A to je přítomnost mediátoru v roztoku. Tento mód pracuje v roztoku, který na začátku nemá žádné látky, které by mohly být redukovány na ME. V TG/SC módu je hrot elektrody i substrát využíván jako pracovní elektrody, vždy jedna z nich látky vytváří a druhá se sbírá. Technika TG/SC je daleko více senzitivní, protože signál pozadí je velmi slabý. Pokud je oxidovatelná nebo redukovatelná látka vytvářena na povrchu substrátu, tak tato složka může být detekována na ME, pokud se nachází v blízkosti aktivní oblasti (Obr. 3A).



Obr. 2: Schéma módu zpětné vazby.

Z tohoto popisu je zřejmý název metody, Sample-generation/tip-collection (SG/TC) mód. Pokud hrot prochází difuzní vrstvou produkovanou substrátem, tak elektrochemické změny v této vrstvě odráží různé koncentrace redoxních látek. Účinnost sběru v režimu SG/TC je mnohem nižší než u TG/SC, protože a právě ustáleného proudu může být dosáhnuto jen tehdy, pokud se použije substrátová elektroda v rozměrech mikrometrů. Další nevýhodou tohoto režimu je vysoká citlivost na okolní hluk a obtíže při stanovení vzdálenosti hrot a substrát (Obr. 3B).



Obr. 2: Schéma módu TG/SC a SG/TC

Mezi výhody SECM patří:

- V porovnání s jinými spektroskopickými technikami SECM vyžaduje minimální příprava vzorku
- Vyhodnocení obrazových výstupů lze numericky modelovat, což umožňuje získat informace týkající se reakční kinetiky
- Díky nedestruktivní metodice lze experiment několikrát úspěšně opakovat

- Spektrum využití SECM je velmi široké, lze s touto technikou studovat enzymové reakce, DNA hybridizace, korozivní procesy, charakterizace anorganických i organických nanočástic

PŘÍPRAVA ANALYTU PRO MĚŘENÍ

- podpůrný elektrolyt
- roztok chloridu draselného, c(KCl) = 100 mmol/L
- Ferrocenemethanol c = 1 mmol/L
- KCl i Ferrocenemethanol mícháme spolu v uvedené koncentraci v poměru 1:1 a z toho nám vzniká podpůrný elektrolyt

MĚŘENÍ NA SECM

Vymýváme 10% kys. dusičnou, poté miliQ vodou
Vysoušení foukáním dusíku
1,5 mL podpůrného elektrolytu
10 µL vzorku (QDs s navázaným hemaglutinem a QDs bez navázaného hemaglutininu)
Parametery
Měřící metoda: Scanning electrochemical microscope
potenciál pracovní elektrody: 0.2 V; čas klidu před měřením 2 s, citlivost 1.e -008 A/V, potenciál druhé prac. elektrody 0.3 V, čas klidu před měřením 2 s, citlivost 1.e -005 A/V, rastrovací rychlost 1 µm/0,02 s, plocha pro skenování má rozměry 80 µm x 80 µm měřeno při (20 °C)

Měření
a) Do měřící cely napipetujeme 1,5 ml podpůrného elektrolytu.
b) na zlatou elektrodu přidáme 10 µL vzorku
c) nastavíme vhodnou výšku pracovní elektrody nad studovaným povrchem pomocí metody Probe approach curve, kde z analýzy křivky určíme přesnou vzdálenost elektrody od povrchu
d) Spustíme výše zmíněnou metodu s uvedenými parametry
e) uložíme výsledný záznam
f) Převedeme obrázek do textové podoby pomocí funkce Convert to text, kde se nám vytvoří ze souboru s daty nový textový soubor
g) Tento textový soubor otevřeme v MS Excel a z čísel vytvoříme rovinný graf
h) Provedeme finální úpravy grafu a uložíme

Srovnáme průměrnou hodnotu proudové hladiny QDs bez hemaglutininu s proudovou hladinou QDs s navázaným hemaglutininem. Z vypočítaného rozdílu lze jednotlivé částice charakterizovat.