



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**«Κατασκευή και εφαρμογές τρισδιάστατων εκτυπωμένων  
διατάξεων για ηλεκτροανάλυση»**

**ΚΑΤΣΕΛΗ ΒΑΣΙΛΙΚΗ  
ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ**

**2023**

## **ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

«Κατασκευή και εφαρμογές τρισδιάστατων εκτυπωμένων διατάξεων για ηλεκτροανάλυση»

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:** Βασιλική Κατσέλη

**A.M.:** 001810

### **ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

Χρήστος Κόκκινος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ:**

Χρήστος Κόκκινος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

Αναστάσιος Οικονόμου, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

Μάμας Προδρομίδης, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

### **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

Χρήστος Κόκκινος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

Αναστάσιος Οικονόμου, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

Μάμας Προδρομίδης, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

Ευάγγελος Μπακέας, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Ε.Κ.Π.Α.

Στέλλα Γηρούση, Καθηγήτρια, Τμήμα Χημείας Α.Π.Θ.

Δημοσθένης Γκιώκας, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

Φώτιος Τσόπελας, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π.

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ:** 20/2/2023



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η ανάπτυξη χαμηλού κόστους ολοκληρωμένων ηλεκτροχημικών διατάξεων, εξ ολοκλήρου κατασκευασμένων με τρισδιάστατη εκτύπωση (3D printing). Οι διατάξεις αποτελούνται από μικροκυψελίδα (εκτυπωμένη από μη αγώγιμο νήμα) με ενσωματωμένους αισθητήρες (εκτυπωμένους από αγώγιμο νήμα) και κατασκευάζονται σε ένα στάδιο από 3D εκτυπωτή δύο κεφαλών. Οι διατάξεις εφαρμόστηκαν για την ανάπτυξη ηλεκτροχημικών μεθόδων προσδιορισμού οργανικών ενώσεων και βαρέων μετάλλων παρουσιάζοντας ιδιαίτερα χαμηλή ευαισθησία, υψηλή εκλεκτικότητα, μειωμένους χρόνους ανάλυσης, ενώ είναι κατάλληλες για αναλύσεις στο πεδίο ανάγκης.

Συγκεκριμένα, κατασκευάστηκαν 3D printed διατάξεις και αναπτύχθηκαν ηλεκτροχημικές μέθοδοι για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό των φαρμακευτικών ουσιών παρακεταμόλης και καφεΐνης, και για τον προσδιορισμό της κουετιαπίνης και της κολχικίνης. Αναπτύχθηκαν 3D printed διατάξεις και μέθοδοι προσδιορισμού βαρέων μετάλλων όπως υδράργυρου και καδμίου καθώς και για τον προσδιορισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου. Κατασκευάστηκε 3D printed μικροβιοαισθητήρας και αναπτύχθηκε μέθοδος για τον προσδιορισμό της Γ-αντιδρώσας πρωτεΐνης, καθώς και εύκαμπτος 3D printed φορετός αισθητήρας σε μορφή δακτυλιδιού κατάλληλος για τον προσδιορισμό γλυκόζης σε βιολογικά υγρά.

Με την εφαρμοζόμενη τεχνολογία κατασκευής αισθητήρων τα σημαντικότερα μειονεκτήματα των συμβατικών μεθόδων κατασκευής ηλεκτροχημικών αισθητήρων ελαχιστοποιούνται. Ειδικότερα, η χρήση της τρισδιάστατης εκτύπωσης μειώνει σημαντικά το κόστος κατασκευής των διατάξεων σε σύγκριση με τις υπάρχουσες τεχνικές (όπως έγχυσης με εκμαγείο, φωτολιθογραφία, εκτύπωση με πλέγματα), χρησιμοποιώντας οικιακού τύπου, φορητή και φθηνή οργανολογία. Οι διατάξεις έχουν πολύ μικρό μέγεθος, μπορούν να κατασκευάζονται σε διάφορες γεωμετρίες και αποτελούνται από μη τοξικά και απορριπτόμενα υλικά. Το μέγεθος τους είναι αρκετά μικρό επιτρέποντας το χειρισμό μικρών όγκων δειγμάτων και αντιδραστηρίων της κλίμακας των μικρολίτρων ( $\mu\text{L}$ ).

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Ηλεκτροανάλυση

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** Τρισδιάστατη εκτύπωση, ηλεκτροχημικοί αισθητήρες, καφεΐνη, παρακεταμόλη, βαρέα μέταλλα, Γ-αντιδρώσα πρωτεΐνη, κουετιαπίνη, γλυκόζη, κολχικίνη.

## ABSTRACT

The purpose of this PhD thesis is the development of low-cost completed electrochemical devices, entirely fabricated by 3D printing. The devices are composed of a micro-cell (printed from non-conductive filament) with integrated 3 electrodes printed by conductive filament and manufactured by a single-step printing process using a dual extruder 3D printer. The 3D printed devices were applied to the electrochemical determination of organic compounds and heavy metals, presenting low sensitivity, high selectivity, short analysis time, while they are suitable for point of need applications.

More specifically, 3D printed integrated devices were fabricated and applied for the simultaneous electrochemical determination of paracetamol and caffeine and for the determination of quetiapine and colchicine. Besides, 3D printed devices were constructed for the voltametric determination of heavy metals, such as mercury and cadmium and for the amperometric determination of hydrogen peroxide. Also, 3D printed mini-biosensors were developed for the determination of C-reactive protein and a flexible wearable 3D printed sensor in the form of ring for the determination of glucose in biological fluids.

With this applied technology in the fabrication of sensor the main disadvantages of conventional manufactory method are minimized. In particular, the use of 3D printing technology significantly reduces the production cost of the devices compared to existing techniques (such as injection molding, photolithography, screen printing) using desktop-sized, portable, domestic and low-cost equipment. The devices are very small in size, can be designed in various geometries and are produced by non-toxic and disposable materials. Their overall size is quite small allowing the handling of small sample volumes and reagents in the microliter ( $\mu\text{L}$ ) scale.

**SUBJECT AREA:** Electroanalysis

**KEYWORDS:** 3D printer, electrochemical sensors, caffeine, paracetamol, heavy metals, CRP, quetiapine, glucose, colchicine



**Στον Πατέρα μου**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Ολοκληρώνοντας αυτή τη μεγάλη πορεία οφείλω να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που αποτέλεσαν μέρος της και την στήριξαν ουσιαστικά.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Χρήστο Κόκκινο, Αναπληρωτή Καθηγητή του τμήματος Χημείας, για τη συνεργασία και τη βοήθεια που μου πρόσφερε από τη πρώτη στιγμή καθώς και για τη καθοδήγηση, κατανόηση και ενθάρρυνση του καθ' όλη τη διάρκεια της διδακτορικής μου διατριβής.

Ευχαριστώ θερμά τον κ. Αναστάσιο Οικονόμου, Καθηγητή του τμήματος Χημείας για την αμέριστη ηθική συμπαράσταση, τη σημαντική επιστημονική βοήθεια και την αποδοχή συμμετοχής του στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή. Επίσης, ευχαριστώ θερμά την Δρ. Μ. Αγγελοπούλου για την ανάπτυξη βιοδοκιμής της Γ- αντιδρώσας πρωτεΐνης.

Τέλος, ιδιαίτερη μνεία και ένα θερμό ευχαριστώ αξίζει στην οικογένεια και τους φίλους μου για τη συνεχή παρουσία τους δίπλα μου όλον αυτόν τον καιρό.

Μέρος της παρούσας έρευνας συγχρηματοδοτήθηκε από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (European Social Fund - ESF) μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση 2014-2020» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς, στα πλαίσια της πράξης «Τρισδιάστατα εκτυπωμένες μικροδιατάξεις για ηλεκτροχημικές βιοδοκιμές με χρήση κβαντικών κουκκίδων ως ιχνηθέτες» (MIS 5047951).





## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	<b>25</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Ηλεκτροχημικές τεχνικές ανάλυσης</b> .....	<b>26</b>
1.1 Ταξινόμηση ηλεκτροαναλυτικών τεχνικών .....	26
1.2 Γαλβανικά και ηλεκτρολυτικά στοιχεία .....	29
1.3 Μονάδες ποσότητας ηλεκτρισμού.....	31
1.4 Δυναμικό ηλεκτροδίου .....	31
1.5 Φαρανταϊκές διεργασίες.....	32
1.6 Πόλωση ηλεκτροδίου.....	33
1.7 Περιγραφή της ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας - πρότυπο Helmholtz.....	34
1.8 Ηλεκτρόδια αναφοράς .....	35
1.9 Παράγοντες που καθορίζουν τις ηλεκτροχημικές αντιδράσεις και το παρατηρούμενο ηλεκτρικό ρεύμα.....	37
1.10 Ηλεκτροχημική κυψελίδα και αντίσταση της κυψελίδας .....	39
1.11 Τρόποι μεταφοράς μάζας .....	41
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Βολταμμετρία</b> .....	<b>43</b>
2.1 Κυματομορφές σάρωσης δυναμικού στη βολταμμετρία.....	44
2.2 Οργανολογία βολταμμετρίας.....	47
2.3 Αναδιαλυτική Βολταμμετρία .....	49
2.4 Αμπερομετρία .....	56
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Τρισδιάστατη εκτύπωση</b> .....	<b>59</b>
3.1 Η διαδικασία της τρισδιάστατης εκτύπωσης .....	60
3.2 Η τρισδιάστατη εκτύπωση στην ηλεκτροχημεία .....	66
3.3 Ηλεκτροχημικοί αισθητήρες κατασκευασμένοι με τρισδιάστατη εκτύπωση.....	66
3.4 Ηλεκτροχημικοί βιοαισθητήρες κατασκευασμένοι με τρισδιάστατη εκτύπωση.....	74
3.5 Επεξεργασία της επιφάνειας των ηλεκτροδίων που έχουν κατασκευαστεί με τρισδιάστατη εκτύπωση.....	77
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 Σκοπός εργασίας</b> .....	<b>79</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 Ουσίες που προσδιορίστηκαν με τις τρισδιάστατα εκτυπωμένες διατάξεις</b> .....	<b>81</b>
5.1 Φαρμακευτικές ουσίες.....	81
5.2 Υδράργυρος και κάδμιο .....	83

5.3	Βιοδείκτες .....	84
<b>ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>		<b>90</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 Κατασκευή αισθητήρων.....</b>		<b>91</b>
6.1	Αντιδραστήρια και οργανολογία.....	91
6.2	Σχεδίαση και κατασκευή των τρισδιάστατα εκτυπωμένων αισθητήρων.	92
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 Ηλεκτροχημικές μετρήσεις .....</b>		<b>95</b>
7.1	Αντιδραστήρια.....	95
7.2	Οργανολογία.....	97
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>		<b>100</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 Προκαταρκτικά πειράματα προσδιορισμού της ηλεκτροχημικής απόκρισης των τριασδιάστατα εκτυπωμένων αισθητήρων .....</b>		<b>101</b>
8.1	Αρχές ηλεκτροχημικών μεθόδων .....	101
8.2	Βολταμμετρία γραμμικής σάρωσης.....	103
8.3	Προσδιορισμός καφεΐνης .....	103
8.4	Προσδιορισμός Υδραργύρου .....	104
8.5	Προσδιορισμός γλυκόζης.....	105
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 Προσδιορισμός κολχικίνης και κουετιαπίνης .....</b>		<b>107</b>
9.1	Αρχές ηλεκτροχημικών μεθόδων .....	107
9.2	Επιλογή αγώγιμου νήματος .....	109
9.3	Χαρακτηρισμός αισθητήρα .....	110
9.4	Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού της κουετιαπίνης .....	114
9.5	Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού της κολχικίνης.....	117
9.6	Καμπύλη αναφοράς.....	120
9.7	Σταθερότητα αισθητήρα.....	123
9.8	Παρεμποδίσεις.....	123
9.9	Αναλύσεις δειγμάτων .....	124
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10 Ταυτόχρονος προσδιορισμός παρακεταμόλης καφεΐνης .....</b>		<b>127</b>
10.1	Αρχές ηλεκτροχημικών μεθόδων .....	127
10.2	Επιλογή αγώγιμου νήματος .....	128
10.3	Χαρακτηρισμός αισθητήρα .....	129
10.4	Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού παρακεταμόλης και καφεΐνης.....	131
10.5	Καμπύλες αναφοράς .....	132
10.6	Σταθερότητα αισθητήρα.....	134
10.7	Παρεμποδίσεις.....	134

10.8	Αναλύσεις δειγμάτων .....	136
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11 Προσδιορισμός υδραργύρου .....</b>		<b>138</b>
11.1	Αρχή ηλεκτροχημικής μεθόδου .....	138
11.2	Επιλογή αγώγιμου νήματος .....	140
11.3	Επιλογή της συγκέντρωσης του Au(III) .....	141
11.4	Χαρακτηρισμός αισθητήρα .....	143
11.5	Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού υδραργύρου.....	144
11.6	Καμπύλη αναφοράς.....	147
11.7	Σταθερότητα αισθητήρα.....	149
11.8	Παρεμποδίσεις.....	150
11.9	Αναλύσεις δειγμάτων.....	152
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12 Προσδιορισμός Γ αντιδρώσας πρωτεΐνης και υπεροξειδίου του υδρογόνου .....</b>		<b>154</b>
12.1	Αρχή της μεθόδου.....	154
12.2	Επιλογή αγώγιμου νήματος .....	157
12.3	Επιλογή ηλεκτροαποτιθέμενου υμενίου .....	158
12.4	Χαρακτηρισμός του ηλεκτροδίου εργασίας .....	160
12.5	Καμπύλη αναφοράς καδμίου .....	162
12.6	Βελτιστοποίηση της βιοδοκιμής της Γ αντιδρώσας πρωτεΐνης.....	163
12.7	Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού υπεροξειδίου υδρογόνου ....	166
12.8	Καμπύλη αναφοράς.....	166
12.9	Σταθερότητα αισθητήρα.....	168
12.10	Ανάλυση δείγματος.....	168
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13 Προσδιορισμός γλυκόζης.....</b>		<b>169</b>
13.1	Αρχή της μεθόδου.....	169
13.2	Επιλογή αγώγιμου νήματος .....	171
13.3	Επιλογή της συγκέντρωσης του Au(III) .....	172
13.4	Χαρακτηρισμός του ηλεκτροδίου εργασίας και αναφοράς .....	173
13.5	Μελέτη δυναμικού.....	175
13.6	Καμπύλη αναφοράς.....	175
13.7	Σταθερότητα αισθητήρα.....	177
13.8	Παρεμποδίσεις.....	178
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14 Συμπεράσματα .....</b>		<b>180</b>
<b>ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ .....</b>		<b>182</b>
<b>ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ .....</b>		<b>184</b>

<b>Δημοσιεύσεις στα πλαίσια της παρούσας διατριβής .....</b>	<b>186</b>
<b>Ανακοινώσεις σε διεθνή επιστημονικά συνέδρια.....</b>	<b>186</b>
<b>ΑΝΑΦΟΡΕΣ .....</b>	<b>187</b>

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Γαλβανικό στοιχείο Daniel (πάνω) και στοιχείο ηλεκτρόλυσης ύδατος παρουσία NaOH (κάτω) <sup>(13)</sup> .....	30
Σχήμα 2: Διαγράμματα $i-E$ α) ιδανικά πολωμένου ηλεκτροδίου, β) ιδανικά μη πολωμένου ηλεκτροδίου. Με διακοπτόμενες γραμμές δείχνονται οι αποκλίσεις των πραγματικών (μη ιδανικών) ηλεκτροδίων κάθε τύπου. Η ιδανική συμπεριφορά περιορίζεται σε ορισμένη μόνο περιοχή δυναμικού ή ρεύματος, πέρα από αυτή αρχίζει η αποπόλωση και η πόλωση ενός πολωμένου και ενός αποπολωμένου ηλεκτροδίου αντίστοιχα <sup>(13)</sup> .....	34
Σχήμα 3: Σχηματική αναπαράσταση (αριστερά) της ηλεκτρισμένης διεπιφάνειας (ηλεκτρική διπλοστοιβάδα) ηλεκτροδίου και ηλεκτρολυτικού διαλύματος σύμφωνα με το πρότυπο του Helmholtz και (δεξιά) της αντίστοιχης μεταβολής του δυναμικού σε συνάρτηση της απόστασης από το ηλεκτρόδιο <sup>(13)</sup> .....	35
Σχήμα 4: Ηλεκτρόδια αναφοράς. Αριστερά το πρότυπο ή κανονικό ηλεκτρόδιο υδρογόνου (Normal Hydrogen Electrode, NHE) και δεξιά Το κορεσμένο ηλεκτρόδιο καλομέλανα Hg / Hg <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> / 4,6 M KCl (Saturated Calomel Electrode, SCE) <sup>(12,13)</sup> .....	37
Σχήμα 5: Παραστατική πορεία μιας γενικής ηλεκτροχημικής αντίδρασης <sup>(2)</sup> .....	37
Σχήμα 6: Σχηματική απεικόνιση της ισοδύναμης ηλεκτρικής αντίστασης μιας ηλεκτροχημικής αντίδρασης <sup>(2)</sup> .....	38
Σχήμα 7: Σχηματική απεικόνιση της ισοδύναμης ηλεκτρικής αντίστασης μιας ηλεκτροχημικής αντίδρασης <sup>(2)</sup> .....	39
Σχήμα 8: Σχηματική απεικόνιση του ισοδύναμου ηλεκτρικού κυκλώματος Α) δύο ηλεκτροδίων Β) τριών ηλεκτροδίων <sup>(2)</sup> .....	40
Σχήμα 9: Διαγράμματα κατανομής της συγκέντρωσης ηλεκτρενεργής ουσίας για διάφορες τιμές δυναμικού του ηλεκτροδίου εργασίας. Τα παραπάνω σχήματα αποδίδουν την κατάσταση, την ίδια πάντοτε χρονική στιγμή $t$ , μετά την εφαρμογή του δυναμικού <sup>(12)</sup> .....	42
Σχήμα 10: Διαφορικό παλμικό βολταμμογράφημα <sup>(12)</sup> .....	44
Σχήμα 11: Κυκλικό βολταμμογράφημα για πλήρως αντιστρεπτό οξειδοαναγωγικό σύστημα <sup>(12)</sup> .....	45
Σχήμα 12: Οι κυματομορφές δυναμικού (E)-χρόνου για τις βολταμμετρικές γραμμικής σάρωσης, διαφορικού παλμού και τετραγωνικού παλμού, αντίστοιχα <sup>(14)</sup> .....	46
Σχήμα 13: Οργανολογία βολταμμετρικών μετρήσεων. E(t) είναι το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας ως προς το ηλεκτρόδιο αναφοράς, E <sub>εφ</sub> είναι η εφαρμοζόμενη	

τάση μεταξύ ηλεκτροδίου εργασίας και βοηθητικού ηλεκτροδίου, HE είναι το ηλεκτρόδιο εργασίας, BE είναι το βοηθητικό ηλεκτρόδιο και HA το ηλεκτρόδιο αναφοράς <sup>(12)</sup> . .....	48
Σχήμα 14: Παραστατικό διάγραμμα των διαδοχικών σταδίων κατά την ανάλυση υδατικού διαλύματος μεταλλοϊόντων <sup>(12)</sup> .....	50
Σχήμα 15: Υδρόφοβα οργανικά συμπλεκτικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στην προσροφητική αναδιαλυτική βολταμμετρία <sup>(12)</sup> .....	52
Σχήμα 16: α) Δυναμικό συναρτήσει του χρόνου σε πείραμα χρονοαμπερομετρίας. β) Το αντίστοιχο χρονοαμπερογράφημα (ο μόνος τρόπος μεταφοράς μάζας είναι η διάχυση). .....	57
Σχήμα 17: Διαφορές προσθετικής και αφαιρετικής κατασκευής <sup>(19)</sup> . .....	59
Σχήμα 18: Η διαδικασία της τρισδιάστατης εκτύπωσης. Ένα ψηφιακό μοντέλο της κατασκευής του αντικειμένου χρησιμοποιώντας λογισμικό CAD, τρισδιάστατο σαρωτή (3D scanner, ή με τη λήψη πολλών φωτογραφιών. Το τρισδιάστατο μοντέλο μετατρέπεται σε αρχείο STL και η τρισδιάστατη εικόνα μετατρέπεται σε συνεχόμενες δυσδιάστατες στοιβάδες δίνοντας ένα αρχείο G-code. Τέλος, τυπώνεται το τρισδιάστατο αντικείμενο σε διαδοχικές δυσδιάστατες στοιβάδες <sup>(19)</sup> .....	60
Σχήμα 19: Σχηματικό διάγραμμα της τεχνικής FDM. Η κεφαλή πληρωμένη με το θερμοσκληρυνόμενο πολυμερές μετακινείται σε τρεις διαστάσεις και εναποθέτει στην πλατφόρμα κατασκευής το ρευστό πολυμερές <sup>(19)</sup> .....	63
Σχήμα 20: (A) Σχηματικό διάγραμμα της τεχνικής του ψεκασμού συνδετικού υλικού (binder jetting). (B) Σχηματικό διάγραμμα της τεχνικής της επιλεκτικής συσσωμάτωσης λέιζερ - SLS (ή επιλεκτική σύντηξη λέιζερ - SLM) <sup>(19)</sup> .....	65
Σχήμα 21: Σχηματικό διάγραμμα της τεχνικής κατασκευής αντικειμένων με ελασμάτωση <sup>(19)</sup> .....	66
Σχήμα 22: Συντακτικός τύπος της QF .....	81
Σχήμα 23: Συντακτικός τύπος κολχικίνης .....	82
Σχήμα 24: Συντακτικός τύπος της παρακεταμόλης (A) και της καφεΐνης (B) . .....	83
Σχήμα 25: Σχηματική αναπαράσταση ενός ηλεκτροχημικού αισθητήρα γλυκόζης <sup>(137)</sup> ..	86
Σχήμα 26: Αρχή λειτουργίας των ηλεκτροχημικών αισθητήρων γλυκόζης <sup>(137)</sup> .....	87
Σχήμα 27: Τρισδιάστατος εκτυπωτής δύο κεφαλών Creator Pro (Flashforge) .....	91
Σχήμα 28: Σχηματική αναπαράσταση των τρισδιάστατά εκτυπωμένων διατάξεων που κατασκευάστηκαν και οι διαστάσεις σε cm. ....	92
Σχήμα 29: Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της τρισδιάστατης εκτύπωσης χρησιμοποιώντας τρισδιάστατο εκτυπωτή δύο κεφαλών .....	93

Σχήμα 30: Η οθόνη του προγράμματος ελέγχου και λήψης δεδομένων του ποτενσιοστάτη. ....	98
Σχήμα 31: Η οθόνη του προγράμματος που υπολογίζει το ύψος, το δυναμικό και το εμβαδόν της κορυφής. ....	99
Σχήμα 32: Βολταμμογραφήματα LS της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης με ηλεκτρολύτη συγκέντρωσης 0,1 mol L <sup>-1</sup> . Διακρίνονται: ρυθμιστικό διάλυμα αμμωνιακών (pH 9,2) (κόκκινη γραμμή) και ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (pH 4,5) (μαύρη γραμμή). Ο ρυθμός σάρωσης ήταν 50 mV s <sup>-1</sup> . ....	103
Σχήμα 33: Βολταμμογραφήματα DP και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς καφεΐνης συγκεντρώσεων 0-90 mg L <sup>-1</sup> . ....	104
Σχήμα 34: Βολταμμογραφήματα SW και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς Hg(II) συγκεντρώσεων 0-80 mg L <sup>-1</sup> . ....	105
Σχήμα 35: Ύψος κορυφής 30 μετρήσεων Hg (II) συγκέντρωσης 40 μg L <sup>-1</sup> . ....	105
Σχήμα 36: Χρονοαμπεροματογράφημα και το αντίστοιχο διάγραμμα Lineweaver-Burk. Το εύρος των συγκεντρώσεων είναι 2-28 mmol L <sup>-1</sup> . Η καμπύλη αναφοράς έχει προκύψει από τη μέση τιμή ± SD (n=3). ....	106
Σχήμα 37: Προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης σε ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα CB/PLA. ....	108
Σχήμα 38: Προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης σε ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα CB/PLA. ....	109
Σχήμα 39: SW Βολταμμογραφήματα QF συγκεντρώσεων 50 · 10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδια εργασίας αποτελούμενα από άνθρακα και: (i) ABS και (ii) PLA. ....	110
Σχήμα 40: Βολταμμογραφήματα CV με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη παρουσία 50 · 10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> (κόκκινο χρώμα) και 200 · 10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> QF(μαύρο χρώμα). Ρυθμός σάρωσης: 50 mV s <sup>-1</sup> , ηλεκτρολύτης: ρυθμιστικό διάλυμα οξικού 0,1 mol L <sup>-1</sup> (pH 4,8). ....	111
Σχήμα 41: Η σταθερότητα του δυναμικού του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου αναφοράς. οι μετρήσεις διεξήχθησαν σε διάλυμα που περιείχε 50 · 10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> QF σε 0,1 mol L <sup>-1</sup> ρυθμιστικό διαλύματος οξικών (pH 4,8). Η κόκκινη γραμμή αποτυπώνει το μέσο όσο 20 μετρήσεων και οι γκριζες γραμμές ορίζουν το εύρος ± 2sd. Ένθετο: Αντιπροσωπευτικά SW βολταμμογραφήματα 50 · 10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> QF. 1 <sup>η</sup> μέτρηση (μαύρο χρώμα), 20 <sup>η</sup> μέτρηση (γκρι χρώμα). ....	112

Σχήμα 42: Βολταμμογραφήματα CV ενεργοποιημένου (μαύρο χρώμα) και μη ενεργοποιημένου (κόκκινο χρώμα) του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου εργασίας σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, απουσία κολχικίνης.	113
Σχήμα 43: Βολταμμογραφήματα CV ενεργοποιημένου (μαύρο χρώμα) και μη ενεργοποιημένου (κόκκινο χρώμα) του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου εργασίας σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, παρουσία $2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ κολχικίνης.	113
Σχήμα 44: Βολταμμογραφήματα DP σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, παρουσία $2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ κολχικίνης. προσρόφηση για 120s στο $-1,2 \text{ V}$ .	114
Σχήμα 45: Η επίδραση του εφαρμοζόμενου δυναμικού στην SWV σάρωση για τον προσδιορισμό $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ QF. Οι γραμμές σφάλματος είναι η μέση τιμή $\pm$ sd (n = 3).	115
Σχήμα 46: Συγκριτικά βολταμμογραφήματα SW $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ QF σε: (κόκκινη χρώμα) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ρυθμιστικό διάλυμα οξικών pH 4,8, (μαύρη χρώμα) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ διάλυμα φωσφορικών pH 4,5, (πράσινη χρώμα) Britton–Robinson pH 4, (μπλε χρώμα) HCl pH 3.	115
Σχήμα 47: Η επίδραση του χρόνου προσυγκέντρωσης στην SWV απόκριση $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ QF. Οι γραμμές σφάλματος είναι η μέση τιμή $\pm$ sd (n = 3).	116
Σχήμα 48: Η επίδραση του κύματος σάρωσης στη βολταμμετρική απόκριση $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ QF: (i) SW, (ii) DP.	117
Σχήμα 49: Βολταμμογραφήματα DP σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, παρουσία $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ κολχικίνης με ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας (μαύρο χρώμα) και μη ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο (κόκκινο χρώμα).	118
Σχήμα 50: Βολταμμογραφήματα DP σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, παρουσία $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ κολχικίνης με ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας. Η επίδραση του κύματος σάρωσης στη βολταμμετρική απόκριση: (κόκκινο χρώμα) SW, (μαύρο χρώμα) DP.	118
Σχήμα 51: Βολταμμογραφήματα DP παρουσία $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ κολχικίνης με ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας. Σε ηλεκτρολύτη HCl pH 1 και pH 3 και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με pH 5, pH 7 και pH 9.	119
Σχήμα 52: Μεταβολή του ύψους κορυφής οξειδωσης κολχικίνης συγκέντρωσης $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7, συναρτήσε του χρόνου προσυγκέντρωσης.	119
Σχήμα 53: Βολταμμογραφήματα SW για QF που ελήφθησαν με τον τρισδιάστατα εκτυπωμένο ενσωματωμένο αισθητήρα σε εύρος συγκέντρωσης $5 \cdot 10^{-7} - 80 \cdot 10^{-7} \text{ mol}$	



L <sup>-1</sup> σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού (pH 4,8) συγκέντρωσης 0,1 mol L <sup>-1</sup> με στάδιο προσυγκέντρωσης -0,3 V για 120 s. Η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς για το προσδιορισμό της QF παρουσιάζεται δεξιά. Τα σημεία στη καμπύλη αναφοράς είναι η μέση τιμή ± sd (n = 3). .....	120
Σχήμα 54: Βολταμμογραφήματα DP για κολχικίνη που ελήφθησαν με τον τρισδιάστατα εκτυπωμένο ενσωματωμένο αισθητήρα σε εύρος συγκέντρωσης 0,6 - 2,2 μmol L <sup>-1</sup> σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH 7) συγκέντρωσης 0,1 mol L <sup>-1</sup> με στάδιο προσυγκέντρωσης -1,2 V για 120 s. Η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς για το προσδιορισμό της κολχικίνης παρουσιάζεται δεξιά. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή ± sd (n = 3). .....	122
Σχήμα 55: Βολταμμογραφήματα DP που ελήφθησαν με τον τρισδιάστατα εκτυπωμένο ενσωματωμένο αισθητήρα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH 7) συγκέντρωσης 0,1 mol L <sup>-1</sup> με στάδιο προσυγκέντρωσης -1,2 V για 120 s. 1 μmol L <sup>-1</sup> κολχικίνη (μαύρο χρώμα) και 1 μmol L <sup>-1</sup> κολχικίνη παρουσία 100 μmol L <sup>-1</sup> ασκορβικό οξύ, 100 μmol L <sup>-1</sup> γαλακτικό οξύ, 100 μmol L <sup>-1</sup> ουρικό οξύ (κόκκινο χρώμα). .....	124
Σχήμα 56: Βολταμμογραφήματα SW για τον προσδιορισμό της QF σε δείγμα ούρων με χρήση του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα. (μπλε χρώμα: δείγμα ούρων χωρίς προσθήκη QF, πορτοκαλί χρώμα: δείγμα ούρων με προσθήκη QF και 3 προσθήκες 6 · 10 <sup>-7</sup> mol L <sup>-1</sup> QF) στάδιο προσυγκέντρωσης -0,3V για 120 s. Το αντίστοιχο διάγραμμα σταθερής προσθήκης παρουσιάζεται δεξιά. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή ± sd (n = 3). .....	125
Σχήμα 57: Βολταμμογραφήματα DP για τον προσδιορισμό της κολχικίνης σε δείγμα τεχνητού πλάσματος αίματος με χρήση του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα. (μπλε χρώμα: δείγμα πλάσματος αίματος με κολχικίνη συγκέντρωσης 1 μmol L <sup>-1</sup> και 3 προσθήκες 0,4 μmol L <sup>-1</sup> ) στάδιο προσυγκέντρωσης -1,2V για 120 s. Το αντίστοιχο διάγραμμα σταθερής προσθήκης παρουσιάζεται δεξιά. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή ± sd (n = 3). .....	125
Σχήμα 58: Προτεινόμενοι μηχανισμοί αντίδρασης σε ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα C/ABS.....	128
Σχήμα 59: DP βολταμμογραφήματα διαλύματος που περιέχει 15 mg L <sup>-1</sup> PAR και CAF σε H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> συγκέντρωσης 0,3 mol L <sup>-1</sup> , που λήφθηκε από την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδια εργασίας από νήμα που περιέχει άνθρακα και : (i) C/ABS από την 3DEdge ii) CB/PLA από την Proto-Pasta και iii) CB/PLA από την Amolen. ....	129

Σχήμα 60: Κυκλικά βολταμμογραφήματα τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτρόδιου εργασίας και ηλεκτρόδιου εργασίας πάστας άνθρακα (εσωκλείεται) σε διάλυμα H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> συγκέντρωση 0,3 mol L <sup>-1</sup> .....	131
Σχήμα 61: Επίδραση φέροντος ηλεκτρολύτη (συγκέντρωσης 0,3 mol L <sup>-1</sup> ) στα βολταμμογραφήματα DP ενός διαλύματος που περιέχει 22,5 mg L <sup>-1</sup> PAR και CAF. ...	132
Σχήμα 62: DP βολταμμογραφήματα που λήφθηκαν από την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη. Το εύρος των συγκεντρώσεων PAR και CAF είναι 0 - 22,5 mg L <sup>-1</sup> . .....	132
Σχήμα 63: Αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς για την παρακεταμόλη και την καφεΐνη. Τα σημεία της καμπύλης αναφοράς είναι η μέση τιμή ± sd (n=3).....	133
Σχήμα 64: DP βολταμμογραφήματα που λήφθηκαν από την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξης. Το εύρος των συγκεντρώσεων είναι 0-175 mg L <sup>-1</sup> PAR και 0-35 mg L <sup>-1</sup> CAF. ....	133
Σχήμα 65: Αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς για την παρακεταμόλη (R <sup>2</sup> =0,997) και την καφεΐνη (R <sup>2</sup> =0,997). Τα σημεία της καμπύλης αναφοράς είναι η μέση τιμή ± sd (n=3). ....	134
Σχήμα 66: Συγκριτικά DP βολταμμογραφήματα που λαμβάνονται με την τρισδιάστατη τυπωμένη διάταξη σε διαλύματα που περιέχουν 15 mg L <sup>-1</sup> μείγματος PAR και CAF και 0, 150, 500, 1000 mg L <sup>-1</sup> ουρικού οξέος (UA): i) 100 mg L <sup>-1</sup> UA, ii) 15 mg L <sup>-1</sup> PAR, CAF, iii) 15 mg L <sup>-1</sup> PAR, CAF και 150 mg L <sup>-1</sup> UA, iv) 15 mg L <sup>-1</sup> PAR, CAF και 500 mg L <sup>-1</sup> UA, v) 15 mg L <sup>-1</sup> PAR, CAF και 1000 mg L <sup>-1</sup> UA. ....	135
Σχήμα 67: Συγκριτικά DP βολταμμογραφήματα που λαμβάνονται με την τρισδιάστατη τυπωμένη διάταξη σε διαλύματα που περιέχουν 15 mg L <sup>-1</sup> μείγματος PAF και CAF και 0, 150, 1000 mg L <sup>-1</sup> ασκορβικού οξέος (AA): i) 100 mg L <sup>-1</sup> AA, ii) 15 mg L <sup>-1</sup> PAR, CAF, iii) 15 mg L <sup>-1</sup> PAR, CAF και 150 mg L <sup>-1</sup> AA, iv) 15 mg L <sup>-1</sup> PAR, CAF και 15 mg L <sup>-1</sup> και 1000 mg L <sup>-1</sup> AA. ....	135
Σχήμα 68: DP βολταμμογραφήματα που λαμβάνονται με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη για τον προσδιορισμό παρακεταμόλης και καφεΐνης σε φαρμακευτικά δισκία. Δείγμα: δισκίο, τέσσερις σταθερές προσθήκες 25 mg L <sup>-1</sup> παρακεταμόλης και 5 mg L <sup>-1</sup> καφεΐνης. ....	136
Σχήμα 69: Αντίστοιχα γραφήματα σταθερής προσθήκης. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή ± sd (n = 3). ....	136
Σχήμα 70: DP βολταμμογραφήματα που λαμβάνονται με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη για τον προσδιορισμό παρακεταμόλης και καφεΐνης σε δείγμα ούρων. Δείγμα: ούρα, τρεις σταθερές προσθήκες 5 mg L <sup>-1</sup> παρακεταμόλης και καφεΐνης.....	137

Σχήμα 71: Αντίστοιχα γραφήματα σταθερής προσθήκης. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή ± sd (n = 3). .....	137
Σχήμα 72: DP Βολταμμογραφήματα διαλύματος που περιέχει 20 μg L <sup>-1</sup> Hg(II) και 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) σε H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> συγκέντρωσης 0,2 mol L <sup>-1</sup> , χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο εργασίας εκτυπωμένο από: i) CB/PLA της Proto-Pasta, ii) CB/PLA της Amolen, (iii) C/ABS της 3DEdge.....	141
Σχήμα 73: Επίδραση της συγκέντρωσης του Au(III) στο ύψος της κορυφής του υδραργύρου σε διάλυμα που περιέχει 20 μg L <sup>-1</sup> Hg(II) χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο εργασίας εκτυπωμένο από CB/PLA της Proto-Pasta. Εσωκλείονται: DP βολταμμογραφήματα με ηλεκτρόδιο εργασίας α) μη μορφοποιημένο WE (με κόκκινο χρώμα) και β) μορφοποιημένο WE με υμένιο Au μέσω in situ ηλεκτροαπόθεσης με 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) (γκρι χρώμα). Χρόνος προσυγκέντρωσης: 360s σε -1,0 V. Τα σημεία στο διάγραμμα είναι η μέση τιμή ± SD (n = 3). .....	142
Σχήμα 74: Βολταμμογραφήματα DP διαλύματος που περιέχει 10 μg L <sup>-1</sup> Hg(II) μετά από in situ (μαύρο χρώμα) και ex situ (γκρι χρώμα) ηλεκτροεναπόθεση 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) στο WE. Χρόνος προσυγκέντρωσης 360 s σε -1,0V.....	142
Σχήμα 75: LS βολταμμογραφήματα διαλύματος που περιέχει 100 μg L <sup>-1</sup> Hg(II) και 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) σε 0,2 mol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> χωρίς προσυγκέντρωση (κόκκινο χρώμα) και μετά από 360 s (μαύρο χρώμα). Ρυθμός σάρωσης, 50 mV s <sup>-1</sup> . .....	144
Σχήμα 76: Σύγκριση του ύψους της κορυφής σε διάλυμα που περιέχει 20 μg L <sup>-1</sup> Hg(II) και 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) σε 0,2 mol L <sup>-1</sup> τεσσάρων διαφορετικών ηλεκτρολυτών, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HNO <sub>3</sub> , HCl και ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (pH 4,5). .....	145
Σχήμα 77: Σύγκριση του ύψους της κορυφής σε διάλυμα που περιέχει 20 μg L <sup>-1</sup> Hg(II) και 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . .....	146
Σχήμα 78: Επίδραση του χρόνου προσυγκέντρωσης στο ύψος της κορυφής του υδράργυρου σε διάλυμα που περιέχει 20 μg L <sup>-1</sup> Hg(II) και 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) σε 0,2 mol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή ± SD (n = 3).....	147
Σχήμα 79: Επίδραση του δυναμικού προσυγκέντρωσης (ως προς το ηλεκτρόδιο ψευδο-αναφοράς άνθρακα) στο ύψος της κορυφής του υδράργυρου, σε διάλυμα που περιέχει 20 μg L <sup>-1</sup> Hg(II) και 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) σε 0,2 mol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> . Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή ± SD (n = 3). .....	147
Σχήμα 80: Βολταμμογραφήματα DP αυξανόμενων συγκεντρώσεων 0 - 40 μg L <sup>-1</sup> Hg (II). (προσθήκες ανά 5 μg L <sup>-1</sup> ) και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή ± SD (n = 3).....	148

Σχήμα 81: Σταθερότητα της παραγόμενης κορυφής με συνεχή χρήση της διάταξης σε διάλυμα που περιέχει $20 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$ και $1 \text{ mg L}^{-1} \text{Au(III)}$ σε $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ . .....	150
Σχήμα 82: Συγκριτικά βολταμμογραφήματα DP σε διάλυμα που περιέχει : (i) $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$ , (ii) $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$ και $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Cu(II)}$ , (iii) $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$ και $50 \mu\text{g L}^{-1} \text{Cu(II)}$ , (iv) $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$ και $100 \mu\text{g L}^{-1} \text{Cu(II)}$ . .....	151
Σχήμα 83: Συγκριτικά DP βολταμμογραφήματα σε διάλυμα που περιέχει : (μαύρο χρώμα ) $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$ και $20 \mu\text{g L}^{-1} \text{Ag(I)}$ , (γκρι χρώμα) $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$ και $50 \mu\text{g L}^{-1} \text{Ag(I)}$ . .....	151
Σχήμα 84: Βολταμμογραφήματα DP για τον προσδιορισμό Hg σε ιχθυέλαιο. Στο δείγμα έγινε προσθήκη Hg(II) και τρεις σταθερές προσθήκες $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$ . Το αντίστοιχο διάγραμμα σταθερής προσθήκης. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή $\pm \text{SD}$ ( $n = 3$ ). .....	152
Σχήμα 85: Σχηματική αναπαράσταση της ανοσοδοκιμασίας με τη χρήση QDs για τον βολταμμετρικό προσδιορισμό της CRP και τον αμπερομετρικό προσδιορισμό του $\text{H}_2\text{O}_2$ στα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροτιτλοδότησης (e-wells)...	156
Σχήμα 86: SWASV απόκριση σε $30 \mu\text{g L}^{-1} \text{Cd(II)}$ χρησιμοποιώντας τα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροτιτλοδότησης (e-wells). Το ηλεκτρόδιο εργασίας αποτελείται από: i) CB/PLA (μαύρη γραμμή), ii) C/ABS ( γκρι γραμμή). Στην επιφάνια των ηλεκτροδίων εργασίας έχει σχηματιστεί υμένιο βισμούθιου με in situ ηλεκτροαπόθεση $0,2 \text{ mg L}^{-1} \text{Bi(III)}$ , σε φέροντα ηλεκτρολύτη $\text{HNO}_3$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ και στάδιο προσυγκέντρωσης για 240s στα $-1.4\text{V}$ . .....	157
Σχήμα 87: Αμπερομετρική απόκριση διαδοχικών προσθέσεων $4,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$ σε $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{PB}$ (PH 7,0) χρησιμοποιώντας τις τρισδιάστατα εκτυπωμένες μικροκυψελίδες, χωρίς καμία μορφοποίηση. Το ηλεκτρόδιο εργασίας αποτελείται από: i) CB/PLA (μαύρη γραμμή) και ii) C/ABS ( γκρι γραμμή). .....	158
Σχήμα 88: Συγκριτικά SW βολταμμογραφήματα $30 \mu\text{g L}^{-1} \text{Cd(II)}$ . Η επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας έχει μορφοποιηθεί με ηλεκτροαποτιθέμενο υμένιο: i) βισμούθιου, ii) αντιμονίου iii) χωρίς μεταλλικό ηλεκτροαποτιθέμενο υμένιο. Η συγκέντρωση ήταν $0,2 \text{ mg L}^{-1} \text{Bi(III)}$ ή $\text{Sb(III)}$ σε ηλεκτρολύτη $\text{HNO}_3$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ και στάδιο προσυγκέντρωσης για 240s στα $-1.4\text{V}$ . .....	159
Σχήμα 89: Επίδραση της συγκέντρωσης του Bi (III) στο ύψος της βολταμμετρικής κορυφής $30 \text{ mg L}^{-1} \text{Cd (II)}$ . .....	160
Σχήμα 90: LS Βολταμμογραφήματα χρησιμοποιώντας τις τρισδιάστατα εκτυπωμένες μικροκυψελίδες σε διάλυμα: i) $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{PB}$ (pH = 7.0) (γκρι γραμμή) και ii) $2,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$ (μαύρη γραμμή). Ρυθμός σάρωσης $50 \text{ mV s}^{-1}$ . .....	161

Σχήμα 91: (Αριστερά) SW Βολταμογραφήματα σε εύρος συγκεντρώσεων Cd(II) 10 - 90 $\mu\text{g L}^{-1}$ (προσθήκης 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) με τις τρισδιάστατα εκτυπωμένες μικροκυψελίδες μορφοποιημένες με υμένιο βισμούθιου. (Δεξιά) Η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς. Τα σημεία της καμπύλης είναι η μέση τιμή $\pm$ SD (n = 3). .....	163
Σχήμα 92: Μέση τιμή της έντασης του ρεύματος που λαμβάνεται από 5, 50 $\text{ng mL}^{-1}$ , καθώς και το μη ειδικό σήμα, χρησιμοποιώντας διαφορετικά διαλύματα αποκλεισμού θέσεων. Κάθε σημείο είναι η μέση τιμή $\pm$ SD (n = 3). .....	164
Σχήμα 93: Μέση τιμή έντασης ρεύματος που λαμβάνεται έναντι του αντισώματος πρόσδεσης αντι-CRP σε συγκεντρώσεις 0,5, 1, 5, 50 $\text{ng mL}^{-1}$ . Κάθε σημείο είναι η μέση τιμή $\pm$ SD (n = 3). .....	164
Σχήμα 94: Μέση τιμή έντασης ρεύματος που λαμβάνεται έναντι του βιοτινυλιωμένου αντισώματος ανίχνευσης αντι-CRP σε συγκεντρώσεις 0,5, 1, 5, 50 $\text{ng mL}^{-1}$ . Κάθε σημείο είναι η μέση τιμή $\pm$ SD (n = 3). .....	165
Σχήμα 95: Επίδραση του χρόνου επώασης στις καθарές τιμές ρεύματος των 5 και 50 $\text{ng mL}^{-1}$ CRP. Κάθε σημείο είναι η μέση τιμή $\pm$ SD (n = 3). .....	166
Σχήμα 96: SW βολταμογραφήματα συγκεντρώσεων 0,0, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 25,0 και 50,0 $\text{ng mL}^{-1}$ CRP και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς σε λογαριθμική κλίμακα. Κάθε σημείο στην καμπύλη αναφοράς αντιπροσωπεύει τη μέση τιμή $\pm$ SD (n = 3) μετά την αφαίρεση του μη ειδικού σήματος. ....	167
Σχήμα 97: Αμπερομετρικές αποκρίσεις και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς για το $\text{H}_2\text{O}_2$ σε εύρος συγκεντρώσεων 1,5 - 13,5 $\text{mmol L}^{-1}$ . Τα σημεία στο διάγραμμα είναι η μέση τιμή $\pm$ SD (n = 3). .....	168
Σχήμα 98: Προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης σε ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα CB/PLA επιμεταλλωμένο με χρυσό. ....	170
Σχήμα 99: Χρονοαμπερομετρική απόκριση 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ γλυκόζης στον τεχνητό ιδρώτα με ηλεκτρόδια από άνθρακα και : CB/PLA της Proto Pasta (μωβ χρώμα), CB/PLA της Amolen (κόκκινο χρώμα), C/ABS της 3DEdge (πράσινο χρώμα). Η επιφάνεια κάθε ηλεκτροδίου εργασίας μορφοποιήθηκε με υμένιο χρυσού που σχηματίστηκε με ex-situ ηλεκτροαπόθεση με 20 $\text{mg L}^{-1}$ Au(III) σε 0,2 $\text{mol L}^{-1}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ . .....	171
Σχήμα 100: Καμπύλες αναφοράς γλυκόζης με χρονοαμπερομετρία (ενδιάμεσος χρόνος 30-35s) σε τεχνητό ιδρώτα με τους τέσσερις αισθητήρες σε συγκεντρώσεις Au(III) 5, 10, 20, 50 $\text{mg L}^{-1}$ Au (III) σε 0,2 $\text{mol L}^{-1}$ $\text{H}_2\text{SO}_4$ για 600 s σε δυναμικό -1,0 V. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή $\pm$ SD (n=3). .....	172
Σχήμα 101: Βολταμογράφημα DP 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ γλυκόζης: α) σε 0,1 $\text{mol L}^{-1}$ ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών με pH 7,0 και β) σε τεχνητό ιδρώτα. ....	174

Σχήμα 102: DP Βολταμμογραφήματα 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα 10 συνεχόμενων σαρώσεων: i) η πρώτη, ii) η πέμπτη, iii) η δέκατη.....	175
Σχήμα 103: Χρονοαμπερομετρική απόκριση αυξανόμενων συγκεντρώσεων γλυκόζης από 0 έως 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$ σε τεχνητό ιδρώτα. Εσωκλείεται: μεγέθυνση των αντίστοιχων αποκρίσεων για χρονικό διάστημα 30-35 s.....	176
Σχήμα 104: Η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή $\pm$ SD (n=3).....	176
Σχήμα 105: Η σταθερότητα του αισθητήρα. Η % σχετική χρονοαμπερομετρική απόκριση 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα για περίοδο 10 ημερών .....	177
Σχήμα 106: Η σταθερότητα του αισθητήρα. Η % σχετική χρονοαμπερομετρική απόκριση 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα δεκαπέντε διαδοχικών μετρήσεων.....	178
Σχήμα 107: Χρονοαμπερομετρική απόκριση 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα και με την προσθήκη 200 $\text{mmol L}^{-1}$ ουρίας, 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ουρικό οξύ και 55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ γαλακτικό οξύ, τα οποία προστέθηκαν χωριστά αλλά και όλα μαζί. (T.I.: τεχνητός ιδρώτας, UA: ουρικό οξύ, LA: γαλακτικό οξύ).....	179

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Τυπική κυψελίδα για βολταμμετρία <sup>(22)</sup> .....	48
Εικόνα 2: Οργανολογία βολταμμετρικών μετρήσεων <sup>(23)</sup> .....	49
Εικόνα 3: Ποτενσιοστάτης συνδεδεμένος ασύρματα με κινητό τηλέφωνο (Universal Wireless Electrochemical Detector ,UWED) <sup>(24)</sup> .....	49
Εικόνα 4: Εικόνα της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης.....	101
Εικόνα 5: Φωτογραφία της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης για τον προσδιορισμό της QF και της κολχικίνης. ....	107
Εικόνα 6: φωτογραφία της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης.....	127
Εικόνα 7: Φωτογραφία από οπτικό μικροσκόπιο της επιφάνειας του ηλεκτροδίου εργασίας που εκτυπώθηκε με: (Α) νήμα PLA από την Proto-Pasta, (Β) νήμα ABS από την 3DEdge και (Γ) νήμα PLA από την Amolen. ....	130
Εικόνα 8: Φωτογραφίες της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης.....	138
Εικόνα 9: Φωτογραφίες της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης.....	140
Εικόνα 10: Φωτογραφίες με οπτικό μικροσκόπιο της επιφάνειας ηλεκτροδίων εργασίας πριν και μετά την ηλεκτροεναπόθεση εφαρμόζοντας δυναμικό - 1,0 V για 360 s. Σε διάλυμα που περιέχει 1 mg L <sup>-1</sup> Au(III) σε 0,2 mol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	143
Εικόνα 11: Φωτογραφία αισθητήρα σε μορφή ηλεκτροχημικού φρεατίου μικροπιλοδότησης (e-well) .....	154
Εικόνα 12: Φωτογραφία οπτικού μικροσκοπίου της επιφάνειας του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου εργασίας πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) την ηλεκτροαπόθεση υμενίου με 0,2 mg L <sup>-1</sup> Bi(III) και εφαρμογή δυναμικού -1,4 V για 240 s. ....	161
Εικόνα 13: Φωτογραφίες του αισθητήρα όπου φαίνονται το μέγεθος και η ελαστικότητα του. ....	169
Εικόνα 14: Φωτογραφίες με οπτικό μικροσκόπιο της επιφάνειας ηλεκτροδίων εργασίας πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) την ηλεκτροεναπόθεση με 20 mg L <sup>-1</sup> Au(III) σε 0,2 mol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , εφαρμόζοντας δυναμικό - 1,0 V για 600 s. ....	173

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Ταξινόμηση των ηλεκτροχημικών τεχνικών ανάλυσης σε τεχνικές ισορροπίας και δυναμικές τεχνικές <sup>(12)</sup> .....	27
Πίνακας 2: Ταξινόμηση των ηλεκτροχημικών τεχνικών ανάλυσης με βάση την παρατηρούμενη και την ελεγχόμενη παράμετρο <sup>(12)</sup> .....	28
Πίνακας 3: Διάκριση ηλεκτροχημικών στοιχείων <sup>(13)</sup> .....	29
Πίνακας 4: Περίληψη τεχνικών τρισδιάστατης εκτύπωσης <sup>(19,20)</sup> .....	61
Πίνακας 5: Τρισδιάστατα εκτυπωμένοι αισθητήρες με τη χρήση της τεχνικής FDM.....	70
Πίνακας 6: Τρισδιάστατα εκτυπωμένοι βιοαισθητήρες με τη χρήση της τεχνικής FDM.	75
Πίνακας 7: Κατηγοριοποίηση των ενζυμικών βιοαισθητήρων γλυκόζης <sup>(181)</sup> .....	89
Πίνακας 8: Σύγκριση του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα με άλλους ηλεκτροχημικούς αισθητήρες για τον προσδιορισμό της QF (γραμμικής περιοχής και LOD) .....	121
Πίνακας 9: Σύγκριση του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα με άλλους ηλεκτροχημικούς αισθητήρες για τον προσδιορισμό της κολχικίνης (γραμμικής περιοχής και LOD) .....	122
Πίνακας 10: Σύγκριση της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης με άλλα μορφοποιημένα ηλεκτρόδια για ηλεκτροαναλυτικές δοκιμές Hg(II). .....	149
Πίνακας 11: Ανάκτηση σε εμβολιασμένα με Hg(II) δείγματα ιχθυελαίου και νερού. ....	153



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Σκοπός της ήταν η ανάπτυξη χαμηλού κόστους ολοκληρωμένων ηλεκτροχημικών διατάξεων, εξ' ολοκλήρου κατασκευασμένων με τρισδιάστατη εκτύπωση (3D printing). Οι διατάξεις είναι κατάλληλες για αναλύσεις στο πεδίο ανάγκης και εφαρμόστηκαν στην ανάπτυξη ηλεκτροχημικών μεθόδων προσδιορισμού οργανικών ενώσεων και βαρέων μετάλλων παρουσιάζοντας χαμηλή ευαισθησία, υψηλή εκλεκτικότητα και μειωμένους χρόνους ανάλυσης.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## Ηλεκτροχημικές τεχνικές ανάλυσης

Οι ηλεκτροχημικές τεχνικές ανάλυσης αποτελούν εφαρμογή της ηλεκτροχημείας, δηλαδή του κλάδου που μελετά τη συσχέτιση ηλεκτρικών και χημικών φαινομένων, στην αναλυτική χημεία <sup>(1,2)</sup>.

Ως αρχή των ηλεκτροχημικών τεχνικών μπορεί να θεωρηθεί η ηλεκτροσταθμική ανάλυση που αναπτύχθηκε από τον Wolcott Gibbs το 1865 και αποτελεί μία από τις παλαιότερες μεθόδους ποσοτικού προσδιορισμού <sup>(3,4)</sup>. Ανάλογη τεχνική είναι η κουλομετρία, η οποία βασίζεται στο νόμο του Faraday και χρησιμοποιήθηκε κατά το δεύτερο μισό του 19<sup>ου</sup> αιώνα για τον προσδιορισμό ατομικών μαζών και λεπτών μεταλλικών ελασμάτων <sup>(5)</sup>. Άλλη αναλυτική τεχνική είναι η αγωγιμομετρία που εφαρμοζόταν ήδη από το 18<sup>ο</sup> αιώνα χρησιμοποιώντας συνεχές ρεύμα. Η μέθοδος έγινε αποτελεσματική τη δεκαετία του 1860 με τη χρήση εναλλασσόμενου ρεύματος από τον Friedrich Kohlrausch. Το 1889 η εξίσωση Nernst έθεσε τις βάσεις για την άμεση ποτενσιομετρία. Η εφεύρεση της πολαρογραφίας από τον Jaroslav Heyrovsky (1922) χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο σταγόνας υδραργύρου θεωρείται η αρχή της ηλεκτροανάλυσης <sup>(6)</sup>. Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν πολλές σημαντικές τεχνικές μεταξύ αυτών η βολταμμετρία και οι αναδιαλυτικές τεχνικές <sup>(7)</sup>.

Στην περαιτέρω ανάπτυξη της ηλεκτροανάλυσης συνέβαλε η κατασκευή νέων ηλεκτροδίων και υλικών όπως το στατικό ηλεκτρόδιο υδραργύρου, το ηλεκτρόδιο πάστας άνθρακα και τα χημικά μορφοποιημένα ηλεκτρόδια <sup>(8,9)</sup>. Τις τελευταίες δεκαετίες, η έρευνα έχει στραφεί προς τη δημιουργία μικρών βιοαισθητήρων, όπως είναι οι ενζυμικοί αμπερομετρικοί αισθητήρες, οι βολταμμετρικοί ανοσοαισθητήρες και αισθητήρες DNA <sup>(10,11)</sup>.

### 1.1 Ταξινόμηση ηλεκτροαναλυτικών τεχνικών

Οι ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: στις *τεχνικές ισορροπίας* και στις *δυναμικές τεχνικές*. Στις πρώτες, το προσδιοριστέο συστατικό μπορεί να βρίσκεται σε ισορροπία με το ηλεκτρόδιο και να καθορίζει το δυναμικό του σε σχέση με εκείνο του διαλύματος. Στις δεύτερες, το συστατικό προσδιορίζεται μετρώντας το

διερχόμενο ρεύμα όταν εφαρμόζεται εξωτερικά ένα δυναμικό στο ηλεκτρόδιο (12).

**Πίνακας 1:** Ταξινόμηση των ηλεκτροχημικών τεχνικών ανάλυσης σε τεχνικές ισορροπίας και δυναμικές τεχνικές (12).

Κατηγορία	Ονομασία	Αρχή	Μετρούμενη ιδιότητα
ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ	<b>Ποτενσιομετρία</b>	Ηλεκτρόδια αναπτύσσουν δυναμικό, που εξαρτάται από τη φύση και τη συγκέντρωση χημικών ουσιών.	Δυναμικό / δυναμικό ως προς όγκο αντιδραστηρίου
	<b>Αγωγιμομετρία</b>	Η ηλεκτρική αγωγιμότητα διαλυμάτων εξαρτάται από τη συγκέντρωση ιοντικών σωματιδίων	Αγωγιμότητα/ Αγωγιμότητα ως προς όγκο αντιδραστηρίου
ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ	<b>Ηλεκτροσταθμική ανάλυση</b>	Ηλεκτρικό φορτίο σε περίσσεια προκαλεί ποσοτική απόθεση της ουσίας σε επιφάνεια ηλεκτροδίου	Μάζα αποτιθέμενης ουσίας
	<b>Κουλομετρία</b>	Ηλεκτρικό φορτίο σε περίσσεια προκαλεί ποσοτική απόθεση της ουσίας σε επιφάνεια ηλεκτροδίου	Ηλεκτρικό φορτίο
	<b>Βολταμμετρία</b>	Το ρεύμα που διέρχεται από το ηλεκτρολυτικό στοιχείο εξαρτάται από το εφαρμοζόμενο δυναμικό, τη φύση και τη συγκέντρωση των ουσιών που συμμετέχουν	Ρεύμα ως προς δυναμικό / ρεύμα ως προς χρόνο/ ρεύμα ως προς όγκο αντιδραστηρίου

Ειδικότερη ταξινόμηση των ηλεκτροχημικών τεχνικών αναλύσεως μπορεί να γίνει με βάση την μετρούμενη ηλεκτρική ή φυσική ιδιότητα (παρατηρούμενη παράμετρος) και ποια ή ποιες ιδιότητες είναι αυτές που υπόκεινται σε έλεγχο κατά τη διάρκεια της παρατήρησης (**πίνακας 2**).

**Πίνακας 2:** Ταξινόμηση των ηλεκτροχημικών τεχνικών ανάλυσης με βάση την παρατηρούμενη και την ελεγχόμενη παράμετρο <sup>(12)</sup>.

Παρατηρούμενη παράμετρος	Ελεγχόμενη παράμετρος	Ονομασία τεχνικής
E	$i = 0$	Άμεση ποτενσιομετρία
E	$i = 0, V$	Ποτενσιομετρική ογκομέτρηση
E	$i = \text{σταθερό}, V$	Ποτενσιομετρική ογκομέτρηση υπό σταθερό ρεύμα ή με πολωμένα ηλεκτρόδια
$E = F(t)$	$i = 0$	Αναδιαλυτική ποτενσιομετρία
$E = F(t)$	$i = \text{σταθερό}$	Χρονοποτενσιομετρία
R ή $1/R(G)$	$E, f = \text{σταθερά}$	Αγωγιμομετρία
R ή $1/R(G)$	$E, f = \text{σταθερά}, V$	Αγωγιμομετρική ογκομέτρηση
C ή Z	$E, f = \text{σταθερά}, V$	Ογκομέτρηση υψηλών συχνοτήτων
w	$i = \text{σταθερό}$ ή $E = \text{σταθερό}$	Ηλεκτροσταθμική ανάλυση
$i = F(E)$	$E = F(t)$	Βολταμμετρία και αναδιαλυτική βολταμμετρία
$i = F(E)$	$E = F(t)$ (ΣΗΥ)	Πολαρογραφία
i	$E = \text{σταθερό}$	Αμπερομετρία
i	$E = \text{σταθερό}, V$	Αμπερομετρική ογκομέτρηση
$i = F(t)$	$E = \text{σταθερό}$	Χρονοαμπερομετρία
$Q$ ή $\int_0^t i \cdot dt$	$E = \text{σταθερό}$	Κουλομετρία ελεγχόμενου δυναμικού
$Q$ ή $i \cdot t$	$i = \text{σταθερό}$	Κουλομετρία σταθερού ρεύματος
$Q = F(t)$	$E = \text{σταθερό}$	Χρονοκουλομετρία

Συμβολισμοί:

C = χωρητικότητα

E = δυναμικό ηλεκτροδίου

f = συχνότητα τάσεως (AC)

F = συνάρτηση παραμέτρου

G = αγωγιμότητα κυψελίδας

i = ηλεκτρικό ρεύμα

Q = ηλεκτρικό φορτίο,

R = αντίσταση κυψελίδας

t = χρόνος

V = όγκος τιτλοδότη

w = μάζα (αποθέσεως)

Z=συνθέτη αντίσταση (κυψελίδας)

ΣΗΥ= σταγονικό ηλεκτρόδιο υδραργύρου

## 1.2 Γαλβανικά και ηλεκτρολυτικά στοιχεία

Κάθε ηλεκτροχημικό στοιχείο αποτελείται από τουλάχιστον δύο ηλεκτρόδια και έναν ηλεκτρολύτη. Το ηλεκτροχημικό σύστημα που προκύπτει από την επαφή ηλεκτροδίου με το διάλυμα του ηλεκτρολύτη αποτελεί ένα *ημιστοιχείο*. Στην περιοχή της *διεπιφάνειας* (μία μικρή περιοχή της τάξης των nm μεταξύ των δύο φάσεων) παρατηρείται διαχωρισμός θετικών και αρνητικών ηλεκτρικών φορτίων στη διεύθυνση κάθετα προς την επιφάνεια επαφής, με αποτέλεσμα την εμφάνιση *ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας*, η οποία συμπεριφέρεται ως ηλεκτρικός πυκνωτής<sup>(13)</sup>.

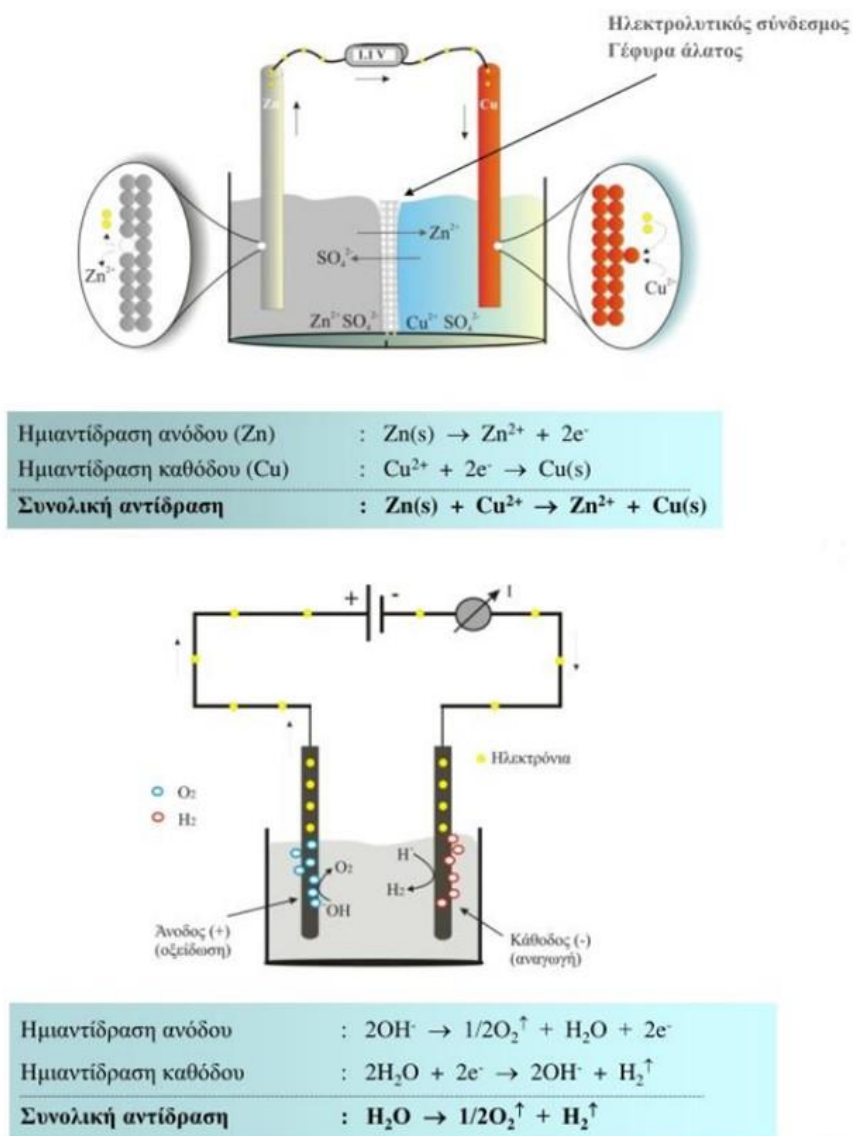
Ο συνδυασμός δύο διαφορετικών ημιστοιχείων οδηγεί στον σχηματισμό *γαλβανικού στοιχείου*, στο οποίο πραγματοποιούνται αυθόρμητες ηλεκτροδιακές αντιδράσεις, όταν τα ηλεκτρόδια συνδεθούν εξωτερικά με αγωγό και η χημική ενέργεια μετατρέπεται σε ηλεκτρική. Αντίθετα, *ηλεκτρολυτικό στοιχείο* είναι το ηλεκτροχημικό στοιχείο στο οποίο δεν πραγματοποιούνται αυθόρμητες ηλεκτροδιακές αντιδράσεις, αλλά εξαναγκασμένες, με διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος που προέρχεται από εξωτερική πηγή.

Σε οποιοδήποτε ηλεκτροχημικό στοιχείο (ηλεκτρολυτικό ή γαλβανικό) οι αντιδράσεις οξειδωσης γίνονται στην *άνοδο*, ενώ οι αντιδράσεις αναγωγής στη *κάθοδο*. Στον **πίνακα 3** παρουσιάζονται συνοπτικά οι διαφορές μεταξύ των δύο ηλεκτροχημικών στοιχείων.

**Πίνακας 3:** Διάκριση ηλεκτροχημικών στοιχείων<sup>(13)</sup>.

Γαλβανικά στοιχεία	Ηλεκτρολυτικά στοιχεία
<b>Χημική ενέργεια → Ηλεκτρική ενέργεια</b>	<b>Παροχή ηλεκτρικού έργου → παραγωγή χημικής ενέργειας.</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Αυθόρμητες αντιδράσεις (<math>\Delta G &lt; 0</math>)</li><li>• Παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας</li><li>• Άνοδος (-), αντιδράσεις οξειδωσης</li><li>• Κάθοδος(+), αντιδράσεις αναγωγής</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Μη αυθόρμητες αντιδράσεις (<math>\Delta G &gt; 0</math>)</li><li>• Παροχή ηλεκτρικού έργου</li><li>• Άνοδος (+), αντιδράσεις οξειδωσης</li><li>• Κάθοδος(-), αντιδράσεις αναγωγής</li></ul>
<b><u>Παραδείγματα</u></b>	<b><u>Παραδείγματα</u></b>
Μπαταρίες-Στοιχείο Daniel Στοιχείο καυσίμου Φωτοβολταϊκά στοιχεία	Ηλεκτρόλυση ύδατος, $H_2O \rightarrow H_2 + 1/2 O_2$ Ηλεκτρόδιο οξυγόνου Ηλεκτρόδια $H_2O_2$ , NADH

Η σχηματική απεικόνιση των παραδειγμάτων που αναφέρονται στον **πίνακα 3** και οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα σε κάθε περίπτωση φαίνονται στο **σχήμα 1** <sup>(13)</sup>.



**Σχήμα 1:** Γαλβανικό στοιχείο Daniel (πάνω) και στοιχείο ηλεκτρόλυσης ύδατος παρουσία NaOH (κάτω) <sup>(13)</sup>.

Αξίζει να αναφερθεί, πως τα γαλβανικά στοιχεία σε ισορροπία (μηδενικό ρεύμα) εξετάζονται στις ηλεκτροαναλυτικές μεθόδους ισορροπίας και ειδικά στην ποτενσιομετρία, ενώ τα ηλεκτρολυτικά στοιχεία (ρεύμα

διάφορο του μηδενός) εξετάζονται στις δυναμικές ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές που είναι επίσης γνωστές ως ηλεκτρολυτικές τεχνικές <sup>(12)</sup>.

### 1.3 Μονάδες ποσότητας ηλεκτρισμού

Η ποσότητα ηλεκτρισμού ή φορτίο μετρείται σε μονάδες coulomb (C) και faraday (F). Το coulomb αντιστοιχεί στην ποσότητα ηλεκτρισμού που μεταφέρεται σε ένα δευτερόλεπτο με σταθερό ρεύμα ενός ampere. Επομένως, για ένα σταθερό ρεύμα I ampere διάρκειας t δευτερολέπτων, ο αριθμός coulomb Q παρέχεται από την εξίσωση:

$$Q = It$$

Εάν το ρεύμα μεταβάλλεται, ο αριθμός των coulomb παρέχεται από το ολοκλήρωμα:

$$Q = \int_0^t Idt$$

Το faraday είναι το φορτίο σε coulomb που αντιστοιχεί σε ένα γραμμομόριο ηλεκτρονίων. Το φορτίο του ηλεκτρονίου είναι  $1,60218 \times 10^{-19}$  C και επομένως προκύπτει:

$$1F = 6,02214 \times 10^{23} \frac{e^{-1}}{mole^{-1}} \times 1,60218 \times 10^{-19} \frac{C}{e^{-1}} = 96485 \frac{C}{mole^{-1}}$$

Η σχέση μεταξύ του φορτίου και της ποσότητας της ηλεκτρολυόμενης ουσίας παρέχεται από τον νόμο του Faraday, που εκφράζεται με την εξίσωση:

$$Q = nFN$$

όπου N: η ποσότητα της ουσίας σε mol

n: ο αριθμός των ηλεκτρονίων που συμμετέχουν στην ηλεκτροδιακή αντίδραση για κάθε μόριο ή ιόν της προσδιοριζόμενης ουσίας <sup>(14)</sup>.

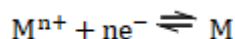
### 1.4 Δυναμικό ηλεκτροδίου

Η διαφορά δυναμικού μεταξύ των φάσεων του ηλεκτροδίου και του διαλύματος ονομάζεται *δυναμικό ηλεκτροδίου* (electrode potential) ή *δυναμικό ημιστοιχείου* (half-cell potential).

Η μέτρηση της απόλυτης τιμής του δυναμικού είναι αδύνατη, και μετράται η διαφορά δυναμικού μεταξύ του ηλεκτροδίου εργασίας και του

δυναμικού άλλου ηλεκτροδίου, που ονομάζεται *ηλεκτρόδιο αναφοράς* (reference electrode).

Το δυναμικό ηλεκτροδίου μετάλλου M, σε επαφή με διάλυμα ιόντων  $M^{n+}$  που περιγράφεται από την ημιαντίδραση ισορροπίας:



παρέχεται από την εξίσωση Nerst:

$$E = E_{M^{n+},M}^0 - \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \ln \frac{a_M}{a_{M^{n+}}}$$

όπου R: η παγκόσμια σταθερά των αερίων ( $8,314 \text{ V} \cdot \text{C} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ ),

T: η απόλυτη θερμοκρασία (σε K),

F: η σταθερά Faraday ( $96485,38 \text{ C} \cdot \text{eq}^{-1}$ ),

n: ο αριθμός ηλεκτρονίων που μετέχουν στην ημιαντίδραση ( $\text{eq} \cdot \text{mol}^{-1}$ ),

$a_M$ : η ενεργότητα του μετάλλου στη στερεά φάση (συμβατικά ίση με 1),

$E_{M^{n+},M}^0$ : το κανονικό δυναμικό του ηλεκτροδίου (V) <sup>(12)</sup>.

Σε πολλές περιπτώσεις για να πραγματοποιηθεί ηλεκτροδιακή αντίδραση με σημαντική ταχύτητα, πρέπει να υπερνικηθούν ενδιάμεσοι ενεργειακοί φραγμοί. Στις περιπτώσεις αυτές απαιτείται επιπλέον δυναμικό, πέρα του θερμοδυναμικά προβλεπόμενου από την εξίσωση Nernst το οποίο ονομάζεται *υπερδυναμικό ηλεκτροδίου*. Η απόλυτη τιμή του υπερδυναμικού είναι τόσο μεγαλύτερη, όσο μικρότερη είναι η *αντιστρεπτότητα* της ηλεκτροδιακής αντίδρασης <sup>(13)</sup>.

## 1.5 Φαρανταϊκές διεργασίες

Οι ηλεκτροδιακές διεργασίες διακρίνονται σε *φαρανταϊκές* και μη *φαρανταϊκές*, ανάλογα με το αν το παρατηρούμενο ρεύμα έχει ως αποτέλεσμα ή είναι αποτέλεσμα ηλεκτροδιακών αντιδράσεων ή όχι.

Φαρανταϊκό ονομάζεται το ρεύμα που προκύπτει από τη μεταφορά ηλεκτρικού φορτίου μεταξύ των ηλεκτροδίων και της ύλης που τα περιβάλλει ως αποτέλεσμα αντιδράσεων οξειδωσης ή αναγωγής ηλεκτρενεργών ουσιών στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων. Στην περίπτωση φαρανταϊκών διεργασιών υπάρχει άμεση συσχέτιση του διερχόμενου ηλεκτρικού φορτίου (Q) και του συνολικού αριθμού των χημικών ισοδυνάμων (eq) των ηλεκτρενεργών ουσιών που συμμετέχουν στις ηλεκτροδιακές ημιαντιδράσεις (*νόμος Faraday*). Οι



ηλεκτρενεργές ουσίες μπορεί να είναι: α) ουσίες διαλυμένες στον ηλεκτρολύτη ή και ο ίδιος ο διαλύτης, β) δυσδιάλυτες ενώσεις επάνω στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου, γ) χημικά σωματίδια προσροφημένα στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και δ) το ίδιο το υλικό του ηλεκτροδίου.

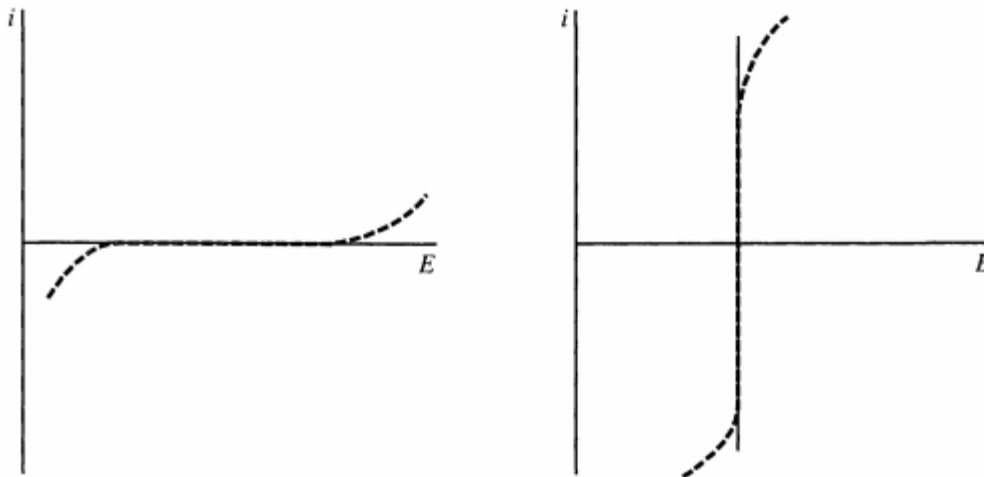
Στις μη φαρανταϊκές διεργασίες περιλαμβάνονται η προσρόφηση και η εκρόφηση ιόντων και μορίων στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων, όπως και κάθε χημική ή φυσική ηλεκτροδιακή διεργασία, η οποία μπορεί να προκαλέσει διέλευση ρεύματος έστω και παροδική χωρίς όμως να διασχίσει ηλεκτρικό φορτίο τη διεπιφάνεια ηλεκτροδίου - διαλύματος.

Σε μια ηλεκτροχημική κυψελίδα πραγματοποιούνται τόσο φαρανταϊκές όσο και οι μη φαρανταϊκές διεργασίες. Το πρώτο που εξετάζεται σε μια ηλεκτροδιακή αντίδραση είναι οι φαρανταϊκές διεργασίες, παρόλα αυτά θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν και οι μη φαρανταϊκές όταν χρησιμοποιούμε ηλεκτροχημικά δεδομένα για να εξάγουμε συμπεράσματα για την ανταλλαγή φορτίων και τις αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα <sup>(1,13,12)</sup>.

## 1.6 Πόλωση ηλεκτροδίου

Ένα ηλεκτρόδιο χαρακτηρίζεται *ιδανικά πολωμένο (ideal polarized electrode - IPE)*, όταν δεν παρατηρείται μεταφορά φορτίου μεταξύ του ηλεκτροδίου και της διεπιφάνειας, ανεξάρτητα από την εφαρμοζόμενη μεταβολή του δυναμικού. Με άλλα λόγια, οι μεταβολές του εφαρμοζόμενου δυναμικού δεν προκαλούν μεταβολές στο παρατηρούμενο ρεύμα. Στην πραγματικότητα, δεν υπάρχουν ηλεκτρόδια που συμπεριφέρονται ως ιδανικά πολωμένα για ένα μεγάλο εύρος δυναμικού, όμως, μερικά ημισίχια (ηλεκτρόδιο - διάλυμα) προσεγγίζουν αυτή την ιδιότητα για ένα περιορισμένο εύρος δυναμικού.

Ανάλογα, μη πολωμένο ηλεκτρόδιο χαρακτηρίζεται το ηλεκτρόδιο που διατηρεί σταθερή την τιμή του δυναμικού του για οποιαδήποτε τιμή ρεύματος. Τα *ηλεκτρόδια αναφοράς* προσεγγίζουν αυτή την συμπεριφορά καθώς επιτρέπουν τη διέλευση ρεύματος χωρίς να μεταβάλλεται η τιμή του δυναμικού τους <sup>(2)</sup> (**σχήμα 2**).



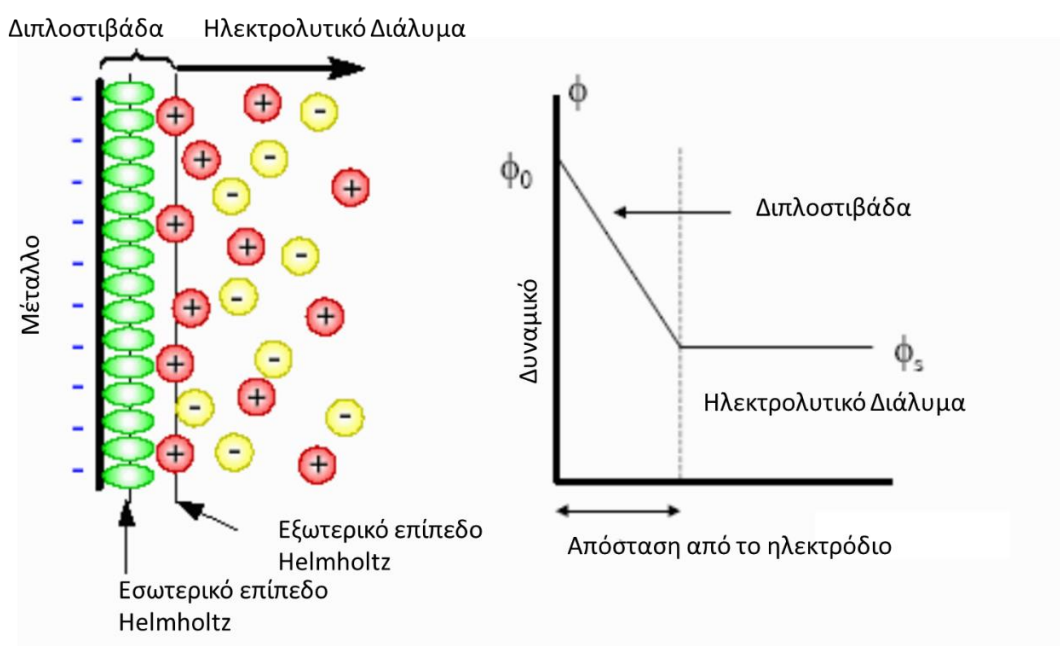
**Σχήμα 2:** Διαγράμματα  $i$ - $E$  α) ιδανικά πολωμένου ηλεκτροδίου, β) ιδανικά μη πολωμένου ηλεκτροδίου. Με διακοπτόμενες γραμμές δείχνονται οι αποκλίσεις των πραγματικών (μη ιδανικών) ηλεκτροδίων κάθε τύπου. Η ιδανική συμπεριφορά περιορίζεται σε ορισμένη μόνο περιοχή δυναμικού ή ρεύματος, πέρα από αυτή αρχίζει η αποπόλωση και η πόλωση ενός πολωμένου και ενός αποπολωμένου ηλεκτροδίου αντίστοιχα <sup>(13)</sup>.

### 1.7 Περιγραφή της ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας - πρότυπο Helmholtz

Η διεπιφάνεια δεν είναι απλά η ενδιάμεση επιφάνεια επαφής των φάσεων του ηλεκτροδίου και του ηλεκτρολύτη, αλλά η ετερογενής περιοχή που αποτελείται από δύο επιμέρους περιοχές σε επαφή. Η μία περιοχή της διεπιφάνειας επεκτείνεται από το ηλεκτρόδιο (ημιστοιχείο) προς τον ηλεκτρολύτη, χωρίς να έχει τις ίδιες ιδιότητες και σύνθεση με εκείνες της κύριας μάζας του ηλεκτρολύτη και η άλλη εκτείνεται από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου προς το εσωτερικό του, χωρίς να έχει τις ίδιες ιδιότητες και σύνθεση με εκείνες της κύριας μάζας του ηλεκτροδίου. Λόγω της συσσώρευσης αντίθετων ηλεκτρικών φορτίων, η διεπιφάνεια αποκτά ιδιότητες πυκνωτή και γι' αυτό ονομάζεται και *ηλεκτρική διπλοστοιβάδα*. Η διεπιφάνεια είναι εξ' ορισμού ο χώρος που πραγματοποιείται κάθε ηλεκτροδιακή ημιαντίδραση, δηλαδή μία αντίδραση στην οποία συμμετέχουν ηλεκτρενεργά αντιδρώντα ή προϊόντα.

Το απλούστερο πρότυπο για την ηλεκτρισμένη διεπιφάνεια, προτάθηκε από τον Helmholtz και τον Perrin το 1879 και είναι γνωστό ως πρότυπο Helmholtz. Σύμφωνα με αυτό, το επιφανειακό φορτίο του ηλεκτροδίου έλκει

ηλεκτροστατικά πάνω στην επιφάνειά του (που έρχεται σε επαφή με το ηλεκτρολυτικό διάλυμα), στιβάδα ιόντων ίσου και αντιθέτου φορτίου. Η στιβάδα αυτή κατανέμεται ομοιόμορφα πάνω σε επίπεδο παράλληλο προς την επιφάνεια του ηλεκτροδίου (εξωτερικό επίπεδο Helmholtz) και σε πολύ μικρή απόσταση από αυτή, όπως φαίνεται στο **σχήμα 3**. Έτσι, η δομή της ηλεκτρισμένης διεπιφάνειας είναι ανάλογη με αυτή ενός πυκνωτή με επίπεδες πλάκες. Η διαφορά δυναμικού μεταξύ του ηλεκτρολύτη και του ηλεκτροδίου, μεταβάλλεται γραμμικά από το ηλεκτρόδιο ως το εξωτερικό επίπεδο Helmholtz, πέρα από το οποίο, όμως, παραμένει σταθερή. Στην ύπαρξη των αντίθετα φορισμένων στιβάδων οφείλεται ο όρος ηλεκτρική διπλοστιβάδα (electric double layer) <sup>(13)</sup>.



**Σχήμα 3:** Σχηματική αναπαράσταση (αριστερά) της ηλεκτρισμένης διεπιφάνειας (ηλεκτρική διπλοστιβάδα) ηλεκτροδίου και ηλεκτρολυτικού διαλύματος σύμφωνα με το πρότυπο του Helmholtz και (δεξιά) της αντίστοιχης μεταβολής του δυναμικού σε συνάρτηση της απόστασης από το ηλεκτρόδιο <sup>(13)</sup>.

### 1.8 Ηλεκτρόδια αναφοράς

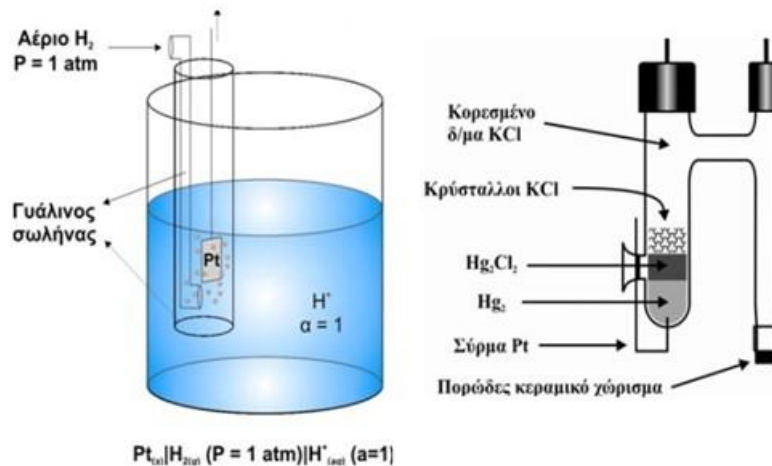
Το ηλεκτρόδιο αναφοράς πρέπει να διαθέτει τις ακόλουθες ιδιότητες:

1. Να αναπτύσσει δυναμικό σταθερό και ανεξάρτητο από τη σύσταση του διαλύματος.

2. Να διατηρεί το δυναμικό του σταθερό σε περίπτωση που μέσω αυτού διέρχεται μικρό ρεύμα για μεγάλα χρονικά διαστήματα ή μεγαλύτερο ρεύμα για πολύ σύντομα χρονικά διαστήματα.
3. Να κατασκευάζεται εύκολα, από χαμηλού κόστους υλικά και με τρόπο που να εξασφαλίζει μεγάλη αναπαραγωγιμότητα του δυναμικού του από κατασκευή σε κατασκευή.
4. Να έχει μικρό θερμικό συντελεστή δυναμικού, δηλαδή να μην μεταβάλλεται το δυναμικό του, όταν χρησιμοποιείται σε διαλύματα διαφορετικών θερμοκρασιών <sup>(12)</sup>.

Οι κυριότεροι τύποι ηλεκτροδίων αναφοράς είναι:

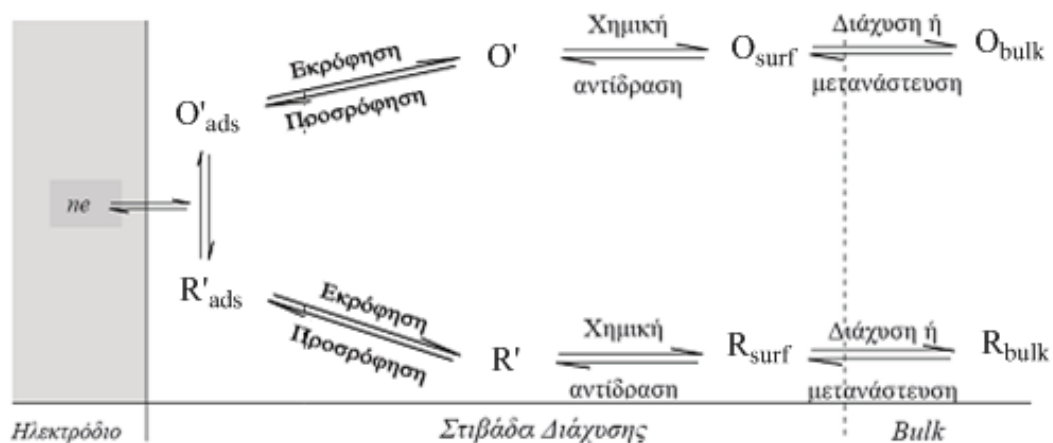
- Το πρότυπο ή κανονικό ηλεκτρόδιο υδρογόνου (Normal Hydrogen Electrode, NHE), το οποίο παριστάνεται συμβολικά ως Pt/H<sub>2</sub> (P = 1 atm), H<sup>+</sup> (a = 1), αποτελεί το πιο σημαντικό ηλεκτρόδιο αναφοράς, επειδή χρησιμοποιήθηκε για τον καθορισμό της κλίμακας των κανονικών δυναμικών, εντούτοις η χρήση του σε μετρήσεις ρουτίνας δεν ενδείκνυται λόγω των δυσκολιών που παρουσιάζονται κατά την κατασκευή, τη χρήση και τη συντήρησή του. (**σχήμα 4**)
- Το κορεσμένο ηλεκτρόδιο καλομέλανα Hg / Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / 4,6 M KCl (Saturated Calomel Electrode, SCE), που απεικονίζεται στο **σχήμα 4**, είναι ένα από τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα ηλεκτρόδια αναφοράς λόγω της εύκολης κατασκευής του και της σταθερότητας του δυναμικού του.
- Το ηλεκτρόδιο αργύρου – χλωριούχου αργύρου (Ag / AgCl / x M KCl) είναι ανάλογο με το ηλεκτρόδιο καλομέλανα και αποτελείται από ένα σύρμα αργύρου, ηλεκτρολυτικά επικαλυμμένο με χλωριούχο άργυρο, το οποίο βρίσκεται βυθισμένο σε κορεσμένο ή πυκνό διάλυμα γνωστής συγκέντρωσης KCl.
- Ηλεκτρόδιο αναφοράς Hg / Hg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> / 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Το δυναμικό του δεν επηρεάζεται από την παρουσία ή τη συγκέντρωση ιόντων χλωρίου στο διάλυμα του ηλεκτρολύτη.
- Ηλεκτρόδιο αναφοράς Hg / HgO / 1 M NaOH, το οποίο χρησιμοποιείται εναλλακτικά του ηλεκτροδίου καλομέλανα σε ισχυρά διαλύματα ηλεκτρολυτών <sup>(13)</sup>.



**Σχήμα 4:** Ηλεκτρόδια αναφοράς. Αριστερά το πρότυπο ή κανονικό ηλεκτρόδιο υδρογόνου (Normal Hydrogen Electrode, NHE) και δεξιά Το κορεσμένο ηλεκτρόδιο καλομέλινα Hg / Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / 4,6 M KCl (Saturated Calomel Electrode, SCE) <sup>(12,13)</sup>.

### 1.9 Παράγοντες που καθορίζουν τις ηλεκτροχημικές αντιδράσεις και το παρατηρούμενο ηλεκτρικό ρεύμα

Μια ηλεκτροχημική αντίδραση της μορφής  $O + ne \rightleftharpoons R$ , όπου O συμβολίζει την οξειδωμένη μορφή της ηλεκτρενεργού ουσίας και R την ανηγμένη μορφή της ηλεκτρενεργού ουσίας, αποτελείται από μια σειρά βημάτων που περιγράφονται στο **σχήμα 5**:



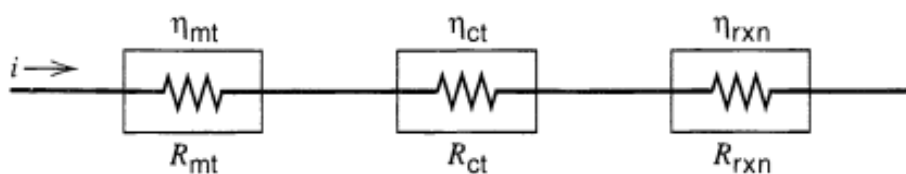
**Σχήμα 5:** Παραστατική πορεία μιας γενικής ηλεκτροχημικής αντίδρασης <sup>(2)</sup>.

1. Μεταφορά μάζας (π.χ. του O από την κύρια μάζα του διαλύματος (bulk) προς τη διεφασική περιοχή του ηλεκτροδίου)

2. Μεταφορά ηλεκτρονίων στη διφασική περιοχή του ηλεκτροδίου
3. Χημικές αντιδράσεις που προηγούνται ή και ακολουθούνται από την μεταφορά ηλεκτρονίων. Αυτές οι αντιδράσεις μπορεί να είναι διάφορες ομογενείς (π.χ. πρωτονίωση ή διμερισμός) ή ετερογενείς (π.χ. καταλυτική αποσύνθεση) στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου.
4. Φυσικές ή φυσικοχημικές διεργασίες που διεξάγονται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου όπως προσρόφηση, εκρόφηση ή κρυστάλλωση (ηλεκτροαπόθεση).

Οι απλούστερες αντιδράσεις περιλαμβάνουν μόνο μεταφορά μάζας του αντιδραστήριου στο ηλεκτρόδιο, ετερογενή μεταφορά ηλεκτρονίων των μη απορροφούμενων ουσιών και μεταφορά μάζας των προϊόντων στη κύρια μάζα του διαλύματος. Οι πολυπλοκότερες αντιδράσεις περιλαμβάνουν μεταφορές ηλεκτρονίων, πρωτονιώσεις και πολύπλοκους μηχανισμούς.

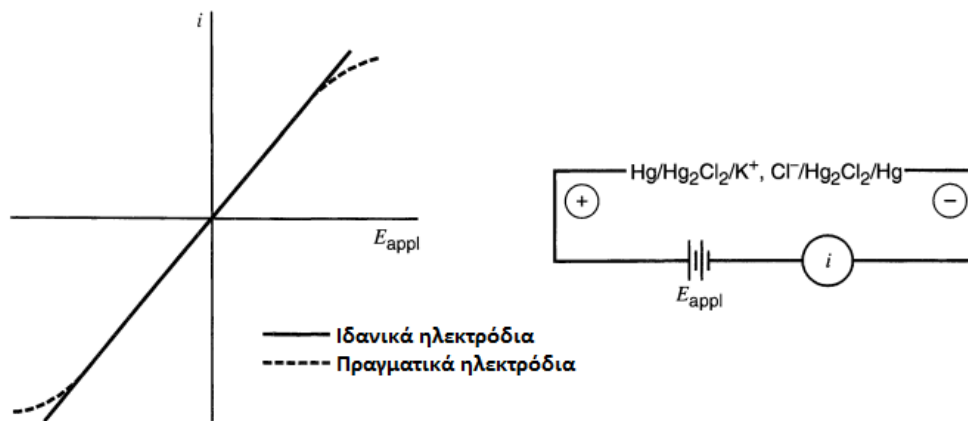
Όταν λαμβάνεται σταθερό ρεύμα ο ρυθμός των αντιδράσεων είναι ίδιος και η τιμή του καθορίζεται από το βραδύτερο στάδιο. Η πυκνότητα του ηλεκτρικού ρεύματος ( $j$ ) κάθε σταδίου εξαρτάται από ένα συγκεκριμένο υπερδυναμικό ( $\eta$ ). Το υπερδυναμικό αυτό προκύπτει αν αθροίσουμε τα υπερδυναμικά των διαφορετικών σταδίων μια ηλεκτροχημικής διεργασίας: υπερδυναμικό μεταφοράς μάζας ( $\eta_{mt}$ , mass-transfer overpotential), υπερδυναμικό μεταφοράς φορτίου ( $\eta_{ct}$ , charge-transfer overpotential), υπερδυναμικό που σχετίζεται με την αντίδραση ( $\eta_{rxn}$ ), κτλ. Επομένως, μια ηλεκτροχημική αντίδραση μπορεί να παρομοιαστεί με μία αντίσταση  $R$ , η οποία αποτελείται από επιμέρους αντιστάσεις συνδεδεμένες σε σειρά όπως φαίνεται στο **σχήμα 6**. Το γρήγορο στάδιο της αντίδρασης έχει μικρή τιμή  $R$  ενώ το αργό έχει μεγαλύτερη τιμή  $R$ . Αυτές οι αντιστάσεις αντίθετα με τα ανάλογα ηλεκτρικά κυκλώματα εξαρτώνται από το δυναμικό  $E$  ή το ρεύμα  $i$  <sup>(2)</sup>.



**Σχήμα 6:** Σχηματική απεικόνιση της ισοδύναμης ηλεκτρικής αντίστασης μιας ηλεκτροχημικής αντίδρασης <sup>(2)</sup>.

### 1.10 Ηλεκτροχημική κυψελίδα και αντίσταση της κυψελίδας

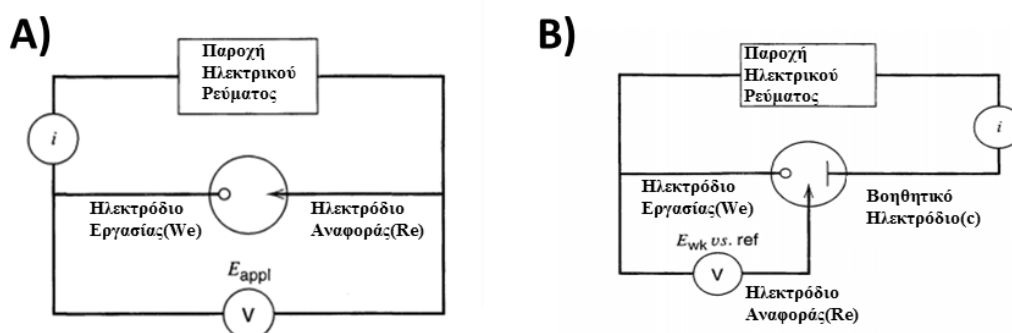
Το χαρακτηριστικό γράφημα  $i$ - $E$  που θα λαμβάναμε από μια ηλεκτροχημική κυψελίδα που αποτελείται από δυο ιδανικά μη πολωμένα ηλεκτρόδια (π.χ. δύο SCE) βυθισμένα σε ένα διάλυμα χλωριούχου καλίου (KCl) θα είχε την μορφή του **σχήματος 7** καθώς θα εξαρτάται μόνο από την αντίσταση του ηλεκτρολύτη. Στην πραγματικότητα, όπως προαναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1.4, ιδανικά μη πολωμένα ηλεκτρόδια δεν υπάρχουν και σε υψηλά ρεύματα είναι αρκετά σημαντικό το υπερδυναμικό μεταφοράς μάζας και μεταφοράς φορτίου.



**Σχήμα 7:** Σχηματική απεικόνιση της ισοδύναμης ηλεκτρικής αντίστασης μιας ηλεκτροχημικής αντίδρασης <sup>(2)</sup>.

Όταν το δυναμικό του ηλεκτροδίου μετρείται χρησιμοποιώντας ένα μη πολωμένο ηλεκτρόδιο αναφοράς κατά τη διέλευση του ρεύματος υπάρχει μια πτώση του δυναμικού που είναι ίση με  $iR_s$ , όπου το  $R_s$  είναι η αντίσταση του ηλεκτρολύτη και αντίθετα με τις αντιστάσεις που περιγράφουν τη μεταφορά μάζας και τις άλλες διεργασίες που συμβαίνουν σε μία ηλεκτροχημική αντίδραση συμπεριφέρεται ως πραγματική αντίσταση για ένα μεγάλο εύρος. Η ωμική πτώση τάσης του διαλύματος δεν θεωρείται μορφή υπερδυναμικού, καθώς είναι χαρακτηριστικό του ηλεκτρολύτη (bulk solution) και όχι της ηλεκτροχημικής αντίδρασης. Η συνεισφορά του στη μέτρηση του δυναμικού του ηλεκτροδίου μπορεί να ελαχιστοποιηθεί σχεδιάζοντας κατάλληλα την ηλεκτροχημική κυψελίδα και χρησιμοποιώντας κατάλληλη οργανολογία.

Η ηλεκτροχημική κυψελίδα μπορεί να αποτελείται μόνο από δύο ηλεκτρόδια ένα *ηλεκτρόδιο εργασίας* (ή ενδεικτικό ηλεκτρόδιο) και ένα *ηλεκτρόδιο αναφοράς* γνωστού δυναμικού που προσεγγίζει τα ιδανικά μη πολωμένα ηλεκτρόδια. Όταν το  $iR_s$  είναι μικρό (μικρότερο της τάξης του 1-2mV), μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια ηλεκτροχημική κυψελίδα που αποτελείται από δυο ηλεκτρόδια (**σχήμα 8.α**) για τη λήψη της καμπύλης  $i$ - $E$ . Σε αυτή τη περίπτωση το δυναμικό  $E$  θεωρείται περίπου ίσο με το εφαρμοζόμενο δυναμικό ή διορθώνεται υπολογίζοντας την μικρή πτώση τάση  $iR_s$ .



**Σχήμα 8:** Σχηματική απεικόνιση του ισοδύναμου ηλεκτρικού κυκλώματος A) δύο ηλεκτροδίων B) τριών ηλεκτροδίων <sup>(2)</sup>.

Όταν το  $iR_s$  είναι υψηλότερο μια διάταξη τριών ηλεκτροδίων χρησιμοποιείται (**σχήμα 8.β**). Σε αυτή τη διάταξη, το ρεύμα διέρχεται ανάμεσα από το ηλεκτρόδιο εργασίας και το *βοηθητικό ηλεκτρόδιο* (counter). Το βοηθητικό ηλεκτρόδιο μπορεί να είναι ένα οποιοδήποτε ηλεκτρόδιο, καθώς οι ηλεκτροχημικές ιδιότητες του δεν επηρεάζουν την συμπεριφορά του. Συνήθως, προτιμάται ένα ηλεκτρόδιο που δεν παράγει ουσίες που επηρεάζουν την επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας. Για να διαχωριστεί το βοηθητικό ηλεκτρόδιο από το ηλεκτρόδιο εργασίας χρησιμοποιείται κάποιο διαχωριστικό (π.χ. γυαλί). Το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας καταγράφεται συγκρινόμενο με ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς. Το όργανο που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της διαφοράς δυναμικού μεταξύ του ηλεκτροδίου εργασίας και του ηλεκτροδίου αναφοράς έχει μεγάλη εσωτερική αντίσταση, με αποτέλεσμα ένα αμελητέο ρεύμα να διέρχεται από το ηλεκτρόδιο αναφοράς. Επομένως, το δυναμικό του παραμένει σταθερό <sup>(2)</sup>.



### 1.11 Τρόποι μεταφοράς μάζας

Η μεταφορά μάζας σε ένα διάλυμα, δηλαδή η μετακίνηση μιας ουσίας από ένα σημείο σε ένα άλλο, είναι αποτέλεσμα της διαφοράς δυναμικού των δύο σημείων ή τις μετακίνησης ποσότητας του διαλύματος. Οι τρόποι μεταφοράς μάζας είναι:

α) Με *όδευση* ή *μετανάστευση (migration)*, δηλαδή κίνηση φορτισμένων σωματιδίων (ιόντων) υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου. Το πεδίο αυτό είναι αποτέλεσμα της *βάθμωσης (gradient)* του ηλεκτρικού πεδίου κατά μήκος του διαλύματος, από το ένα ηλεκτρόδιο στο άλλο.

β) Με *διάχυση (diffusion)*, δηλαδή κίνηση σωματιδίων (ηλεκτρικά ουδέτερων ή φορτισμένων), που δημιουργείται λόγω της *βάθμωσης της συγκέντρωσης* των σωματιδίων στη περιοχή της διεπιφάνειας ηλεκτροδίου/ηλεκτρολύτη.

γ) Με *φυσική ροή* ή *μεταγωγή (convection)*, δηλαδή κίνηση σωματιδίων με υδροδυναμική μεταφορά, όπως π.χ. μηχανική ανάδευση.

Σε συνθήκες μεταφοράς μάζας αποκλειστικά με διάχυση, η ροή μάζας της ηλεκτρενεργής ουσίας A από την κύρια μάζα του διαλύματος προς το ηλεκτρόδιο περιγράφεται από τον *πρώτο νόμο διάχυσης* του Fick που αποδίδεται από την εξίσωση:

$$J_A(x,t) = -D_A [\partial C_A(x,t)/\partial x]$$

όπου

$J_A(x,t)$ : η *ροή (flux)* της ουσίας A στη θέση x τη χρονική στιγμή t ( $\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ )

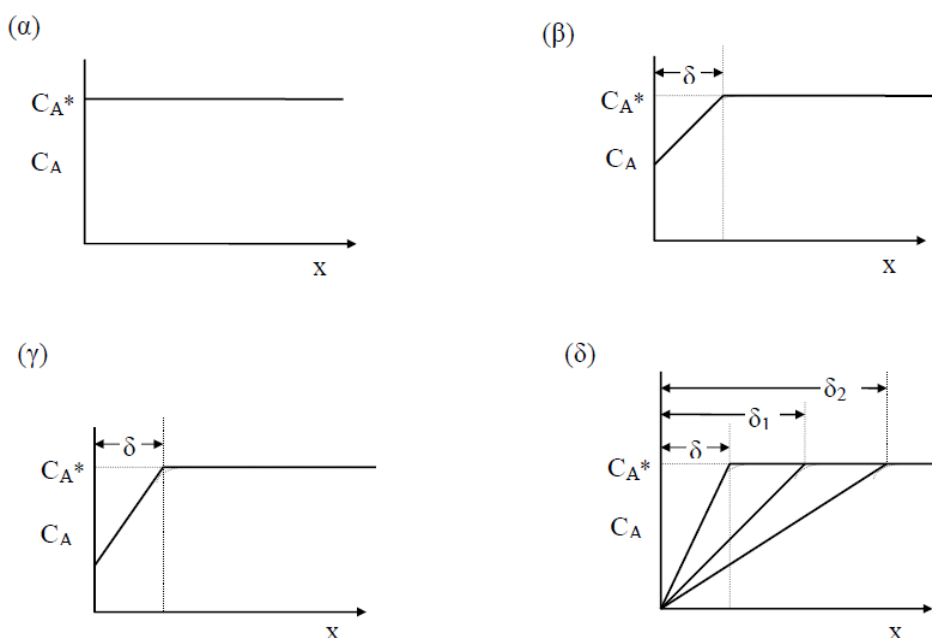
$\partial C_A(x,t)/\partial x$ : η *βάθμωση της συγκέντρωσης* σε απόσταση x από το ηλεκτρόδιο τη χρονική στιγμή t ( $\text{mol}\cdot\text{cm}^{-3}/\text{cm}$ )

$D_A$ : ο *συντελεστής διάχυσης (diffusion coefficient)* της ουσίας A ( $\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ )

Ο συντελεστής διάχυσης είναι μέτρο της ταχύτητας διάχυσης της ουσίας A κατά την κίνησή της υπό την επίδραση βάθμωσης της συγκέντρωσης. Η τιμή του συντελεστή διάχυσης  $D_A$  είναι συνήθως της τάξης του  $10^{-5} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ . Το αρνητικό πρόσημο της εξίσωσης δηλώνει ότι η ροή μάζας πραγματοποιείται από την περιοχή με τη μεγαλύτερη προς την περιοχή με τη μικρότερη συγκέντρωση. Τα *διαγράμματα κατανομής συγκέντρωσης (concentration-profile diagrams)* αποδίδουν παραστατικά τη συγκέντρωση  $C_A$  ως συνάρτηση της απόστασης x από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου

εργασίας. Στα διαγράμματα των **σχημάτων 9(α-δ)**, η συνεχής γραμμή αποδίδει την κατανομή της συγκέντρωσης, σύμφωνα με το γραμμικό μοντέλο κατά Nernst, ενώ το πραγματικό διάγραμμα κατανομής αποδίδεται με διακεκομμένη γραμμή. Στο **σχήμα 9.α** το δυναμικό του ηλεκτροδίου έχει τέτοια τιμή ισορροπίας που το ηλεκτρόδιο βρίσκεται σε πλήρη ισορροπία ( $i=0$ ), με τη συγκέντρωση  $C_A$  της ουσίας A στην κύρια μάζα του διαλύματος, δηλαδή  $C_A(x=0)=C_A^*$ . Στα **σχήματα 9.β** και **9.γ**, το δυναμικό του ηλεκτροδίου έχει αποκτήσει τέτοιες τιμές, που το ηλεκτρόδιο ισορροπεί με προοδευτικά μικρότερες συγκεντρώσεις της ουσίας A ( $0 \leq C_A(x=0) < C_A^*$ ), με αποτέλεσμα την αύξηση της κλίσης ( $\partial C_A / \partial x$ ) και κατά συνέπεια της ταχύτητας μεταφοράς της ουσίας A προς το ηλεκτρόδιο, μέχρι μία οριακή τιμή (**σχήμα 9.δ**). Εάν το διάλυμα δεν ανανεωθεί, τότε η στιβάδα διάχυσης  $\delta$  επεκτείνεται σταδιακά ( $\delta_1, \delta_2$ ), υπό ταυτόχρονη μείωση της κλίσης της ταχύτητας ροής της ουσίας A και επομένως του μετρούμενου φαρανταϊκού ρεύματος. Η εξάρτηση της συγκέντρωσης από το χρόνο και την απόσταση μπορεί να υπολογιστεί από τη παρακάτω εξίσωση, η οποία αποτελεί το **δεύτερο νόμο διάχυσης** του Fick:

$$\partial C_A / \partial t = D_A (\partial^2 C_A / \partial x^2)$$



**Σχήμα 9:** Διαγράμματα κατανομής της συγκέντρωσης ηλεκτρενεργής ουσίας για διάφορες τιμές δυναμικού του ηλεκτροδίου εργασίας. Τα παραπάνω σχήματα αποδίδουν την κατάσταση, την ίδια πάντοτε χρονική στιγμή  $t$ , μετά την εφαρμογή του δυναμικού <sup>(12)</sup>.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### Βολταμμετρία

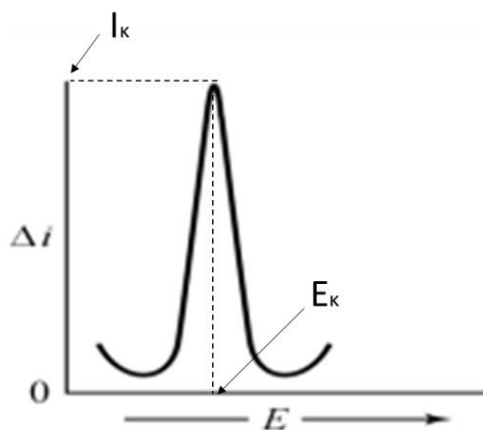
Οι βολταμμετρικές τεχνικές (ή πληρέστερα βολτ-αμπερομετρικές, VoltAmpere-μετρώ) συνιστούν ομάδα ηλεκτροχημικών τεχνικών αναλύσεως, στις οποίες η αναλυτική πληροφορία προκύπτει από διαγράμματα  $i-E$ , όπου  $i$  είναι η ένταση του ρεύματος που διαρρέει το ηλεκτρολυτικό στοιχείο και  $E$  το δυναμικό που εφαρμόζεται στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Γενικά, οι μετρήσεις στις βολταμμετρικές τεχνικές γίνονται σε συνθήκες που ευνοούν την πόλωση του ηλεκτροδίου εργασίας σε ευρείες περιοχές του δυναμικού του, ώστε όταν διέρχεται ηλεκτρικό ρεύμα η τιμή του να μπορεί να συσχετισθεί άμεσα με τη συγκέντρωση των ηλεκτρενεργών χημικών σωματιδίων, τα οποία σε μια ηλεκτροδιακή αντίδραση δρουν ως αποπολωτές.

Πολωμένο είναι το ηλεκτρόδιο όταν οι μεταβολές του εφαρμοζόμενου δυναμικού δεν προκαλούν σημαντικές μεταβολές στο παρατηρούμενο ρεύμα ή όταν μικρές μεταβολές στο ρεύμα συνεπάγονται μεγάλες μεταβολές στο δυναμικό. Οι συνθήκες που ευνοούν την πόλωση του ηλεκτροδίου εργασίας είναι: α) μικρή επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας, β) ακινησία διαλύματος, γ) το υλικό κατασκευής του ηλεκτροδίου εργασίας.

Το διάγραμμα που παρουσιάζει το ηλεκτρικό ρεύμα το οποίο διαρρέει ένα βολταμμετρικό στοιχείο, ως συνάρτηση του δυναμικού που εφαρμόζεται στο ηλεκτρόδιο εργασίας, ονομάζεται βολταμμετρικό διάγραμμα και η καμπύλη  $i-E$  βολταμμετρική καμπύλη ή βολταμμογράφημα. Στην πράξη, ένα βολταμμετρικό διάγραμμα λαμβάνεται μεταβάλλοντας (σαρώνοντας) το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας σε σχέση με το χρόνο και καταγράφοντας το ρεύμα συναρτήσει του δυναμικού. Οι επιμέρους βολταμμετρικές τεχνικές διαφέρουν μεταξύ τους κυρίως ως προς τον τρόπο, με τον οποίο μεταβάλλεται το δυναμικό με το χρόνο (σάρωση δυναμικού) και ως προς τον τύπο του χρησιμοποιούμενου ηλεκτροδίου εργασίας <sup>(14)</sup>.

Όπως φαίνεται στο **σχήμα 10** που δείχνει ένα τυπικό βολταμμετρικό διάγραμμα, η βολταμμετρική καμπύλη έχει συνηθέστερα τη μορφή κορυφής. Το ύψος της κορυφής που αντιστοιχεί στο μέγιστο ρεύμα, ονομάζεται ρεύμα κορυφής,  $I_k$ , ενώ το δυναμικό που αντιστοιχεί στο ρεύμα κορυφής ονομάζεται

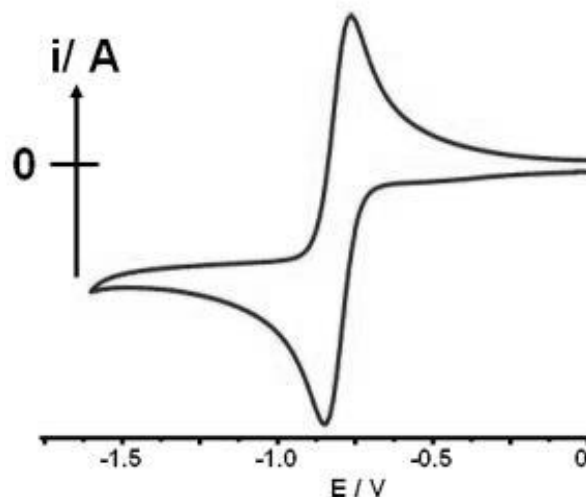
δυναμικό κορυφής,  $E_k$ . Το δυναμικό κορυφής είναι χαρακτηριστικό για την προσδιοριζόμενη ουσία (ποιοτική πληροφορία) και το ρεύμα κορυφής είναι συνήθως ανάλογο με τη συγκέντρωση του προσδιοριζόμενου συστατικού (ποσοτική πληροφορία) <sup>(12)</sup>.



**Σχήμα 10:** Διαφορικό παλμικό βολταμμογράφημα <sup>(12)</sup>.

## 2.1 Κυματομορφές σάρωσης δυναμικού στη βολταμετρία

Στην κυκλική βολταμετρία (*Cyclic Voltammetry, CV*) το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας μεταβάλλεται κυκλικά μεταξύ προκαθορισμένων τιμών ως προς το ηλεκτρόδιο αναφοράς και καταγράφεται το ρεύμα που διαρρέει το στοιχείο. Στην πραγματικότητα γίνεται γραμμική ισοταχής σάρωση δυναμικού με τριγωνική κυματομορφή, ξεκινώντας από αρχική τιμή  $E_1$  και καταλήγοντας σε τελική τιμή  $E_2$ , όπου ακολουθεί αντιστροφή της φοράς σάρωσης. Το γράφημα  $i$ - $E$  που προκύπτει, ονομάζεται κυκλικό βολταμμογράφημα. Τα κυκλικά βολταμμογραφήματα γίνονται συνήθως σε συνθήκες που επιτρέπουν τη μεταφορά μάζας μόνο με διάχυση (ακίνητο διάλυμα). Το λαμβανόμενο κυκλικό βολταμμογράφημα μπορεί να λαμβάνει διάφορες μορφές, οι οποίες εξαρτώνται κυρίως από την αντιστρεπτότητα της ηλεκτροδιακής ημιαντίδρασης. Τα κυκλικά βολταμμογραφήματα χαρακτηρίζονται ως φάσματα της ηλεκτροχημείας, χάρη του πλήθους των πληροφοριών που μπορούν να εξαχθούν από τη μελέτη τους, όπως η ηλεκτροχημική αντιστρεπτότητα και η φύση της ηλεκτροδιακής ημιαντίδρασης. Ένα τυπικό κυκλικό βολταμμογράφημα για μια πλήρως αντιστρεπτή ημιαντίδραση φαίνεται στο **σχήμα 11**.

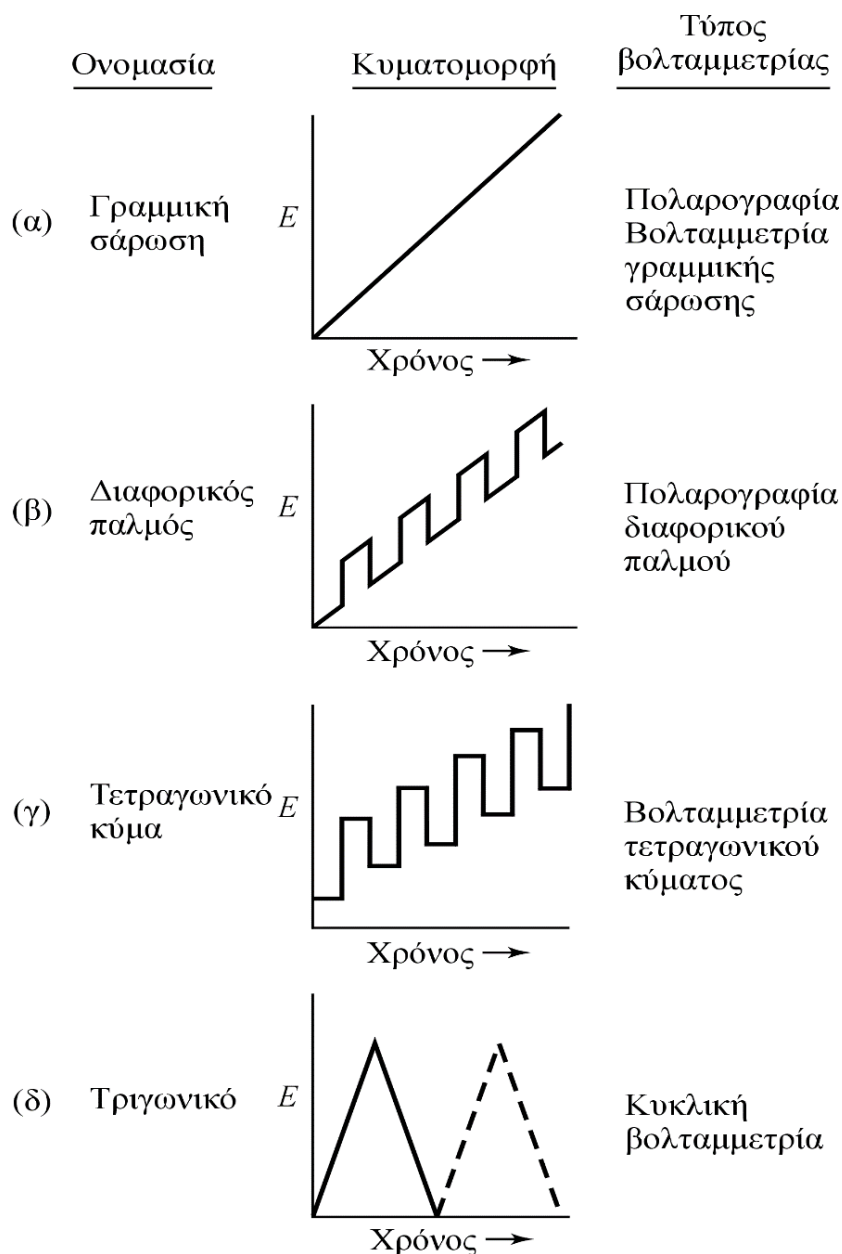


**Σχήμα 11:** Κυκλικό βολταμμογράφημα για πλήρως αντιστρεπτό οξειδοαναγωγικό σύστημα <sup>(12)</sup>.

Η βολταμμετρία γραμμικής σάρωσης (*Linear Sweep Voltammetry, LSV*) του δυναμικού είναι η απλούστερη βολταμμετρική τεχνική για την πρόκληση αναγωγής ή οξειδωσης του συστατικού που πρόκειται να προσδιοριστεί. Στην περίπτωση αυτή το δυναμικό μεταβάλλεται γραμμικά σε σχέση με το χρόνο (**σχήμα 12.α**). Το ρεύμα κορυφής αυξάνεται με ταχύτερη σάρωση του δυναμικού. Το χωρητικό ρεύμα, όμως, που φορτίζει το ηλεκτρόδιο στο εφαρμοζόμενο δυναμικό, είναι επίσης ανάλογο της ταχύτητας σάρωσης του δυναμικού. Έτσι, η αύξηση της ταχύτητας σάρωσης του δυναμικού, με σκοπό να αυξηθεί το ρεύμα κορυφής, προκαλεί επίσης αύξηση στο ρεύμα φόρτισης. Δηλαδή, το χωρητικό ρεύμα περιορίζει το όριο ανίχνευσης με την τεχνική της βολταμμετρίας γραμμικής σάρωσης του δυναμικού. Παρ' όλα αυτά, εξαιτίας της οργανολογικής της απλότητας βρίσκει μεγάλη εφαρμογή.

Η διαφορική παλμική βολταμμετρία (*Differential Pulse Voltammetry, DPV*) βρίσκει ευρεία εφαρμογή διότι η ικανότητα της να διακρίνει το χωρητικό ρεύμα (ρεύμα φόρτισης) επιτρέπει ουσιαστική βελτίωση των ορίων ανίχνευσης. Η κυματομορφή του δυναμικού συνίσταται από μικρής διάρκειας παλμούς (~ 60 ms) που προστίθενται στη γραμμική σάρωση του δυναμικού (**σχήμα 12.β**). Η ένταση του ρεύματος μετريέται αμέσως πριν την εφαρμογή του παλμού και λίγο πριν το τέλος του και η διαφορά μεταξύ των δύο

εντάσεων ρεύματος καταγράφεται ως απόκριση ρεύματος. Με τον τρόπο αυτό, ελαχιστοποιείται η μη επιθυμητή συνεισφορά του ρεύματος φόρτισης.



**Σχήμα 12:** Οι κυματομορφές δυναμικού (E)-χρόνου για τις βολταμμετρίες γραμμικής σάρωσης, διαφορικού παλμού και τετραγωνικού παλμού, αντίστοιχα <sup>(14)</sup>.

Η βολταμμετρία τετραγωνικού παλμού (Square Wave Voltammetry, SWV) είναι τύπος παλμικής βολταμμετρίας που έχει το πλεονέκτημα της μεγάλης ταχύτητας και της υψηλής ευαισθησίας. Το **σχήμα 12.γ** δείχνει τον τρόπο με τον οποίο σαρώνεται το δυναμικό στη βολταμμετρία τετραγωνικού

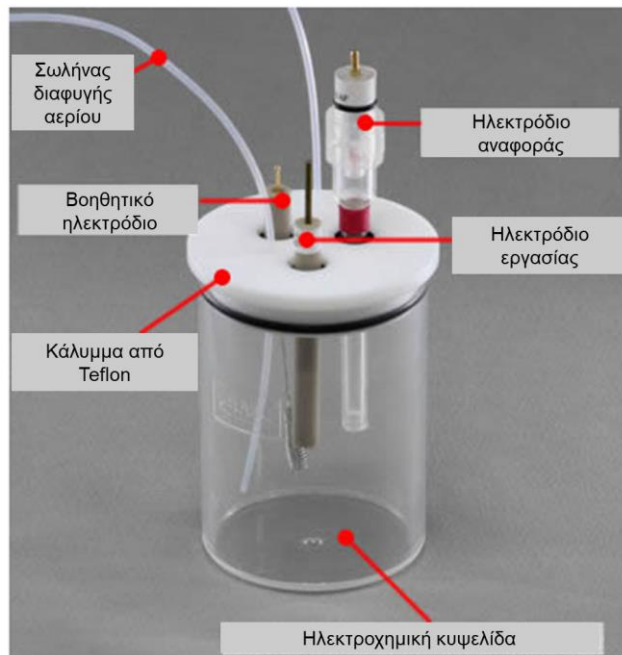
παλμού. Αυτό γίνεται με την πρόσθεση ενός τετραγωνικού παλμού σε μια βαθμιδωτή μεταβολή του δυναμικού. Η διάρκεια του κάθε βήματος των παλμών είναι συνήθως διάρκειας 5 ms ενώ η αύξηση του δυναμικού (βήμα) είναι τυπικά της τάξης των 2 mV. Το ύψος του παλμού είναι συνήθως της τάξης των 50 mV. Η ένταση του ρεύματος λαμβάνεται στο τελευταίο διάστημα του παλμού ορθής φοράς και στο τελευταίο διάστημα του παλμού αντίστροφης φοράς και η διαφορά μεταξύ των δύο εντάσεων του ρεύματος καταγράφεται ως απόκριση ρεύματος <sup>(12,14)</sup>.

## 2.2 Οργανολογία βολταμετρίας

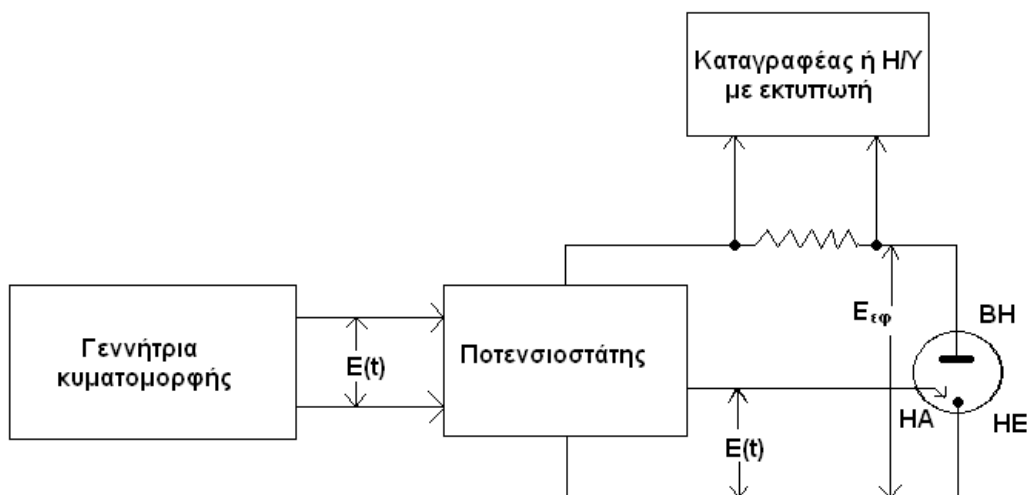
Κάθε ηλεκτροχημικό στοιχείο αποτελείται από δύο τουλάχιστον ηλεκτρόδια εμβαπτισμένα μέσα σε ηλεκτρολύτη (κεφάλαιο 1.11). Στις βολταμετρικές τεχνικές η ελεγχόμενη ηλεκτροχημική διεργασία πραγματοποιείται στο ηλεκτρόδιο εργασίας (working electrode, WE). Το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας μετριέται και ελέγχεται ως προς το δυναμικό του ηλεκτροδίου αναφοράς (reference electrode, RE). Συνήθως, χρησιμοποιείται ένα βοηθητικό ηλεκτρόδιο (counter electrode, CE) το οποίο αποτελείται από αδρανές μέταλλο (π.χ. έλασμα ή σύρμα λευκόχρυσου), μέσω του οποίου διέρχεται το ρεύμα αποφεύγοντας έτσι τη διέλευση ρεύματος μέσω του ηλεκτροδίου αναφοράς <sup>(12,14)</sup>.

Οι μετρήσεις βολταμετρίας γίνονται μέσα σε ηλεκτροχημικές κυψελίδες συνήθως όγκου 1-50 mL, οι οποίες συνήθως είναι κατασκευασμένες από γυαλί, χαλαζία ή Teflon (το είδος του υλικού επιλέγεται ώστε να ελαττωθούν τα σφάλματα λόγω επιμόλυνσης ή προσρόφησης). Η κυψελίδα περιέχει τα τρία ηλεκτρόδια (εργασίας, αναφοράς και βοηθητικό) που είναι βυθισμένα στο διάλυμα μαζί με σωλήνα που χρησιμοποιείται για την αποξυγόνωση όπως παρουσιάζεται στην **εικόνα 1**. Αξίζει να αναφερθεί, πως υπάρχουν εμπορικώς διαθέσιμες κυψελίδες ροής, όπου το υπό μέτρηση δείγμα μεταφέρεται στην κυψελίδα υπό συνθήκες ροής.

Μια ολοκληρωμένη διάταξη που χρησιμοποιείται για ηλεκτροχημικές αναλύσεις αποτελείται από ένα κύκλωμα που παρέχει το δυναμικό (ποτενσιοστάτης) και ένα κύκλωμα μέτρησης το οποίο καταγράφει το ρεύμα (μετατροπέας I/V). Τα δύο αυτά κυκλώματα συνδέονται μέσω υπολογιστή (**σχήμα 13**).



**Εικόνα 1:** Τυπική κυψελίδα για βολταμμετρία <sup>(15)</sup>.



**Σχήμα 13:** Οργανολογία βολταμμετρικών μετρήσεων.  $E(t)$  είναι το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας ως προς το ηλεκτρόδιο αναφοράς,  $E_{εφ}$  είναι η εφαρμοζόμενη τάση μεταξύ ηλεκτροδίου εργασίας και βοηθητικού ηλεκτροδίου,  $HE$  είναι το ηλεκτρόδιο εργασίας,  $BE$  είναι το βοηθητικό ηλεκτρόδιο και  $HA$  το ηλεκτρόδιο αναφοράς <sup>(12)</sup>.

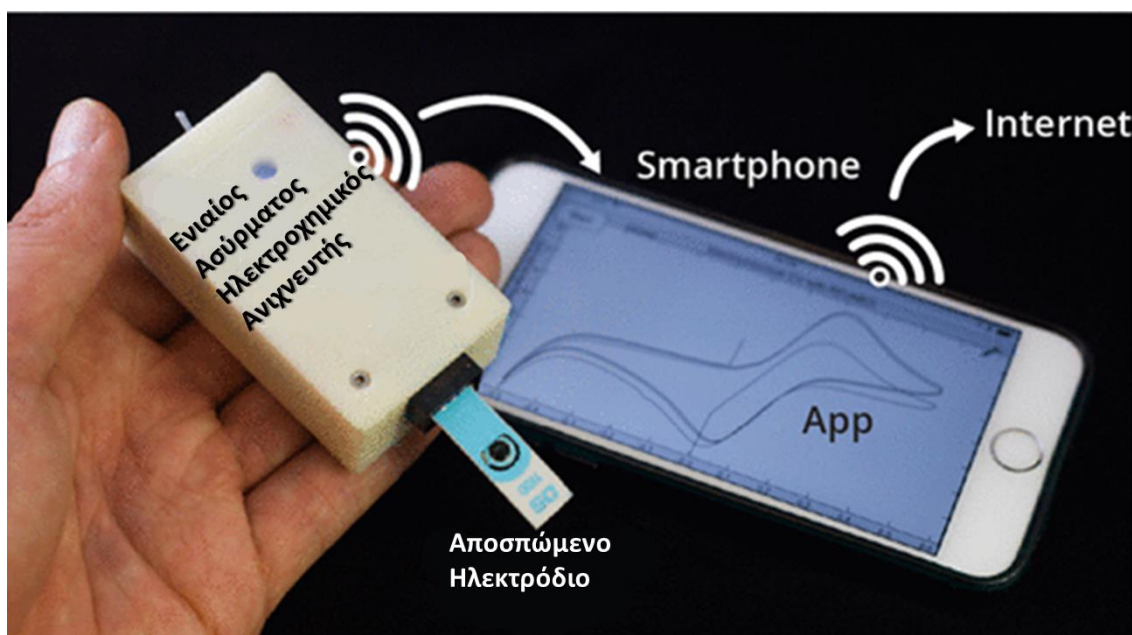
Στην **εικόνα 2** παρουσιάζεται η συγκεκριμένη διάταξη, η οποία αποτελείται από ένα ποτενσιοστάτη, ηλεκτροχημική κυψελίδα και ηλεκτρονικό υπολογιστή.





Εικόνα 2: Οργανολογία βολταμμετρικών μετρήσεων <sup>(16)</sup>.

Τα τελευταία χρόνια κυκλοφορούν ποτενσιοστάτες που συνδέονται με κινητό τηλέφωνο ή τάμπλετ. Η σύνδεση επιτυγχάνεται είτε ενσύρματα (στη θέση φόρτισης της συσκευής) είτε ασύρματα μέσω bluetooth όπως φαίνεται στην **εικόνα 3** <sup>(17)</sup>.



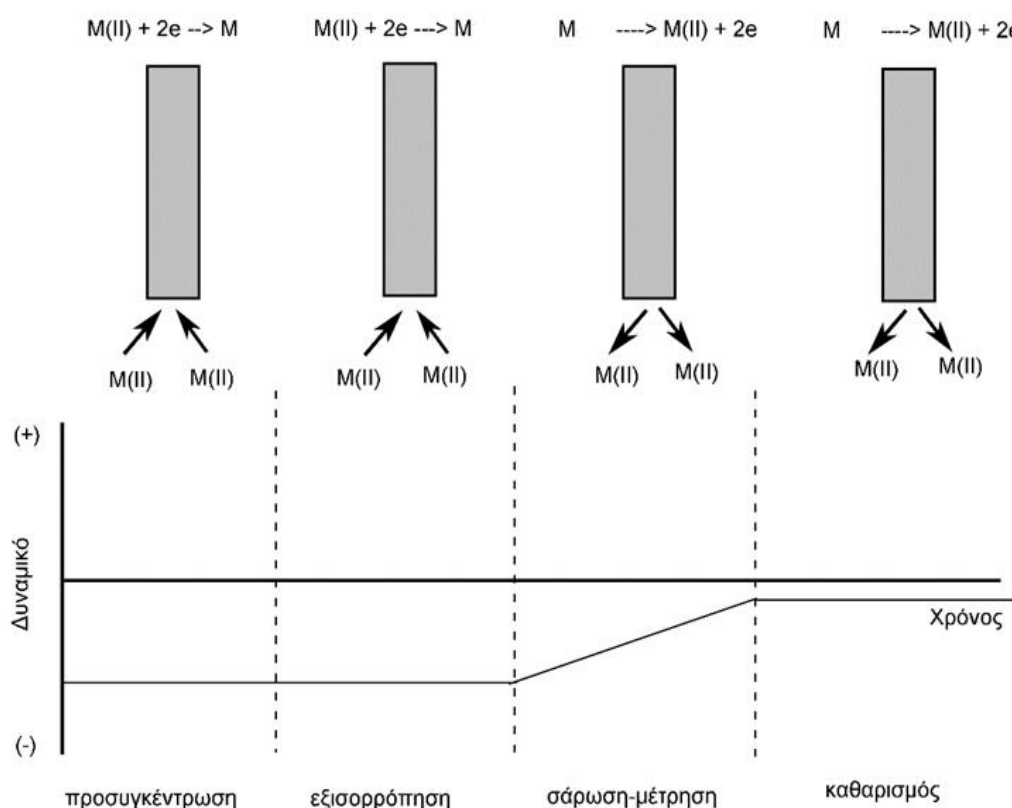
Εικόνα 3: Ποτενσιοστάτης συνδεδεμένος ασύρματα με κινητό τηλέφωνο (Universal Wireless Electrochemical Detector ,UWED) <sup>(17)</sup>.

### 2.3 Αναδιαλυτική Βολταμμετρία

Ξεχωριστή κατηγορία ιδιαίτερα ευαίσθητων ηλεκτροχημικών τεχνικών αποτελούν οι αναδιαλυτικές τεχνικές (*Stripping techniques*). Όλες οι

αναδιαλυτικές τεχνικές οφείλουν τη μεγάλη ευαισθησία τους στην ύπαρξη δύο σταδίων: το στάδιο προσυγκέντρωσης (*preconcentration step*) και το στάδιο αναδιάλυσης (*stripping step*).

Στην αναδιαλυτική βολταμετρία, η οποία αποτελεί αντιπροσωπευτικό παράδειγμα των αναδιαλυτικών τεχνικών, πριν από την απόθεση, ή και κατά τη διάρκεια της, μπορεί να διαβιβάζεται μέσω του διαλύματος αδρανές αέριο για να απομακρυνθεί το διαλυμένο οξυγόνο και να αποφευχθεί η παράλληλη χημική οξείδωση κατά το στάδιο της αναδιάλυσης. Πριν από το δεύτερο στάδιο μεσολαβεί ένα ενδιάμεσο (15-30 sec) κατά το οποίο η ανάδευση του διαλύματος διακόπτεται. Στο διάστημα αυτό επιτυγχάνεται ομοιόμορφη κατανομή του συστατικού στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και ηρεμία του διαλύματος, ώστε να αποφεύγεται ο θόρυβος κατά τη σάρωση του δυναμικού. Στο δεύτερο στάδιο οι αποθεθέντες ουσίες αναδιαλύονται με σάρωση του δυναμικού του ηλεκτροδίου εργασίας, από την τιμή που είχε στο στάδιο της απόθεσης. Στο **σχήμα 14** δείχνονται παραστατικά τα στάδια προσδιορισμού δύο μεταλλοϊόντων.



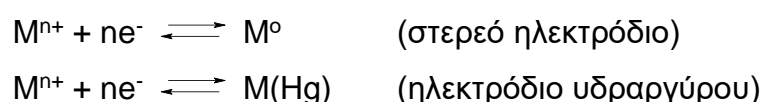
**Σχήμα 14:** Παραστατικό διάγραμμα των διαδοχικών σταδίων κατά την ανάλυση υδατικού διαλύματος μεταλλοϊόντων <sup>(12)</sup>.

Υπάρχουν δύο είδη αναδιαλυτικής βολταμμετρίας, η ανοδική και η καθοδική. Στην ανοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία (*anodic stripping voltammetry, ASV*) η σάρωση του δυναμικού στο στάδιο της αναδιαλύσεως γίνεται με θετική (ανοδική) κατεύθυνση και οι κορυφές οφείλονται σε ανοδικό ρεύμα. Στην καθοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία (*cathodic stripping voltammetry, CSV*) η σάρωση του δυναμικού γίνεται με αρνητική (καθοδική) κατεύθυνση και οι κορυφές οφείλονται σε καθοδικό ρεύμα. Η καθοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία χρησιμοποιείται για προσδιορισμό ουσιών που μπορούν να αναχθούν <sup>(12,14)</sup>.

### 2.3.1 Φάση προσυγκέντρωσης

Γενικά, υπάρχουν δύο μέθοδοι προσυγκέντρωσης: με *ηλεκτρόλυση* και με *προσρόφηση*. Η ηλεκτρολυτική απόθεση συνοδεύεται από αναγωγή ή οξειδωση της υπό προσδιορισμό ουσίας στο ηλεκτρόδιο εργασίας, ενώ στην προσροφητική απόθεση, η απόθεση γίνεται με φυσική ή χημική προσρόφηση.

Η ηλεκτροδιακή αντίδραση κατά τη φάση της προσυγκέντρωσης που πραγματοποιείται με ηλεκτρόλυση και που χρησιμοποιείται κυρίως για τον προσδιορισμό μετάλλων (*ανοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία, anodic stripping voltammetry, ASV*) σε στερεά ηλεκτρόδια ή ηλεκτρόδια Hg, είναι η εξής:



όπου:  $M^{n+}$  είναι το μεταλλικό ιόν,

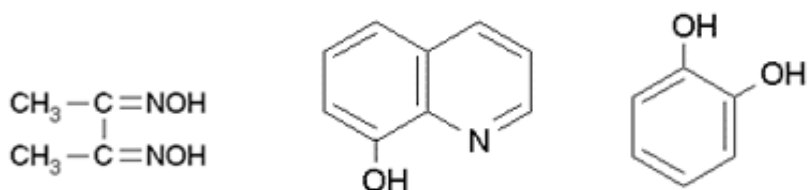
$M(\text{Hg})$  είναι το αμάλγαμα μετάλλου-Hg,

$M^0$  είναι το μέταλλο στην ανηγμένη μεταλλική μορφή του.

Στην περίπτωση που δεν είναι δυνατή η προσυγκέντρωση με ηλεκτρόλυση ή στην περίπτωση που η προσυγκέντρωση με ηλεκτρόλυση είναι δυνατή αλλά η αναδιάλυση είναι μη αντιστρεπτή, η μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η *προσροφητική αναδιαλυτική βολταμμετρία, (Adsorptive Stripping Voltammetry, AdSV)*.

Η μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό αρκετών ανόργανων κατιόντων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα

κατιόντα συμπλοκοποιούνται με υδρόφοβα οργανικά συμπλεκτικά αντιδραστήρια που προστίθενται στο διάλυμα, όπως είναι η διμεθυλογλυοξίμη, η 8-υδροξυκινολίνη και η κατεχόλη (**σχήμα 15**).



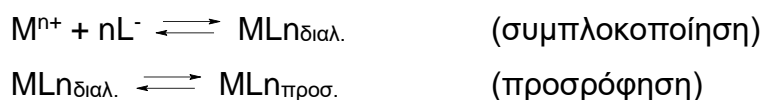
*Διμεθυλογλυοξίμη*

*8-υδροξυκινολίνη*

*κατεχόλη*

**Σχήμα 15:** Υδρόφοβα οργανικά συμπλεκτικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στην προσροφητική αναδιαλυτική βολταμμετρία <sup>(12)</sup>.

Στη συνέχεια, το υδρόφοβο σύμπλοκο που δημιουργείται προσροφάται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Η διαδικασία συμπλοκοποίησης και προσρόφησης μπορεί να περιγραφεί από τις αντιδράσεις:



όπου:  $M^{n+}$  είναι το μεταλλικό ιόν,

$L^-$  είναι το τασιενεργό συμπλεκτικό αντιδραστήριο,

$MLn_{\text{διαλ.}}$  είναι το σύμπλοκο στο διάλυμα,

$MLn_{\text{πρροσ.}}$  είναι το προσροφημένο σύμπλοκο

### 2.3.2 Επίδραση διαφόρων παραμέτρων στην αναδιαλυτική βολταμμετρία

Οι παράμετροι που επηρεάζουν την απόθεση του αναλύτη στο ηλεκτρόδιο εργασίας, το ρεύμα αλλά και το βολταμογράφημα είναι οι ακόλουθοι:

- Φέρον ηλεκτρολύτης
- Επίδραση του οξυγόνου
- Δυναμικό προσυγκέντρωσης

- Χρόνος προσυγκέντρωσης
- Μεταφορά μάζας στο ηλεκτρόδιο εργασίας
- Φάση εξισορρόπησης

οι παράμετροι αυτοί αναλύονται παρακάτω:

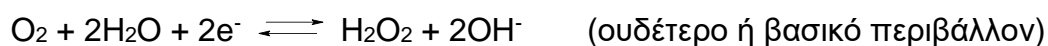
### 2.3.2.1 Επιλογή φέροντος ηλεκτρολύτη

Η σύνθεση του φέροντος ηλεκτρολύτη μπορεί να επηρεάσει την εκλεκτικότητα και την ευαισθησία της μέτρησης. Ο ιδανικός ηλεκτρολύτης πρέπει να δίνει ευδιάκριτες και καλοσχηματισμένες κορυφές για όλες τις ουσίες που αναλύονται, ώστε να μπορούν να προσδιοριστούν ταυτόχρονα. Συνήθως, η συγκέντρωση του *φέρων ηλεκτρολύτη* είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή των ηλεκτρενεργών σωματιδίων, ενώ θα πρέπει να μην είναι ηλεκτροχημικά ενεργός στην περιοχή δυναμικού που θα ληφθεί το βολταμμογράφημα και να μην αντιδρά με τις προσδιοριζόμενες ουσίες.

Ως φέρον ηλεκτρολύτης συνήθως επιλέγεται κάποιος ανόργανος ηλεκτρολύτης (άλας, οξύ ή βάση). Όταν ο έλεγχος του pH είναι απαραίτητος για να μην επηρεαστεί η μέτρηση του ρεύματος, άρα και το βολταμμογράφημα, χρησιμοποιούνται ως φέροντες ηλεκτρολύτες ρυθμιστικά διαλύματα <sup>(12)</sup>.

### 2.3.2.2 Επίδραση οξυγόνου

Το οξυγόνο είναι ικανό να διαλύεται σε υδατικά διαλύματα. Η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου σε θερμοκρασία και πίεση δωματίου μπορεί να είναι μέχρι και  $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Ανάλογα με το pH το οξυγόνο μπορεί να αναχθεί σε δύο στάδια:



Και



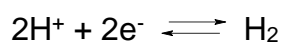
Αυτά τα στάδια αναγωγής οδηγούν σε αυξημένο ρεύμα υποβάθρου, το οποίο μπορεί επικαλύπτει τις κορυφές των ουσιών που αναλύονται. Επίσης, το οξυγόνο ή το παραγόμενο υπεροξειδίο του υδρογόνου, μπορεί να οξειδώσει τις υπό ανάλυση ουσίες, ενώ τα ιόντα υδροξυλίου που σχηματίζονται κατά την αναγωγή του οξυγόνου σε ουδέτερο ή βασικό περιβάλλον μπορούν να αντιδράσουν με το προσδιοριζόμενο συστατικό.

Γι' αυτούς τους λόγους, το οξυγόνο πρέπει να απομακρύνεται από το διάλυμα του δείγματος πριν το στάδιο της απόθεσης. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται συχνότερα, για την απομάκρυνση του οξυγόνου από ένα διάλυμα, είναι η διοχέτευση μέσα από το διάλυμα ηλεκτρικά ανενεργού αερίου (άζωτο, αργό κ.ά.). Ο απαιτούμενος χρόνος αποξυγόνωσης εξαρτάται από τον όγκο του διαλύματος, το ρυθμό ροής και το μέγεθος των φυσαλίδων που εισέρχονται στο διάλυμα. Ενδεικτικά, για την αποξυγόνωση 50 mL διαλύματος απαιτούνται 5-8 λεπτά. Μετά την αποξυγόνωση ο σωλήνας παροχής αζώτου ανυψώνεται πάνω από την επιφάνεια του διαλύματος για να διατηρηθεί ο χώρος αυτός αποξυγονωμένος κατά τη διάρκεια της ανάλυσης <sup>(12)</sup>.

### 2.3.2.3 Δυναμικό και χρόνος προσυγκέντρωσης

Το δυναμικό προσυγκέντρωσης που εφαρμόζεται στο ηλεκτρόδιο εργασίας (*deposition potential*) και ο χρόνος προσυγκέντρωσης (*deposition time*) επηρεάζουν την απόθεση της προσδιοριζόμενης ουσίας στο ηλεκτρόδιο εργασίας, επομένως και το βολταμμογράφημα.

Στην επιλογή του δυναμικού προσυγκέντρωσης θα πρέπει να συνυπολογιστεί η αναγωγή των ιόντων υδρογόνου:



Για παράδειγμα σε δυναμικό αρνητικότερο περίπου από  $-1,50\text{ V}$  (σε ουδέτερο περιβάλλον) ή  $-1,20\text{ V}$  (σε όξινο περιβάλλον), ως προς ηλεκτρόδιο αναφοράς Ag/AgCl, προκαλείται αναγωγή των ιόντων υδρογόνου σε αέριο υδρογόνο, του οποίου οι φυσαλίδες επικάθονται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας και παρεμποδίζεται η απόθεση της προσδιοριζόμενης ουσίας. Με κατάλληλη επιλογή του δυναμικού προσυγκέντρωσης ή απόθεσης, εκτός από την ευαισθησία, είναι δυνατό να βελτιωθεί και η εκλεκτικότητα της μέτρησης.

Ο χρόνος προσυγκέντρωσης ή απόθεσης πρέπει να υπόκειται σε έλεγχο, δεδομένου ότι το ποσοστό του προσδιοριζόμενου συστατικού που προσυγκεντρώνεται είναι ανάλογο του χρόνου απόθεσης και το ρεύμα κορυφής συνδέεται με το χρόνο απόθεσης. Σε πολλές περιπτώσεις, μεγάλοι χρόνοι απόθεσης μπορεί να προκαλέσουν παρεμποδίσσεις λόγω κορεσμού της επιφάνειας του ηλεκτροδίου.

#### **2.3.2.4 Μεταφορά μάζας**

Το στάδιο της απόθεσης στην αναδιαλυτική βολταμμετρία αφορά τη μηχανική μεταφορά του προσδιοριζόμενου συστατικού στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας. Η μηχανική μεταφορά επιτυγχάνεται:

- α) με ανάδευση μέσω μαγνητικού αναδευτήρα,
- β) με περιστροφή του ίδιου του ηλεκτροδίου, με τη βοήθεια κινητήρα
- γ) με τη ροή του διαλύματος σε συστήματα μέτρησης υπό ροή.

Η ευαισθησία της μεθόδου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την επίδραση των συνθηκών μεταφοράς μάζας, καθορίζοντας την ποσότητα της ουσίας που θα αποτεθεί <sup>(12)</sup>.

#### **2.3.3 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί της αναδιαλυτικής βολταμμετρίας**

Ο ποσοτικός προσδιορισμός βαρέων μετάλλων, οργανικών ουσιών και βιομορίων είναι καθοριστικής σημασίας στο χώρο της υγείας, του περιβάλλοντος και του ελέγχου ποιότητας τροφίμων. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα σε αναλύσεις ρουτίνας για την ανίχνευση / ποσοτικοποίηση των παραπάνω ουσιών (ραδιοχημικές, χρωματογραφικές, φασματοσκοπικές) είναι γενικά χρονοβόρες και απαιτούν εξειδικευμένα, ακριβή και ογκώδη οργανολογία, καθώς και υψηλό κόστος αναλώσιμων. Η αναδιαλυτική βολταμμετρία μπορεί να θεωρηθεί κατάλληλη μέθοδος αφού διαθέτει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

1. Μεγάλη ευαισθησία και χαμηλά όρια ανίχνευσης. Τυπικές περιοχές εφαρμογής της τεχνικής είναι της τάξεως των  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  αν και έχουν αναφερθεί όρια ανίχνευσης της τάξης των  $\text{pg}\cdot\text{L}^{-1}$ .
2. Πολυστοιχειακή ανάλυση. Με χρήση της αναδιαλυτικής βολταμμετρίας είναι δυνατή η ταυτόχρονη ανάλυση 3 ή περισσότερων μεταλλικών

ιόντων, ανιόντων ή οργανικών ουσιών σε επίπεδα συγκέντρωσης της τάξης των  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ .

3. Φθηνός εξοπλισμός. Τα όργανα της αναδιαλυτικής βολταμμετρίας είναι μικρά σε μέγεθος, απαιτούν μικρό ρεύμα τροφοδοσίας και δεν χρειάζονται πρόσθετο εξοπλισμό ή πρόσθετο χρόνο για πολυστοιχειακή ανάλυση. Γενικότερα, καμιά από τις φασματοσκοπικές τεχνικές δεν μπορεί να ανταγωνιστεί την αναδιαλυτική βολταμμετρία στο χαμηλό κόστος οργανολογίας και στο φορητό μέγεθος του εξοπλισμού παρέχοντας τη δυνατότητα απευθείας μετρήσεων στο πεδίο.
4. Ταχύτητα μετρήσεων. Οι μετρήσεις διαρκούν λιγότερο από 10 λεπτά.

Σημαντικό μειονέκτημα είναι οι παρεμβολές. Με τον όρο παρεμβολές αναφερόμαστε σε κάθε επίδραση φυσική ή χημική, που μεταβάλλει το αναλυτικό σήμα, με την προϋπόθεση ότι η συγκέντρωση της αναλυόμενης ουσίας παραμένει σταθερή. Στην αναδιαλυτική βολταμμετρία οι παρεμβολές οφείλονται:

- 1) στον σχηματισμό διαμεταλλικών ενώσεων στο ηλεκτρόδιο κατά το στάδιο της προσυγκέντρωσης,
- 2) στην απενεργοποίηση του ηλεκτροδίου λόγω προσρόφησης οργανικών ουσιών,
- 3) στον κορεσμό της επιφάνειας του ηλεκτροδίου.

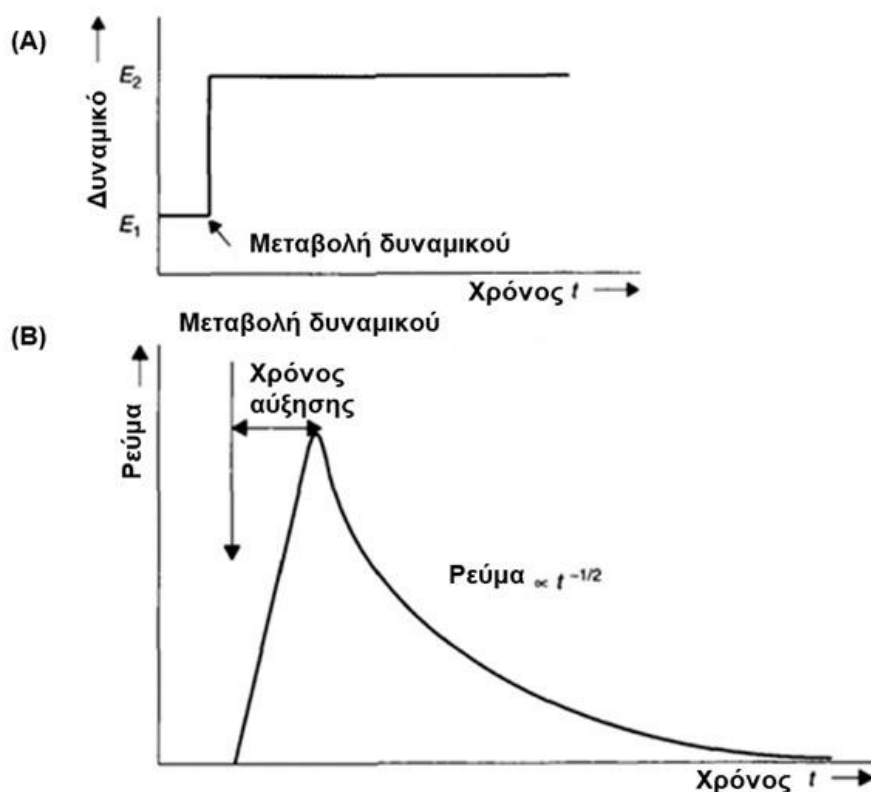
## 2.4 Αμπερομετρία

Η αμπερομετρία είναι ηλεκτροαναλυτική τεχνική η οποία βασίζεται στη μέτρηση του ρεύματος που διαρρέει ένα ηλεκτροχημικό στοιχείο κατά την εφαρμογή καθορισμένης σταθερής τάσης. Το ρεύμα αυτό μπορεί να συνδεθεί με τη συγκέντρωση του ηλεκτρενεργού είδους. Ο όρος αμπερομετρία προέρχεται από τη μονάδα μέτρησης της έντασης του ρεύματος, το «Ampère», και από τη λέξη «μετρώ». Στην πραγματικότητα, η αμπερομετρία περιλαμβάνει την εφαρμογή σταθερού οξειδωτικού ή αναγωγικού δυναμικού στο ηλεκτρόδιο εργασίας και στη συνέχεια τη μέτρηση του ρεύματος που αναπτύσσεται. Η ένταση του μετρούμενου ρεύματος εξαρτάται από τη συγκέντρωση της ουσίας που ανάχθηκε ή οξειδώθηκε.



Η εκλεκτικότητα αυτής της τεχνικής ως προς τα ηλεκτρενεργά είδη ρυθμίζεται με κατάλληλη επιλογή του εφαρμοζόμενου δυναμικού και με κατάλληλη επιλογή του υλικού του ηλεκτροδίου εργασίας. Επίσης, σπουδαίο ρόλο στην εκλεκτικότητα μπορεί να παίξει ο φέρων ηλεκτρολύτης και η απαέρωση του δείγματος.

Τα μειονεκτήματα που παρουσιάζονται όπως η ολίσθηση του σήματος λόγω σταδιακής «δηλητηρίασης» της επιφάνειας του ηλεκτροδίου εργασίας (από προϊόντα των ηλεκτροδιακών αντιδράσεων) και η ανάγκη συχνού καθαρισμού (συνήθως μηχανικού) της επιφάνειας του ηλεκτροδίου αντιμετωπίζονται με την τεχνική της παλμικής αμπερομετρίας, όπου το εφαρμοζόμενο δυναμικό μεταβάλλεται με βηματικό τρόπο. Έτσι, το ηλεκτρόδιο εργασίας υπόκειται σε μια διαδικασία συνεχούς «αυτοκαθαρισμού» και «επανενεργοποίησης»<sup>(12)</sup>.



**Σχήμα 16:** α) Δυναμικό συναρτήσει του χρόνου σε πείραμα χρονοαμπερομετρίας. β) Το αντίστοιχο χρονοαμπερογράφημα (ο μόνος τρόπος μεταφοράς μάζας είναι η διάχυση).

Σε ένα πείραμα χρονοαμπερομετρίας εφαρμόζεται ένα δυναμικό στο ηλεκτροχημικό στοιχείο και καταγράφεται το παραγόμενο ρεύμα συναρτήσει

του χρόνου. Στο σχήμα 16.α παρουσιάζεται γράφημα δυναμικού συναρτήσει χρόνου για τον προσδιορισμό θαλίου (Tl). Κατά την εφαρμογή δυναμικού E1 είναι σταθερό μόνο το Tl<sup>+</sup> ενώ στο δυναμικό E2 σταθεροποιείται μόνο το Tl<sup>3+</sup>. Το αντίστοιχο χρονοαμπερογράφημα παρουσιάζεται στο σχήμα 16.β. Αρχικά, παρατηρείται μια απότομη αύξηση του ρεύματος και στη συνέχεια φθίνει με ομαλό τρόπο μέχρι τελικά να μηδενιστεί. Ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ της εφαρμογής του δυναμικού και της χρονικής στιγμής που η ένταση του ρεύματος φθάνει την μέγιστη τιμή ονομάζεται *χρόνος αύξησης* (Rise time). Μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα το ηλεκτρόδιο έρχεται σε επαφή με μια περιοχή που δεν περιέχει ιόντα Tl<sup>+</sup>. Η συγκεκριμένη περιοχή ονομάζεται *κορεσμένη στοιβάδα* (depletion layer) ή κάποιες φορές *στοιβάδα Nernst* (Nernst layer). Η διάχυση ελέγχει τη μεταφορά του αναλύτη από το κύριο διάλυμα στις περιοχές υψηλότερης συγκέντρωσης κοντά στο ηλεκτρόδιο. Συνεπώς υπάρχει βαθμίδα συγκέντρωσης από το μέσο διάλυσης στην επιφάνεια του ηλεκτρολύτη. Αυτή η κατάσταση μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση Cottrell, η οποία ορίζει την εξάρτηση ρεύματος-χρόνου για γραμμικό έλεγχο διάχυσης σε ένα ηλεκτρόδιο:

$$I_{lim} = nFAC \sqrt{\frac{D}{\pi t}}$$

Οπού:

n: ο αριθμός των μεταφερόμενων ηλεκτρονίων

F: η σταθερά Faraday

A: η ηλεκτροχημική επιφάνεια του ηλεκτροδίου

t: ο χρόνος που απαιτείται μέχρι να μηδενιστεί το ρεύμα

D: ο συντελεστής διάχυσης

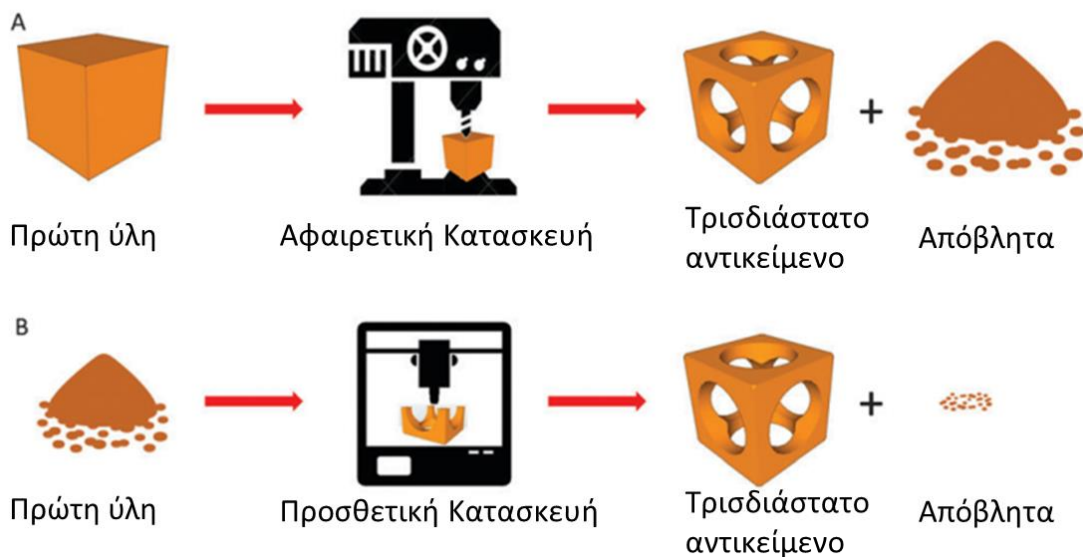
C: η συγκέντρωση του ηλεκτρολύτη στο διάλυμα

Αποκλίσεις από τη θεωρητική συμπεριφορά οφείλονται σε διάφορους παράγοντες όπως η μη γραμμική διάχυση, η φόρτιση της ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας κατά την εφαρμογή των βημάτων δυναμικού και η διεξαγωγή ομοιογενών αντιδράσεων, οι οποίες τυχόν συνοδεύουν την κύρια αντίδραση μεταφοράς φορτίου <sup>(1, 13, 18)</sup>.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### Τρισδιάστατη εκτύπωση

Από την αρχική ιδέα, τη δεκαετία του 80, η τεχνολογία της τρισδιάστατης εκτύπωσης προσέλκυσε μεγάλο ενδιαφέρον τόσο από την βιομηχανία όσο και από τα ερευνητικά εργαστήρια. Οι τρισδιάστατοι εκτυπωτές είναι μικρού μεγέθους, σχετικά φθηνοί, και επιτρέπουν την γρήγορη αντιγραφή μιας τρισδιάστατης δομής. Η τεχνολογία της τρισδιάστατης εκτύπωσης έχει εφαρμοστεί σε πολλά επιστημονικά πεδία όπως είναι η αεροδιαστημική, η μηχανολογία, η ηλεκτρολογία, η ιατρική, η επιστήμη των υλικών και πρόσφατα εφαρμόστηκε στην αναλυτική χημεία και την ηλεκτροχημεία. Η ελευθερία στο σχεδιασμό επιτρέπει τη δημιουργία πρωτότυπων υλικών και ηλεκτροχημικών αισθητήρων που παράγονται σε μεγάλες ποσότητες και σε επιθυμητό σχήμα.

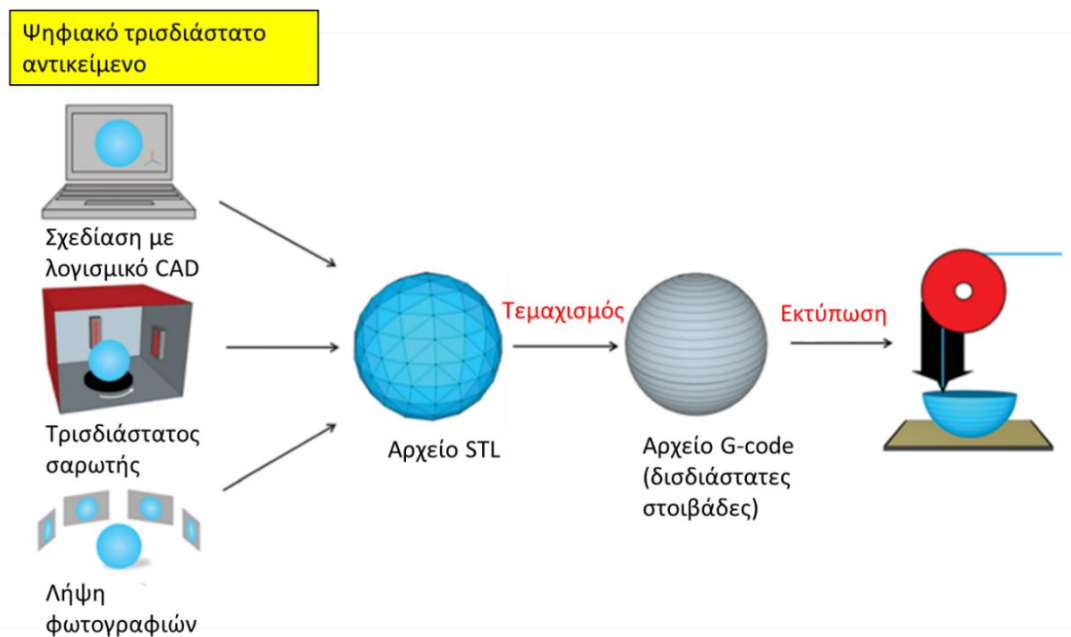


**Σχήμα 17:** Διαφορές προσθετικής και αφαιρετικής κατασκευής <sup>(19)</sup>.

Η τρισδιάστατη εκτύπωση είναι γνωστή και ως προσθετική κατασκευή (*additive manufacturing*), οπότε θα μπορούσαμε να πούμε ότι ακολουθεί την αντίθετη αρχή από τις παραδοσιακές τεχνικές, στις οποίες τα τρισδιάστατα αντικείμενα κατασκευάζονται με αφαίρεση υλικού (π.χ. τρύπημα ή πριόνισμα του υλικού, άλεσμα) (**σχήμα 17**). Για αυτόν ακριβώς τον λόγο παράγει λιγότερα απόβλητα σε σχέση με της συμβατικές τεχνικές κατασκευής <sup>(19)</sup>.

### 3.1 Η διαδικασία της τρισδιάστατης εκτύπωσης

Η διαδικασία της τρισδιάστατης εκτύπωσης περιλαμβάνει τη κατασκευή τρισδιάστατων αντικειμένων εναποθέτοντας στοιβάδες υλικού. Το πρώτο στάδιο είναι η σχεδίαση του αντικειμένου η οποία, πραγματοποιείται με ειδικό λογισμικό σχεδίασης (*computer - aided design, CAD*). Άλλοι τρόποι δημιουργίας του σχεδίου του αντικειμένου είναι με τη χρήση τρισδιάστατου scanner ή με τη λήψη πολλών φωτογραφιών. Στη συνέχεια, το αρχείο μετατρέπεται σε μορφή STL (*Standard Triangle Language*) για να είναι συμβατό με το λογισμικό του 3D εκτυπωτή και η τρισδιάστατη εικόνα μετατρέπεται σε συνεχόμενες δυσδιάστατες στοιβάδες του αρχικού αντικειμένου δίνοντας ένα αρχείο G - code. Στο σημείο αυτό, ο τρισδιάστατος εκτυπωτής μπορεί να δημιουργήσει το αντικείμενο εναποθέτοντας τη μία στοιβάδα πάνω στη άλλη (**σχήμα 18**).



**Σχήμα 18:** Η διαδικασία της τρισδιάστατης εκτύπωσης. Ένα ψηφιακό μοντέλο της κατασκευής του αντικειμένου χρησιμοποιώντας λογισμικό CAD, τρισδιάστατο σαρωτή (3D scanner, ή με τη λήψη πολλών φωτογραφιών). Το τρισδιάστατο μοντέλο μετατρέπεται σε αρχείο STL και η τρισδιάστατη εικόνα μετατρέπεται σε συνεχόμενες δυσδιάστατες στοιβάδες δίνοντας ένα αρχείο G-code. Τέλος, τυπώνεται το τρισδιάστατο αντικείμενο σε διαδοχικές δυσδιάστατες στοιβάδες <sup>(19)</sup>.

**Πίνακας 4:** Περίληψη τεχνικών τρισδιάστατης εκτύπωσης <sup>(19,20)</sup>.

Διαδικασία 3d	Τεχνική	Πρώτη ύλη	Πλεονεκτήματα	Περιορισμοί
Φωτοπολυμερισμός	<i>Στερεολιθογραφία (SLA)</i>	Φωτοπολυμερή	Απλό	Ένα υλικό
	<i>Ψεκασμός υλικού - (Material jetting)</i>	Φωτοπολυμερή	Χρήση πολλαπλών υλικών	Υψηλό κόστος
Συντυγμένη εναπόθεση	<i>Μοντελοποίηση συντυγμένης εναπόθεσης (FDM)</i>	Θερμο/μενα πλαστικά (ABS,PLA,PC, PA), γυαλί, μέταλλα	Απλό, Χρήση πολλαπλών υλικών, χαμηλό κόστος (για τα θερμο/μενα πλαστικά),	Υψηλό κόστος (για γυαλί και μέταλλα)
	<i>Άμεση γραφή με μελάνι (Robocasting – DIW)</i>	Πλαστικά, κεραμικά, τρόφιμα, ζωντανά κύτταρα, συνδυασμός μετάλλων	πολλαπλών χρήσεων	Απαιτείται προκατεργασία. Ετερογενής εκτύπωση
Χρήση υλικών σε κόκκους	<i>Επιλεκτική συσσωμάτωση με λέιζερ - selective laser sintering, SLS</i>	Θερμο/μενα πλαστικά, μέταλλα	Δεν απαιτείται υλικό στήριξης	Περιορισμένες μηχανικές ιδιότητες του αντικειμένου, υψηλό κόστος
	<i>Επιλεκτική σύντηξη λέιζερ, selective laser melting, SLM</i>	Μέταλλα	Δεν απαιτείται υλικό στήριξης	υψηλό κόστος
	<i>Τήξη με βομβαρδισμό ηλεκτρονίων (electron beam melting, EBM)</i>	Μέταλλα	Δεν απαιτείται υλικό στήριξης	υψηλό κόστος
	<i>Ψεκασμός συγκολλητικής ουσίας (binder jetting)</i>	Ρινίσματα μετάλλων	Δεν απαιτείται υλικό στήριξης, πολλαπλών χρήσεων, χαμηλό κόστος συγκριτικά με τις τεχνικές σύνδεσης λέιζερ	Ετερογενής εκτύπωση, Περιορισμένες μηχανικές ιδιότητες του αντικειμένου
Πρώτη ύλη σε φύλλα	<i>Συγκόλληση Επαλλήλων φύλλων (laminated object manufacturing, LOM)</i>	Χαρτί, μέταλλα, πλαστικά, ( που είναι διαθέσιμα σε φύλλα)	πολλαπλών χρήσεων	Περιορισμένες μηχανικές ιδιότητες του αντικειμένου, περιορισμός στην σχεδίαση

Αρκετές διαφορετικές μεθοδολογίες έχουν χρησιμοποιηθεί για την εναπόθεση των στοιβάδων και μπορούν να καταταχθούν σε τέσσερες βασικές κατηγορίες (πίνακας 4):

- 1.Φωτοπολυμερισμός.
- 2.Συντυγμένη εναπόθεση.
- 3.Κονιοποιημένη (powder) πρώτη ύλη.
- 4.Πρώτη ύλη σε φύλλα (sheet) .

### 3.1.1 Φωτοπολυμερισμός

Ο φωτοπολυμερισμός είναι από τις πρώτες τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν στην τρισδιάστατη εκτύπωση και δημιουργήθηκε τη δεκαετία του 80. Αρχικά, ο Hideo Kodama ανέπτυξε μέθοδο για την κατασκευή τρισδιάστατων αντικειμένων, η οποία βασίζεται στην εφαρμογή UV ακτινοβολίας σε φωτοσκληρυνόμενο πολυμερές. Εφαρμόζοντας, λοιπόν, UV ακτινοβολία η επιφάνεια του ρευστού πολυμερούς στερεοποιείται. Στη συνέχεια, βυθίζοντας την στερεοποιημένη επιφάνεια με ελεγχόμενο τρόπο δημιουργούνται διαδοχικά στοιβάδες μέχρι την τελική κατασκευή του τρισδιάστατου αντικειμένου. Το 1984 ο Charles Hull ανέπτυξε το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο σύστημα που εφαρμόζει αυτή την τεχνική η οποία είναι γνωστή ως στερεολιθογραφία (SLA). Στον ίδιο οφείλεται η εφεύρεση των STL αρχείων που επιτρέπουν τη διασύνδεση μεταξύ της ψηφιακής σχεδίασης και τρισδιάστατων συστημάτων εκτύπωσης. Τα συγκεκριμένα αρχεία χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα <sup>(19)</sup>.

Η εναπόθεση των φωτοσκληρυνόμενων στοιβάδων μπορεί να γίνει και δια ψεκασμού, μετά τον οποίο εφαρμόζεται UV ακτινοβολία ώστε να γίνει σκλήρυνση της επιφάνειας. Για την κατασκευή περίπλοκων σχεδίων που απαιτούν μεγαλύτερη ακρίβεια χρησιμοποιείται συχνά ένα υποστηρικτικό υλικό. Η τεχνολογία αυτή επιτρέπει τη δημιουργία αντικειμένων που αποτελούνται από πολλά διαφορετικά υλικά, αλλά το μειονέκτημα της είναι το υψηλό κόστος. Η τεχνική αυτή προς το παρόν δεν εφαρμόζεται στην κατασκευή ηλεκτροχημικών αισθητήρων, επειδή δεν είναι αγωγίμα τα μέχρι στιγμής διαθέσιμα φωτοπολυμερή <sup>(19,20)</sup>.

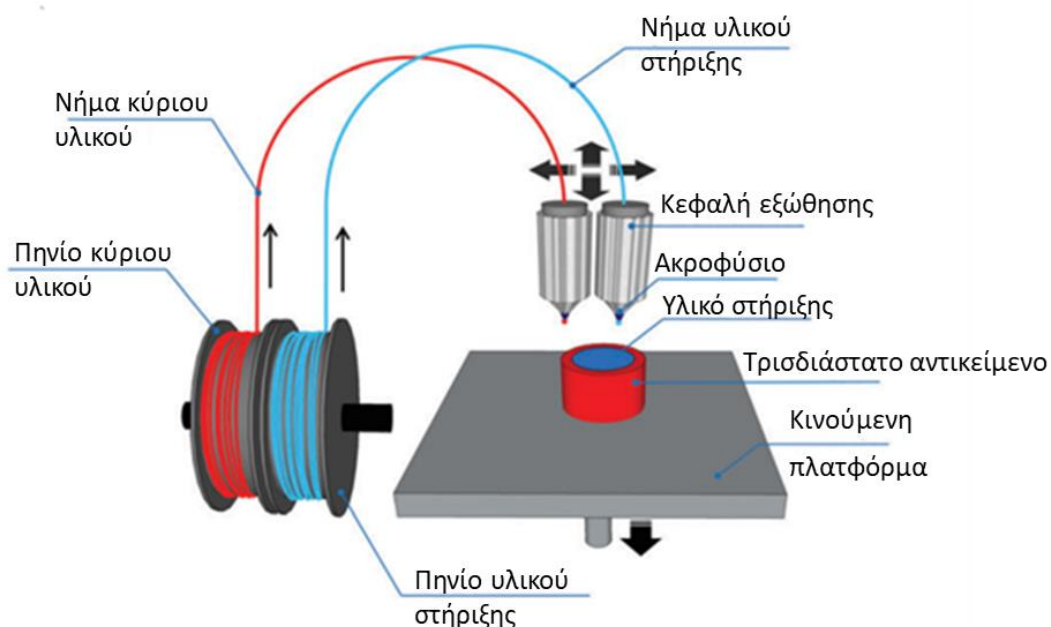
### 3.1.2 Συνδυασμένη εναπόθεση

Η βασική αρχή της τεχνική αυτής είναι η εναπόθεση του κύριου υλικού (*model material*) ή και του υποστηρικτικού υλικού (*support material*) από την κεφαλή ενός ακροφυσίου. Το υλικό προηγουμένως έχει υποστεί θερμική επεξεργασία (π.χ. ρευστοποίηση).

Η πιο συνηθισμένη τεχνική τρισδιάστατης εκτύπωσης που βασίζεται σε αυτή τη μέθοδο είναι γνωστή ως μοντελοποίηση συνδυασμένης εναπόθεσης (*Fused Deposition Modeling, FDM*). Με τη μέθοδο αυτή, δημιουργούνται

τρισδιάστατα αντικείμενα χρησιμοποιώντας θερμοπλαστικά. Η συγκεκριμένη τεχνική δημιουργήθηκε από τον Scott Crump το 1989 <sup>(21)</sup>. Όπως και οι υπόλοιπες, η μέθοδος FDM λειτουργεί σύμφωνα με την αρχή της διαδοχικής στρωματικής κατασκευής. Κάθε στρώμα παράγεται μέσω της εξώθησης θερμοπλαστικού σε ρευστή κατάσταση. Το υλικό τροφοδοτείται σε μορφή νήματος (*filament*) σε θερμαινόμενη κεφαλή όπου ρευστοποιείται και εξωθείται πάνω σε πλατφόρμα που έχει θερμοκρασία λίγο μεγαλύτερη από τη θερμοκρασία ρευστοποίησής του, οπότε και στερεοποιείται στο προγραμματισμένο σχήμα (**σχήμα 19**) <sup>(22)</sup>.

Μέσω της συγκεκριμένης τεχνολογίας μπορούν να παραχθούν αντικείμενα που έχουν ως πρώτη ύλη θερμοπλαστικά πολυμερή. Τα υλικά που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι πολυλακτικό οξύ (Polylactic Acid, PLA), συμπολυμερές ακρυλονιτρίλιου βουταδιένιου στυρόλιου (*Acrylonitrile Butadiene Styrene, ABS*), πολυκαρβονικά (*Polycarbonates, PC*), πολυαμίδια (*Polyamide, PA*) και θερμοπλαστικό πολυουρεθάνιο (*thermoplastic polyurethane, TPU*).



**Σχήμα 19:** Σχηματικό διάγραμμα της τεχνικής FDM. Η κεφαλή πληρωμένη με το θερμοσκληρυνόμενο πολυμερές μετακινείται σε τρεις διαστάσεις και εναποθέτει στην πλατφόρμα κατασκευής το ρευστό πολυμερές <sup>(19)</sup>.

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ταυτόχρονα διαφορετικές κεφαλές κατά τη διάρκεια της εκτύπωσης, δημιουργώντας αντικείμενα που αποτελούνται από διαφορετικά υλικά.

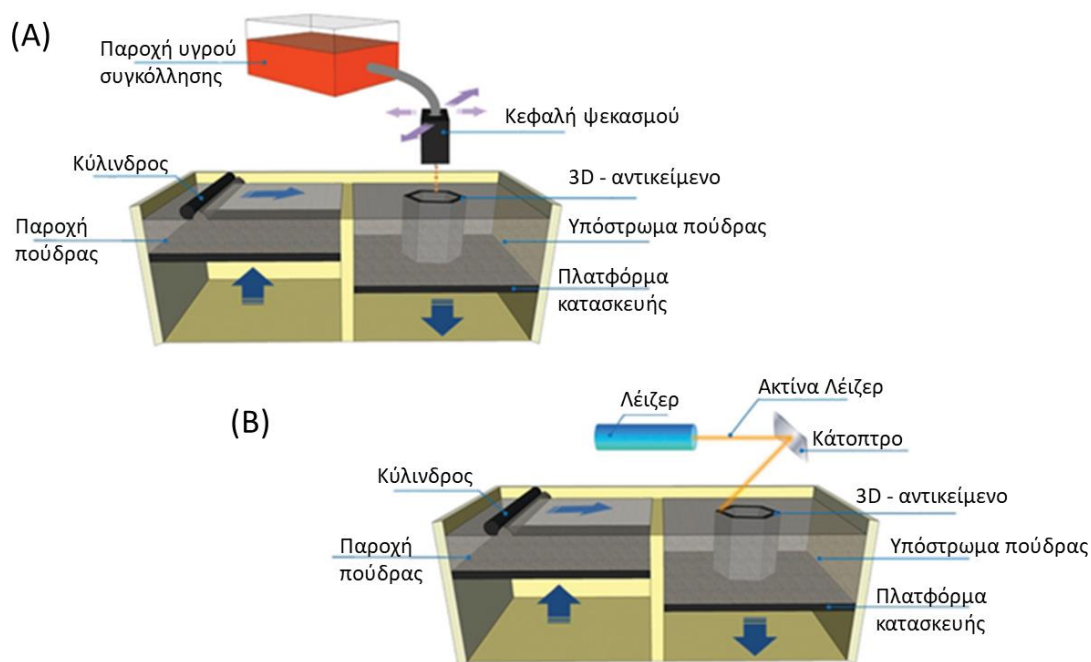
### 3.1.3 Κονιοποιημένη πρώτη ύλη

Η συγκεκριμένη μέθοδος τρισδιάστατης εκτύπωσης χρησιμοποιεί σωματίδια σε μορφή πούδρας ως δομικό υλικό, με μέγεθος 50-100μm. Η διαδικασία της εκτύπωσης είναι παρόμοια με τη στερεολιθογραφία (SLA) με μόνη διαφορά ότι το ρευστό πολυμερές έχει αντικατασταθεί από πούδρα σωματιδίων και η εναπόθεση των στοιβάδων γίνεται με τη βοήθεια κυλίνδρου όπως φαίνεται στο **σχήμα 20**. Αφού έχει γίνει η εναπόθεση της πρώτης στοιβάδας, εφαρμόζεται διαδικασία συγκόλλησης των υλικών είτε με τη χρήση υγρής κόλλας είτε με την εφαρμογή laser. Με την ίδια διαδικασία γίνεται και η εναπόθεση των υπόλοιπων στοιβάδων, προκειμένου να δημιουργηθεί το τρισδιάστατο αντικείμενο που έχει σχεδιαστεί. Το μεγαλύτερο ίσως πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η χρησιμοποίηση μεγάλης ποικιλίας υλικών, επιτρέποντας την κατασκευή κεραμικών, γύψινων, ακριλικών, ξύλινων, μαρμάρινων και μεταλλικών αντικειμένων.

Ο ευκολότερος τρόπος συγκόλλησης των σωματιδίων είναι η προσθήκη υλικού συγκόλλησης (π.χ. κόλλας) στη στοιβάδα που έχει δημιουργηθεί. Η τεχνική αυτή ονομάζεται *ψεκασμός συνδετικού υλικού* (binder jetting). Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθούν ακτίνες λέιζερ ώστε το υλικό να αποκτήσει θερμοκρασία λίγο κάτω από το σημείο τήξης και να γίνει πυροσυσσωμάτωση του υλικού (*επιλεκτική συσσωμάτωση λέιζερ* - Selective Laser Sintering, SLS) ή να φτάσει το σημείο τήξης ώστε να γίνει σύντηξη (*επιλεκτική σύντηξη λέιζερ*, Selective Laser Melting, SLM). Οι συγκεκριμένες μέθοδοι με τη χρήση ακτινών λέιζερ εφαρμόζεται κυρίως σε μέταλλα και κράματα μετάλλων όπως είναι ασάλι, τιτάνιο, αλουμίνιο, νικέλιο, μπρούτζος ή κράματα πολυτίμων μετάλλων <sup>(19)</sup>.

Πρόσφατα, προτάθηκε μέθοδος με βομβαρδισμό ηλεκτρονίων. Με αυτό τον τρόπο επιτυγχάνονται μεγαλύτερες θερμοκρασίες και το μεταλλικό αντικείμενο που δημιουργείται αποκτά βελτιωμένες μηχανικές ιδιότητες. Η μέθοδος αυτή ονομάζεται τήξη με βομβαρδισμό ηλεκτρονίων (Electron Beam Melting, EBM) <sup>(23,24)</sup>.



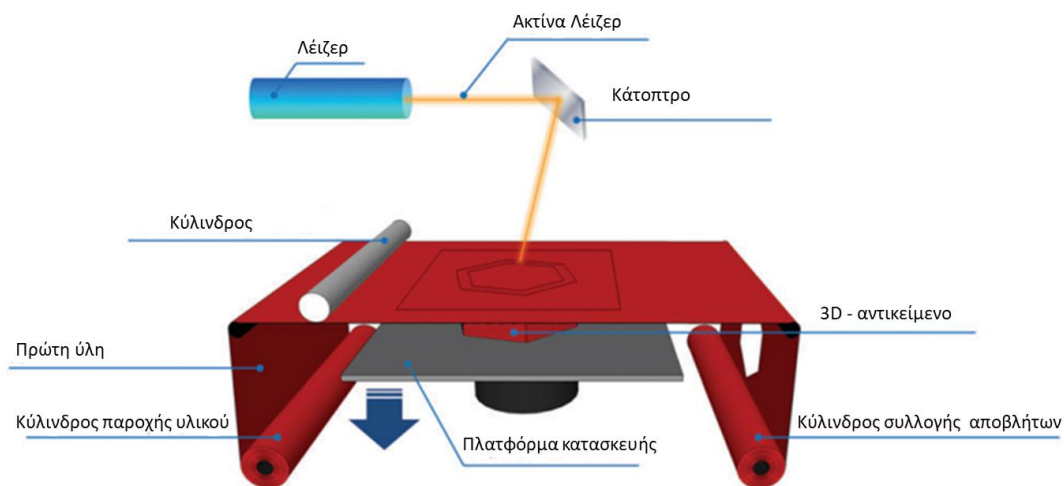


**Σχήμα 20:** (A) Σχηματικό διάγραμμα της τεχνικής του ψεκασμού συνδετικού υλικού (binder jetting). (B) Σχηματικό διάγραμμα της τεχνικής της επιλεκτικής συσσωμάτωσης λέιζερ - SLS (ή επιλεκτική σύντηξη λέιζερ - SLM) <sup>(19)</sup>.

### 3.1.4 Πρώτη ύλη σε φύλλα

Η τεχνολογία αυτή είναι γνωστή ως συγκόλληση επαλλήλων φύλλων (Laminated Object Manufacturing, LOM) και εφευρέθηκε από τον Helisys τη δεκαετία του 1980 <sup>(25)</sup>.

Αφού γίνει η εναπόθεση του πρώτου «φύλλου» στην πλατφόρμα, υποβάλλεται σε διαδικασία κοπής με λέιζερ (ή άλλου κοπτικού εργαλείου). Ο σχεδιασμός της μεθόδου κοπής γίνεται με πρόγραμμα CAD, όπως και στις άλλες τεχνικές. Μόλις αφαιρεθεί το περιττό υλικό η διαδικασία επαναλαμβάνεται και για τα υπόλοιπα «φύλλα». Ανάλογα με την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται επιλέγεται και η κατάλληλη τεχνική συγκόλλησης. Ως πρώτη ύλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί εκτός από μέταλλο, χαρτί, πλαστικό κ.α. Η διαδικασία που ακολουθείται φαίνεται στο **σχήμα 21** <sup>(22,19)</sup>.



**Σχήμα 21:** Σχηματικό διάγραμμα της τεχνικής κατασκευής αντικειμένων με ελασμάτωση <sup>(19)</sup>.

### 3.2 Η τρισδιάστατη εκτύπωση στην ηλεκτροχημεία

Η ηλεκτροχημεία επωφελείται από την χρήση της τεχνολογίας της τρισδιάστατης εκτύπωσης καθώς παρέχεται η δυνατότητα κατασκευής πολύπλοκων συστημάτων σε πολύ χαμηλό κόστος. Συγκεκριμένα, με τη χρήση τρισδιάστατου εκτυπωτή μπορούν να παραχθούν αγώγιμα ηλεκτρόδια σε ποικιλία σχημάτων και σύστασης, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για οξειδοαναγωγικές και καταλυτικές διαδικασίες. Επιπλέον, μπορούν να δημιουργηθούν και βολταμετρικές κυψελίδες οι οποίες συνδυάζονται με τα ηλεκτρόδια και μας παρέχουν ολοκληρωμένες μικρο-διατάξεις σε διάφορα σχήματα και μεγέθη. Αρκετές τεχνικές έχουν εφαρμοστεί για την κατασκευή ηλεκτροδίων όπως είναι ο ψεκασμός συνδετικού υλικού (*binder jetting*), η στερεολιθογραφία (SLA) και το robocasting, η τεχνική που χρησιμοποιείται συχνότερα όμως είναι η μοντελοποίηση συντυγμένης εναπόθεσης (FDM) <sup>(17,18,19,20,21)</sup>.

### 3.3 Ηλεκτροχημικοί αισθητήρες κατασκευασμένοι με τρισδιάστατη εκτύπωση

Η μοντελοποίηση συντυγμένης εναπόθεσης χρησιμοποιείται για ηλεκτροχημικές και ηλεκτροαναλυτικές εφαρμογές. Συγκεκριμένα, έχει εφαρμοστεί για την κατασκευή ηλεκτροδίων, ηλεκτροχημικών κυψελίδων,

συστημάτων μικρορευστονικής (microfluidic systems), ηλεκτροχημικών μικροσκοπιών, φασματοηλεκτροχημικών κυψελίδων (spectrochemical cell) κ.α.

Το σχήμα και τα δομικά χαρακτηριστικά των ηλεκτροχημικών διατάξεων ή των αισθητήρων διαμορφώνεται σύμφωνα με τις παραμέτρους εκτύπωσης. Κατά την κατασκευή του ηλεκτροδίου λαμβάνεται υπόψιν το υλικό και η σύσταση του νήματος (filaments). Όπως περιεγράφηκε προηγουμένως, η FDM βασίζεται στη τήξη του νήματος και στη συνέχεια, στην διαδοχική εναπόθεση των στοιβάδων του υλικού με κίνηση των κεφαλών εξώθησης ή και της πλατφόρμας, επιτρέποντας τη δημιουργία των τρισδιάστατων αντικειμένων. Τα πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής, όπως το χαμηλό κόστος και η ακρίβεια στην κατασκευή, έχουν οδηγήσει στην εφαρμογή της FDM για την κατασκευή ηλεκτροχημικών διατάξεων αποτελούμενα από πολυμερή και αγωγίμα υλικά <sup>(26,27)</sup>.

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται μπορεί να είναι διαφορά θερμοπλαστικά πολυμερή. Στην κατασκευή ηλεκτροχημικών αισθητήρων αυτά που χρησιμοποιούνται συχνότερα είναι αγωγίμα νήματα που έχουν ως βάση πολυλακτικό οξύ (PLA) και συμπολυμερές ακρυλονιτρίλιου βουταδιένιου στυρόλιου (ABS) <sup>(19,28)</sup>. Ωστόσο, έχουν δοκιμαστεί κι άλλα θερμοπλαστικά πολυμερή, όπως η πολυβινυλική αλκοόλη (PVA), συμπολυμερές πολύ (τερεφθαλικού εστέρα αιθανογλυκόλης) (PETG), nylon<sup>R</sup>, θερμοπλαστικό πολουρεθάνιο (TPU), ελαστομερές θερμοπλαστικό (TPE), θερμοπλαστικά συμπολυμερή πολυεστέρα (TPC) <sup>(29,30,31)</sup>.

Το PLA αποτελείται από πολυεστέρες και είναι βιοδιασπώμενο, επομένως θεωρείται φιλικό για το περιβάλλον. Παράλληλα έχει χαμηλό κόστος παραγωγής (περίπου 5 ευρώ/kg) και παράγεται σε μεγάλες ποσότητες <sup>(32)</sup>. Τα νήματα από PLA χρησιμοποιούνται ευρέως στην τεχνική FDM καθώς το σημείο τήξης είναι αρκετά χαμηλό (230 °C) <sup>(33)</sup>. Το ABS επίσης παράγεται σε μεγάλες ποσότητες <sup>(34)</sup> και χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία, καθώς παρουσιάζει ικανοποιητικές μηχανικές ιδιότητες, είναι εύκολη η επεξεργασία του και υπάρχει η δυνατότητα να επαναχρησιμοποιηθεί <sup>(35)</sup>. Η θερμοκρασία εξώθησης του νήματος από ABS κυμαίνεται από 200 έως 300 °C και

εξαρτάται από τη σύσταση του <sup>(36)</sup>. Σε γενικές γραμμές, το ABS είναι περισσότερο όλκιμο άλλα το PLA παρουσιάζει καλύτερη μηχανική αντοχή.

Τα αγώγιμα νήματα λαμβάνονται ενσωματώνοντας αγώγιμα υλικά στο θερμοπλαστικό (PLA ή ABS). Τα αγώγιμα υλικά αποτελούνται συνήθως από άνθρακα, κυρίως νανοϋλικά, όπως νανοσωλήνες άνθρακα, αιθάλη (carbon black) και γραφένιο. Τα υλικά αυτά επιλέγονται συνήθως γιατί έχουν μεγάλη δραστική επιφάνεια, καλή θερμική και μηχανική αντίσταση, είναι χημικά αδρανή, επιτρέπουν τη χημική μορφοποίηση και είναι ηλεκτρικά αγώγιμα.

Εμπορικώς διαθέσιμα νήματα που περιέχουν μαύρο άνθρακα (carbon black) χρησιμοποιούνται για την κατασκευή ηλεκτροχημικών αισθητήρων <sup>(37,38,39)</sup>. Τα νήματα αυτά έχουν μεγάλη ηλεκτρική αγωγιμότητα και χαμηλό κόστος καθώς λαμβάνονται ως παραπροϊόντα καύσης των προϊόντων πετρελαίου <sup>(40)</sup>. Σε κάποιες περιπτώσεις, έχουν χρησιμοποιηθεί γραφίτης, νανοϊνες άνθρακα και νανοσωλήνες άνθρακα (CNTs).

Η τεχνική της μοντελοποίησης συνταγμένης εναπόθεσης (FDM) λόγω των χαρακτηριστικών της (χαμηλό κόστος, ταχύτητα, ευκολία κατασκευής) χρησιμοποιείται ευρέως στην δημιουργία ηλεκτροχημικών αισθητήρων που εφαρμόζονται στην ανάλυση τροφίμων <sup>(41,42)</sup>, καυσίμων <sup>(43,44)</sup>, νερού <sup>(45,38,46)</sup>, φαρμακευτικώνσκευασμάτων <sup>(38)</sup>, βιολογικών δειγμάτων <sup>(47,48,49,50)</sup> και στην εγκληματολογική ανάλυση <sup>(51,52,53)</sup>.

Στον **πίνακα 5** αναφέρονται συνοπτικά ορισμένοι ηλεκτροχημικοί αισθητήρες κατασκευασμένοι με την τεχνική FDM. Τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα των αισθητήρων που κατασκευάζονται με FDM είναι :

1. Ο εξοπλισμός που απαιτείται για την κατασκευή τους είναι μικρός σε μέγεθος και απλός στη χρήση του.
2. Μπορούν να σχεδιαστούν και να κατασκευαστούν αισθητήρες σε διάφορα μεγέθη και σχήματα, χωρίς τη χρήση υποστρώματος.
3. Η κατασκευή των αισθητήρων βασίζεται σε ανοιχτού κώδικα λογισμικού και δεν είναι χρονοβόρα.
4. Η δημιουργία πολλών ομοιόμορφων αντιγράφων αισθητήρων γίνεται με μεγάλη ακρίβεια.
5. Το λειτουργικό κόστος, καθώς και το κόστος των υλικών είναι πολύ χαμηλό.

6. Μπορούν να κατασκευαστούν αισθητήρες χρησιμοποιώντας μεγάλη ποικιλία αγώγιμων νημάτων.
7. Οι αισθητήρες που κατασκευάζονται είναι φιλικό προς το περιβάλλον, καθώς δεν χρησιμοποιούνται χημικά και δεν παράγονται απόβλητα.
8. Παρέχεται η δυνατότητα κατασκευής, σε ένα στάδιο, ηλεκτροχημικών διατάξεων κατασκευασμένων από διαφορετικά υλικά, με τη χρήση τρισδιάστατου εκτυπωτή με πολλαπλές κεφαλές.

**Πίνακας 5:** Τρισδιάστατα εκτυπωμένοι αισθητήρες με τη χρήση της τεχνικής FDM.

νήμα	μορφοποίηση	Επεξεργασία	Αναλύτης	Δείγμα	Αναλυτική Τεχνική	LOD	Πλεονεκτήματα επεξεργασίας <sup>a</sup>	Αναφορές
G/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα	Ντοπαμίνη Κατεχόλη	-	BIA-AMP SWV	0.10 μmol/L 0.04 μmol/L	-	54
C/ABS	-	-	Παρακαταμόλη Καφεΐνη	Φαρμακευτικά σκευάσματα και ούρα	DPV	0.43 mg/L 0.39 mg/L	-	38
CNT/PLA CNT/PLA/Cu CNT/PLA/ZnO	-	-	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> K <sub>4</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> NADH	-	CV	5.30 μmol/L 1.20 μmol/L 2.90 μmol/L	-	55
CB/PLA	υμένιο χρυσού	-	Hg <sup>2+</sup>	Εμφιαλωμένο νερό και έλαιο ψαριού	DPASV	0.52 μg/L	-	56
G/PLA	-	και Βισμούθιο	Cd <sup>2+</sup> Pb <sup>2+</sup> Hg <sup>2+</sup>	-	SWASV	2.20 μg/L 4.10 μg/L 1.20 μg/L	-	57
CB/PLA	υμένιο χρυσού	-	Γλυκόζη	Ίδρωτας	CA	1.20 μmol/L	-	47
CB/PLA	-	-	Hg <sup>2+</sup> Καφεΐνη	-	SWASV DPV	1.90 μg/L 1.80 g/L	-	39
CNF/Graphite/ PS	-	Μηχανικό γυάλισμα	Pb <sup>2+</sup>	-	DPASV	-	Επαναχρησιμοποίηση ηλεκτροδίου	58
G/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα	TNT	Επιφάνειες που περιέχουν TNT	SWV	0.40 μmol/L	↑ Ip ↓ ΔΕρ	51
G/PLA	-	Θερμική	Πικρικό οξύ	-	CV	0.10 μg/L	↓ ΔΕρ (~5-fold) ↑ k0 (~10 <sup>6</sup> -fold) ([Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>-3/4</sup> )	59

νήμα	μορφοποίηση	Επεξεργασία	Αναλύτης	Δείγμα	Αναλυτική Τεχνική	LOD	Πλεονεκτήματα επεξεργασίας <sup>a</sup>	Αναφορές
CB/PLA	-	Εφαρμογή λείζερ	Καφεΐνη	-	CV και DPV	0.40 μmol/L	↑ Ip ↓ ΔEp ([Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>2+</sup> )	60
G/PLA	Χαλκός Νικέλιο	Χημική	Γλυκόζη Σακχαρόζη	-	CV και CA	-	NR	61
G/PLA	-	Χημική	Πικρικό οξύ Ασκορβικό οξύ	-	CV	-	↑ Ip ↓ ΔEp (Redox probes)	62
G/PLA	-	Χημική	Σεροτονίνη	Συνθετικά ούρα	DPV	0.03 μmol/L	↑ Ip (~ 3-fold) ↓ ΔEp (~ 6-fold) ↓ Rct (2-fold) (FcMeOH)	48
G/PLA	Prussian Blue	Ηλεκτροχημική	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Στοματικό διάλυμα και γάλα	BIA-AMP	0.11 μmol/L	NR	41
G/PLA	-	Ηλεκτροχημική	Νιτραμίνη	-	DPV	0.24 μmol/L	↑ electron transfer rate ↓ Epa (Νιτραμίνη)	63
CB/PLA <sup>β</sup>	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	Cd <sup>2+</sup> και Pb <sup>2+</sup> Παρακαταμόλη Ασκορβικό οξύ	-	SWASV BIA-AMP SWV	0.10 και 0.01 μmol/L 0.21 μmol/L 0.19 μmol/L	↓ Rct (~2-fold) ↓ ΔEp ↑ I p ([Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>-3/4</sup> )	64
CB/PLA <sup>β</sup>	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	Pb <sup>2+</sup> και Cu <sup>2+</sup>	Αιθανόλη και νερό βρύσης	SWASV	Αιθανόλη: 1.0 and 2.0 μg/L Νερό: 0.8 and 2.0 μg/L	↓ ΔEp (4-fold) ↑ Ip (2-fold) ([Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>-3/4</sup> ) ↑ Ip (Pb <sup>2+</sup> and Cu <sup>2+</sup> )	43

νήμα	μορφοποίηση	Επεξεργασία	Αναλύτης	Δείγμα	Αναλυτική Τεχνική	LOD	Πλεονεκτήματα επεξεργασίας <sup>a</sup>	Αναφορές
CB/PLA <sup>b</sup>	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	TNT	-	SWV	1.50 μmol/L	↓ ΔΕρ (3-fold) ↑ Σχήμα και μέγεθος βολταμμετρικής κορυφής (Dopamine)	53
CB/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	Cu <sup>2+</sup>	Βιοαιθανόλη	SWASV	0.10 μg/L	↑ Ip (Cu <sup>2+</sup> )	44
Ni-G/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	Γλυκόζη	-	BIA-AMP	2.40 μmol/L	↑ Ipa (36-fold) (Ni-G/PLA response) ↓ LOD (15-fold) (Glucose)	65
CB/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	Ντοπαμίνη Cd <sup>2+</sup> και Pb <sup>2+</sup>	- Νερό βρύσης	SWV SWASV	0.10 μmol/L -	↑ Slope (3.1-fold) ↑ Electroactive area (3.3-fold) (Dopamine)	46
CB/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	Cd <sup>2+</sup> Pb <sup>2+</sup>	Ούρα και σάλιο	SWASV	2.90 μg/L 2.60 μg/L	↑ Ip (30-fold)	49
G/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	Κοκαΐνη	-	SWV	6.00 μmol/L	Δεν υπήρχε σήμα πριν την ενεργοποίηση	66
G/PLA	Prussian Blue	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Γάλα	BIA-AMP	0.56 μmol/L	Μετά την επεξεργασία το PB παρατηρήθηκε (CV)	42



νήμα	μορφοποίηση	Επεξεργασία	Αναλύτης	Δείγμα	Αναλυτική Τεχνική	LOD	Πλεονεκτήματα επεξεργασίας <sup>α</sup>	Αναφορές
G/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα και χημική	Pb <sup>2+</sup> Sb <sup>3+</sup>	Χέρια και ρούχα ατόμων που έχουν χρησιμοποιήσει όπλο	SWASV	0.50 µg/L 1.80 µg/L	NR	52
G/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα και χημική	Νιτρώδη ανιόντα Ουρικό οξύ	Ούρα και σάλιο	BIA-MPA	0.03 µmol/L 0.02 µmol/L	↓ Era (Νιτρώδη ανιόντα) ↑ Ipa (Ουρικό οξύ)	50
G/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα και Ηλεκτροχημική	L-μεθειονίνη	Ορός αίματος	SWV	1.39 µmol/L	↑ Ηλεκτροενεργή περιοχή ↑ k0 ↓ Rct (5.5-fold) ([Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>-3/4</sup> )	67
G/PLA	-	Χημική και Ηλεκτροχημική	Μυκοτοξίνη ζεαραλενόνη	-	CV	0.34 µmol/L	↑ Ipa	68
nG/PLA	-	Μηχανικό γυάλισμα	Μαγγάνιο	Εμφιαλωμένο και νερό βρύσης	DPCSV	0.0016 µmol/L	NR	45
G/PLA	-	Χημική και Ηλεκτροχημική	Αιτροπίνη	Ποτά	SWV	1 µmol/L	↑ Ipa	69

<sup>α</sup> Τα πλεονεκτήματα της επεξεργασίας λαμβάνοντας υπόψη αποκλειστικά τις βελτιώσεις που επιτυγχάνονται στην ηλεκτροχημική απόκριση των ηλεκτροδίων συγκριτικά με ηλεκτρόδιο που δεν έχει υποστεί κάποια επεξεργασία. Όπου: «-»: δεν έχει γίνει κάποια επεξεργασία, «NR»: δεν αναφέρεται β τρισδιάστατα εκτυπωμένο ηλεκτρόδιο κατασκευασμένο με στυλό τρισδιάστατης εκτύπωσης

**νήμα:** CNF/Graphite/PS: ανθρακονήματα (carbon nanofibers)/γραφίτης /πολυστερένιο, G/PLA: γραφένιο /πολυλακτικό οξύ, CB/PLA: αιθάλη(carbon black)/πολυλακτικό οξύ, C/ABS: Άνθρακας/στυπυλομερές ακρυλονιτρίλιου βουταδιένιου στυρόλιου,CNT/PLA: νανοσωλήνας άνθρακα (carbon nanotube)/πολυλακτικό οξύ, Ni-G/PLA: Ni(OH)<sub>2</sub> μικροσωματίδια ενσωματωμένα στο γραφένιο / πολυλακτικό οξύ, nG/PLA: νανογραφίτης / πολυλακτικό οξύ.

**Αναλυτική Τεχνική:** DPASV: διαφορική παλμική ανοδική αναδιαλυτική βολταμετρία, BIA-AMP: Ανάλυση συνεχούς προσθήκης (batch injection) με αμπερομετρική ανίχνευση, SWV: βολταμετρία τετραγωνικού παλμού, CV: κυκλική βολταμετρία, SWASV: ανοδική αναδιαλυτική βολταμετρία τετραγωνικού παλμού DPV: διαφορική παλμική βολταμετρία, BIA-MPA: Ανάλυση συνεχούς προσθήκης (batch injection) με αμπερομετρική ανίχνευση πολλαπλού παλμού, DPCSV: διαφορική παλμική καθοδική αναδιαλυτική βολταμετρία

### 3.4 Ηλεκτροχημικοί βιοαισθητήρες κατασκευασμένοι με τρισδιάστατη εκτύπωση

Η τεχνική FDM έχει εφαρμοστεί και στην ανάπτυξη διατάξεων που χρησιμοποιούνται ως ηλεκτροχημικοί βιοαισθητήρες <sup>(50)</sup>. Οι βιοαισθητήρες κατασκευάζονται με ακινητοποίηση ενζύμου ή βιομορίου πάνω στην επιφάνεια του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα. Στον **πίνακα 6** παρουσιάζονται ορισμένοι βιοαισθητήρες κατασκευασμένοι με την τεχνική FDM. Όπως φαίνεται στον πίνακα τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα νήματα περιέχουν γραφένιο (G/PLA) και αιθάλη (Carbon Black/PLA). Πρόσφατα δημοσιευμένη ερευνά συνέκρινε τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτρόδια που παράγονται και από τα δύο νημάτια με διάφορες τεχνικές και ως προς την ανίχνευση διαφορετικών αναλυτών. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μελέτη, το CB/PLA έχει υψηλότερη περιεκτικότητα σε άνθρακα (22%) από το G/PLA (10%), ωστόσο, το G/PLA παρουσιάζει πέντε φορές μικρότερη αντίσταση (δηλαδή υψηλότερη αγωγιμότητα), έξι φορές υψηλότερα χωρητικά ρεύματα και υψηλότερη ποσότητα οξυγονωμένων ομάδων (60% έναντι 38% σε CB/PLA)<sup>(70)</sup>.

Πίνακας 6: Τρισδιάστατα εκτυπωμένοι βιοαισθητήρες με τη χρήση της τεχνικής FDM.

νήμα	μορφοποίηση	Επεξεργασία	Αναλύτης	Δείγμα	Αναλυτική Τεχνική	LOD	Γλεονεκτικότητα επεξεργασίας <sup>a</sup>	Αναφορές
G/PLA	Οξειδάση L- αμινοξέος	-	Εναντιομερή αμινοξέων	-	EIS	10 fmol/L	-	71
CB/PLA	Οξειδάση γλυκόζης	-	Γλυκόζη	-	CA	-	-	39
PLA	PEDOT/EtOH PEDOT/Aq	- Χημική	Ντοπαμίνη	-	CV, DPV Και CA	198 μmol/L 129 μmol/L (DPV)	↑ υδροφιλικότητα των υμενίων	72
G/PLA	Φωσφορικό διεξιδεκυλεστέα Και Τυροσινάση	Χημική	Κατεχόλη	Νερό	SWV	0.26 μmol/L	↑ Ip (~ 3-fold) ↓ ΔEp (~ 6-fold) ↓ Rct (2-fold) (FcMeOH)	48
G/PLA	Υπεροξειδάση αγριοραφανιδών και Au-NPs	Χημική και Ηλεκτροχημική	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Ανθρώπινος ορός	CA	9.1 μmol/L	↓ ΔEp ([Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>-3/4</sup> )	73
G/PLA	Οξειδάση γλυκόζης	Μηχανικό γυάλισμα και χημική	Γλυκόζη	Πλάσμα αίματος	CA	15 μmol/L	-	50
CB/PLA	EDC and NHS	Μηχανικό γυάλισμα και ηλεκτροχημική	Χανταϊός	Ανθρώπινος ορός	CV and EIS	22 μg/mL	↑ Ip K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	74

νήμα	μορφοποίηση	Επεξεργασία	Αναλύτης	Δείγμα	Αναλυτική Τεχνική	LOD	Πλεονεκτήματα επεξεργασίας <sup>α</sup>	Αναφορές
G/PLA	Au-NPs/ κυστεαμίνη/ Γλουταραλδεϋδη/ Κορωνοϊός/ πρωτεΐνη-ακίδα/ RBD	Χημική και Ηλεκτροχημική	Αντισώματα SARS-CoV-2	Ανθρώπινος ορός	CV and EIS	0.5 µg/mL	NR	75

<sup>α</sup> Τα πλεονεκτήματα της επεξεργασίας λαμβάνοντας υπόψιν αποκλειστικά τις βελτιώσεις που επιτυγχάνονται στην ηλεκτροχημική απόκριση των ηλεκτροδίων συγκριτικά με ηλεκτρόδιο που δεν έχει υποστεί κάποια επεξεργασία. Όπου: «-»: δεν έχει γίνει κάποια επεξεργασία, «NR»: δεν αναφέρεται

**νήμα:** CNF/Graphite/PS: άνθρακονήματα (carbon nanofibers)/γραφίτης /πολυστενένιο, G/PLA: γραφένιο /πολυλακτικό οξύ, CB/PLA: αιθάλη(carbon black)/πολυλακτικό οξύ, C/ABS: Άνθρακας/συμπολυμερές ακρυλονιτρίλιου βουταδιένιου στυρόλιου,CNT/PLA: νανοσωληνάς άνθρακα (carbon nanotube)/ πολυλακτικό οξύ, Ni-G/PLA: Ni(OH)<sub>2</sub> μικροσωματίδια ενσωματωμένα στο γραφένιο / πολυλακτικό οξύ, ηG/PLA: νανογραφίτης / πολυλακτικό οξύ.

**Μορφοποίηση:** EDC: Υδροχλωρικό N-(3-Διμεθυλαμινοπροπυλ)-N'-αιθυλοκαρβοδιιμίδιο, NHS: N-υδροξυηλεκτριμίδιο άλας νατρίου, PEDOT/EtOH: πολυ(3,4-αιθυλενοδιοξυθειοφαίνιο) που λαμβάνεται με πολυμερισμό σε αιθανόλη, PEDOT/EtOH: πολυ(3,4-αιθυλενοδιοξυθειοφαίνιο) που λαμβάνεται με πολυμερισμό σε υδατικό διάλυμα, Au-NPs: νανοσωματίδια χρυσού.

**Αναλυτική Τεχνική:** CA: χρονοαμπερομετρία , CV: κυκλική βολταμμετρία, EIS: Ηλεκτροχημική Φασματοσκοπία Εμπέδησης, DPV: διαφορική παλμική βολταμμετρία, SWV: βολταμμετρία τετραγωνικού παλμού

### **3.5 Επεξεργασία της επιφάνειας των ηλεκτροδίων που έχουν κατασκευαστεί με τρισδιάστατη εκτύπωση**

Τα ηλεκτρόδια που κατασκευάζονται από νημάτια χρειάζονται συχνά επεξεργασία της επιφάνειας τους, επειδή το αγώγιμο υλικό (άνθρακας) καλύπτεται από το θερμοπλαστικό υλικό (PLA, ABS). Για το σκοπό αυτό πολλές στρατηγικές ενεργοποίησης έχουν εφαρμοστεί, όπως χημικές και ηλεκτροχημικές για τη μερική απομάκρυνση του μη αγώγιμου πολυμερούς που υπάρχει στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Επιπλέον, έχουν προταθεί και εναλλακτικές τεχνικές που δεν χρησιμοποιούν αντιδραστήρια και είναι φιλικότερες στο περιβάλλον όπως η μηχανική στίλβωση <sup>(45,54)</sup>, η θερμική επεξεργασία<sup>(59)</sup> και η ενεργοποίηση με λέιζερ CO<sub>2</sub><sup>(77)</sup>. Με τους τρόπους αυτούς βελτιώνεται η ηλεκτροχημική απόκριση των τρισδιάστατα εκτυπωμένων ηλεκτροδίων, όμως υπάρχουν και κάποια μειονεκτήματα, όπως ότι οι συγκεκριμένες διαδικασίες είναι χρονοβόρες και χρησιμοποιούν υψηλού κόστους εξοπλισμό ή τοξικούς οργανικούς διαλύτες.

#### **3.5.1 Χημική και ηλεκτροχημική επεξεργασία της επιφάνειας τρισδιάστατα εκτυπωμένων ηλεκτροδίων.**

Έχουν γίνει πολλές προσπάθειες χημικής ενεργοποίησης της επιφάνειας των ηλεκτροδίων. Οι προσπάθειες αυτές αφορούσαν κυρίως ηλεκτρόδια κατασκευασμένα από νημάτια που περιέχουν γραφίτη (G/PLA) καθώς πριν την χημική ενεργοποίηση τους παρουσίαζαν πολύ χαμηλή ηλεκτροχημική απόκριση. Τα ηλεκτρόδια εκτυπωμένα από νημάτιο G/PLA, τοποθετούνται σε οργανικό διαλύτη, κυρίως διμέθυλο φορμαμίδιο (DMF) ή ακετόνη για περίπου 10 λεπτά, προκειμένου να απομακρυνθεί το PLA <sup>(62,78)</sup>. Ακόμα έχει δοκιμαστεί ο συνδυασμός χημικής ενεργοποίησης και μηχανικής στίλβωσης. Ένας άλλος τρόπος είναι η ηλεκτροχημική ενεργοποίηση, με κυκλική βολταμετρία από 0 έως -1.8 V με εφαρμογή δυναμικού +1.8 V (vs. SCE) για 900 sec και στη συνέχεια εφαρμογή δυναμικού -1.8 V για 50 sec <sup>(41,63)</sup>.

Ανάλογη ενεργοποίηση λαμβάνει χώρα με τη χρήση NaOH, μπορεί να απομακρύνει το επιφανειακό στρώμα PLA. Μετά τη μερική απομάκρυνση του

PLA, τα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτρόδια παρουσιάζουν αυξημένη αγωγιμότητα.

Τα βολταμετρικά χαρακτηριστικά των 3D ηλεκτροδίων που περιέχουν αιθάλη (CB/PLA) παρουσίασαν βελτίωση όταν εφαρμόστηκε χημική και ηλεκτροχημική ενεργοποίηση σε αλκαλικό περιβάλλον. Συγκεκριμένα, έγινε χρήση αλκαλικού ηλεκτρολύτη (NaOH) και η εφαρμογή δυναμικού +1.4 V για 200 sec, ακολουθούμενη από εφαρμογή καθοδικού δυναμικού -1.0 V για 200 sec. Η χημική ενεργοποίηση απομακρύνει μερικώς το PLA ενώ η ηλεκτροχημική ενεργοποίηση προκαλεί αλλαγές στην δραστική επιφάνεια του ηλεκτροδίου, με αποτέλεσμα να βελτιώνεται τόσο η μεταφορά ηλεκτρονίων όσο και η αλληλεπίδραση του ηλεκτροδίου με τον αναλύτη <sup>(46,49)</sup>.

Πολλά πρωτόκολλα ενεργοποίησης ηλεκτροδίων κατασκευασμένα από G/PLA έχουν προταθεί, μεταξύ των οποίων είναι η βιοκαταλυτική ενεργοποίηση. Το PLA είναι βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές, όποτε μπορεί να απομακρυνθεί από την επιφάνεια των ηλεκτροδίων μέσω επώασης ενζύμων, όπως η πρωτεϊνάση K. Το μειονέκτημα αυτής της τεχνικής είναι ο χρόνος που απαιτείται για την επώαση του ενζύμου και το γεγονός πως η δραστικότητα των ενζύμων επηρεάζεται από το pH, τη θερμοκρασία, την υγρασία, αλλά και την παρουσία ιόντων στα δείγματα <sup>(79)</sup>.

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τα ηλεκτροαναλυτικά χαρακτηριστικά των ηλεκτροδίων είναι οι παράμετροι της εκτύπωσης <sup>(37,80)</sup>. Προφανώς σημαντικός παράγοντας είναι και σύσταση του νηματίου που χρησιμοποιείται.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### Σκοπός εργασίας

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η ανάπτυξη χαμηλού κόστους ολοκληρωμένων ηλεκτροχημικών διατάξεων, εξ ολοκλήρου κατασκευασμένων με τρισδιάστατη εκτύπωση (3D printing) και συγκεκριμένα με μοντελοποίηση συντυγμένης εναπόθεσης (FDM). Η ανάπτυξη βολταμμετρικών και αμπερομετρικών αισθητήρων, σε μορφή ολοκληρωμένης ενσωματωμένης διάταξης τριών ηλεκτροδίων οδηγεί σε πλήρως αυτόνομους λειτουργικούς αισθητήρες, χωρίς την ανάγκη χρήσης εξωτερικών ηλεκτροδίων, καθιστώντας τέτοιες διατάξεις κατάλληλες για αναλύσεις στο πεδίο ανάγκης <sup>(81,82)</sup>. Μέχρι τώρα στη βιβλιογραφία οι συνηθέστερες τεχνικές που έχουν χρησιμοποιηθεί στην κατασκευή ολοκληρωμένων ηλεκτροχημικών διατάξεων είναι κυρίως η εκτύπωση με πλέγματα (screen-printing) <sup>(83,84)</sup> η εκτύπωση ψεκασμού μελάνης (inkjet printing)<sup>(85,86)</sup> η καθοδική ιοντοβολή (sputtering) <sup>(87,88)</sup> και η έγχυση με εκμαγείο<sup>(89)</sup>. Όμως οι συγκεκριμένες τεχνικές κατασκευής απαιτούν εργαστηριακούς χώρους, υψηλού κόστους οργανολογία και εξειδικευμένο προσωπικό. Από την άλλη πλευρά, η τρισδιάστατη εκτύπωση ξεπερνά αυτά τα μειονεκτήματα, παρέχοντας οικιακού τύπου φορητή και φθηνή οργανολογία, και είναι ιδανική στην κατασκευή ολοκληρωμένων ηλεκτροχημικών αισθητήρων.

Στην παρούσα διατριβή οι τρισδιάστατα εκτυπωμένες ολοκληρωμένες διατάξεις κατασκευάστηκαν σε ένα στάδιο από 3D εκτυπωτή δύο κεφαλών, και αποτελούνται από μικροκυψελίδα (εκτυπωμένη από μη αγώγιμο νήμα) με ενσωματωμένους τρεις αισθητήρες (εκτυπωμένους από αγώγιμο νήμα). Το μέγεθος τους είναι αρκετά μικρό επιτρέποντας το χειρισμό μικρών όγκων δειγμάτων και αντιδραστηρίων της κλίμακας των μικρολίτρων (μL). Συγκεκριμένα, κατασκευάστηκαν 3D printed διατάξεις και αναπτύχθηκαν ηλεκτροχημικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό φαρμακευτικών ουσιών όπως κουατεπίνης και κολχικίνης, όπως επίσης και για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό της παρακεταμόλης και καφεΐνης. Αναπτύχθηκαν 3D printed διατάξεις και μέθοδοι προσδιορισμού βαρέων μετάλλων όπως υδράργυρου και καδμίου καθώς και για τον προσδιορισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου.

Κατασκευάστηκε 3D printed μικροβιοαισθητήρας και αναπτύχθηκε μέθοδος για τον προσδιορισμό της Γ-αντιδρώσας πρωτεΐνης, με χρήση κβαντικών κουκίδων ως ιχνηθέτες , καθώς και εύκαμπτος 3D printed φορετός αισθητήρας σε μορφή δακτυλιδιού κατάλληλος για τον προσδιορισμό γλυκόζης σε βιολογικά υγρά.



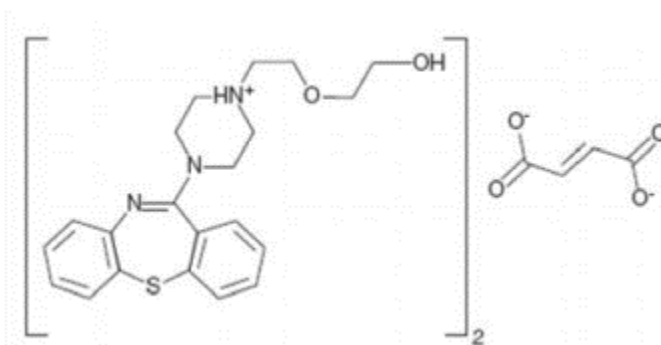
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### Ουσίες που προσδιορίστηκαν με τις τρισδιάστατα εκτυπωμένες διατάξεις

#### 5.1 Φαρμακευτικές ουσίες

##### 5.1.1 Φουμαρική κουετιαπίνη

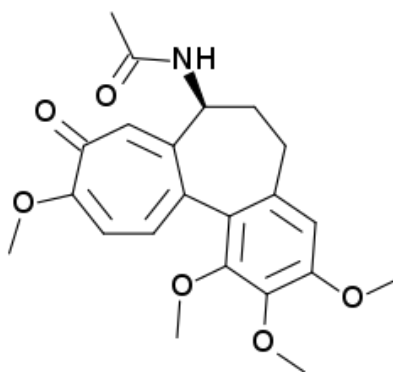
Η φουμαρική κουετιαπίνη (QF) είναι αντιψυχωσικό φάρμακο διβενζοαιθειαζεπίνης, χημικά γνωστή ως 2-[2-(4-διβενζο[b,f][1,4]θειαζεπιν-11-υλ-1-πιπεραζινυλ)αιθοξυ]ημιφουμαρική αιθανόλη, ο συντακτικός της τύπος φαίνεται στο **σχήμα 22**. Η QF λειτουργεί ως ανταγωνιστής διαφόρων νευροδιαβιβαστών, όπως η σεροτονίνη και η νορεπινεφρίνη και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της σχιζοφρένειας, ενώ χορηγείται για την θεραπεία της διπολικής διαταραχής τύπου I και II <sup>(90)</sup>.



**Σχήμα 22:** Συντακτικός τύπος της QF.

##### 5.1.2 Κολχικίνη

Η κολχικίνη είναι αλκαλοειδές που απομονώνεται από το φυτό *Colchicum Autumnale* και χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της ουρικής αρθρίτιδας, αλλά παρουσιάζει και αντιφλεγμονώδη δράση. Είναι κίτρινη σκόνη, χωρίς οσμή, η οποία σκουραίνει όταν εκτεθεί στο φως. Ο μηχανισμός δράσης της κολχικίνης δεν έχει πλήρως κατανοηθεί ακόμα. Η πλήρης ονομασία της σύμφωνα με την ονοματολογία κατά IUPAC είναι N-[(7S)-1,2,3,10-τετραμεθοξυ-9-οξο-6,7-διυδρο-5H-βενζο[α]επταλεν-7-υλο]ακεταμίδιο. Στο **σχήμα 23** παρουσιάζεται ο συντακτικός τύπος της κολχικίνης.



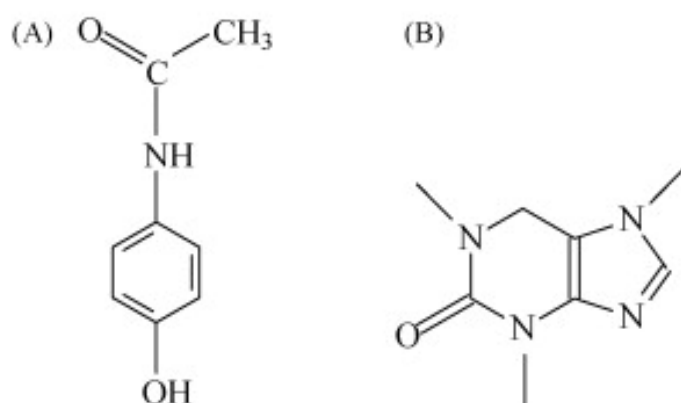
**Σχήμα 23:** Συντακτικός τύπος κολχικίνης .

Η πρόσληψη κολχικίνης μπορεί να εμφανίσει τοξικότητα, ειδικά σε μεγάλες ποσότητες, η οποία μπορεί να προκαλέσει και θάνατο. Συγκεκριμένα, η θανατηφόρα δόση για έναν μέσο άνθρωπο είναι γύρω στα 65mg. Περιστατικά σοβαρής τοξικότητας από τη χρήση φαρμακευτικών σκευασμάτων έχουν παρατηρηθεί μόνο σε ασθενείς που λάμβαναν κολχικίνη σε ενέσιμη μορφή, για την αντιμετώπιση οξείας ουρικής αρθρίτιδας. Γενικά, η πιο συνήθης παρενέργεια από την πρόσληψη κολχικίνης είναι η διάρροια, η οποία εμφανίζεται στο 23% των ασθενών <sup>(91-99)</sup>.

Η κολχικίνη θεωρήθηκε ότι μπορούσε να μειώσει τα συμπτώματα από τη νόσο covid-19, καθώς είναι αντιφλεγμονώδης ουσία. Πολλές έρευνες δημοσιεύθηκαν και δοκιμαστικές σε πειραματικό στάδιο η συγκεκριμένη ουσία. <sup>(99,100)</sup>

### 5.1.3 Παρακεταμόλη και καφεΐνη

Η παρακεταμόλη ή ακεταμινοφαίνη (κατά IUPAC ονομασία: N-(4-υδροξυφαινυλ)ακεταμίδιο ) (**σχήμα 22**), είναι ουσία που χρησιμοποιείται ευρέως σε φαρμακευτικά σκευάσματα. Αποτελεί εναλλακτική ουσία για τους ασθενείς που έχουν ευαισθησία στην ασπιρίνη<sup>(101,102,103,104)</sup>. Χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τον Von Meiring το 1893 και έχει καθιερωθεί ως αντιπυρετικό και αναλγητικό <sup>(105)</sup>. Επιπλέον, έχει αποδειχτεί ότι μειώνει τα συμπτώματα της νόσου Covid-19 <sup>(106)</sup>. Όπως οι περισσότερες φαρμακευτικές ουσίες, η παρακεταμόλη μπορεί να προκαλέσει παρενέργειες. Η τοξικότητα της οφείλεται στους μεταβολίτες της που μπορούν να προκαλέσουν μετουσίωση πρωτεϊνών, υπεροξειδωση λιπιδίων ή ακόμα και μεταλλάξεις στο DNA <sup>(107)</sup>.



**Σχήμα 24:** Συντακτικός τύπος της παρακεταμόλης (A) και της καφεΐνης (B) .

Η καφεΐνη (κατά IUPAC ονομασία: 3,7-διυδρο-1,3,7-τριμεθυλ-1H-πουρινο-2,6-διόνη) (**σχήμα 24**) είναι ένα φυσικό αλκαλοειδές που ανήκει στα παράγωγα της N-μεθυλο-ξανθίνης. Λόγω της μεγάλης δημοτικότητας του καφέ και των άλλων προϊόντων που περιέχουν καφεΐνη (αναψυκτικά τύπου κόλα, τσάι, ενεργειακά ποτά, κακάο, σοκολάτα), η καφεΐνη είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη ψυχοδραστική ουσία στην καθημερινή ζωή του ανθρώπου. Η καφεΐνη απαντάται, επίσης, στα φυτά όπου λειτουργεί ως φυσικό εντομοκτόνο, δεδομένου ότι μπορεί να παραλύσει και να σκοτώσει έντομα που τρέφονται με το φυτό. Στο άνθρωπο προκαλεί διέγερση του κεντρικού νευρικού συστήματος, διούρηση και έκκριση γαστρικού οξέος. Ωστόσο, οι υψηλές ποσότητες καφεΐνης μπορεί να προκαλέσουν τρέμουλο, ναυτία, νευρικότητα, σπασμούς (επιληπτικές κρίσεις) και μεταλλαξιγόνες επιδράσεις, όπως αναστολή του DNA. Η θανατηφόρα δόση καφεΐνης έχει εκτιμηθεί ότι είναι περισσότερο από 10 g (περίπου 170 mg kg<sup>-1</sup> σωματικού βάρους). Επίσης, θεωρείται ότι είναι επικίνδυνη για καρδιαγγειακές παθήσεις, δυσλειτουργία των νεφρών και μπορεί να προκαλέσει υπερδραστηριότητα. Συνήθως, συνταγογραφείται ως αναλγητικό πρόσθετο σε φαρμακευτικά σκευάσματα για τη θεραπεία της κεφαλαλγίας και του πόνου <sup>(108)</sup>.

## 5.2 Υδράργυρος και κάδμιο

Τα βαρέα μέταλλα είναι από τους κυριότερους ρυπογόνους παράγοντες των οικολογικών συστημάτων και μπορούν να προκαλέσουν

πολλά προβλήματα υγείας στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα μέταλλα δεν αφομοιώνονται, λόγω της αδυναμίας των οργανισμών να τα «αναγνωρίσουν», ούτε όμως αποβάλλονται από το σύστημα των οργανισμών και κατά συνέπεια συσσωρεύονται εκλεκτικά σε ορισμένους ιστούς (συκώτι, νεφρά), εμφανίζοντας έτσι υψηλές συγκεντρώσεις. Οι κυριότερες δράσεις τους είναι νεφροτοξικές. Ο υδράργυρος είναι από τα πιο τοξικά βαρέα μέταλλα ο οποίος βιοσυσσωρεύεται στους ιστούς, προκαλώντας βλάβες στα νεφρά, το στομάχι, τους πνεύμονες, την καρδιά και τον εγκέφαλο. Το κάδμιο προκαλεί αποφρακτική πνευμονοπάθεια, εμφύσημα, νεφρικές βλάβες, βλάβες του καρδιαγγειακού και μυοσκελετικού συστήματος, καρκίνο των οργάνων αναπαραγωγής και των πνευμόνων <sup>(109-112)</sup>.

### **5.3 Βιοδείκτες**

#### **5.3.1 Γ-αντιδρώσα πρωτεΐνη**

Η Γ-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) είναι πρωτεΐνη που συντίθεται στο ήπαρ και είναι καθοριστικός παράγοντας στην κλινική διάγνωση, καθώς είναι δείκτης φλεγμονής που υποδηλώνει λοίμωξη του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο και συνδέεται με τον αιφνίδιο καρδιακό θάνατο. Στα κλινικά εργαστήρια, η μέτρηση της CRP γίνεται συνήθως με ανοσοενζυμικές μεθόδους τύπου ELISA.

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί και άλλες μέθοδοι προσδιορισμού της CRP όπως μέσω συντονισμού επιφανειακού πλασμονίου, πιεζοηλεκτρικού φαινομένου, φθορισμού και ηλεκτροχημικών τεχνικών. Οι ηλεκτροχημικές ανοσοδοκιμές έχουν λάβει μεγάλη προσοχή χάρη στην υψηλή ευαισθησία, την ευελιξία και το χαμηλό κόστος τους. Η πλειονότητα των υφιστάμενων ηλεκτροχημικών δοκιμασιών CRP περιλαμβάνει χωρητικούς ή αισθητήρες εμπέδησης, οι οποίοι παρά την αναλυτική τους απλότητα (χωρίς επισήμανση), δεν έχουν ικανοποιητική αναπαραγωγιμότητα και, ως εκ τούτου, η χρήση τους σε αναλύσεις ρουτίνας είναι περιορισμένη.

Ο προσδιορισμός της CRP μπορεί να γίνει και με ανοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία, καθώς ανιχνεύονται μεταλλικά κατιόντα που απελευθερώνεται από τους μεταλλικούς ιχνηθέτες, όπως είναι οι κβαντικές κουκκίδες (QDs).

Οι κβαντικές κουκίδες είναι νανοκρυσταλικές δομές που περιέχουν μέταλλικά άλατα (όπως PbX, CdX, ZnX (X:S, Se, Te)) και έχουν μέγεθος από 1-20 nm. Το μικρό μέγεθος και οι ηλεκτροχημικές τους ιδιότητες τις καθιστά κατάλληλες για την επισήμανση βιομορίων. Μετά το στάδιο της εκλεκτικής δέσμευσης του επισημασμένου με κβαντικές κουκίδες μοριακού ανιχνευτή από τον αναλύτη, ακολουθεί διαλυτοποίηση των κβαντικών κουκίδων (με προσθήκη κατάλληλου οξέος) και η απελευθέρωση του μετάλλου των κβαντικών κουκίδων υπό τη μορφή του αντίστοιχου κατιόντος. Το κατιόν προσδιορίζεται με υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα με την τεχνική της ανοδικής αναδιαλυτικής βολταμμετρίας. Η ποσότητα του παραγόμενου ρεύματος είναι γραμμική συνάρτηση της ποσότητας του απελευθερωμένου μεταλλοκατιόντος και άρα της ποσότητας του δεσμευμένου ανιχνευτή και, τελικά, της ποσότητας του βιομορίου-στόχου <sup>(113-115)</sup>.

### 5.3.2 Υπεροξειδίο του υδρογόνου

Το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> αποτελεί παραπροϊόν της αερόβιας ζωής των έμβιων όντων και αποτελεί μέρος της αλυσίδας των αντιδράσεων του οξυγόνου σε οξειδοαναγωγικές φυσιολογικές λειτουργίες (ενζυμικές και μη). Λόγω της οξειδωτικής του δράσης, το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> όπως και άλλες δραστικές οξυγονούχες ενώσεις (Reactive Oxygen Species, ROS) αρχικά θεωρούνταν ως βλαβερά παραπροϊόντα. Ωστόσο, το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> είναι απαραίτητο στην κυτταρική λειτουργία διότι είναι ιδανικό για τη ρύθμιση της μεταγωγής βιολογικών σημάτων μέσω αλυσίδας αντιδράσεων φωσφορυλίωσης ή αποφωσφορυλίωσης που καταλύονται από πρωτεϊνικές κινάσες και φωσφατάσες. Το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> είναι το υποπροϊόν πολυάριθμων ενζυμικών αντιδράσεων και η μέτρησή του χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό σημαντικών βιοδεικτών, όπως είναι η γλυκόζη, το γαλακτικό οξύ, η χοληστερόλη και άλλα <sup>(73)</sup>.

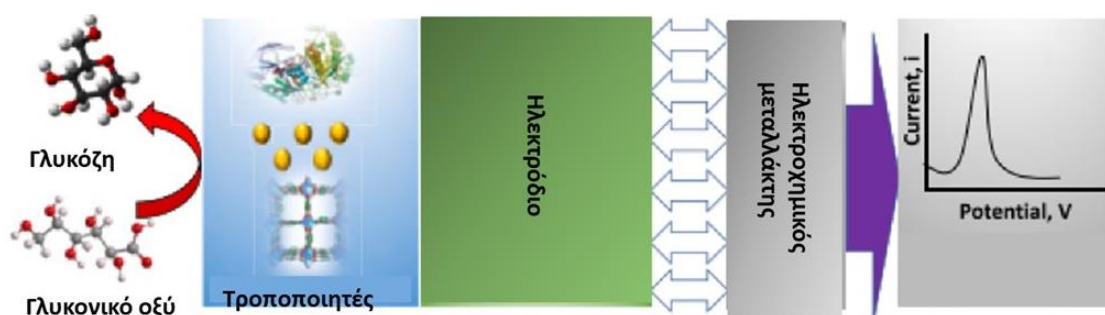
Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Οι δύο κατηγορίες αισθητήρων που χρησιμοποιούνται συνήθως σε βιολογικά δείγματα είναι αισθητήρες ανίχνευσης φωτός και ηλεκτροχημικοί αισθητήρες. Ένας ηλεκτροχημικός αισθητήρας H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> οξειδώνει ή ανάγει το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Υπάρχουν δύο είδη αισθητήρων: οι ποτενσιομετρικοί που μετρούν το δυναμικό ενώ το ρεύμα είναι

μηδενικό και οι αμπερομετρικοί που μετρούν το ρεύμα ενώ διατηρείται το δυναμικό σταθερό<sup>(116-119)</sup>.

### 5.3.3 Γλυκόζη

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), ο διαβήτης προβλέπεται πως θα είναι η 7η αιτία θανάτου παγκοσμίως έως το 2030. Το 2016 καταγράφηκαν περίπου 1,6 εκατομμύρια θάνατοι λόγω διαβήτη και το 2012 καταγράφηκαν 2,2 εκατομμύρια θάνατοι λόγω του υψηλού επιπέδου γλυκόζης στο αίμα<sup>(120)</sup>. Ο διαβήτης προκαλείται από την ανεπάρκεια παραγωγής ινσουλίνης, η οποία μπορεί να οφείλεται είτε στην καταστροφή των β κυττάρων του παγκρέατος (διαβήτης τύπου I ή νεανικός διαβήτης) είτε στην αντίσταση των κυττάρων-στόχων στην ινσουλίνη (διαβήτης τύπου II ή διαβήτης ενηλίκων). Οι αιτίες του διαβήτη είναι πολυπαραγοντικές και περιλαμβάνουν τόσο γενετικούς όσο και περιβαλλοντικούς παράγοντες <sup>(121)</sup>.

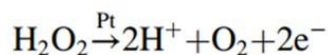
Ο ευκολότερος και οικονομικότερος τρόπος διάγνωσης και πρόγνωσης των διαβητικών ασθενών είναι η ακριβής ανίχνευση των επιπέδων γλυκόζης χρησιμοποιώντας εύχρηστους, φορητούς αισθητήρες γλυκόζης. Προς αυτό το σκοπό, διάφορες μέθοδοι προσδιορισμού έχουν αναπτυχθεί, βασισμένες σε τεχνικές όπως ο φθορισμός, η φασματοσκοπία UV-vis, η φασματομετρία μάζας καθώς και σε ηλεκτροχημικές τεχνικές <sup>(122-126)</sup>.



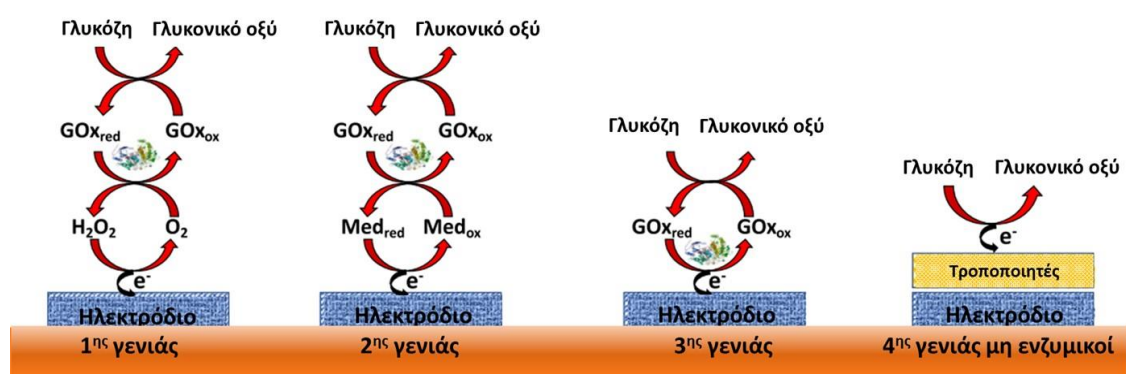
**Σχήμα 25:** Σχηματική αναπαράσταση ενός ηλεκτροχημικού αισθητήρα γλυκόζης <sup>(137)</sup>.

Ο ηλεκτροχημικός αισθητήρας γλυκόζης μετατρέπει τη γλυκόζη σε ένα ποσοτικοποιήσιμο ηλεκτρικό σήμα, συνήθως ρεύμα ή τάση<sup>(18)</sup> (**σχήμα 25**). Ο Leland C. Clark παρουσίασε τον πρώτο αισθητήρα γλυκόζης το 1962, ο οποίος βασίστηκε στην ακινητοποίηση της οξειδάσης της γλυκόζης (GOx) σε

ηλεκτρόδιο Pt. Η αρχή λειτουργίας του περιγράφεται στο **σχήμα 26** (1<sup>ης</sup> γενιάς) και βασίζεται στις ακόλουθες αντιδράσεις:



Το GOx καταλύει την οξείδωση της γλυκόζης από μοριακό O<sub>2</sub> προς γλυκονικό οξύ και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Το παραγόμενο H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> οξειδώνεται στο ηλεκτρόδιο Pt και το ηλεκτρικό σήμα που λαμβάνεται είναι ανάλογο με την ποσότητα της γλυκόζης που υπάρχει στο δείγμα. Ο αισθητήρας γλυκόζης 1<sup>ης</sup> γενιάς έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την αυτοπαρακολούθηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα σε φυσιολογικό pH. Παρόλο που ο αισθητήρας γλυκόζης του Clark είναι ειδικός ως προς την οξείδωση γλυκόζης, ο μηχανισμός ανίχνευσης του επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τη συγκέντρωση του O<sub>2</sub>. Συνεπώς, η διακύμανση της υγρασίας και η περιορισμένη διαλυτότητα του O<sub>2</sub> μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την απόδοση του αισθητήρα γλυκόζης 1<sup>ης</sup> γενιάς (125).



**Σχήμα 26:** Αρχή λειτουργίας των ηλεκτροχημικών αισθητήρων γλυκόζης (137).

Για να ξεπεραστεί αυτός ο περιορισμός, αναπτύχθηκε ο αισθητήρας γλυκόζης 2<sup>ης</sup> γενιάς (**σχήμα 26**) αντικαθιστώντας το O<sub>2</sub> με ένα οξειδοαναγωγικό διαμεσολαβητή (mediator) που μπορεί να μεταφέρει ηλεκτρόνια από το GOx στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου ανίχνευσης. Ο οξειδοαναγωγικός διαμεσολαβητής μπορεί να είναι είτε σε μορφή διαλύματος (solution-state mediator) ο οποίος μπορεί να διαχέεται εντός και εκτός της ενεργού θέσης του ενζύμου είτε ακινητοποιημένος και προσαρμοσμένος απευθείας στο ένζυμο. Οι αποτελεσματικοί διαμεσολαβητές για τα GOx

περιλαμβάνουν παράγωγα σιδηροκυανίου, οργανικά άλατα, σιδηροκυανιούχα, κινόνη, σύμπλοκα μεταβατικών μετάλλων και ενώσεις φαινοθειαζίνης και φαινοξαζίνης.

Η καταλυτική διαδικασία των βιοαισθητήρων γλυκόζης 2<sup>ης</sup> γενιάς περιλαμβάνει τα ακόλουθα τρία στάδια: (α) τη μεταφορά ηλεκτρονίων (και πρωτονίων) από τη γλυκόζη στα δύο κέντρα αντίδρασης FAD των GOx, τα οποία ανάγονται σε FADH<sub>2</sub>, (β) τη μεταφορά ηλεκτρονίων από τα κέντρα FADH<sub>2</sub> στους διαμεσολαβητές (έτσι οι διαμεσολαβητές μετασχηματίζονται από Med<sub>ox</sub> στην ανοιγμένη μορφή τους Med<sub>red</sub>) και (γ) τη μεταφορά ηλεκτρονίων μέσω των διαμεσολαβητών στο ηλεκτρόδιο. Τα σήματα που παράγονται από την οξειδωση του Med<sub>red</sub> χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της γλυκόζης. Επομένως, η αποτελεσματική αλληλεπίδραση μεταξύ των διαμεσολαβητών και των ενζύμων είναι απαραίτητη για την πραγματοποίηση της αντίδρασης μεταξύ των οξειδοαναγωγικών ενεργών κέντρων GOx και του ηλεκτροδίου.

Στη συνέχεια, αναπτύχθηκε αισθητήρας γλυκόζης 3<sup>ης</sup> γενιάς (**σχήμα 26**), ο οποίος βασίζεται στη μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ του GOx και της επιφάνειας ανίχνευσης, ξεπερνώντας έτσι την αναγκαιότητα ύπαρξης τόσο του διαμεσολαβητή όσο και του O<sub>2</sub>. Η άμεση μεταφορά ηλεκτρονίων, συμβάλει στην ανίχνευση της γλυκόζης σε δυναμικό λίγο θετικότερο από το δυναμικό οξειδωσης του GOx (περίπου - 0.50 V vs. Ag/AgCl). Η μεταφορά των ηλεκτρονίων εξαρτάται από την απόσταση μεταξύ του οξειδοαναγωγικού συμπάραγοντα και της επιφάνειας του ηλεκτροδίου. Η μέθοδος είναι αποτελεσματική στην αναγωγή των ενζύμων στα ηλεκτρόδια αλλά οι περίπλοκες διαδικασίες αναστέλλουν την ευρεία χρήση της στην πράξη <sup>(182)</sup>.

Οι αισθητήρες γλυκόζης 2<sup>ης</sup> και 3<sup>ης</sup> γενιάς που βασίζονται σε GOx μπορούν να ξεπεράσουν με επιτυχία τα προβλήματα που προκύπτουν με την ύπαρξη O<sub>2</sub> και έχουν μεγάλη ακρίβεια. Το μειονέκτημα τους ωστόσο είναι ότι δεν είναι σταθεροί, εξαιτίας της μείωσης της βιολογικής δραστηριότητας του ενζύμου <sup>(126)</sup>. Στην πραγματικότητα, το ένζυμο GOx έχει χαμηλή σταθερότητα και απαιτεί πολύπλοκες διαδικασίες ακινητοποίησης στην επιφάνεια του αισθητήρα. Επιπλέον, καταστρέφεται σε θερμοκρασία >40 °C, χάνει την



καταλυτική του δραστηριότητα σε pH 2,0 ή υψηλότερο από pH 8,0 και μπορεί να επηρεαστεί από επιφανειοδραστικές ουσίες με ορισμένο pH.

**Πίνακας 7:** Κατηγοριοποίηση των ενζυμικών βιοαισθητήρων γλυκόζης <sup>(181)</sup>.

Κατηγορία	Χαρακτηριστικά
1 <sup>ης</sup> γενιάς	Βασισμένοι στον αισθητήρα που σχεδίασαν οι Clark και Lyons Σχηματισμός υπεροξειδίου του υδρογόνου Οξυγόνο ως δέκτης ηλεκτρονίων Σφάλματα λόγω παρεμβολών από άλλα ηλεκτροενεργά είδη
2 <sup>ης</sup> γενιάς	Αντικατάσταση οξυγόνου ως δέκτη ηλεκτρονίων Εισαγωγή τεχνητού διαμεσολαβητή Περιορισμοί στη μεταφορά από το ενζυμικό ενεργό κέντρο στο ηλεκτρόδιο
3 <sup>ης</sup> γενιάς	Απουσία διαμεσολαβητή Άμεση μεταφορά μεταξύ ενζύμου και ηλεκτροδίου Χαμηλό δυναμικό λειτουργίας, υψηλότερη εκλεκτικότητα, μειωμένες παρεμποδίσεις

Πρόσφατα, έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον μη ενζυμικοί καταλυτές για τον προσδιορισμό της γλυκόζης, καθώς, μπορούν να υπερνικήσουν όλους τους περιορισμούς των αισθητήρων 1<sup>ης</sup>, 2<sup>ης</sup> και 3<sup>ης</sup> γενιάς. Οι αισθητήρες αυτοί είναι οι λεγόμενοι αισθητήρες 4<sup>ης</sup> γενιάς ή μη ενζυμικοί αισθητήρες (σχήμα 26).

Έχουν κατασκευαστεί πολλοί μη ενζυμικοί αισθητήρες για τον προσδιορισμό της γλυκόζης. Οι αισθητήρες αυτοί αποτελούνται από ηλεκτρόδια κατασκευασμένα από μέταλλα, κράματα, οξείδια μετάλλων, μεταλλικά σουλφίδια, κ.α. Το μειονέκτημα αυτών είναι ότι αδυνατούν να καταλύσουν την οξειδωση της γλυκόζης στις συνήθεις συνθήκες καθώς είναι αποτελεσματικοί μόνο σε αλκαλικό περιβάλλον. Αντίθετα, ηλεκτρόδια κατασκευασμένα από Pt και Au, παρουσιάζουν υψηλή καταλυτική δραστηριότητα σε ουδέτερο και όξινο pH <sup>(127-137)</sup>.

## **ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### Κατασκευή αισθητήρων

#### 6.1 Αντιδραστήρια και οργανολογία

- Μη αγώγιμο νήμα PLA διαμέτρου 1,75 mm (3D Edge)
- Αγώγιμο νήμα αιθάλης/PLA (CB/PLA) διαμέτρου 1,75 mm (Proto-Pasta)
- Αγώγιμο νήμα άνθρακα/ABS (C/ABS) διαμέτρου 1,75 mm (3D Edge)
- Αγώγιμο νήμα αιθάλης /PLA (CB/ABS) διαμέτρου 1,75 mm (Amolen)
- Μη αγώγιμο νήμα από θερμοπλαστικό πολυουρεθάνιο (TPU) διαμέτρου 1,75 mm (3D Edge)
- Τρισδιάστατος εκτυπωτής δύο κεφαλών Creator Pro (Flashforge)

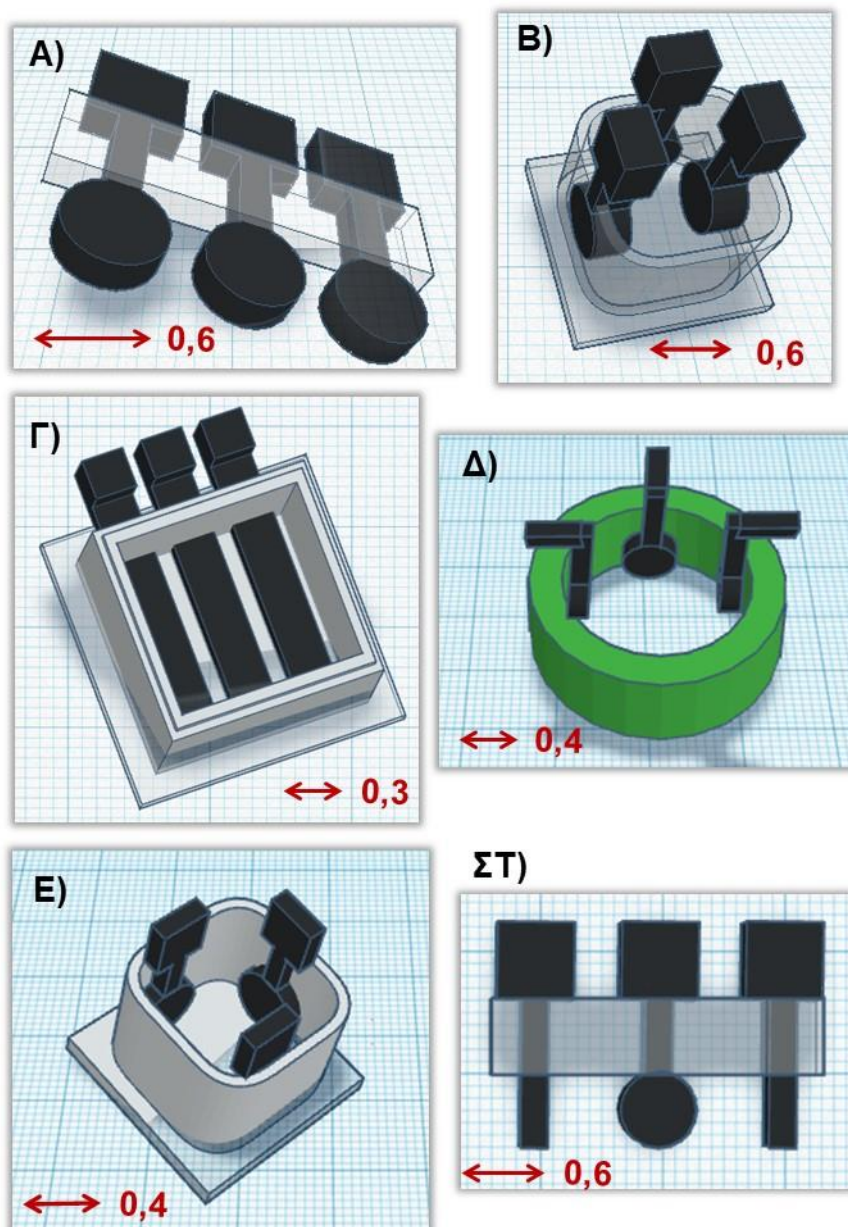


**Σχήμα 27:** Τρισδιάστατος εκτυπωτής δύο κεφαλών Creator Pro (Flashforge)

- Λογισμικό σχεδίασης Tinkercad (λογισμικού ανοιχτού κώδικα, διαθέσιμο δωρεάν στο διαδίκτυο <https://www.tinkercad.com> )
- Λογισμικό εκτύπωσης Flashprint (λογισμικού ανοιχτού κώδικα, διαθέσιμο δωρεάν στο διαδίκτυο <https://www.flashforge.com/download-center> )

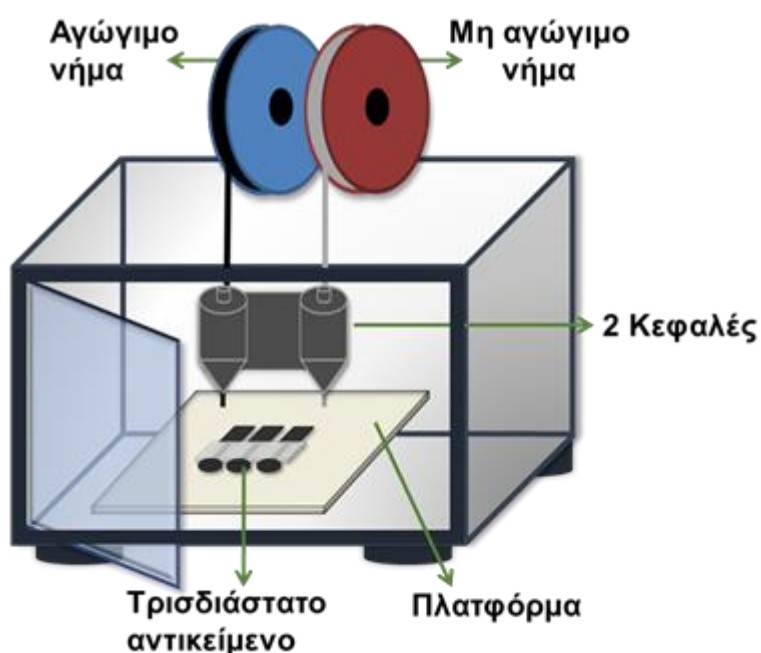
## 6.2 Σχεδίαση και κατασκευή των τρισδιάστατα εκτυπωμένων αισθητήρων

Οι διάταξεις σχεδιάστηκαν χρησιμοποιώντας το λογισμικό σχεδίασης Tinkercard το οποίο είναι λογισμικό σχεδίασης ανοιχτού κώδικα και είναι δωρεάν διαθέσιμο στο διαδίκτυο. Η διαδικασία σχεδιασμού δεν απαιτεί ιδιαίτερη εμπειρία και δεν είναι χρονοβόρα, στο **σχήμα 28** παρουσιάζεται το σχέδιο καθώς και οι διαστάσεις των αισθητήρων που κατασκευάστηκαν.



**Σχήμα 28:** Σχηματική αναπαράσταση των τρισδιάστατά εκτυπωμένων διατάξεων που κατασκευάστηκαν και οι διαστάσεις σε cm.

Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Flashforge προκειμένου να γίνει αποκωδικοποίηση του αρχείου STL και να προσδιοριστούν οι συνθήκες εκτύπωσης των αισθητήρων. Το αρχείο που δημιουργείται είναι σε μορφή x3g, το οποίο είναι συμβατό με τον τρισδιάστατο εκτυπωτή. Μεταφέρεται με τη βοήθεια κάρτας μνήμης SD σε κατάλληλη υποδοχή του εκτυπωτή (σχήμα 29) και ξεκινάει η διαδικασία της εκτύπωσης. Τέλος, η διάταξη συνδέεται με τον ποτενσιοστάτη με τη βοήθεια συνδέσμων (crocodile clips) προκειμένου να γίνουν οι ηλεκτροχημικές μετρήσεις.



**Σχήμα 29:** Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας της τρισδιάστατης εκτύπωσης χρησιμοποιώντας τρισδιάστατο εκτυπωτή δύο κεφαλών.

Ο κάθε αισθητήρας αποτελείται από τρία ηλεκτρόδια (ηλεκτρόδιο εργασίας-WE, ηλεκτρόδιο αναφοράς-RE, βοηθητικό ηλεκτρόδιο-CE), τα οποία είναι κατασκευασμένα από αγώγιμο νήμα CB/PLA ή CB/ABS και ένα στήριγμα (ή κυψελίδα), που είναι κατασκευασμένο από μη αγώγιμο νήμα PLA ή TPU. Το νήμα TPU, χρησιμοποιείται στην ιατρική βιομηχανία και παρουσιάζει εξαιρετικές μηχανικές ιδιότητες όπως ανθεκτικότητα και ευελιξία<sup>(138)</sup>. Επιλέχθηκε για την εκτύπωση της θήκης του αισθητήρα (Δ) προκειμένου να παρέχει την απαιτούμενη ευκαμψία για την εφαρμογή του αισθητήρα στα δάχτυλα.

Η επιλογή εμπορικώς διαθέσιμου νήματος αλλά και η επιλογή λογισμικών ανοιχτού κώδικα, έγινε με σκοπό την ηλεκτρονική μεταφορά της διάταξη (π.χ. μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου) καθώς και την εύκολη πρόσβαση από οποιονδήποτε διαθέτει τρισδιάστατο εκτυπωτή δύο κεφάλων. Η τελική γεωμετρία του κάθε αισθητήρα σχεδιάστηκε ώστε να είναι απλή, προκειμένου να διευκολυνθεί τόσο η σχεδίαση όσο και η εκτύπωση της. Ο συνήθης χρόνος κατασκευής είναι περίπου 10 min. Ενώ το τελικό κόστος των υλικών που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή κάθε αισθητήρα είναι περίπου 0,1-0,2 €. Οι συνθήκες εκτύπωσης προσδιορίστηκαν από το λογισμικό Flashforge και εξαρτώνται από την γεωμετρία του αισθητήρα και από τα νημάτια που χρησιμοποιήθηκαν:

- θερμοκρασία πλατφόρμας: 50 -100 °C,
- θερμοκρασία κεφαλής για την εκτύπωση νήματος PLA: 200 °C
- θερμοκρασία κεφαλής για την εκτύπωση νήματος ABS: 220 °C
- θερμοκρασία κεφαλής για την εκτύπωση νήματος TPU: 220 °C
- ταχύτητα εκτύπωσης 35-40 mm s<sup>-1</sup>

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### Ηλεκτροχημικές μετρήσεις

#### 7.1 Αντιδραστήρια

- Οξικό οξύ  $\text{CH}_3\text{COOH}$  99,7% (Panreac),  $M_r = 60,05$ ,  $d = 1,052 \text{ kg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $c \cong 17,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Ένυδρο οξικό νάτριο  $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (Laboratory BDH Reagent),  $M_r = 136,09$
- Χλωριούχο κάλιο  $\text{KCl}$  (Merck),  $M_r = 74,55$
- Σιδηροκυανιούχο κάλιο  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (Merck),  $M_r = 329,26$
- Διμεθυλογλουξίμη DMG -  $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$  (Merck),  $M_r = 116,12$
- Αμμωνία  $\text{NH}_3$  26% (Riedel – Dehaen),  $M_r = 17,03$ ,  $d = 0,91 \text{ kg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C \cong 14 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Υδροχλωρικό οξύ  $\text{HCl}$  37% (Merck),  $M_r = 36,5$ ,  $d = 0,91 \text{ kg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C \cong 12 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Ένυδρο δινάτριο άλας του αιθυλενοδιαμινοτετραοξικού οξέος EDTA,  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_2\text{Na}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , (Panreac)  $M_r = 372,24$
- Δισαππεσταγμένο νερό
- Οξειδάση γλυκόζης (GOx)  $100 \text{ U mg}^{-1}$  (Merck)
- Nafion 5% (w/w) σε αλκοόλη (Merck)
- Αιθανόλη (Merck)
- Γλυκόζη (Merck)
- Ιχθυέλαιο (εμπορικά διαθέσιμο)
- Εμφιαλωμένο νερό
- CRP (Ανθρώπινα υγρά, >99 %) (Scripps Laboratories)
- Δείγμα ούρων από υγιή ενήλικα εθελοντή
- Πολυκλωνικό αντι-CRP ( Scripps Laboratories).
- Μονοκλωνικό αντι-CRP (Medix Biochemica). Η βιοτινυλίωση του μονοκλωνικού αντι-CRP πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη βιβλιογραφία <sup>(88)</sup>.
- Αλβουμίνη βοδινού ορού (BSA) (Sigma Aldrich).

- Υδατικά διαλύματα Cd(II), Bi(III), Sb(III) παρασκευάστηκαν από πρότυπα διαλύματα ατομικής απορρόφησης 1000 mg L<sup>-1</sup>.
- Φαρμακευτικά δισκία που περιείχαν κατά μέσο όρο 25 mg κουαεταπίνη.
- Φαρμακευτικά δισκία που περιείχαν κατά μέσο όρο 500 mg παρακεταμόλης and 65 καφεΐνης.
- Φαρμακευτικά δισκία που περιείχαν κατά μέσο όρο 1 mg κολχικίνη.

### 7.1.1 Παρασκευή διαλυμάτων εργασίας

#### Ρυθμιστικό διάλυμα CH<sub>3</sub>COOH – CH<sub>3</sub>COONa 1 mol·L<sup>-1</sup>

Για την παρασκευή 1000 mL του παραπάνω ρυθμιστικού διαλύματος έγιναν τα εξής:

- I. Ζυγίστηκαν 136 g CH<sub>3</sub>COONa·3H<sub>2</sub>O (επομένως 82 g CH<sub>3</sub>COONa) και διαλύθηκαν σε δισαππεσταγμένο νερό.
- II. 57 mL CH<sub>3</sub>COOH 99,7% αναμίχθηκαν με δισαππεσταγμένο νερό.
- III. Ανάμιξη των παραπάνω υδατικών διαλυμάτων και προσθήκη δισαππεσταγμένου νερού μέχρι τελικού όγκου 1000 mL. Το προκύπτον ρυθμιστικό διάλυμα είχε pH 4,5.

#### Ρυθμιστικό διάλυμα NH<sub>3</sub> – NH<sub>4</sub>Cl 1 mol·L<sup>-1</sup>

Για την παρασκευή 1000 mL του παραπάνω ρυθμιστικού διαλύματος έγιναν τα εξής:

- I. 143 mL NH<sub>3</sub> 26% αναμίχθηκαν με δισαππεσταγμένο νερό.
- II. 83 mL HCl 37% αναμίχθηκαν με δισαππεσταγμένο νερό.
- III. Ανάμιξη των παραπάνω υδατικών διαλυμάτων και προσθήκη δισαππεσταγμένου νερού μέχρι τελικού όγκου 1000 mL. Το προκύπτον ρυθμιστικό διάλυμα είχε pH 9,2.

#### Ρυθμιστικό διάλυμα Britton – Robinson buffer (BRB)

Το ρυθμιστικό διάλυμα Britten-Robinson (BRB) παρασκευάστηκε με ανάμειξη φωσφορικού οξέος, οξικού οξέος και βορικού οξέος, ενώ χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 0,1 mol x L<sup>-1</sup> NaOH για την επίτευξη της επιθυμητής τιμής pH.

#### Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PB)

Παρασκευάστηκε με ανάμειξη Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> και NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> και η τιμή του pH ρυθμίστηκε με διάλυμα 0,1 mol x L<sup>-1</sup> HCl ή NaOH.



#### Υδατικό διάλυμα KCl 0,1 mol·L<sup>-1</sup>

Παρασκευάστηκε με ζύγιση κατάλληλης ποσότητας αντιδραστηρίου και διάλυσή του σε δισαππεσταγμένο νερό.

#### Υδατικό διάλυμα K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 0,1 mol·L<sup>-1</sup>

Παρασκευάστηκε με ζύγιση κατάλληλης ποσότητας αντιδραστηρίου και διάλυσή του σε δισαππεσταγμένο νερό.

Υδατικά διαλύματα μεταλλικών ιόντων Bi(III), Hg(II), Au(III), Sn(II), Cd(II), Pb(II), Cu(II), σε διάφορες συγκεντρώσεις παρασκευάστηκαν με αραιώσεις των πυκνότερων διαλυμάτων σε δισαππεσταγμένο νερό.

#### Υδατικό διάλυμα EDTA 2·10<sup>-3</sup> mol·L<sup>-1</sup>

Παρασκευάστηκε με ζύγιση κατάλληλης ποσότητας αντιδραστηρίου και διάλυσή του σε δισαππεσταγμένο νερό.

#### Αιθανολικά διαλύματα Nafion 2%, 1%, 0,5% και 0,25% w/v

Παρασκευάστηκαν με αραιώσεις των πυκνότερων διαλυμάτων σε αιθανόλη.

#### Τεχνητό πλάσμα αίματος

Το τεχνητό πλάσμα αίματος περιέχει: NaCl 116 mmol L<sup>-1</sup>, CaCl<sub>2</sub> 1,8 mmol L<sup>-1</sup>, KCl 5,4 mmol L<sup>-1</sup>, MgCl<sub>2</sub> 0,5 mmol L<sup>-1</sup>, NaHCO<sub>3</sub> 26 mmol L<sup>-1</sup>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,9 mmol L<sup>-1</sup> και NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,2 mmol L<sup>-1</sup> (139).

#### Τεχνητός ιδρώτας

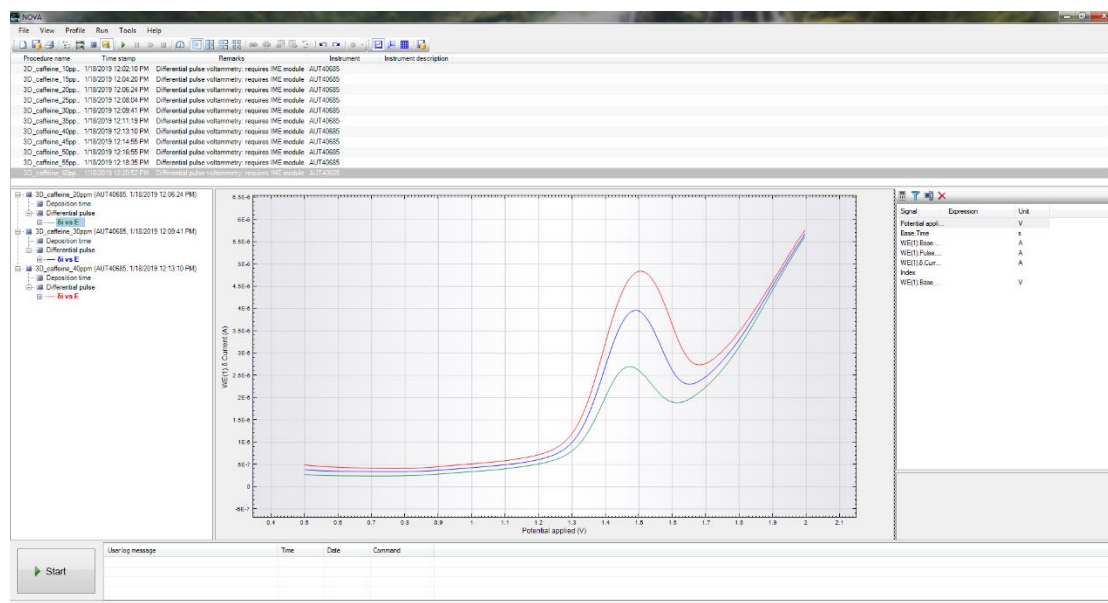
Ο τεχνητός ιδρώτας περιέχει 3 mmol L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>Cl, 50 μmol L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0.4 mmol L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>, 80 mmol L<sup>-1</sup> NaCl, 8 mmol L<sup>-1</sup> KCl, and 25 μmol L<sup>-1</sup> ουρικό οξύ, 22 mmol L<sup>-1</sup> ουρία, 5.5 mmol L<sup>-1</sup> γαλακτικό οξύ και γλυκόζη σε διάφορες συγκεντρώσεις (140).

## **7.2 Οργανολογία**

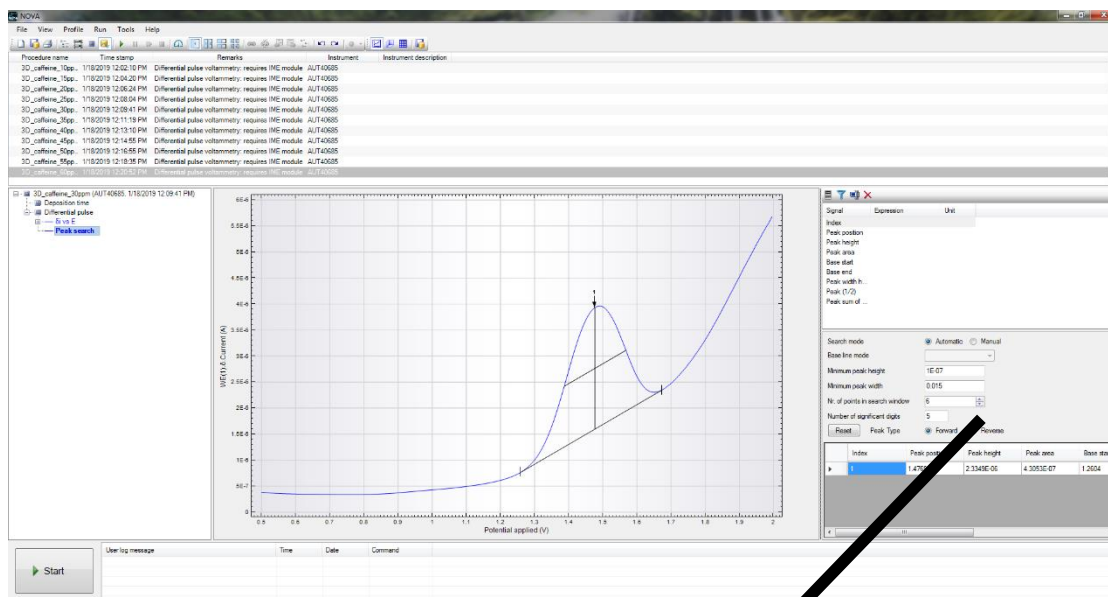
- Ηλεκτρόδια εργασίας: χρησιμοποιήθηκαν τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτρόδια άνθρακα που κατασκευάστηκαν με τον τρισδιάστατος εκτυπωτής δύο κεφαλών Creator Pro, όπως περιγράφεται παραπάνω.
- Ηλεκτρόδιο αναφοράς: χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρόδιο Ag/AgCl (κορεσμένο σε KCl) (Thermo Electron, UK, CR4 65603/4), εκτός των περιπτώσεων χρήσης ολοκληρωμένων διατάξεων 3 ηλεκτροδίων).

- Βοηθητικό ηλεκτρόδιο: χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρόδιο από έλασμα Pt, εκτός των περιπτώσεων χρήσης ολοκληρωμένων διατάξεων 3 ηλεκτροδίων).
- Κυψελίδα-Αναδευτήρας: χρησιμοποιήθηκε κυψελίδα από γυαλί περιεκτικότητας 10 ml με υποδοχές για τα τρία ηλεκτρόδια. Η ανάδευση του διαλύματος γινόταν με μαγνητικό αναδευτήρα (1 MLH, REMI equipments), εκτός της περίπτωσης χρήσης ολοκληρωμένων διατάξεων 3 ηλεκτροδίων με ενσωματωμένη κυψελίδα.
- Οπτικό μικροσκόπιο (Karl Suss PA200, SUSS Microtec)
- Ποτενσιοστάτης PGSTAT101 με λογισμικό NOVA 1.8 (Metrohm Autolab).

Η οθόνη του NOVA 1.8. προγράμματος ελέγχου και καταγραφής φαίνεται στο **σχήμα 30**. Το πρόγραμμα ελέγχει το δυναμικό προσυγκέντρωσης, το χρόνο προσυγκέντρωσης, την ταχύτητα σάρωσης, το αρχικό και τελικό δυναμικό της σάρωσης, το δυναμικό καθαρισμού καταγράφει το ρεύμα που διατρέχει την κυψελίδα κατά τη φάση της βολταμμετρικής σάρωσης και παρουσιάζει τα αποτελέσματα με τη μορφή βολταμογραφήματος. Το ίδιο πρόγραμμα χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του ύψους της κορυφής, του δυναμικού κορυφής και του εμβαδού της κορυφής (**σχήμα 31**).



**Σχήμα 30:** Η οθόνη του προγράμματος ελέγχου και λήψης δεδομένων του ποτενσιοστάτη.



Search mode:  Automatic  Manual

Base line mode:

Minimum peak height:

Minimum peak width:

Nr. of points in search window:

Number of significant digits:

Reset Peak Type:  Forward  Reverse

Index	Peak position	Peak height	Peak area	Base start	Base end	Peak width half	Peak (1/2)	Peak sum of derivatives
1	1.4769	2.3349E-06	4.3053E-07	1.2604	1.6733	0.18072	0.089828	4.1E-05

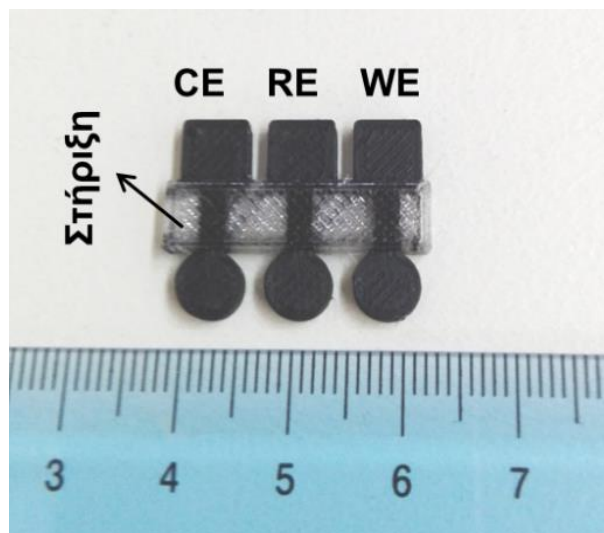
Σχήμα 31: Η οθόνη του προγράμματος που υπολογίζει το ύψος, το δυναμικό και το εμβαδόν της κορυφής.

## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

### Προκαταρκτικά πειράματα προσδιορισμού της ηλεκτροχημικής απόκρισης των τρισδιάστατα εκτυπωμένων αισθητήρων

Ο αισθητήρας που παρουσιάζεται στην **εικόνα 4**, ο οποίος κατασκευάστηκε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 6.2, χρησιμοποιήθηκε για την διενέργεια προκαταρκτικών πειραμάτων. Ο αισθητήρας αποτελείται από τρία ηλεκτρόδια κατασκευασμένα από το ίδιο αγώγιμο νήμα (CB/PLA, από την Proto-Pasta): αναφοράς (RE), βοηθητικό (CE), εργασίας (WE). Τα ηλεκτρόδια συγκρατούνται με στήριγμα κατασκευασμένο από μη αγώγιμο νήμα PLA.



**Εικόνα 4:** Φωτογραφία της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης.

Προκειμένου να αποδειχτεί η λειτουργικότητα του συγκεκριμένου ηλεκτροχημικού αισθητήρα, χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση υδραργύρου με ανοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία (ASV) και καφεΐνης με διαφορική παλμική βολταμμετρία (DPV). Επιπροσθέτως, η διάταξη χρησιμοποιήθηκε για τον αμπερομετρικό προσδιορισμό γλυκόζης με χρήση ενζύμου οξειδάσης της γλυκόζης.

#### 8.1 Αρχές ηλεκτροχημικών μεθόδων

Για τον χαρακτηρισμό του ηλεκτροδίου εργασίας γίνανε μετρήσεις βολταμμετρία γραμμικής σάρωσης (Linear Sweep Voltammetry, LSV), που

πραγματοποιήθηκαν σε ρυθμιστικά διαλύματα αμμωνιακών και οξικών με ταχύτητα σάρωσης  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Για τον προσδιορισμό του  $\text{Hg(II)}$  χρησιμοποιήθηκε ανοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία τετραγωνικού παλμού (SWASV), εφαρμόστηκε στάδιο προσυγκέντρωσης για 360s σε δυναμικό  $-1,0 \text{ V}$ , υπό ανάδευση, ενώ ως φέρων ηλεκτρολύτης χρησιμοποιήθηκε διάλυμα  $\text{HCl}$  συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Μετά το στάδιο προσυγκέντρωσης, η ανάδευση διακόπηκε και το διάλυμα παρέμεινε σε ηρεμία για 5 s. Εφαρμόστηκε ανοδική σάρωση τετραγωνικού παλμού (SW) στο ηλεκτρόδιο εργασίας (WE) και λήφθηκε το αντίστοιχο βολταμμογράφημα. Οι παράμετροι της βολταμμετρίας τετραγωνικού παλμού ήταν:

- Συχνότητα (frequency):  $50 \text{ Hz}$
- Ύψος παλμού (pulse height):  $40 \text{ mV}$
- Βήμα αύξησης (step increment):  $4 \text{ mV}$

Ο προσδιορισμός της καφεΐνης πραγματοποιήθηκε με βολταμμετρία διαφορικού παλμού (DPV) σε διάλυμα  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ . Πριν από κάθε μέτρηση εφαρμοζόταν ανάδευση για 10 s ενώ η εφαρμογή διαφορικού παλμού γινόταν σε στατικό περιβάλλον, με τις ακόλουθες παραμέτρους:

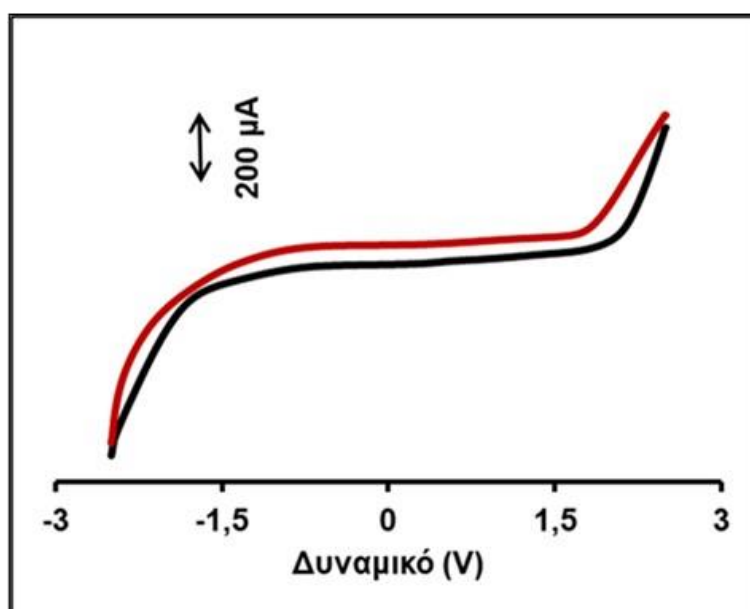
- Ρυθμός σάρωσης (scan rate):  $25 \text{ mV s}^{-1}$
- Εύρος παλμού (pulse amplitude):  $25 \text{ mV}$
- Πλάτος παλμού (pulse width):  $75 \text{ ms}$
- Αύξηση (increment):  $10 \text{ mV}$

Ο βιοαισθητήρας γλυκόζης κατασκευάστηκε εμβαπτίζοντας το ηλεκτρόδιο εργασίας σε διάλυμα που περιείχε  $400,0 \mu\text{L}$  Nafion (5% w/w),  $400 \mu\text{L}$  διαλύματος ενζύμου GOx ( $7,2 \text{ mg mL}^{-1}$  σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών pH 7,0),  $800 \mu\text{L}$  αιθανόλης και  $800 \mu\text{L}$  νερό υψηλής καθαρότητας. Τα ηλεκτρόδια στη συνέχεια στέγνωσαν σε θερμοκρασία δωματίου. Προκειμένου να γίνει ο αμπερομετρικός προσδιορισμός του  $\text{H}_2\text{O}_2$  που παράγεται από την ενζυμική οξειδωση της γλυκόζης από το GOx, ο βιοαισθητήρας τοποθετήθηκε σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH 7,0) συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  και προστέθηκαν οι κατάλληλες ποσότητες

γλυκόζης. Οι χρονοαμπερομετρικές μετρήσεις έγιναν υπό συνεχή ανάδευση εφαρμόζοντας δυναμικό  $-0,60\text{ V}$ .

## 8.2 Βολταμετρία γραμμικής σάρωσης

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε έλεγχος του παραθύρου δυναμικού με βολταμετρία γραμμικής σάρωσης. Ως φέρων ηλεκτρολύτης χρησιμοποιήθηκαν δύο ρυθμιστικά διαλύματα συγκέντρωσης  $0,1\text{ mol L}^{-1}$ , ρυθμιστικό διάλυμα αμμωνιακών (pH 9,2) και ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (pH 4.5). Το δυναμικό σάρωσης ήταν από  $-2,5$  έως  $2,5\text{ V}$ , και το παράθυρο δυναμικού εκτεινόταν περίπου από  $-1,5$  έως  $1,5\text{ V}$  (σχήμα 32).



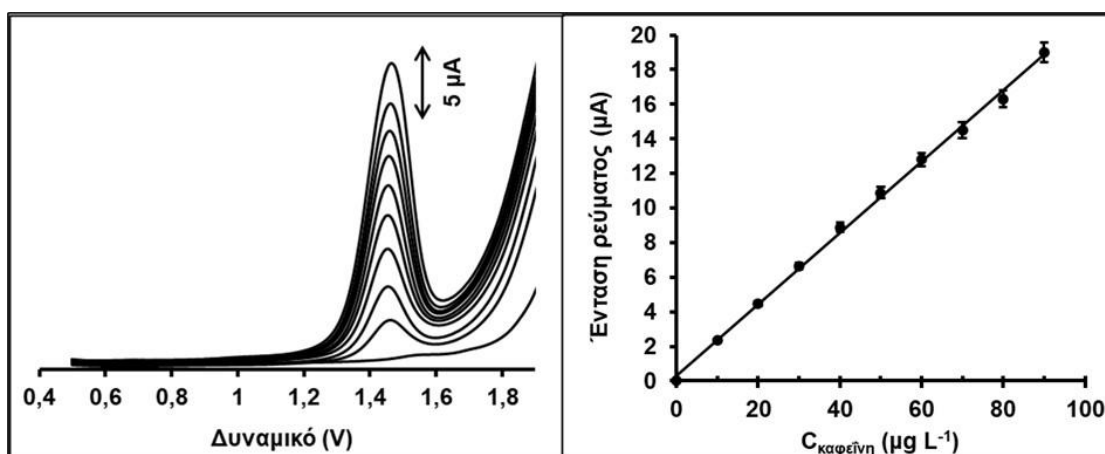
**Σχήμα 32:** Βολταμμογραφήματα LS της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης με ηλεκτρολύτη συγκέντρωσης  $0,1\text{ mol L}^{-1}$ . Διακρίνονται: ρυθμιστικό διάλυμα αμμωνιακών (pH 9,2) (κόκκινη γραμμή) και ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (pH 4,5) (μαύρη γραμμή). Ο ρυθμός σάρωσης ήταν  $50\text{ mV s}^{-1}$ .

## 8.3 Προσδιορισμός καφεΐνης

Στη συνέχεια, έγινε προσδιορισμός της καφεΐνης. Στο **σχήμα 33** παρουσιάζονται τα βολταμμογραφήματα διαφορικού παλμού, σε εύρος συγκεντρώσεων καφεΐνης  $0-90\text{ mg L}^{-1}$  σε ηλεκτρολύτη  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης  $0,2\text{ mol L}^{-1}$  και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς.

Η γραμμικότητα της συγκέντρωσης της καφεΐνης συναρτήσει του ύψους των κορυφών ήταν ικανοποιητική με  $R^2=0,998$ . Ακόμα, το όριο

ανίχνευσης (LOD), που υπολογίστηκε όπως προτείνεται από την IUPAC <sup>(141)</sup>, ήταν  $1,8 \text{ mg L}^{-1}$ . Η σχετική τυπική απόκλιση (%RSD) 8 μετρήσεων χρησιμοποιώντας τον ίδιο αισθητήρα ήταν 2,8%, ενώ η σχετική τυπική απόκλιση (%RSD) των σημάτων που ελήφθησαν από 4 διαφορετικούς αισθητήρες ήταν 6,7%. Τα πειράματα επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας έγιναν σε συγκεντρώσεις  $40 \text{ mg L}^{-1}$  και τα αποτελέσματα κρίνονται ικανοποιητικά.



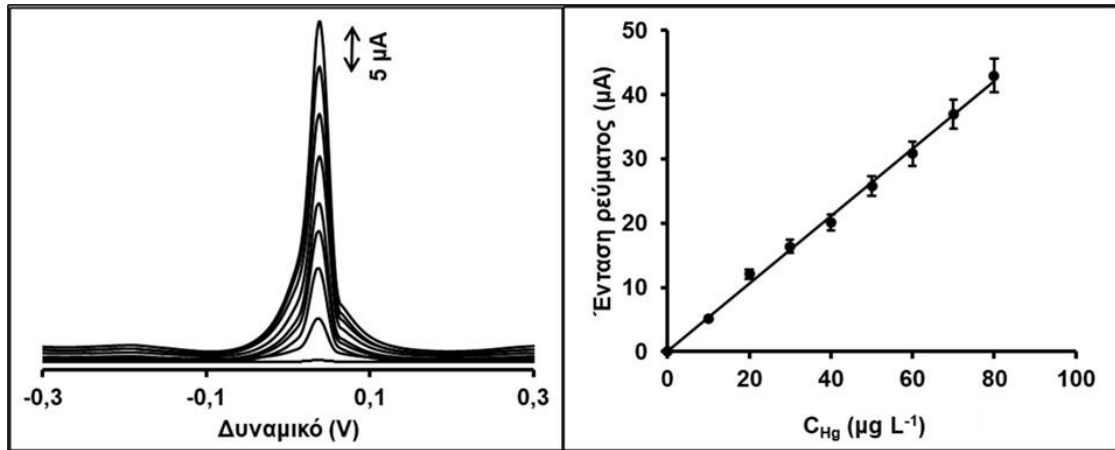
**Σχήμα 33:** Βολταμμογραφήματα DP και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς καφεΐνης συγκεντρώσεων 0-90  $\text{mg L}^{-1}$ .

#### 8.4 Προσδιορισμός υδραργύρου

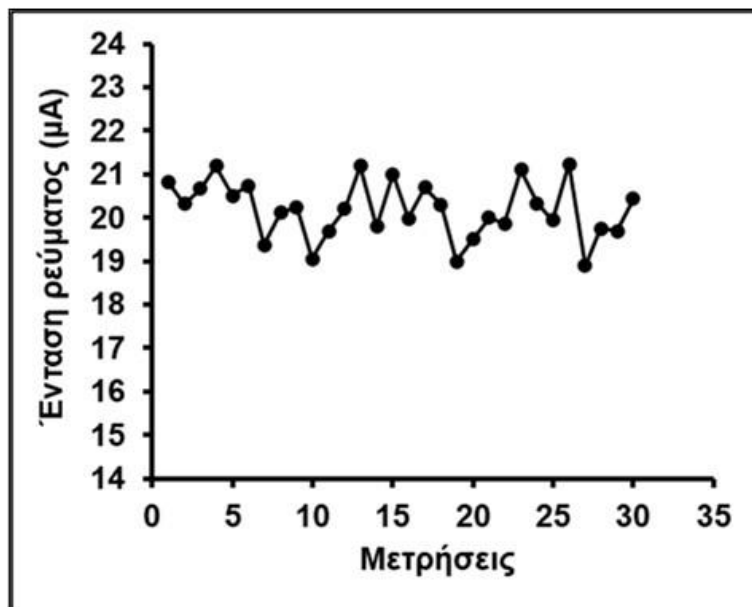
Στη συνέχεια, αναπτύχθηκε μέθοδος προσδιορισμού του υδραργύρου. Στο **σχήμα 34** φαίνονται τα SWASV βολταμμογραφήματα Hg(II) συγκεντρώσεων 0-80  $\mu\text{g L}^{-1}$  και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς σε HCl συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Το ηλεκτρόδιο εργασίας δεν έχει υποστεί κάποια μορφοποίηση. Το όριο ανίχνευσης ήταν  $1,9 \mu\text{g L}^{-1}$  και η γραμμικότητα της καμπύλης ήταν ικανοποιητική ( $R^2 = 0,996$ ).

Η %RSD μεταξύ 8 μετρήσεων χρησιμοποιώντας τον ίδιο αισθητήρα είναι 5,6% και η %RSD 4 διαφορετικών αισθητήρων είναι 8,3%, σε συγκέντρωση Hg (II)  $40 \mu\text{g L}^{-1}$ . Ακόμη, η απόκριση του αισθητήρα ήταν σταθερή για περισσότερες από 30 μετρήσεις και για χρονικό διάστημα 30 min (**σχήμα 35**).





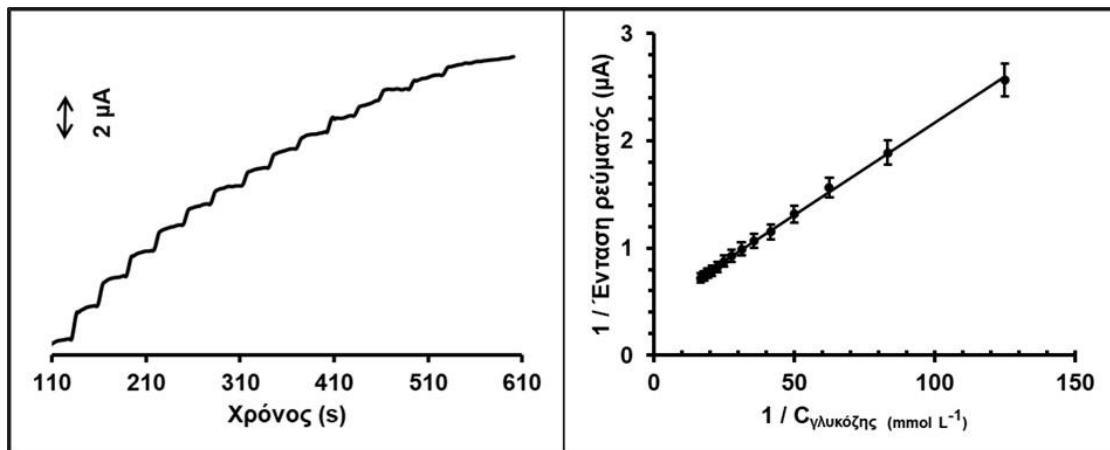
**Σχήμα 34:** Βολταμμογραφήματα SW και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς Hg(II) συγκεντρώσεων 0-80 mg L<sup>-1</sup>.



**Σχήμα 35:** Ύψος κορυφής 30 μετρήσεων Hg (II) συγκέντρωσης 40 µg L<sup>-1</sup>.

### 8.5 Προσδιορισμός γλυκόζης

Τέλος, η συγκεκριμένη τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη χρησιμοποιήθηκε και ως βιοαισθητήρας γλυκόζης. Η ενζυμική μετατροπή της γλυκόζης από το GOx, έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, το οποίο ανιχνεύεται αμπερομετρικά.



**Σχήμα 36:** Χρονοαμπεροματογράφημα και το αντίστοιχο διάγραμμα Lineweaver-Burk. Το εύρος των συγκεντρώσεων είναι 2-28 mmol L<sup>-1</sup>. Η καμπύλη αναφοράς έχει προκύψει από τη μέση τιμή ± SD (n=3).

Στο **σχήμα 36** παρουσιάζεται το χρονοαμπεροματογράφημα που λήφθηκε με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη με συνεχείς προσθήκες γλυκόζης και το αντίστοιχο διάγραμμα Lineweaver-Burk.

Η γραμμικότητα είναι ικανοποιητική ( $R^2=0,996$ ) σε εύρος συγκεντρώσεων 2 - 28 mmol L<sup>-1</sup>. Το συγκεκριμένο εύρος είναι κατάλληλο για τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε βιολογικά υγρά, αλλά και τρόφιμα. Η αναπαραγωγιμότητα ήταν ικανοποιητική με τη %RSD μεταξύ 4 διατάξεων να είναι 8,8%.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

### Προσδιορισμός κολχικίνης και κουετιαπίνης

Στην **εικόνα 5** παρουσιάζεται τρισδιάστατα εκτυπωμένη ενσωματωμένη διάταξη με ενσωματωμένα ηλεκτρόδια για τον βολταμμετρικό προσδιορισμό της κολχικίνης και του αντιψυχωσικού φαρμάκου κουετιαπίνη (QF). Ο αισθητήρας αποτελείται από τρία ηλεκτρόδια κατασκευασμένα από το ίδιο αγώγιμο νήμα (CB/PLA, από την Proto-Pasta): αναφοράς (RE), βοηθητικό (CE), εργασίας (WE). Τα ηλεκτρόδια συγκρατούνται με στήριγμα κατασκευασμένο από μη αγώγιμο νήμα PLA.



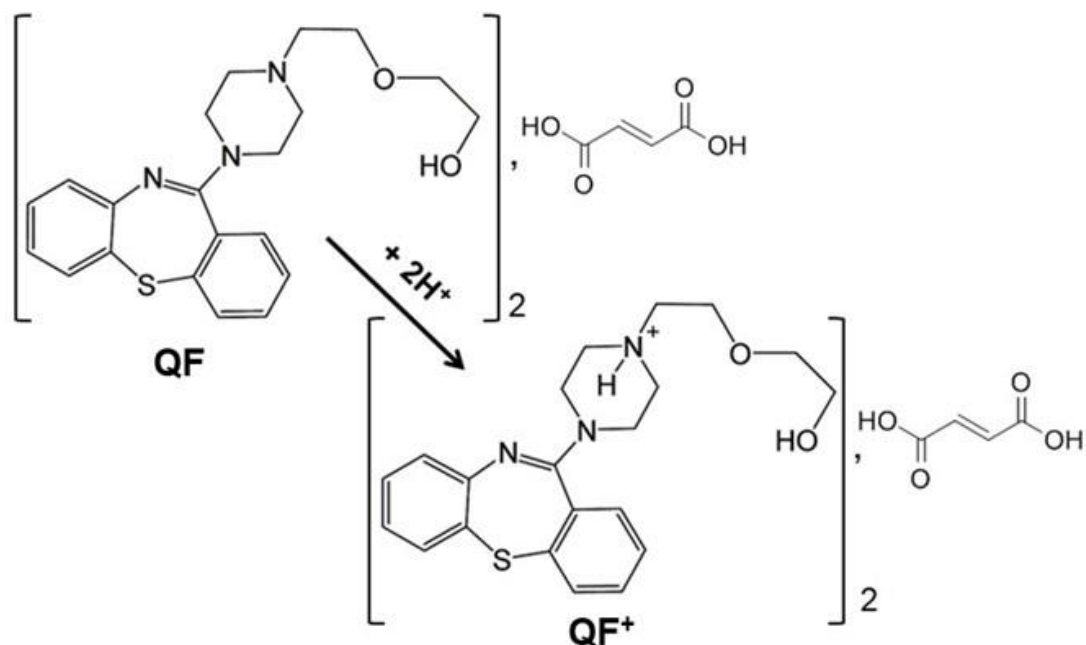
**Εικόνα 5:** Φωτογραφία της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης για τον προσδιορισμό της QF και της κολχικίνης.

#### 9.1 Αρχές ηλεκτροχημικών μεθόδων

##### 9.1.1 Αρχή μεθόδου κουετιαπίνης

Για τις βολταμμετρικές μετρήσεις τετραγωνικού παλμού της QF, το διάλυμα αναδεύτηκε στα 1000 rpm για 120 δευτερόλεπτα εφαρμόζοντας δυναμικό  $-0,3$  V, ενώ η βολταμμετρική σάρωση από  $0,5$  έως  $1,5$  V ,έγινε χωρίς ανάδευση. Για την SWV ανάλυση των φαρμακευτικών δισκίων, 3 δισκία (που περιέχουν  $25$  mg QF ανά δισκίο) κονιοποιήθηκαν και διαλύθηκαν σε δισαπτεσταγμένο νερό. Το διάλυμα διηθήθηκε και αραιώθηκε σε τελικό όγκο  $100$  mL. Στη συνέχεια,  $10$   $\mu$ L του διαλύματος μεταφέρθηκαν στην ηλεκτροχημική κυψελίδα,

η οποία περιείχε 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος οξικού 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 4,8). Στο δείγμα ούρων εγχύθηκε QF σε τελική συγκέντρωση 3 · 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> (η οποία κανονικά βρίσκεται στα ούρα μετά από θεραπεία με ημερήσια δόση 50 mg QF)<sup>(146)</sup>, στη συνέχεια το δείγμα αραιώθηκε 1:5 με 0,1 mol L<sup>-1</sup> ρυθμιστικού διαλύματος οξικών (pH 4,8) και υποβλήθηκε σε ανάλυση ως έχει. Για την ανάλυση των δισκίων και του δείγματος ούρων, εφαρμόστηκε η μέθοδος προσθήκης σταθερής ποσότητας για τον ποσοτικό προσδιορισμό της QF. Όλα τα δυναμικά στην τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη αναφέρονται σε σχέση με το ηλεκτρόδιο αναφοράς CB/PLA. Ο προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης παρουσιάζεται στο **σχήμα 37**.



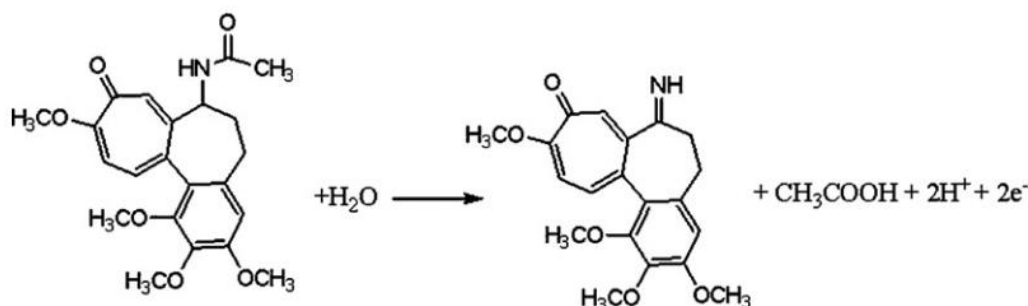
**Σχήμα 37:** Προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης σε ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα CB/PLA.

### 9.1.2 Αρχή μεθόδου κολχικίνης

Για τον βολταμμετρικό προσδιορισμό της κολχικίνης με τη χρήση της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης απαιτούνταν στάδιο ενεργοποίησης του ηλεκτροδίου εργασίας, προκειμένου να καταστραφεί μέρος του PLA του ηλεκτροδίου και να αυξηθεί η επιφάνεια του ηλεκτροδίου με άνθρακα. Η ενεργοποίηση αποτελείται από δύο στάδια. Ο αισθητήρας τοποθετείται σε ηλεκτροχημική κυψελίδα που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών

συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  και pH 7. Στο πρώτο στάδιο της ενεργοποίησης εφαρμόζεται δυναμικό  $1,8 \text{ V}$  για  $200 \text{ s}$  και έπειτα γίνεται σάρωση από  $1,8 \text{ V}$  μέχρι  $-1,8 \text{ V}$ . Στο δεύτερο στάδιο της ενεργοποίησης εφαρμόζεται δυναμικό  $-1,8 \text{ V}$  για  $200 \text{ s}$  και γίνεται σάρωση από  $-1,8 \text{ V}$  μέχρι  $1,8 \text{ V}$ .

Για τις βολταμετρικές μετρήσεις διαφορικού παλμού της κολχικίνης, το διάλυμα αναδεύτηκε στα  $1000 \text{ rpm}$  για  $120$  δευτερόλεπτα εφαρμόζοντας δυναμικό  $-1,2 \text{ V}$ , ενώ η βολταμετρική σάρωση, έγινε χωρίς ανάδευση. Ως ηλεκτρολύτης χρησιμοποιείται ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  με pH 7. Για τον προσδιορισμό κολχικίνης σε φαρμακευτικά δισκία, κονιοποιήθηκαν  $4$  χάπια και διαλύθηκαν σε δισαππεσταγμένο νερό. Το διάλυμα διηθήθηκε και αραιώθηκε σε τελικό όγκο  $100 \text{ mL}$ . Στη συνέχεια,  $100 \text{ mL}$  του διαλύματος μεταφέρθηκαν στην ηλεκτροχημική κυψελίδα, η οποία περιείχε  $10 \text{ mL}$  ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  με pH 7. Για τον προσδιορισμό σε τεχνητό πλάσμα αίματος, προστέθηκε κολχικίνη σε τεχνητό πλάσμα αίματος συγκέντρωσης  $10 \text{ μmol L}^{-1}$ , το οποίο και αραιώθηκε δέκα φορές με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. Στη συνέχεια  $10 \text{ mL}$  από το προκύπτον αραιωμένο δείγμα εισάγονται σε ηλεκτροχημική κυψελίδα. Ο προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης παρουσιάζεται στο ακόλουθο σχήμα.

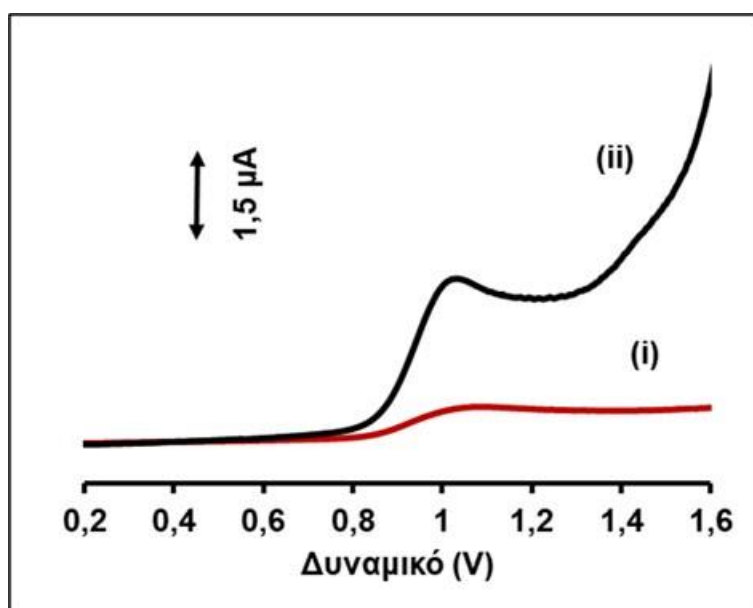


**Σχήμα 38:** Προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης σε ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα CB/PLA.

## 9.2 Επιλογή αγώγιμου νήματος

Το θερμοπλαστικό νήμα που χρησιμοποιήθηκε για την εκτύπωση του ηλεκτροδίου εργασίας της διάταξης επηρεάζει την ευαισθησία του

βολταμμετρικού προσδιορισμού της QF και για τον λόγο αυτό δοκιμάστηκαν δύο διαφορετικά αγώγιμα νήματα CB/PLA και C/ABS.



**Σχήμα 39:** SW Βολταμογραφήματα QF συγκεντρώσεων  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδια εργασίας αποτελούμενα από άνθρακα και: (i) ABS και (ii) PLA.

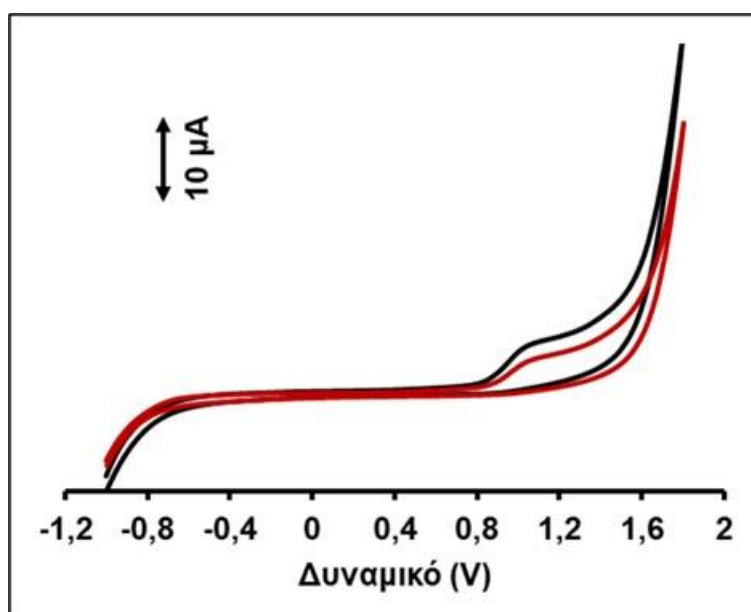
Συγκεκριμένα, ελέγχθηκε το ύψος της βολταμμετρικής κορυφής. Το ηλεκτρόδιο εργασίας που εκτυπώθηκε από νήμα CB/PLA εμφάνισε μεγαλύτερα ύψη κορυφών, επομένως επιλέχθηκε για την εκτύπωση των ηλεκτροδίων εργασίας, αλλά και των βοηθητικών και αναφοράς (**σχήμα 39**). Οι διαφορές στην ηλεκτροχημική απόκριση μεταξύ των δύο νημάτων με άνθρακα μπορούν να αποδοθούν στη διαφορετική τους σύνθεση, η οποία επηρεάζει την ειδική αντίστασή τους ( $0,1 \Omega \cdot \text{cm}$  για το αγώγιμο νήμα C/ABS και  $15 \Omega \cdot \text{cm}$  για το αγώγιμο νήμα CB/PLA).

### 9.3 Χαρακτηρισμός αισθητήρα

#### 9.3.1 Χαρακτηρισμός αισθητήρα για το προσδιορισμός κουετιαπίνης

Αρχικά, η ηλεκτροχημική απόκριση της QF εξετάστηκε μέσω κυκλικής βολταμμετρίας (CV) σε  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ρυθμιστικού διαλύματος οξικού οξέος (pH 4,8) που περιείχε φουμαρική κουετιαπίνη σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις. Όπως απεικονίζεται στο **σχήμα 40**, η οξειδωση της QF στην τρισδιάστατα

εκτυπωμένη διάταξης παρουσίασε ανοδική κορυφή περίπου στα 1,0 V, η οποία αυξήθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης QF. Στην καθοδική αντίστροφη σάρωση, απουσίαζε η αναγωγική κορυφή, υποδεικνύοντας τη μη αναστρέψιμη φύση της αντίδρασης στη τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη με ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα CB/PLA.

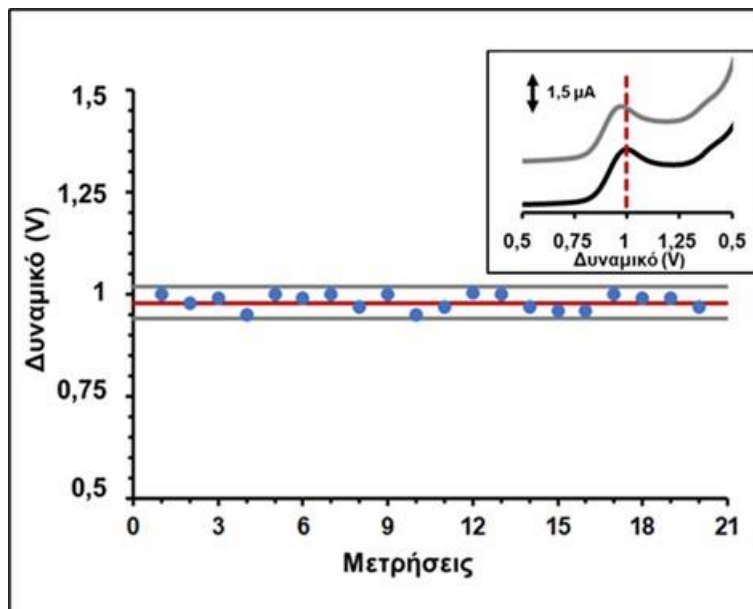


**Σχήμα 40:** Βολταμμογραφήματα CV με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη παρουσία 50 · 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> (κόκκινο χρώμα) και 200 · 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> QF(μαύρο χρώμα). Ρυθμός σάρωσης: 50 mV s<sup>-1</sup>, ηλεκτρολύτης: ρυθμιστικό διάλυμα οξικού 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 4,8).

### 9.3.2 Σταθερότητα ηλεκτροδίου αναφοράς

Επίσης εξετάστηκε η απόδοση του ενσωματωμένου ηλεκτροδίου αναφοράς, το οποίο εκτυπώθηκε και αυτό από το ίδιο αγωγίμο νήμα CB/PLA. Η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα του δυναμικού μεταξύ ηλεκτροδίων μελετήθηκαν. Συγκεκριμένα, η επαναληψιμότητα του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου αναφοράς υπολογιστικέ λαμβάνοντας 20 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις SWV, ενώ η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ διαφορετικών ηλεκτροδίων υπολογιστικέ από την απόκριση 8 διαφορετικών ηλεκτροδίων αναφοράς. Και οι δύο δοκιμασίες διεξήχθησαν σε ένα διάλυμα που περιείχε 50 · 10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> QF σε 0,1 mol L<sup>-1</sup> ρυθμιστικού διαλύματος οξικών (pH 4,8). Το δυναμικό, όπου εμφανίζεται η κορυφή οξειδωσης QF, παρέμεινε στατιστικά σταθερό κατά τη διάρκεια των 20 επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (**σχήμα 41**), ενώ η σχετική τυπική απόκλιση επί τοις εκατό (%)

RSD) του εμφανιζόμενου δυναμικού κορυφή της QF με 8 διαφορετικά τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτρόδια αναφοράς ήταν 3,8%, επιδεικνύοντας ικανοποιητική επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα.



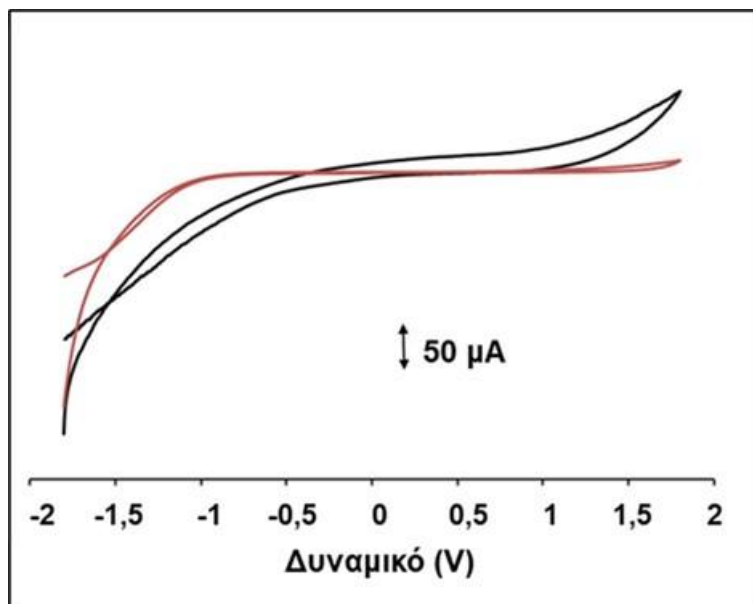
**Σχήμα 41:** Η σταθερότητα του δυναμικού του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου αναφοράς. οι μετρήσεις διεξήχθησαν σε διάλυμα που περιείχε  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF σε  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ρυθμιστικό διαλύματος οξικών (pH 4,8). Η κόκκινη γραμμή αποτυπώνει το μέσο όσο 20 μετρήσεων και οι γκριζες γραμμές ορίζουν το εύρος  $\pm 2\text{sd}$ . Ένθετο: Αντιπροσωπευτικά SW βολταμμογραφήματα  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF. 1<sup>η</sup> μέτρηση (μαύρο χρώμα), 20<sup>η</sup> μέτρηση (γκρι χρώμα).

### 9.3.3 Χαρακτηρισμός αισθητήρα για το προσδιορισμός της κολχικίνης

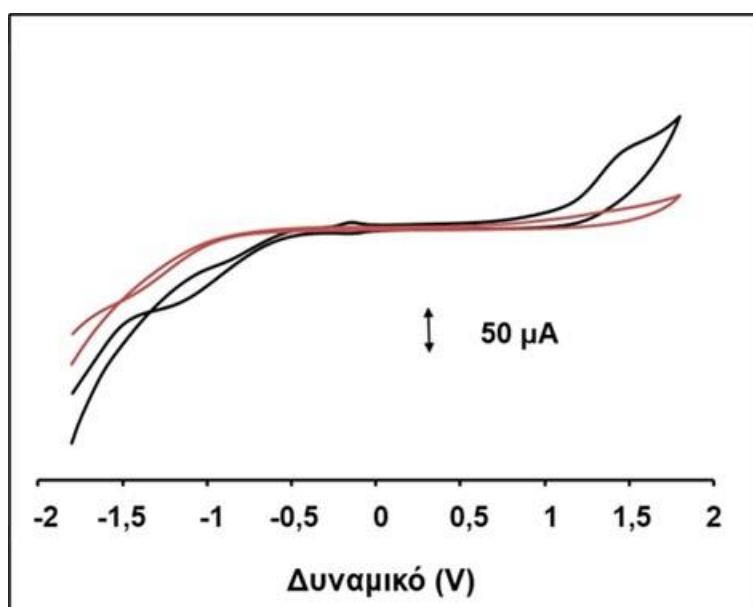
Προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερη ευαισθησία έγινε ενεργοποίηση του ηλεκτροδίου εργασίας. Τα στάδια ενεργοποίησης περιγράφονται στο κεφάλαιο 9.1.2. Στο **σχήμα 42** παρουσιάζονται βολταμμογραφήματα CV που έχουν ληφθεί με ενεργοποιημένο και μη ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας, σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  χωρίς την παρουσία κολχικίνης. Στο **σχήμα 43** παρουσιάζονται τα αντίστοιχα βολταμμογραφήματα CV παρουσία  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  κολχικίνης. Όπως φαίνεται, υπάρχουν δύο βολταμμετρικές κορυφές, προκειμένου να επιλεγεί πια από τις δύο θα χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη της μεθόδου έγινε σάρωση και για τις δύο κορυφές τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο **σχήμα 44**. Η οξειδωτική κορυφή, παρουσίαζε μικρότερο πλάτος δυναμικού και καλύτερες



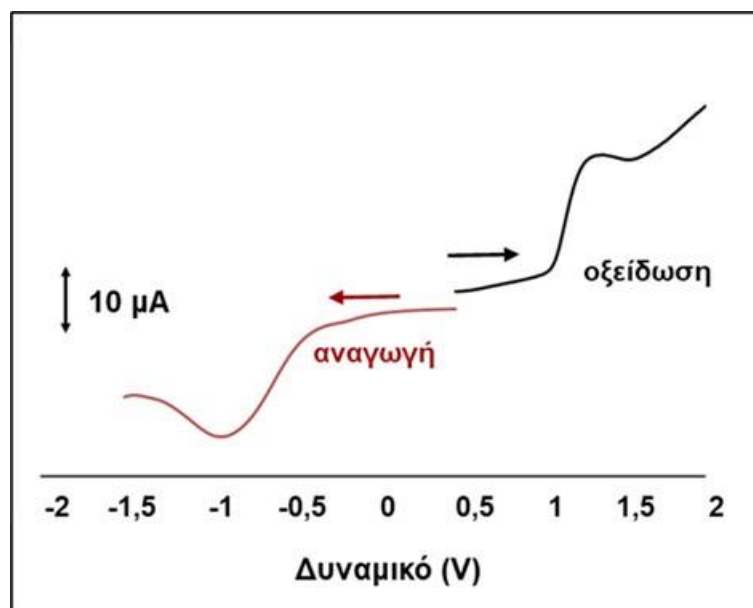
αποκρίσεις στη μεταβολή της συγκέντρωσης χωρίς να επηρεάζεται από την παρουσία διαλυμένου οξυγόνου και για αυτούς του λόγους επιλέχθηκε για την ποσοτικοποίηση της κολχικίνης.



**Σχήμα 42:** Βολταμμογραφήματα CV ενεργοποιημένου (μαύρο χρώμα) και μη ενεργοποιημένου (κόκκινο χρώμα) του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου εργασίας σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7, απουσία κολχικίνης.



**Σχήμα 43:** Βολταμμογραφήματα CV ενεργοποιημένου (μαύρο χρώμα) και μη ενεργοποιημένου (κόκκινο χρώμα) του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου εργασίας σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7, παρουσία  $2 \mu\text{mol L}^{-1}$  κολχικίνης.



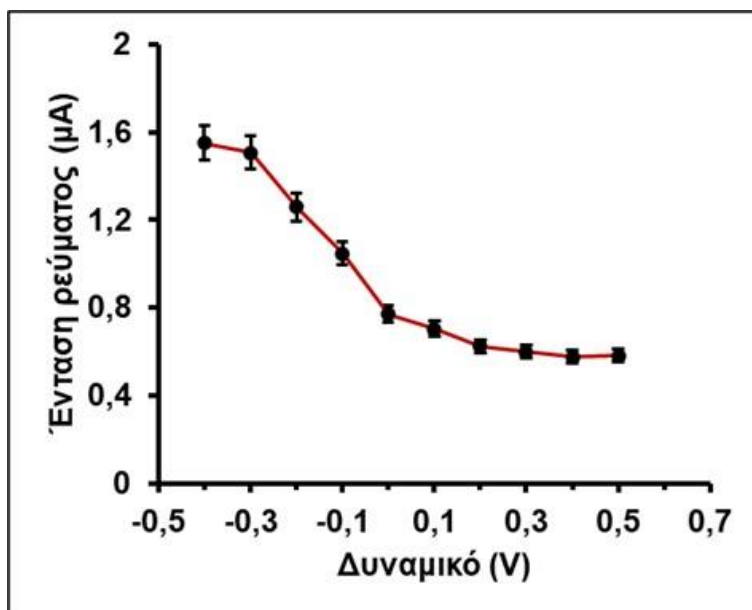
**Σχήμα 44:** Βολταμμογραφήματα DP σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7, παρουσία  $2 \text{ μmol L}^{-1}$  κολχικίνης. προσρόφηση για 120s στο  $-1,2 \text{ V}$ .

#### 9.4 Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού της κουετιαπίνης

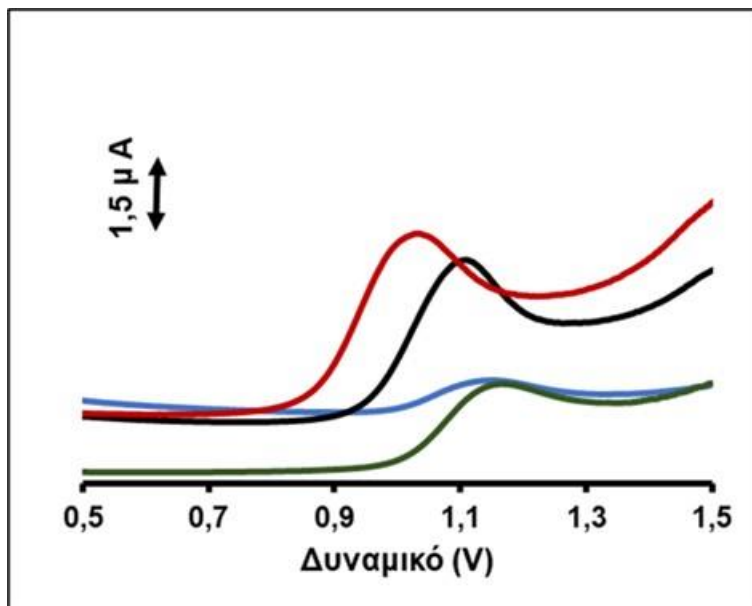
Προκειμένου να γίνει η βελτιστοποίηση της μεθόδου προσδιορισμού της κουετιαπίνης μελετήθηκε η σύνθεση του ηλεκτρολύτη, η επίδραση του χρόνου και του δυναμικού προσυγκέντρωσης, καθώς και η κυματομορφή σάρωσης, σε διάλυμα που περιείχε  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF. Η QF είναι ασθενές οξύ με  $pK_a$  3,3 και 6,8, ενώ σε όξινα διαλύματα η πιπεραζίνη πρωτονιώνεται, τα θετικά φορτισμένα μόρια QF προσροφώνται εντονότερα στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Έχει αποδειχθεί ότι, σε ουδέτερες και αλκαλικές τιμές pH, το ύψος της κορυφής της QF μειώνεται και διαχωρίζεται σε δύο κορυφές <sup>(144-152)</sup>. Το εφαρμοζόμενο δυναμικό της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης μετά τη βελτιστοποίηση ήταν  $-0,3 \text{ V}$  (σχήμα 45).

Συνοψολογίζοντας ότι η προσρόφηση της θετικά φορτισμένης QF αυξάνεται σε όξινο pH, εξετάστηκαν διαφορετικοί ηλεκτρολύτες με όξινες τιμές pH ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ρυθμιστικού διαλύματος οξικών pH 4,8,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  PB pH 4,5, Britton-Robinson pH 4, HCl pH 3) και οι καλύτερες βολταμμετρικές αποκρίσεις, τόσο ως προς το σχήμα αλλά και το ύψος της κορυφής της QF, ελήφθησαν σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (pH 4,8) συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  και σε διάλυμα PB συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 4,5 (σχήμα 46). Το

ρυθμιστικό διάλυμα οξικών ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 4,8) επιλέχθηκε ως φέρον ηλεκτρολύτης για τα υπόλοιπα πειράματα.



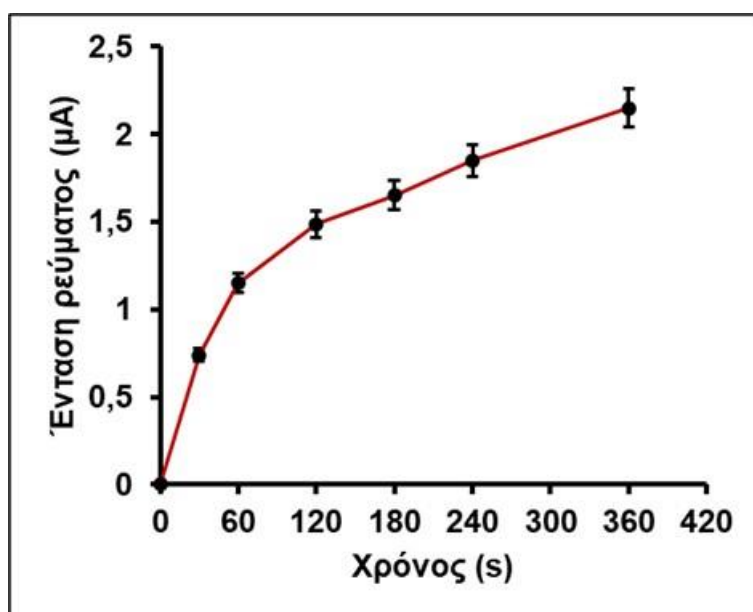
**Σχήμα 45:** Η επίδραση του εφαρμοζόμενου δυναμικού στην SWV σάρωση για τον προσδιορισμό  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF. Οι γραμμές σφάλματος είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd ( $n = 3$ ).



**Σχήμα 46:** Συγκριτικά βολταμμογραφήματα SW  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF σε: (κόκκινη χρώμα)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ρυθμιστικό διάλυμα οξικών pH 4,8, (μαύρη χρώμα)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  διάλυμα φωσφορικών pH 4,5, (πράσινη χρώμα) Britton-Robinson pH 4, (μπλε χρώμα) HCl pH 3.

Η επίδραση του χρόνου προσυγκέντρωσης εξετάστηκε για χρονικό διάστημα 0-360s σε διάλυμα που περιείχε  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF σε  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

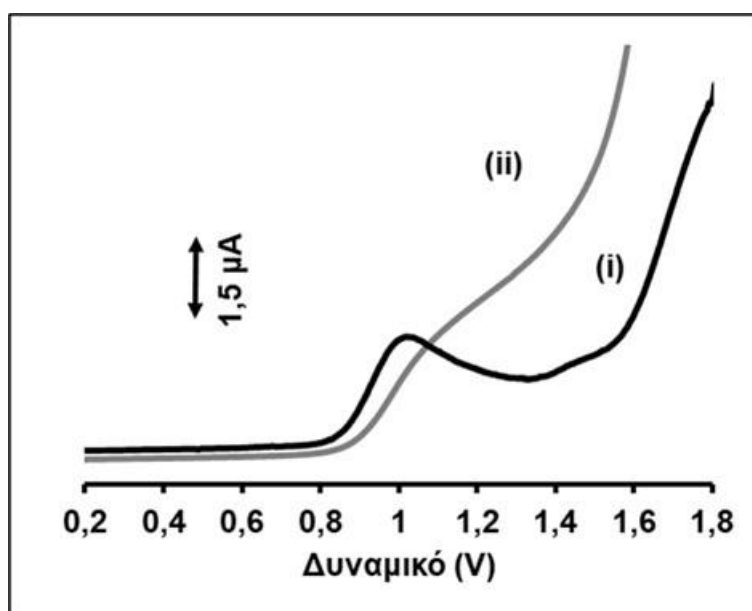
ρυθμιστικού διαλύματος οξικού οξέος (pH 4,8). Όπως φαίνεται στο **σχήμα 47**, σε χαμηλούς χρόνους προσυγκέντρωσης (έως 120s) η κορυφή οξείδωσης της QF αυξάνεται εκθετικά, ενώ σε μεγαλύτερο χρόνο προσυγκέντρωσης το ύψος της κορυφής αυξανόταν επίσης, αλλά με μικρότερο ρυθμό. Όποτε, επιλέχθηκε χρόνος προσυγκέντρωσης 120 s στις 1000 rpm, καθώς σε αυτό τον χρόνο επιτυγχάνεται ικανοποιητική ευαισθησία στο μικρότερο δυνατό χρόνο ανάλυσης.



**Σχήμα 47:** Η επίδραση του χρόνου προσυγκέντρωσης στην SWV απόκριση  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF. Οι γραμμές σφάλματος είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd ( $n = 3$ ).

Επιπλέον, συγκρίθηκαν οι κυματομορφές διαφορικού παλμού (DP) και τετραγωνικού παλμού (SW) (**σχήμα 48**). Όταν η σάρωση γινόταν με DP υπήρχε ισχυρότερη επίδραση υποβάθρου και χαμηλότερη ευαισθησία. Αντίθετα, στη λειτουργία SW η ευαισθησία ήταν υψηλότερη ενώ η επίδραση υποβάθρου μικρότερη, επομένως και επιλέχθηκε. Τέλος, οι παράμετροι SW (συχνότητα SW (στην περιοχή 12,5-100 Hz), βήμα αύξησης SW (στην περιοχή 1-16 mV), ύψος παλμού SW (στην περιοχή 10-80 mV)) βελτιστοποιήθηκαν σε διάλυμα που περιέχει  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF. Οι βέλτιστες συνθήκες προκειμένου να επιτευχθεί ικανοποιητική ευαισθησίας στο μικρότερο δυνατό χρόνο ανάλυσης, λαμβάνοντας καλοσχηματισμένες κορυφές και χαμηλή επίδραση υπόβαθρου επιτεύχθηκε σε συχνότητα 50 Hz,

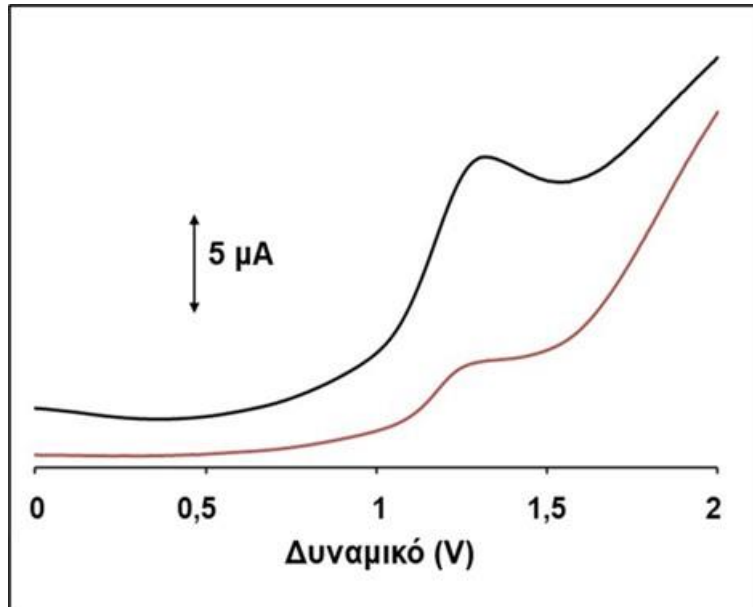
βήμα αύξησης 4mV, ύψος παλμού 40 mV, χρόνο προσυγκέντρωσης 120s και εφαρμοζόμενο δυναμικό -0,3V.



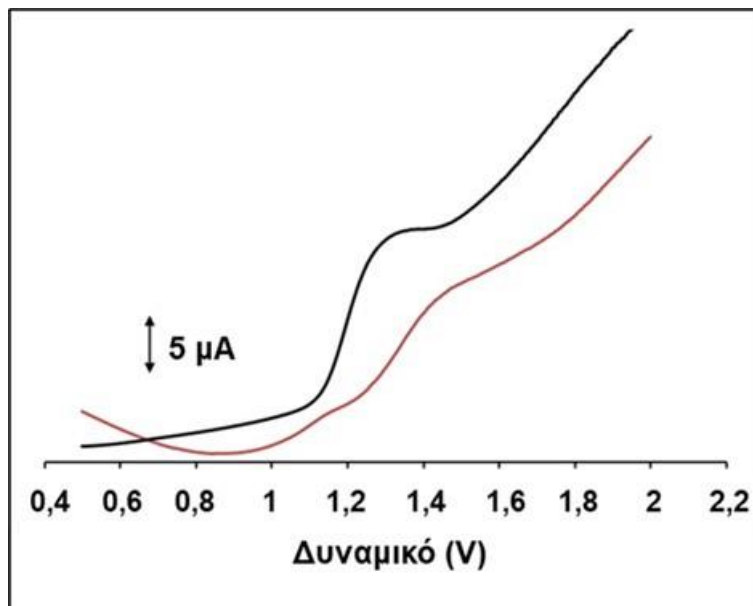
**Σχήμα 48:** Η επίδραση του κύματος σάρωσης στη βολταμετρική απόκριση  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF: (i) SW, (ii) DP.

### 9.5 Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού της κολχικίνης

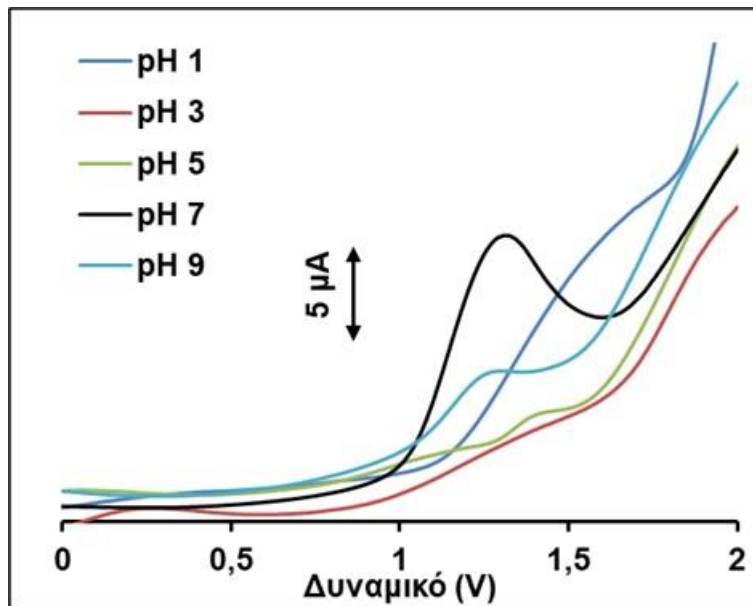
Η ενεργοποίηση του ηλεκτρόδιου εργασία αυξάνει σημαντικά το ύψος της κορυφής οξειδωσης της κολχικίνης κατά 4,7 φορές περίπου. Στο **σχήμα 49**, παρουσιάζονται DP βολταμμογραφήματα με ηλεκτρόδιο εργασίας, ενεργοποιημένο και μη, παρουσία  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  κολχικίνης σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7 με εφαρμογή δυναμικού  $-1,2 \text{ V}$  για 120 s. Επιπλέον, συγκρίθηκαν οι κυματομορφές διαφορικού παλμού και τετραγωνικού παλμού (**σχήμα 50**). Η συγκέντρωση της κολχικίνης στο τελικό διάλυμα είναι η ίδια και στις δύο περιπτώσεις και ίση με  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Ως ηλεκτρολύτης χρησιμοποιείται ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$  με pH 7. Με δυναμικό προσυγκέντρωσης  $-1,2 \text{ V}$  για 120 s. Η σάρωση DP παρείχε υψηλότερες κορυφές οξειδωσης με μικρότερο πλάτος.



**Σχήμα 49:** Βολταμμογραφήματα DP σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7, παρουσία  $1 \text{ μmol L}^{-1}$  κολχικίνης με ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας (μαύρο χρώμα) και μη ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο (κόκκινο χρώμα).

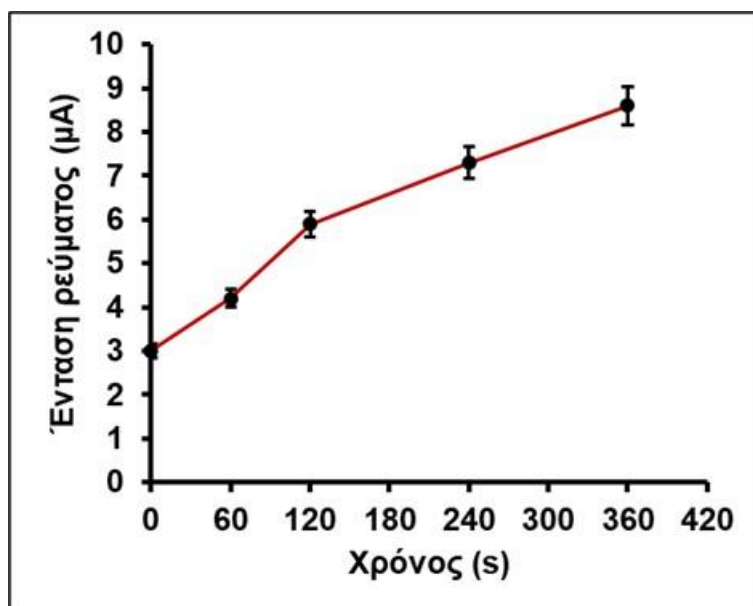


**Σχήμα 50:** Βολταμμογραφήματα DP σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7, παρουσία  $1 \text{ μmol L}^{-1}$  κολχικίνης με ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας. Η επίδραση του κύματος σάρωσης στη βολταμμετρική απόκριση: (κόκκινο χρώμα) SW, (μαύρο χρώμα) DP.



**Σχήμα 51:** Βολταμμογραφήματα DP παρουσία  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  κολχικίνης με ενεργοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας. Σε ηλεκτρολύτη HCl pH 1 και pH 3 και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με pH 5, pH 7 και pH 9.

Ακόμα δοκιμάστηκε η σύσταση του ηλεκτρολύτη. Συγκεκριμένα δοκιμαστήκαν διάλυμα HCl με pH 1 και pH 3 και ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με pH 5, pH 7 και pH 9 (**σχήμα 51**). Το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με pH 7 είχε την καλύτερη απόκριση.



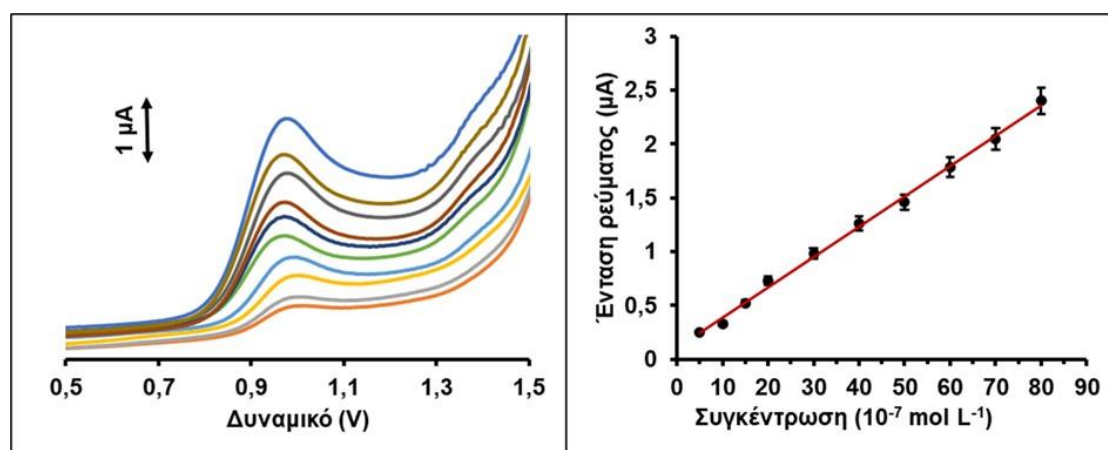
**Σχήμα 52:** Μεταβολή του ύψους κορυφής οξείδωσης κολχικίνης συγκέντρωσης  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7, συναρτήσεως του χρόνου προσυγκέντρωσης.

Τέλος έγινε μελέτη του χρόνου και δυναμικού προσυγκέντρωσης. Η εφαρμογή διαφοράς δυναμικού δεν φάνηκε να επηρεάζει τη βολταμμετρική κορυφή της κολχικίνης. Η μελέτη έγινε με μεταβολή του δυναμικού, από -1,5 V μέχρι 0 V, οπότε επιλέχθηκε εφαρμογή δυναμικού -1,2 V. Αντίθετα, ο χρόνος προσυγκέντρωσης επηρέαζε σημαντικά την απόκριση. Στο **σχήμα 52** φαίνεται πως μεταβάλλεται το ύψος κορυφής οξειδωσης της κολχικίνης συναρτήσει του χρόνου προσυγκέντρωσης (0-360s). Ως βέλτιστος επιλέγεται χρόνος 120 s, επειδή προσφέρει ικανοποιητική ευαισθησία σε σύντομο χρόνο.

## 9.6 Καμπύλη αναφοράς

### 9.6.1 Καμπύλη αναφοράς QF

Η καμπύλη αναφοράς της QF πραγματοποιήθηκε σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,8) με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη στις βέλτιστες συνθήκες (χρόνος προσυγκέντρωσης 120 s και δυναμικό προσυγκέντρωσης -0,3 V). Η κορυφή οξειδωσης παρουσίασε γραμμική εξάρτηση με τη συγκέντρωση, στην περιοχή ( $5 \cdot 10^{-7} - 80 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  για την QF) με  $R^2 = 0,997$  (**σχήμα 53**).



**Σχήμα 53:** Βολταμμογραφήματα SW για QF που ελήφθησαν με τον τρισδιάστατα εκτυπωμένο ενσωματωμένο αισθητήρα σε εύρος συγκέντρωσης  $5 \cdot 10^{-7} - 80 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικού (pH 4,8) συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  με στάδιο προσυγκέντρωσης -0,3 V για 120 s. Η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς για το προσδιορισμό της QF παρουσιάζεται δεξιά. Τα σημεία στη καμπύλη αναφοράς είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd ( $n = 3$ ).



**Πίνακας 8:** Σύγκριση του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα με άλλους ηλεκτροχημικούς αισθητήρες για τον προσδιορισμό της QF (γραμμικής περιοχής και LOD) .

Αισθητήρας	Γραμμική περιοχή (mol L <sup>-1</sup> )	LOD (mol L <sup>-1</sup> )	Αναφορές
CPE μορφοποιημένο με πολυμερές	$1.6 \times 10^{-8} - 2.0 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-9}$	144
GCE	$2 \times 10^{-8} - 5 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-8}$	145
GCE μορφοποιημένο με πολυμερές	$8.0 \times 10^{-8} - 7.5 \times 10^{-6}$	$1.9 \times 10^{-8}$	146
Αισθητήρας μεμβράνης PVC	$1 \times 10^{-7} - 2 \times 10^{-2}$	$2 \times 10^{-7}$	147
GCE μορφοποιημένο με σωματίδια CB	$5.0 \times 10^{-8} - 3.5 \times 10^{-6}$	$7 \times 10^{-9}$	148
GCE μορφοποιημένο με γραφένιο	$1 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-5}$	$2.2 \times 10^{-8}$	149
GCE	$4 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-4}$	$4 \times 10^{-8}$	150
Σταγονικό ηλεκτρόδιο υδραργύρου	$2.1 \times 10^{-5} - 1.2 \times 10^{-4}$	$1.6 \times 10^{-7}$	151
Αισθητήρας μεμβράνης PVC	$1 \times 10^{-5} - 2 \times 10^{-2}$	$3.2 \times 10^{-6}$	152
Τρισδιάστατα εκτυπωμένο ηλεκτρόδιο από CB/PLA	$5 \times 10^{-7} - 8 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-9}$	

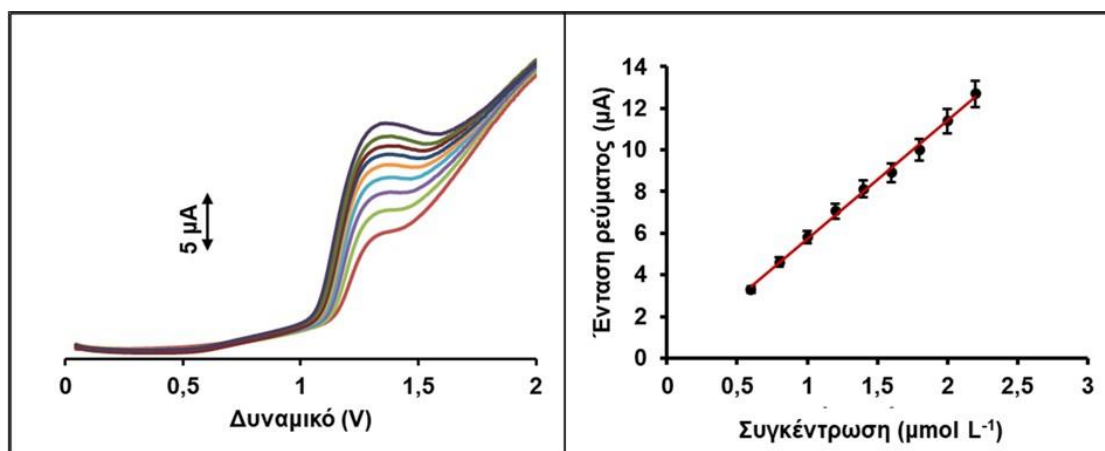
Το όριο ανίχνευσης ήταν  $2 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ , το οποίο υπολογιστικέ μέσω της εξίσωσης  $\text{LOD} = 3 \text{ sd}/a$  (όπου sd είναι η τυπική απόκλιση και a είναι η κλίση της καμπύλης αναφοράς). Όπως φαίνεται στον **πίνακα 8**, το LOD της προτεινόμενης μεθόδου είναι χαμηλότερο από αυτό που αναφέρεται με άλλους μορφοποιημένους ηλεκτροχημικούς αισθητήρες QF <sup>(143-152)</sup>.

### 9.6.2 Καμπύλη αναφοράς κολχικίνης

Η καμπύλης αναφοράς γίνεται με βολταμμετρία διαφορικού παλμού, με χρόνο προσυγκέντρωσης 120 s εφαρμόζοντας δυναμικό -1,2 V. Ως ηλεκτρολύτης χρησιμοποιείται ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 0,1 M με pH 7. Στο **σχήμα 54** παρουσιάζονται βολταμμογραφήματα για εύρος συγκεντρώσεων  $0,6 - 2,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς ( $R^2 = 0,997$ ).

Το LOD υπολογιστικέ στα  $0,02 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  από τη σχέση  $\text{LOD} = 3\text{SD}/a$ . Όπως φαίνεται στον **πίνακα 9**, το LOD της προτεινόμενης μεθόδου είναι

χαμηλότερο από αυτό που αναφέρεται με άλλους ηλεκτροχημικούς αισθητήρες για τον προσδιορισμό κολχικίνης.



**Σχήμα 54:** Βολταμμογραφήματα DP για κολχικίνη που ελήφθησαν με τον τρισδιάστατα εκτυπωμένο ενσωματωμένο αισθητήρα σε εύρος συγκέντρωσης 0,6 - 2,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH 7) συγκέντρωσης 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  με στάδιο προσυγκέντρωσης -1,2 V για 120 s. Η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς για το προσδιορισμό της κολχικίνης παρουσιάζεται δεξιά. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd ( $n = 3$ ).

**Πίνακας 9:** Σύγκριση του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα με άλλους ηλεκτροχημικούς αισθητήρες για τον προσδιορισμό της κολχικίνης (γραμμικής περιοχής και LOD)

Αισθητήρας	Γραμμική περιοχή ( $\text{mol L}^{-1}$ )	LOD ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Αναφορές
SPE	$2,1 \times 10^{-6} - 3,0 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-6}$	91
GCE	$1 \times 10^{-7} - 4 \times 10^{-5}$	$4 \times 10^{-8}$	92
GCE	$6 \times 10^{-6} - 25,3 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-6}$	93
CPE	$1 \times 10^{-8} - 2,5 \times 10^{-5}$	$8 \times 10^{-9}$	94
BDDE	$1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-7}$	95
Σταγονικό ηλεκτρόδιο υδραργύρου	$1 \times 10^{-8} - 5 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-7}$	96
Τρισδιάστατα εκτυπωμένο ηλεκτρόδιο από CB/PLA	$6 \times 10^{-7} - 22 \times 10^{-7}$	$2 \times 10^{-8}$	

## 9.7 Σταθερότητα αισθητήρα

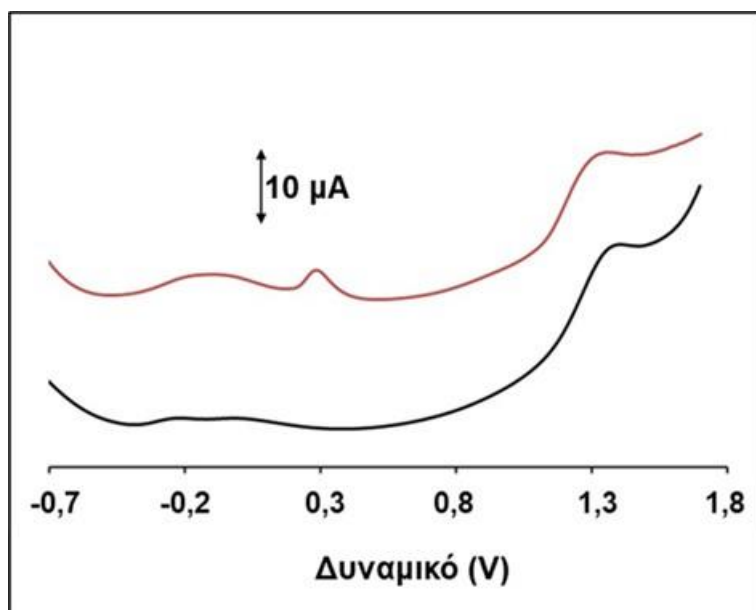
Η επαναληψιμότητα του αισθητήρα υπολογίστηκε από τις αποκρίσεις  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF μέσω οκτώ επαναλαμβανόμενων μετρήσεων και η επί τοις εκατό σχετική τυπική απόκλιση (RSD%) ήταν 4,3%. Η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ διατάξεων (όσον αφορά το % RSD για έξι διαφορετικές διατάξεις) ήταν 6,2% σε επίπεδο  $50 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  QF.

Αντίστοιχα, η επαναληψιμότητα χρησιμοποιώντας τον ίδιο αισθητήρα σε 8 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις συγκέντρωσης  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  κολχικίνης ήταν 4,6% και η αναπαραγωγιμότητα υπολογισμένη σε 6 διαφορετικούς αισθητήρες ήταν 6,8%.

## 9.8 Παρεμποδίσεις

Η επίδραση ορισμένων ουσιών, που μπορεί να υπάρχουν σε φαρμακευτικά και βιολογικά δείγματα και πιθανώς παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό της QF, μελετήθηκε με την προσθήκη των ενώσεων σε διάλυμα που περιέχει  $50 \cdot 10^{-7}$  QF. Συγκεκριμένα οι ενώσεις γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, ουρία, ασκορβικό οξύ, κιτρικό οξύ, Pb(II), Zn(II), Cd(II) ή Cu(II) δεν παρεμπόδιζαν σε αναλογία συγκέντρωσης 1:10 (πρότυπο διάλυμα: παρεμποδιστής), υποδεικνύοντας την καλή εκλεκτικότητα της παρουσιαζόμενης ηλεκτροχημικής μεθόδου. Συνεπώς, η συγκεκριμένη μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της QF σε βιολογικά δείγματα.

Επίσης μελετήθηκε η επίδρασή παρεμποδίσεων στον προσδιορισμό της κολχικίνης. Ο έλεγχος των παρεμποδίσεων έγινε σε διάλυμα που περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  με pH 7, κολχικίνη σε συγκέντρωση  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  και τις ουσίες που ελέγχονται ως προς τις παρεμποδίσεις (ασκορβικό οξύ, γαλακτικό οξύ, ουρικό οξύ), σε συγκέντρωση έως και 100 φορές μεγαλύτερες από την συγκέντρωση της κολχικίνης δεν φάνηκε να επηρεάζουν την απόκριση του αισθητήρα (**σχήμα 55**).

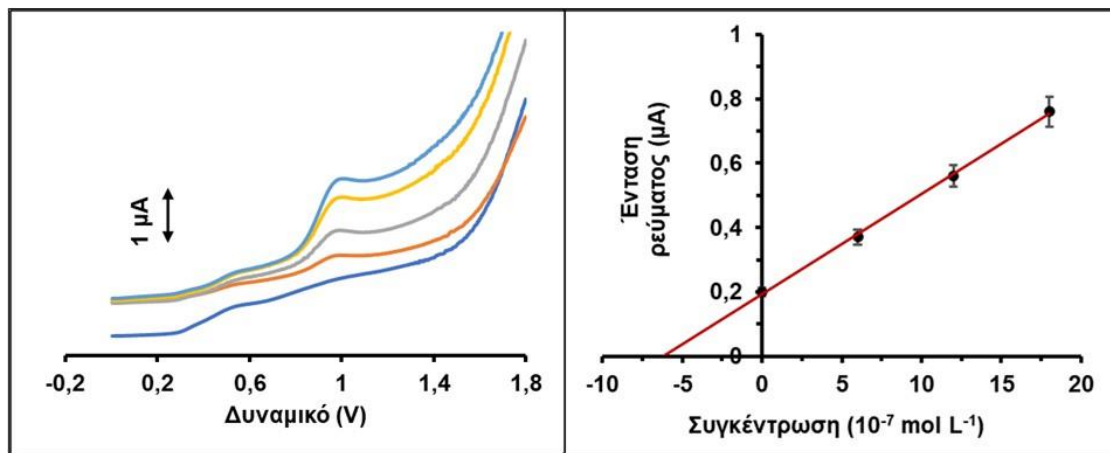


**Σχήμα 55:** Βολταμογραφήματα DP που ελήφθησαν με τον τρισδιάστατα εκτυπωμένο ενσωματωμένο αισθητήρα σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH 7) συγκέντρωσης  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  με στάδιο προσυγκέντρωσης  $-1,2 \text{ V}$  για  $120 \text{ s}$ .  $1 \text{ μmol L}^{-1}$  κολχικίνη (μαύρο χρώμα) και  $1 \text{ μmol L}^{-1}$  κολχικίνη παρουσία  $100 \text{ μmol L}^{-1}$  ασκορβικό οξύ,  $100 \text{ μmol L}^{-1}$  γαλακτικό οξύ,  $100 \text{ μmol L}^{-1}$  ουρικό οξύ (κόκκινο χρώμα).

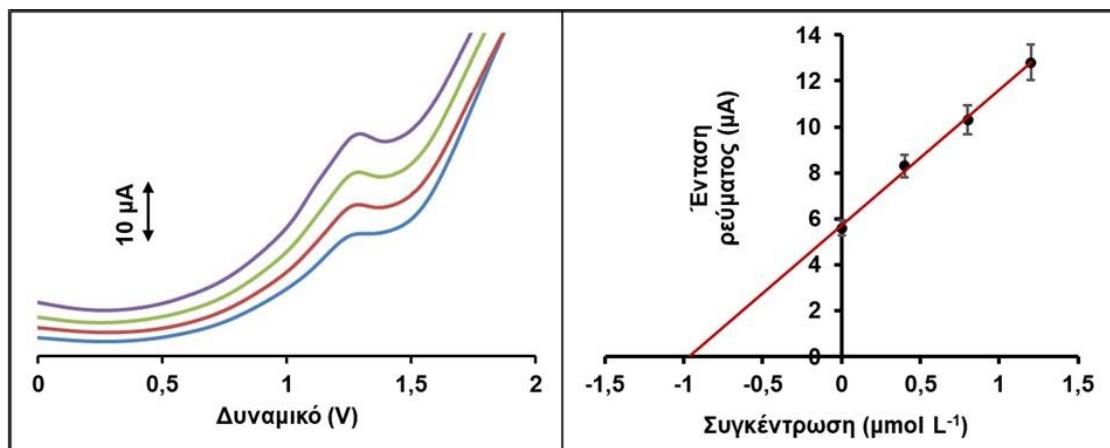
### 9.9 Αναλύσεις δειγμάτων

Προκειμένου να εκτιμηθεί η αναλυτική χρησιμότητα των παρουσιαζόμενων ηλεκτροχημικών μεθόδων, χρησιμοποιήθηκε η τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη για τον ποσοτικό προσδιορισμό της QF σε δείγμα ούρων και σε δισκία καθώς και για τον ποσοτικό προσδιορισμό κολχικίνης σε δισκία και τεχνητό πλάσμα αίματος. Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία ακολουθώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται στο κεφάλαιο 9.1. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος σταθερής προσθήκης για τις αναλύσεις των δειγμάτων, προκειμένου να υπολογιστούν οι αντίστοιχες τιμές ανάκτησης.

Στην περίπτωση των φαρμακευτικών δισκίων η υπολογισμένη ποσότητα ήταν  $(24,8 \pm 0,6 \text{ mg}$  ανά δισκίο), παρέχοντας μέση ανάκτηση 99%. Στην περίπτωση του δείγματος ούρων η μέση ανάκτηση ήταν 103% (**σχήμα 56**). Για τον προσδιορισμό της QF σε δείγμα ούρων, το δείγμα εμβολιάστηκε με QF σε τελική συγκέντρωση  $3 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ , αραιώθηκε 1:5 με  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ρυθμιστικού διαλύματος οξικών (pH 4,8) και υποβλήθηκε ως έχει σε ανάλυση.



**Σχήμα 56:** Βολταμμογραφήματα SW για τον προσδιορισμό της QF σε δείγμα ούρων με χρήση του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα. (μπλε χρώμα: δείγμα ούρων χωρίς προσθήκη QF, πορτοκαλί χρώμα: δείγμα ούρων με προσθήκη QF και 3 προσθήκες  $6 \cdot 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> QF) στάδιο προσυγκέντρωσης -0,3V για 120 s. Το αντίστοιχο διάγραμμα σταθερής προσθήκης παρουσιάζεται δεξιά. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd (n = 3).



**Σχήμα 57:** Βολταμμογραφήματα DP για τον προσδιορισμό της κολχικίνης σε δείγμα τεχνητού πλάσματος αίματος με χρήση του τρισδιάστατα εκτυπωμένου αισθητήρα. (μπλε χρώμα: δείγμα πλάσματος αίματος με κολχικίνη συγκέντρωσης 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  και 3 προσθήκες 0,4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) στάδιο προσυγκέντρωσης -1,2V για 120 s. Το αντίστοιχο διάγραμμα σταθερής προσθήκης παρουσιάζεται δεξιά. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd (n = 3).

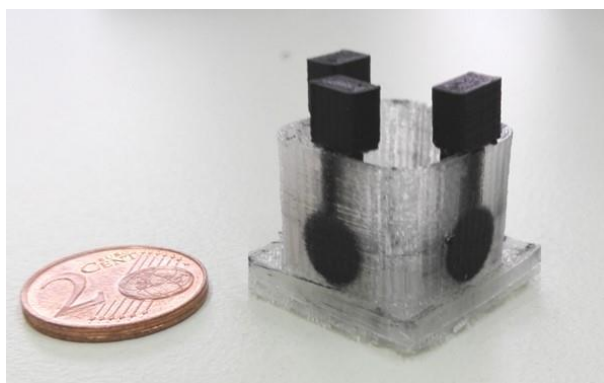
Στην περίπτωση των φαρμακευτικών δισκίων κολχικίνης η υπολογισμένη ποσότητα ήταν ( $0,98 \pm 0,05$  mg ανά δισκίο), παρέχοντας ανάκτηση 98%. Επίσης έγινε προσδιορισμός κολχικίνης σε τεχνητό πλάσμα αίματος. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης σε δείγμα τεχνητού πλάσματος αίματος, προστέθηκε συγκέντρωση κολχικίνης ίση με  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  και αραιώθηκε δέκα φορές με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  με

pH 7, οπότε η συγκέντρωση της κολχικίνης ήταν  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , ακολουθήσαν τρεις διαδοχικές προσθήκες κολχικίνης συγκέντρωσης  $0,4 \mu\text{mol L}^{-1}$  (**σχήμα 57**) η τιμή της ανάκτησης ήταν στο 97%.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

### Ταυτόχρονος προσδιορισμός παρακεταμόλης και καφεΐνης

Η 3D διάταξη που εφαρμόστηκε για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό παρακεταμόλης και καφεΐνης κατασκευάστηκε εξ ολοκλήρου με τρισδιάστατο εκτυπωτή δύο κεφαλών όπως περιγραφικέ στο κεφάλαιο 6.2 και παρουσιάζεται στην **εικόνα 6**.



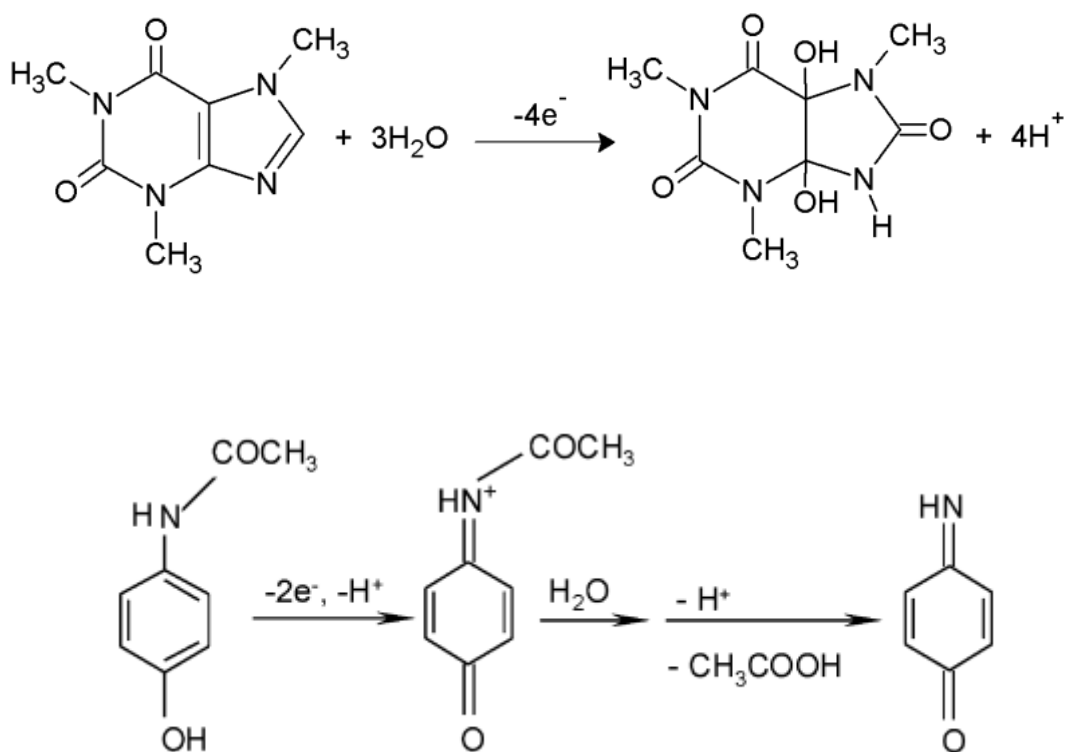
**Εικόνα 6:** Φωτογραφία της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης

Η διάταξη αποτελείται από μία διαφανή μικρή κυψελίδα (τυπωμένη από μη αγώγιμο νήμα PLA) και από 3 ενσωματωμένα ηλεκτρόδια εκτυπωμένα από αγώγιμο νήμα άνθρακα/ABS, και για τον προσδιορισμό των δύο φαρμακευτικών ουσιών δεν απαιτείται κάποιο σταδιο ενεργοποίησης. Η αναλυτική ικανότητα του αισθητήρα αποδεικνύεται με τον ταυτόχρονο προσδιορισμό της παρακεταμόλης και της καφεΐνης σε φαρμακευτικά δισκία και σε δείγμα ούρων με DPV.

#### 10.1 Αρχές ηλεκτροχημικών μεθόδων

Η κυκλική βολταμμετρία πραγματοποιήθηκε σε ηλεκτρολύτη  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  με ρυθμό σάρωσης  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Ο προσδιορισμός της παρακεταμόλης (PAR) και της καφεΐνης (CAF) έγινε με DPV σε στατικές συνθήκες. Πριν από κάθε μέτρηση το διάλυμα αναδεύονταν για 5 s. Για την ανάλυση των δισκίων, 3 αναβράζοντα δισκία διαλύθηκαν σε 300 mL δις απεσταγμένου νερού και 20  $\mu\text{L}$  από το διάλυμα μεταφέρθηκαν στη μικροκυψελίδα που περιείχε 1,98 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ . Το

δείγμα ούρων αραιώθηκε 1:10 με H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> συγκέντρωσης 0,3 mol L<sup>-1</sup> και έγινε επιμόλυνσή του με παρακεταμόλη και καφεΐνη τελικής συγκέντρωσης 7 mgL<sup>-1</sup>. Ο ποσοτικός προσδιορισμός στα δείγματα έγινε με τη μέθοδο σταθερής προσθήκης. Για λόγους σύγκρισης έγιναν μετρήσεις σε κυψελίδα όγκου 10 mL χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο εργασίας πάστας άνθρακα (CPE), αναφοράς Ag/AgCl (κορ. KCl) και βοηθητικό ηλεκτρόδιο Pt. Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί αντίδρασης στο ηλεκτρόδιο για την καφεΐνη και την παρακεταμόλη είναι οι ακόλουθοι:



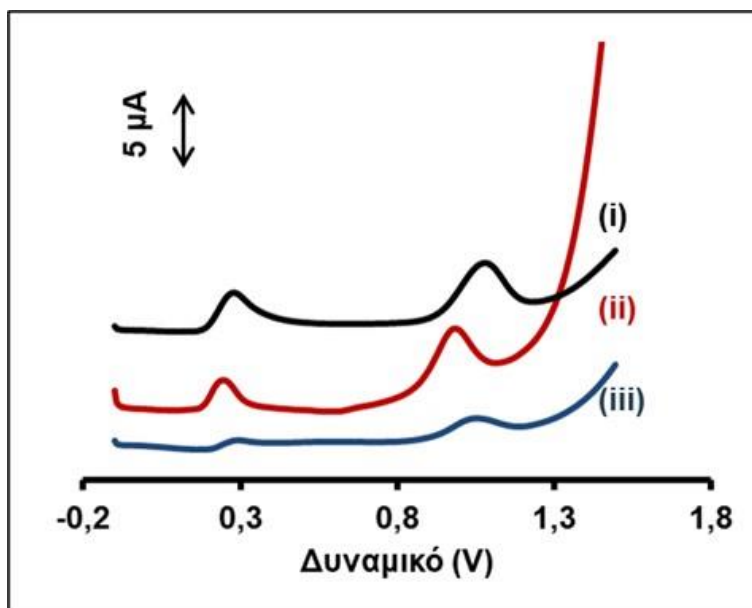
**Σχήμα 58:** Προτεινόμενοι μηχανισμοί αντίδρασης σε ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα C/ABS.

## 10.2 Επιλογή αγώγιμου νήματος

Τρία αγώγιμα νήματα δοκιμάστηκαν ως προς την βολταμμετρική απόκριση στην παρακεταμόλη και στην καφεΐνη. Συγκεκριμένα, δοκιμάστηκαν νήμα C/ABS (3DEdge) και δύο νήματα CB/PLA (Proto-Pasta και Amolen). Όπως φαίνεται στο **σχήμα 59**, τα ηλεκτρόδια κατασκευασμένα από C/ABS της εταιρίας 3DEdge παρείχαν καλύτερη ευαισθησία από το νήμα CB/PLA της εταιρίας Amolen και καλύτερο σήμα υποβάθρου από το νήμα CB/PLA της



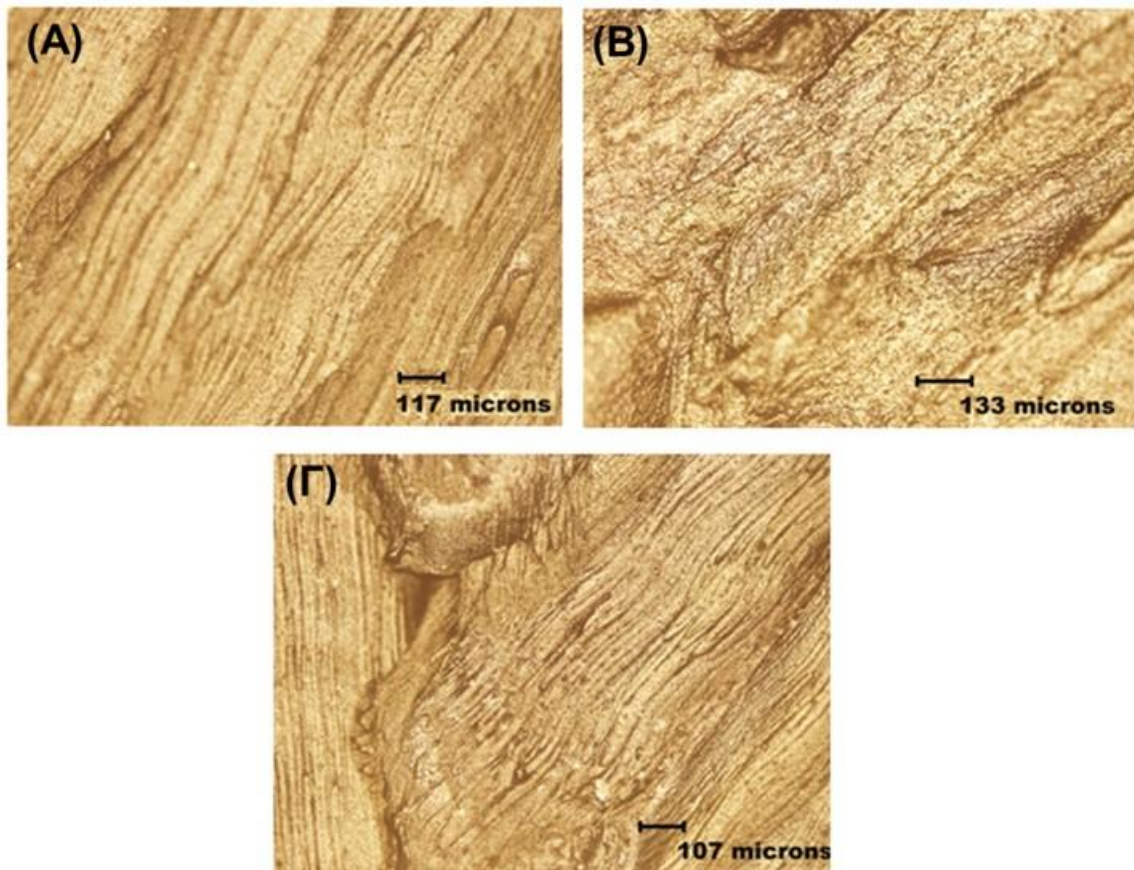
Proto-Pasta. Επομένως, επιλέχθηκε το νήμα C/ ABS για την κατασκευή των τριών ηλεκτροδίων.



**Σχήμα 59:** DP βολταμμογραφήματα διαλύματος που περιέχει  $15 \text{ mg L}^{-1}$  PAR και CAF σε  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ , που λήφθηκε από την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδια εργασίας από νήμα που περιέχει άνθρακα και : (i) C/ABS από την 3DEdge ii) CB/PLA από την Proto-Pasta και iii) CB/PLA από την Amolen.

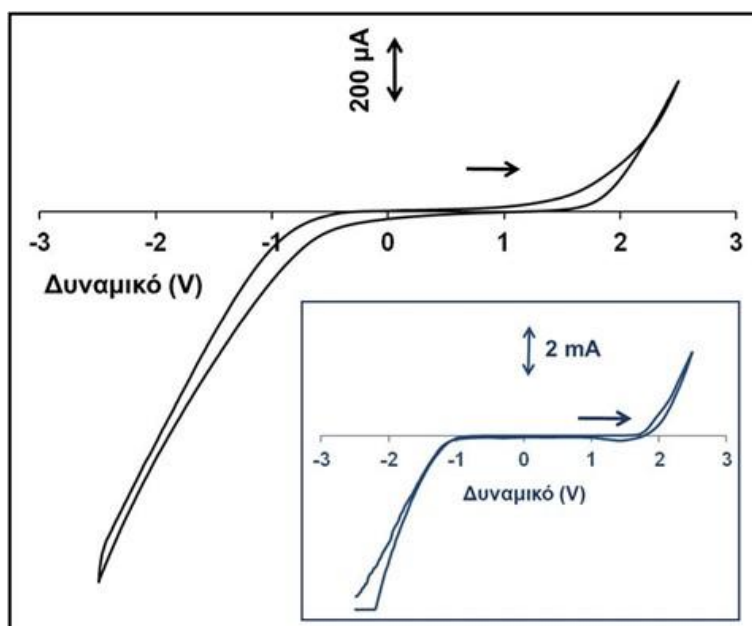
### 10.3 Χαρακτηρισμός αισθητήρα

Η επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας που εκτυπώθηκε με τα τρία νημάτια (C/ABS από την 3DEdge, CB/PLA από την Proto-Pasta και CB/PLA από την Amolen) εξετάστηκε με οπτικό μικροσκόπιο και τα αποτελέσματα φαίνονται στην **εικόνα 7**. Από τον έλεγχο, δεν προκύπτουν ιδιαίτερες διαφορές. Το αγώγιμο νήμα που επιλέχθηκε για την κατασκευή των τριών ηλεκτροδίων (C/ABS), δεν απαιτεί κάποιο στάδιο χημικής ή ηλεκτροχημικής ενεργοποίησης, όπως απαιτούν άλλα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτρόδια που έχουν αναφερθεί στην βιβλιογραφία (π.χ. γραφένιο/PLA, CB/PLA) (62,153,154,155).



**Εικόνα 7:** Φωτογραφία από οπτικό μικροσκόπιο της επιφάνειας του ηλεκτροδίου εργασίας που εκτυπώθηκε με: (Α) νήμα PLA από την Proto-Pasta, (Β) νήμα ABS από την 3DEdge και (Γ) νήμα PLA από την Amolen.

Ο τρισδιάστατα εκτυπωμένος αισθητήρας χαρακτηρίστηκε με κυκλική βολταμμετρία σε  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  σαρώνοντας το δυναμικό από  $-2,5$  έως  $2,5 \text{ V}$  (**σχήμα 60**). Το λειτουργικό παράθυρο του δυναμικού περιορίζεται από την οξείδωση του νερού (άνοδος) και την αναγωγή των ιόντων υδροξονίων (κάθοδος). Το δυναμικό παράθυρο έχει μεγάλο εύρος και είναι ανάλογο με αυτό των συμβατικών ηλεκτροδίων πάστας άνθρακα.

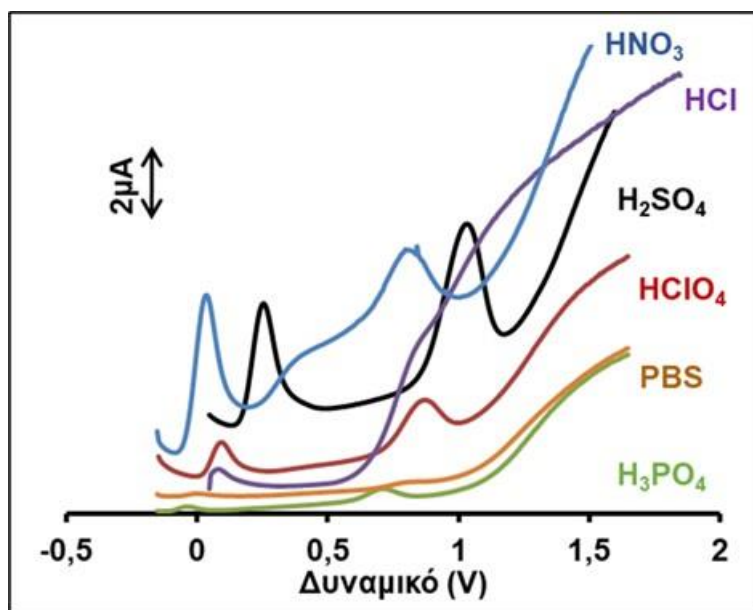


**Σχήμα 60:** Κυκλικά βολταμμογραφήματα τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτρόδιου εργασίας και ηλεκτρόδιου εργασίας πάστας άνθρακα (εσωκλείεται) σε διάλυμα  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωση  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ .

#### 10.4 Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού παρακεταμόλης και καφεΐνης

Αρχικά έγινε μελέτη σύνθεσης του φέροντος ηλεκτρολύτη για τον βολταμμετρικό προσδιορισμό παρακεταμόλης και καφεΐνης. Δοκιμάστηκαν διάφοροι ηλεκτρολύτες όπως:  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (pH 7) σε συγκεντρώσεις  $0,1 - 0,6 \text{ mol L}^{-1}$ . Τα καλύτερα αποτελέσματα και για τους δύο αναλύτες, τόσο ως προς την ευαισθησία όσο ως προς την επίδραση του σήματος υποβάθρου, λήφθηκαν με  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$  (σχήμα 61).

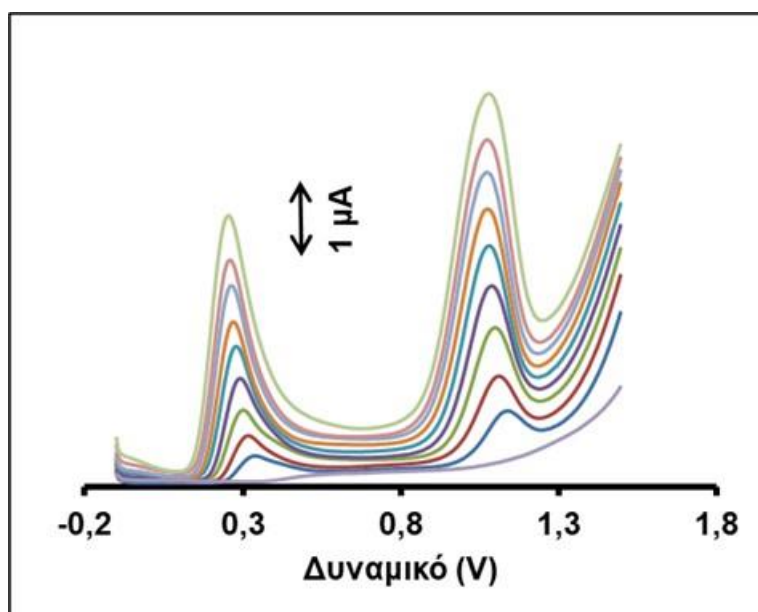
Επίσης, δοκιμάστηκε η επίδραση του πλάτους παλμού (modulation amplitude) από 25 έως 75 mV και ο ρυθμός εφαρμογής του παλμού (pulse repeat time) από 0,025 έως 0,075 s στην βολταμμετρική απόκριση της παρακεταμόλης και της καφεΐνης. Οι βέλτιστες συνθήκες που επιλέχθηκαν ήταν 50 mV και 0,05 s, αντίστοιχα.



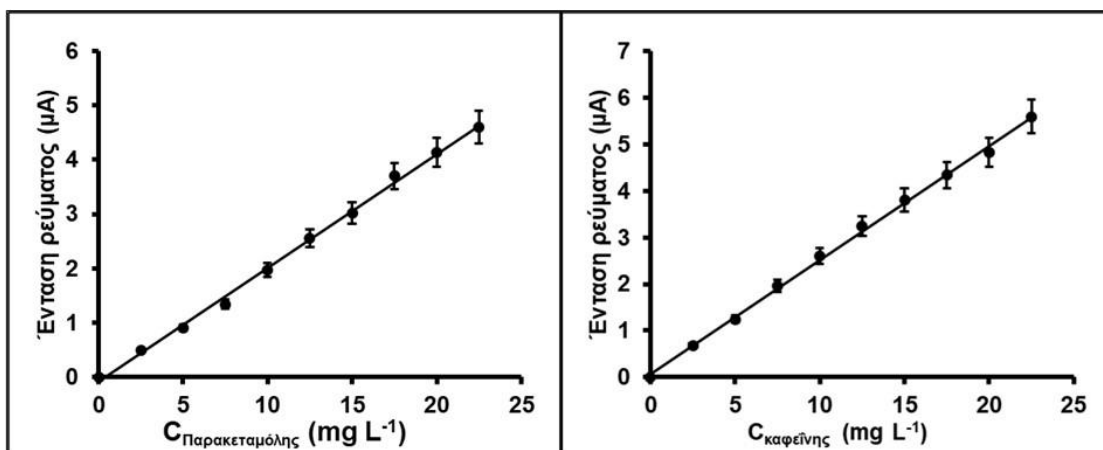
**Σχήμα 61:** Επίδραση φέροντος ηλεκτρολύτη (συγκέντρωσης  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ ) στα βολταμμογραφήματα DP ενός διαλύματος που περιέχει  $22,5 \text{ mg L}^{-1}$  PAR και CAF.

### 10.5 Καμπύλες αναφοράς

Λήφθηκαν δύο καμπύλες αναφοράς. Μία σε εύρος συγκεντρώσεων  $0 - 22,5 \text{ mg L}^{-1}$  (σχήμα 62 - 63) και για τις δύο ουσίες και μία σε συγκεντρώσεις  $0 - 175 \text{ mg L}^{-1}$  παρακεταμόλης και  $0 - 35 \text{ mg L}^{-1}$  καφεΐνης (σχήμα 64 - 65), λαμβάνοντας υπόψη τις συγκεντρώσεις των δύο ουσιών σε φαρμακευτικά δισκία ( $500 \text{ mg PAR}$  και  $65 \text{ mg CAF}$ ).

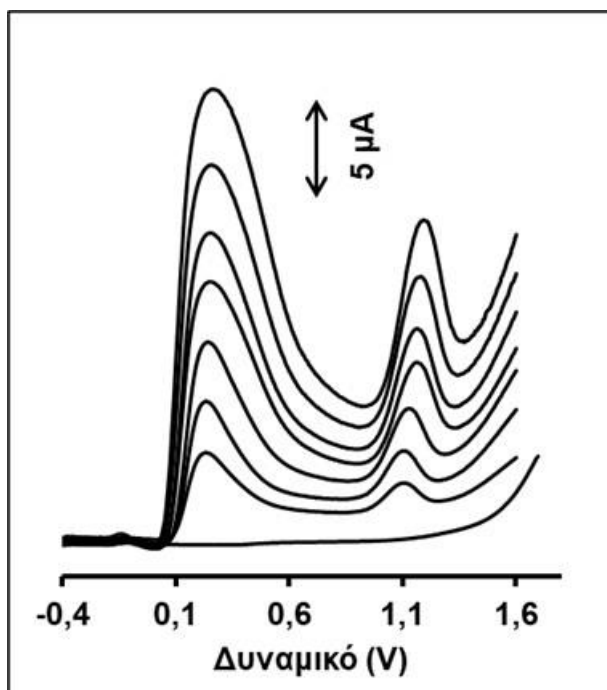


**Σχήμα 62:** DP βολταμμογραφήματα που λήφθηκαν από την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη. Το εύρος των συγκεντρώσεων PAR και CAF είναι  $0 - 22,5 \text{ mg L}^{-1}$ .

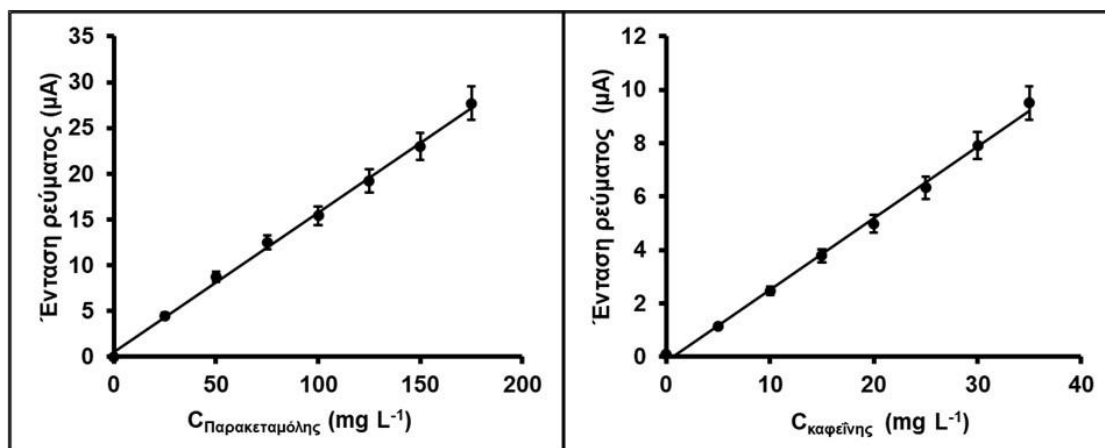


**Σχήμα 63:** Αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς για την παρακεταμόλη και την καφεΐνη. Τα σημεία της καμπύλης αναφοράς είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd (n=3).

Η γραμμικότητα της καμπύλης και για τις δύο ενώσεις ήταν ικανοποιητική για εύρος συγκεντρώσεων 0 - 22,5 mg L<sup>-1</sup>, όπου το R<sup>2</sup> = 0,997 για την παρακεταμόλη και R<sup>2</sup> = 0,998 για την καφεΐνη. Τα όρια ανίχνευσης ήταν 0,43 mg L<sup>-1</sup> (2,84 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup>) για την παρακεταμόλη και 0,39 mg L<sup>-1</sup> (2,01 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup>) για την καφεΐνη. Ο υπολογισμός τους έγινε χρησιμοποιώντας την εξίσωση LOD = 3sd/a, και τα όρια ανίχνευσης είναι συγκρίσιμα με αυτά άλλων μη μορφοποιημένων ηλεκτροδίων<sup>(156-161)</sup>.



**Σχήμα 64:** DP βολταμογραφήματα που λήφθηκαν από την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη. Το εύρος των συγκεντρώσεων είναι 0-175 mg L<sup>-1</sup> PAR και 0-35 mg L<sup>-1</sup> CAF.



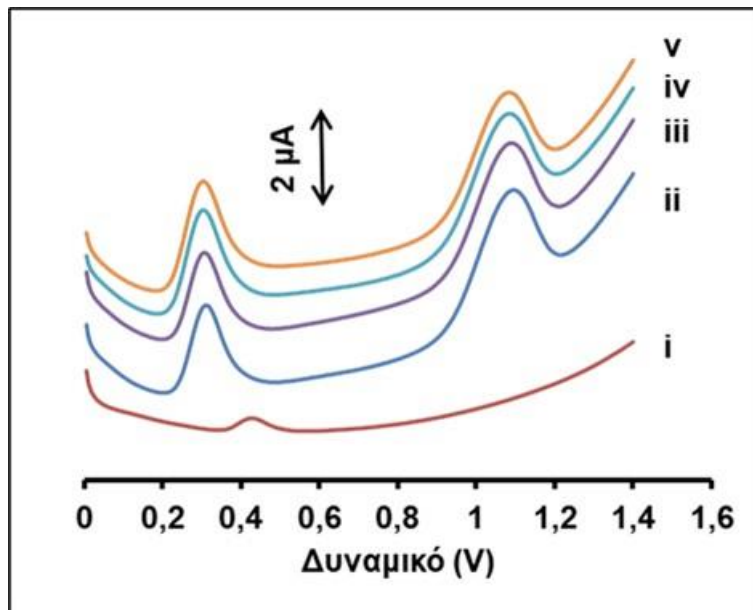
**Σχήμα 65:** Αντίστοιχες καμπύλες αναφοράς για την παρακεταμόλη ( $R^2 = 0,997$ ) και την καφεΐνη ( $R^2 = 0,997$ ). Τα σημεία της καμπύλης αναφοράς είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd ( $n=3$ ).

### 10.6 Σταθερότητα αισθητήρα

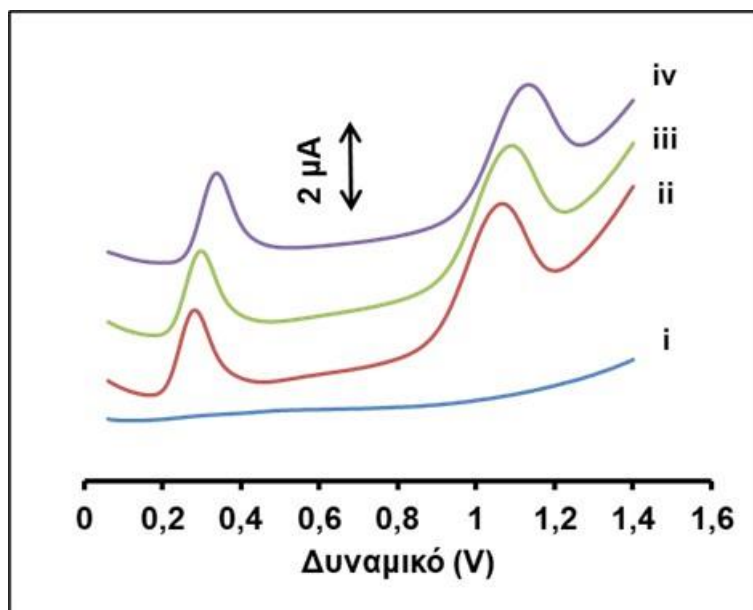
Για να αξιολογηθεί η αναπαραγωγιμότητα υπολογίστηκε η σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) του ύψους κορυφής παρακεταμόλης και καφεΐνης σε διάλυμα, που περιείχε και τις δύο ενώσεις σε συγκέντρωση  $15 \text{ mg L}^{-1}$ . Για τον σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν πέντε διαφορετικές διατάξεις. Το %RSD για την παρακεταμόλη ήταν 7,6% και για την καφεΐνη 4,8%.

### 10.7 Παρεμποδίσεις

Επίσης, ελέγχθηκε αν παρεμποδίζουν ενώσεις που μπορεί να συνυπάρχουν σε φαρμακευτικά ή σε βιολογικά δείγματα. Συγκεκριμένα, σε δείγμα που περιείχε  $15 \text{ mg L}^{-1}$  παρακεταμόλης και καφεΐνης προστέθηκαν γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, K(I), Na(I), Mg(II), Ca(II) σε αναλογία συγκεντρώσεων 1:10 και κιτρικό οξύ και ουρία σε αναλογία συγκεντρώσεων 1:5. Οι ενώσεις αυτές δεν επηρέαζαν τον προσδιορισμό της παρακεταμόλης και της καφεΐνης με DPV, καθώς το σχετικό σφάλμα ήταν  $\leq 5\%$ . Επιπροσθέτως, μελετήθηκε η παρεμπόδιση του ουρικού οξέος. Το ουρικό οξύ μέχρι αναλογία συγκεντρώσεων μάζας 1:10 δεν επηρέασε τον προσδιορισμό της παρακεταμόλης ενώ προκάλεσε αύξηση κατά 16% του ύψους κορυφής  $15 \text{ mg L}^{-1}$  παρακεταμόλης όταν η συγκέντρωση του ήταν  $500 \text{ mg L}^{-1}$  και αύξηση κατά 21% όταν η συγκέντρωση του ουρικού οξέος ήταν  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (**σχήμα 66**). Το ασκορβικό οξύ δεν παρεμποδίζει τον προσδιορισμό της παρακεταμόλης και καφεΐνης ακόμα και όταν ο λόγος των συγκεντρώσεων ήταν 1:67 (**σχήμα 67**).



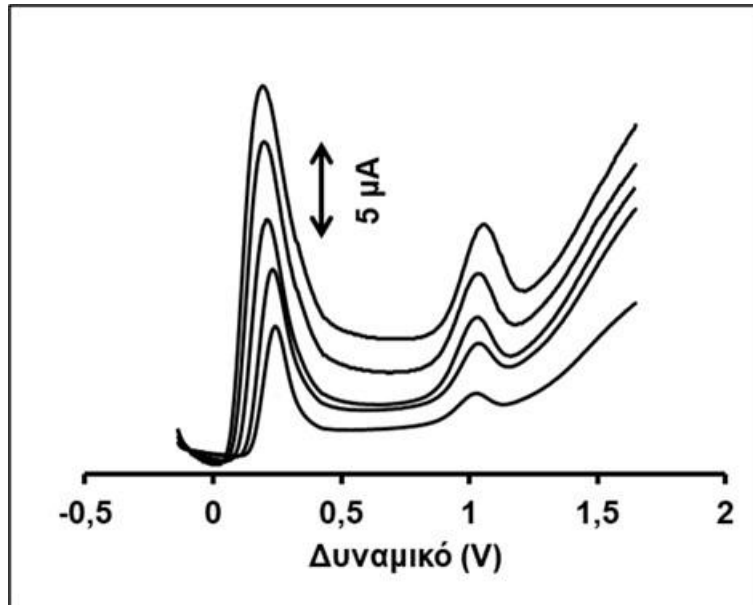
**Σχήμα 66:** Συγκριτικά DP βολταμμογραφήματα που λαμβάνονται με την τρισδιάστατη τυπωμένη διάταξη σε διαλύματα που περιέχουν  $15 \text{ mg L}^{-1}$  μείγματος PAR και CAF και 0, 150, 500,  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  ουρικού οξέος (UA): i)  $100 \text{ mg L}^{-1}$  UA, ii)  $15 \text{ mg L}^{-1}$  PAR, CAF, iii)  $15 \text{ mg L}^{-1}$  PAR, CAF και  $150 \text{ mg L}^{-1}$  UA, iv)  $15 \text{ mg L}^{-1}$  PAR, CAF και  $500 \text{ mg L}^{-1}$  UA, v)  $15 \text{ mg L}^{-1}$  PAR, CAF και  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  UA.



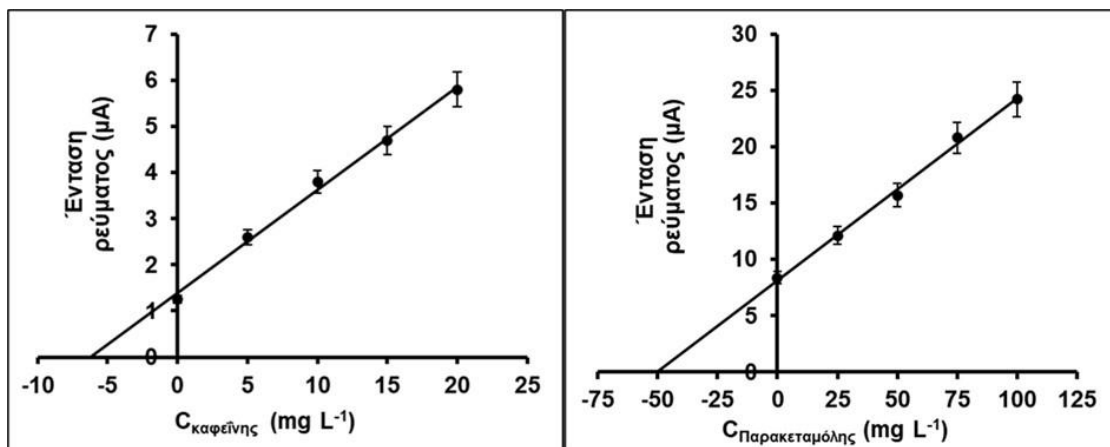
**Σχήμα 67:** Συγκριτικά DP βολταμμογραφήματα που λαμβάνονται με την τρισδιάστατη τυπωμένη διάταξη σε διαλύματα που περιέχουν  $15 \text{ mg L}^{-1}$  μείγματος PAR και CAF και 0, 150,  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  ασκορβικού οξέος (AA): i)  $100 \text{ mg L}^{-1}$  AA, ii)  $15 \text{ mg L}^{-1}$  PAR, CAF, iii)  $15 \text{ mg L}^{-1}$  PAR, CAF και  $150 \text{ mg L}^{-1}$  AA, iv)  $15 \text{ mg L}^{-1}$  PAR, CAF και  $15 \text{ mg L}^{-1}$  και  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  AA.

## 10.8 Αναλύσεις δειγμάτων

Πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονος προσδιορισμός παρακεταμόλης και καφεΐνης σε εμπορικά διαθέσιμα φαρμακευτικά δισκία (περιεκτικότητας 500 mg PAR και 65 mg CAF). Η μέση ανάκτηση και για τις δύο ενώσεις ήταν ικανοποιητική (101% για την παρακεταμόλη και 96% για την καφεΐνη) (σχήμα 68-69).



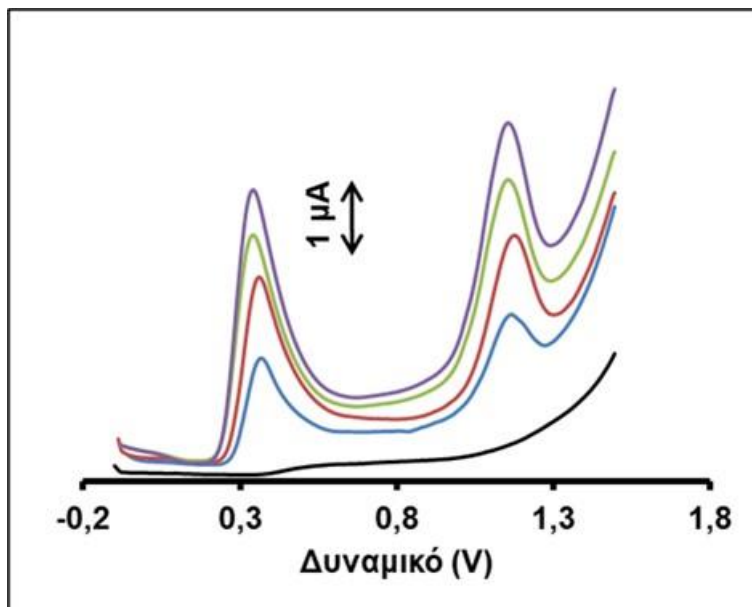
**Σχήμα 68:** DP βολταμογραφήματα που λαμβάνονται με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη για τον προσδιορισμό παρακεταμόλης και καφεΐνης σε φαρμακευτικά δισκία. Δείγμα: δισκίο, τέσσερις σταθερές προσθήκες  $25 \text{ mg L}^{-1}$  παρακεταμόλης και  $5 \text{ mg L}^{-1}$  καφεΐνης.



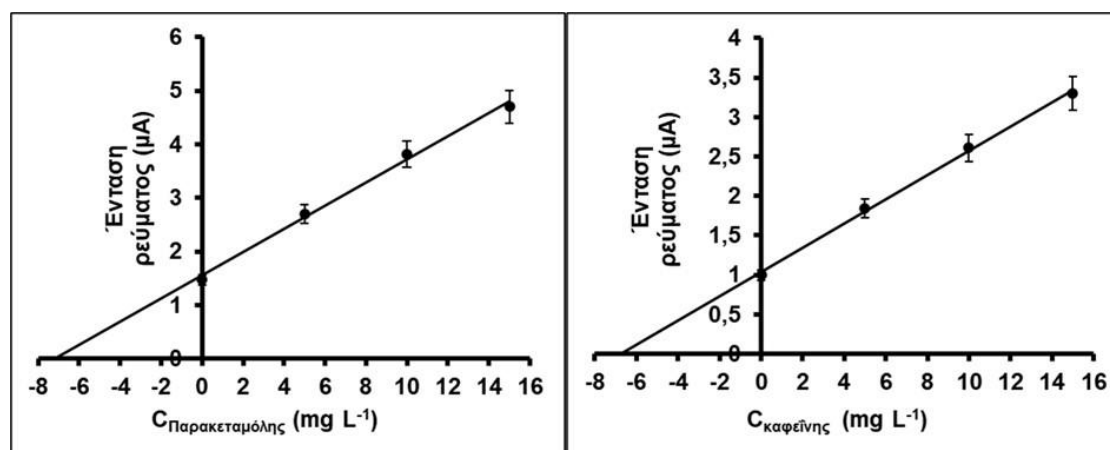
**Σχήμα 69:** Αντίστοιχα γραφήματα σταθερής προσθήκης. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd ( $n = 3$ ).



Ο τρισδιάστατα εκτυπωμένος αισθητήρας χρησιμοποιήθηκε και για τον ποσοτικό προσδιορισμό παρακεταμόλης και καφεΐνης σε δείγμα ούρων. Η μέση ανάκτηση ήταν 103% για την παρακεταμόλη και 97% για την καφεΐνη (σχήμα 70-71).



**Σχήμα 70:** DP βολταμογράφημα που λαμβάνονται με την τρισδιάστατα εκτυπωμένη διάταξη για τον προσδιορισμό παρακεταμόλης και καφεΐνης σε δείγμα ούρων. Δείγμα: ούρα, τρεις σταθερές προσθήκες  $5 \text{ mg L}^{-1}$  παρακεταμόλης και καφεΐνης.

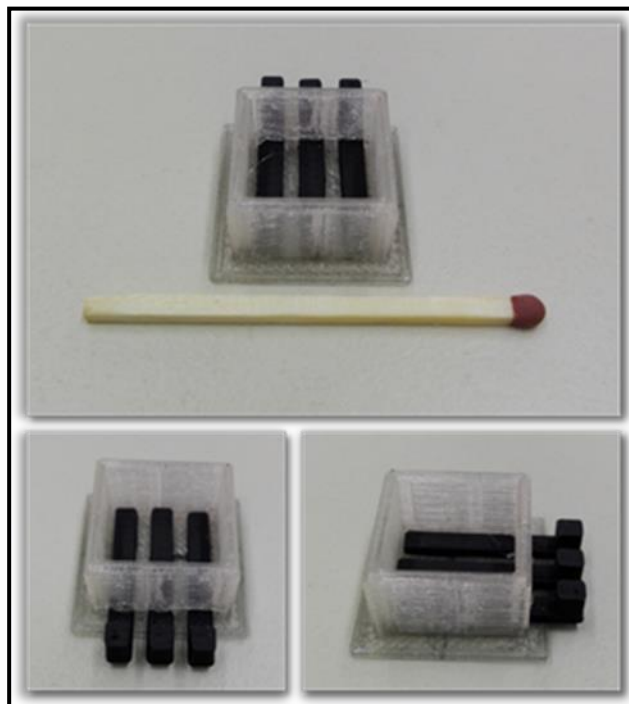


**Σχήμα 71:** Αντίστοιχα γραφήματα σταθερής προσθήκης. Τα σημεία στη καμπύλη είναι η μέση τιμή  $\pm$  sd ( $n = 3$ ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11

### Προσδιορισμός υδραργύρου

Στην **εικόνα 8** παρουσιάζεται αισθητήρας που κατασκευάστηκε μόνο με τη χρήση τρισδιάστατου εκτυπωτή, για τον προσδιορισμό Hg(II) με ανοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία (ASV).



**Εικόνα 8:** Φωτογραφίες της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης.

Η διάταξη κατασκευάζεται σε ένα στάδιο με τη χρήση τρισδιάστατου εκτυπωτή δύο κεφαλών, όπως περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 6.2 και αποτελείται από μία μικρο-κυψελίδα (από μη αγώγιμο νήμα PLA) και από τρία αγώγιμα ηλεκτρόδια (από αγώγιμο νήμα CB/PLA), που είναι τοποθετημένα στη βάση της μικροκυψελίδας. Η επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας μορφοποιήθηκε επιτόπου (in situ) με ηλεκτρολυτική εναπόθεση χρυσού.

#### 11.1 Αρχές ηλεκτροχημικών μεθόδων

Τα πειράματα βολταμμετρίας γραμμικής σάρωσης πραγματοποιήθηκαν σε ηλεκτρολύτη H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> συγκέντρωσης 0,2 mol L<sup>-1</sup> και ρυθμό σάρωσης 50 mV s<sup>-1</sup>. Στα πειράματα με ανοδική αναδιαλυτική βολταμμετρίας 500 μL

διαλύματος εργασίας, που περιείχε συγκεκριμένη συγκέντρωση  $\text{Hg(II)}$  και  $1 \text{ mg L}^{-1} \text{ AuCl}_4^-$ , τοποθετήθηκαν στην μικροκυψελίδα. Το στάδιο της προσυγκέντρωσης διενεργήθηκε σε δυναμικό  $-1,0 \text{ V}$  για  $360 \text{ s}$ , χρησιμοποιώντας ηλεκτρική οδοντόβουρτσα (Colgate 360°) ως αναδευτήρα δόνησης, στην κεφαλή της οποίας στηριζόταν η 3D printed διάταξη με κολλητική ταινία διπλής όψεως (εικόνα 9). Μετά το στάδιο της προσυγκέντρωσης η ανάδευση διακόπηκε, το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας σαρώθηκε από  $-0,2$  έως  $+0,4 \text{ V}$  με DP και καταγράφηκε το βολταμμογράφημα. Οι παράμετροι της διαφορικής παλμικής βολταμμετρίας ήταν:

- Ρυθμός σάρωσης (scan rate):  $25 \text{ mV s}^{-1}$
- Πλάτος παλμού (pulse width):  $75 \text{ ms}$
- Αύξηση (increment):  $10 \text{ mV}$
- Χρόνος επανάληψης παλμού (pulse repeat time):  $50 \text{ ms}$
- Εύρος διαφοροποίησης παλμού (modulation amplitude):  $25 \text{ mV}$

Στη συνέχεια, εφαρμόστηκε στάδιο καθαρισμού στο ηλεκτρόδιο εργασίας, προκειμένου να απομακρυνθεί το υμένιο χρυσού και υπολείμματα υδραργύρου, που τυχόν είχαν παραμείνει. Ο καθαρισμός του ηλεκτροδίου έγινε υπό ανάδευση σε δυναμικό  $+1,0 \text{ V}$  για  $40 \text{ s}$ . Η ποσοτικοποίηση πραγματοποιήθηκε προσθέτοντας γνωστή ποσότητα διαλύματος  $\text{Hg(II)}$ .

Το πρωτόκολλο για την *ex situ* επιμετάλλωση του ηλεκτροδίου εργασίας, περιλάμβανε την τοποθέτηση στην κυψελίδα διαλύματος  $\text{AuCl}_4^-$  συγκέντρωσης  $1 \text{ mg L}^{-1}$  σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ . Στη συνέχεια, εφαρμοζόταν στο ηλεκτρόδιο εργασίας δυναμικό  $-1,0 \text{ V}$  για  $360 \text{ s}$ . Μετά την απομάκρυνση του διαλύματος,  $500 \text{ }\mu\text{L}$  από το δείγμα μεταφέρονταν στην κυψελίδα και ακολουθούσε το στάδιο προσυγκέντρωσης υπό ανάδευση εφαρμόζοντας δυναμικό  $-1,0 \text{ V}$  για  $360 \text{ s}$ , με τις παραμέτρους της DP σάρωσης που αναφέρονται στην προηγούμενη παράγραφο.

Ο αισθητήρας χρησιμοποιήθηκε για να προσδιοριστεί  $\text{Hg(II)}$  και σε δείγματα εμφιαλωμένου νερού και ιχθυέλαιο. Για την προετοιμασία του δείγματος ιχθυελαίου, ζυγίστηκαν  $100 \text{ mg}$  του δείγματος σε φιαλίδιο, προστέθηκαν  $5 \text{ }\mu\text{L}$  διαλύματος  $\text{Hg(II)}$  συγκέντρωσης  $100 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $1 \text{ mL H}_2\text{SO}_4$  (96% κ.β.) και  $1 \text{ mL H}_2\text{O}_2$  (30% κ.ο). Στη συνέχεια, το φιαλίδιο τοποθετήθηκε

σε συσκευή υπερήχων για 20 min. Τέλος, το δείγμα μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL και αραιώθηκε με δις απεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή.

Το δείγμα του εμφιαλωμένου νερού οξινίστηκε με  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ώστε η τελική συγκέντρωση του  $\text{H}_2\text{SO}_4$  να γίνει  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ . Επίσης, έγινε επιμόλυνση του δείγματος με  $\text{Hg(II)}$  τελικής συγκέντρωσης  $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ . Από κάθε δείγμα λήφθηκαν 500  $\mu\text{L}$  και τοποθετήθηκαν στην τρισδιάστατα εκτυπωμένη μικροκυψελίδα που περιείχε  $1 \text{ mg L}^{-1} \text{ AuCl}_4^-$  και αναλύθηκαν με ASV όπως περιγράφεται παραπάνω.

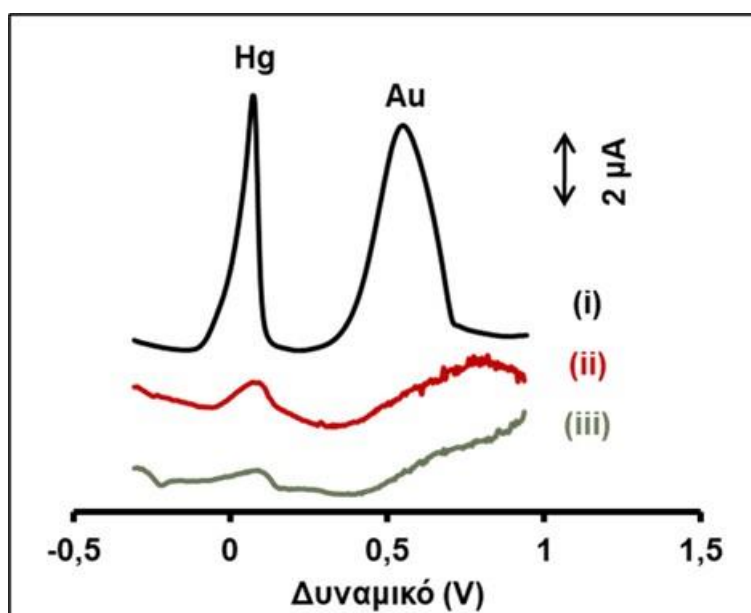


**Εικόνα 9:** Φωτογραφίες της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διατάξης με τον αναδευτήρα δόνησης.

## 11.2 Επιλογή αγώγιμου νήματος

Προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η ευαισθησία του προσδιορισμού του  $\text{Hg(II)}$  στην τρισδιάστατα εκτυπωμένη μικροκυψελίδα, δοκιμάστηκαν τρία διαφορετικά αγώγιμα νήματα για την κατασκευή των ηλεκτροδίων. Τα νήματα αυτά ήταν: C/ABS της 3DEdge, CB /PLA της Proto - Pasta και CB/PLA της Amolen. Η σύγκριση έγινε με DPASV σε διάλυμα  $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$  που περιείχε  $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ Hg(II)}$ . Όπως φαίνεται στο **σχήμα 72**, το νήμα CB/PLA της Proto-Pasta παρείχε καλοσχηματισμένες βολταμετρικές κορυφές, τόσο για τον υδράργυρο όσο και για τον χρυσό. Επίσης, το υπόβαθρο ήταν χαμηλό και η ευαισθησία όσον αφορά τον υδράργυρο ήταν σημαντικά μεγαλύτερη,

συγκριτικά με τα άλλα δύο νημάτια. Για αυτούς τους λόγους επιλέχθηκε για την εκτύπωση και των τριών ηλεκτροδίων το αγώγιμο νήμα CB/PLA της Proto-Pasta.

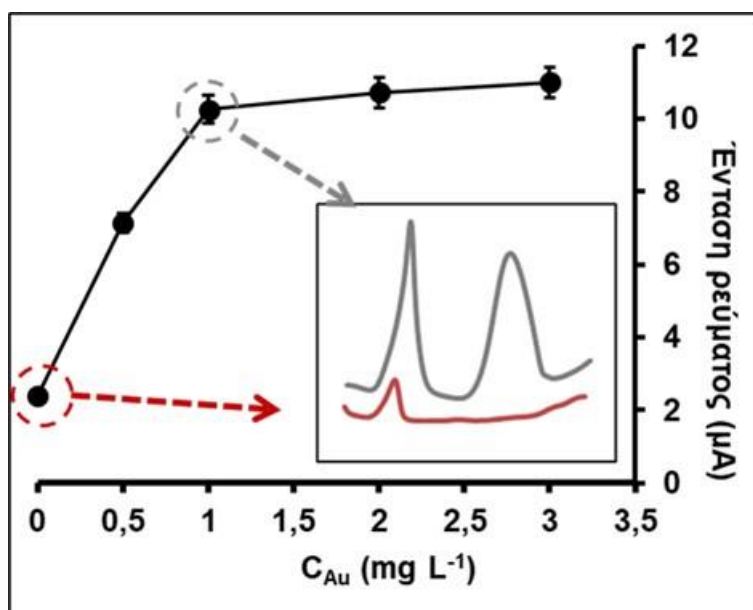


**Σχήμα 72:** DP Βολταμμογραφήματα διαλύματος που περιέχει  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $1 \text{mg L}^{-1}$  Au(III) σε  $\text{H}_2\text{SO}_4$  συγκέντρωσης  $0,2 \text{mol L}^{-1}$ , χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο εργασίας εκτυπωμένο από: i) CB/PLA της Proto-Pasta, ii) CB/PLA της Amolen, (iii) C/ABS της 3DEdge.

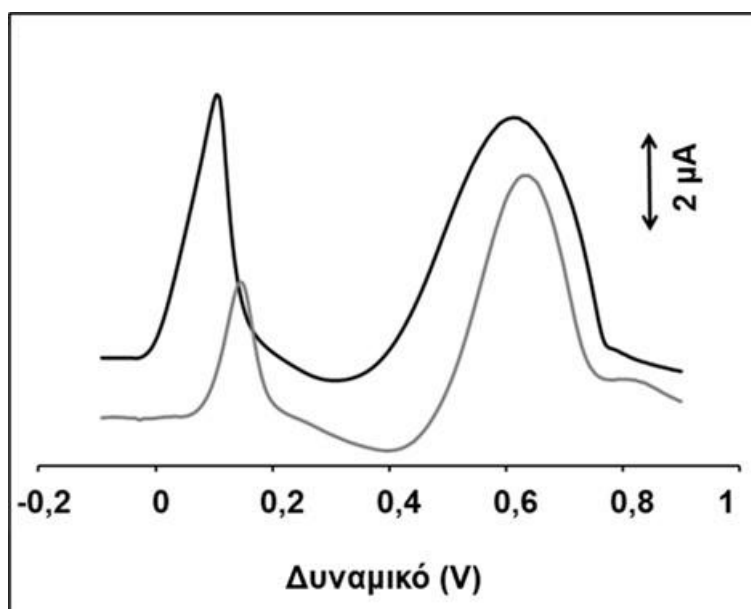
### 11.3 Επιλογή της συγκέντρωσης του Au(III)

Προκειμένου να αυξηθεί η ευαισθησία του αισθητήρα, έγινε επιμετάλλωση του ηλεκτροδίου εργασίας με υμένιο χρυσού με *in situ* ηλεκτροαπόθεση. Η δημιουργία του υμενίου γίνεται *in situ* με την προσθήκη Au(III) στο διάλυμα και την ηλεκτροεναπόθεση του στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου κατά το στάδιο της προσυγκέντρωσης.

Η συγκέντρωση του Au(III) καθορίζει την απόκριση του αισθητήρα, όπως φαίνεται στο **σχήμα 73**. Απουσία του Au(III), εμφανίζεται μια μικρή βολταμμετρική κορυφή του Hg(II), υποδεικνύοντας ότι η προσυγκέντρωση του είναι σχετικά μικρή στο μη επιμεταλλωμένο ηλεκτρόδιο εργασίας. Μετά την προσθήκη ποσότητας Au(III) στο διάλυμα εργασίας, λαμβάνεται μεγαλύτερο σήμα υδραργύρου, το οποίο αυξάνεται με την προσθήκη μεγαλύτερης συγκέντρωσης Au(III). Η αύξηση αυτή σταθεροποιείται όταν η συγκέντρωση του Au(III) είναι μεγαλύτερη από  $1 \text{mg L}^{-1}$ . Συνεπώς, η συγκέντρωση του  $\text{AuCl}_4^-$  που επιλέχθηκε ήταν  $1 \text{mg L}^{-1}$ , διότι προσφέρει υψηλότερη ευαισθησία, καλοσχηματισμένες κορυφές Hg(II) και μικρότερη επίδραση υποβάθρου.



**Σχήμα 73:** Επίδραση της συγκέντρωσης του Au(III) στο ύψος της κορυφής του υδραργύρου σε διάλυμα που περιέχει  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδιο εργασίας εκτυπωμένο από CB/PLA της Proto-Pasta. Εσωκλείονται: DP βολταμμογραφήματα με ηλεκτρόδιο εργασίας α) μη μορφοποιημένο WE (με κόκκινο χρώμα) και β) μορφοποιημένο WE με υμένιο Au μέσω *in situ* ηλεκτροαπόθεσης με  $1 \text{ mg L}^{-1}$  Au(III) (γκρι χρώμα). Χρόνος προσυγκέντρωσης: 360s σε  $-1,0 \text{ V}$ . Τα σημεία στο διάγραμμα είναι η μέση τιμή  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).



**Σχήμα 74:** Βολταμμογραφήματα DP διαλύματος που περιέχει  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) μετά από *in situ* (μαύρο χρώμα) και *ex situ* (γκρι χρώμα) ηλεκτροεναπόθεση  $1 \text{ mg L}^{-1}$  Au(III) στο WE. Χρόνος προσυγκέντρωσης 360 s σε  $-1,0\text{V}$ .

Για λόγους σύγκρισης, πραγματοποιήθηκε και *ex situ* ηλεκτροαπόθεση για την επιμετάλλωση της επιφάνειας του ηλεκτροδίου εργασίας. Η βολταμμετρική απόκριση σε  $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ Hg(II)}$ , των ηλεκτροδίων εργασίας που έχουν επιμεταλλωθεί μέσω *ex situ* ηλεκτροαπόθεσης χρυσού, ήταν περίπου δύο φορές μικρότερη συγκριτικά με τα ηλεκτρόδια που η επιμετάλλωση γινόταν με *in situ* ηλεκτροαπόθεσης χρυσού (**σχήμα 74**). Επομένως, επιλέχτηκε η επιμετάλλωση του ηλεκτροδίου εργασίας με *in situ* ηλεκτροαπόθεσης χρυσού. Η διαδικασία της *in situ* ηλεκτροαπόθεσης είναι απλούστερη και λιγότερο χρονοβόρα σε σχέση με την *ex situ*.

#### 11.4 Χαρακτηρισμός αισθητήρα

Έγινε χαρακτηρισμός του μορφοποιημένου ηλεκτροδίου εργασίας με υμένιο χρυσού, τόσο με οπτικό μικροσκόπιο όσο και με LS βολταμμετρία.

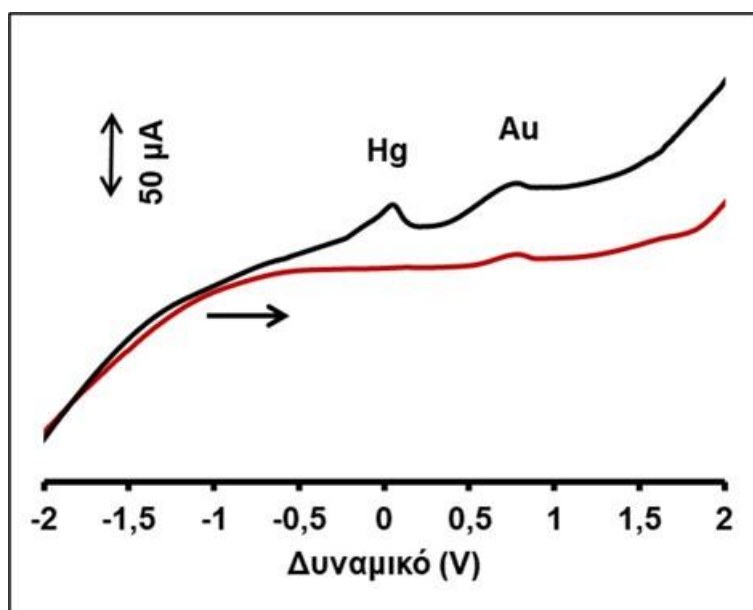


**Εικόνα 10:** Φωτογραφίες με οπτικό μικροσκόπιο της επιφάνειας ηλεκτροδίων εργασίας πριν και μετά την ηλεκτροαπόθεση εφαρμόζοντας δυναμικό  $-1,0 \text{ V}$  για  $360 \text{ s}$ . Σε διάλυμα που περιέχει  $1 \text{ mg L}^{-1} \text{ Au(III)}$  σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ .

Στην **εικόνα 10** παρουσιάζεται φωτογραφία της επιφάνειας ενός μη μορφοποιημένου ηλεκτροδίου και ενός ηλεκτροδίου με υμένιο χρυσού. Η επιμετάλλωση του ηλεκτροδίου εργασίας, έγινε όπως περιεγράφηκε προηγουμένως, δηλαδή εφαρμογή δυναμικού  $-1,0 \text{ V}$  για  $360 \text{ s}$  στο ηλεκτρόδιο εργασίας που βρισκόταν μέσα σε διάλυμα  $\text{Au(III)}$  συγκέντρωσης  $1 \text{ mg L}^{-1}$  σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ .

Πραγματοποιήθηκε LS βολταμμετρία σε διάλυμα που περιείχε  $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Hg(II)}$  και  $1 \text{ mg L}^{-1} \text{ Au(III)}$  σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ , σε δυναμικό σάρωσης από  $-2,0$  έως  $+2,0 \text{ V}$  (**σχήμα 75**). Το βολταμμογράφημα με κόκκινο χρώμα έχει

ληφθεί, χωρίς να έχει προηγηθεί στάδιο προσυγκέντρωσης. Παρατηρείται μία ανοδική μικρή κορυφή, η οποία οφείλεται στην οξείδωση μιας μικρής ποσότητας Au, που προσυγκεντρώνεται λόγω της σάρωσης του δυναμικού. Αντίθετα το βολταμμογράφημα με μαύρο χρώμα έχει ληφθεί μετά από στάδιο προσυγκέντρωσης εφαρμόζοντας δυναμικό  $-1,0\text{ V}$  για  $360\text{ s}$ . Όπως φαίνεται, και οι δύο κορυφές οξείδωσης του Hg και Au αυξάνονται. Η αύξηση αυτή, οφείλεται στην προσυγκέντρωση και των δύο μετάλλων στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου.



**Σχήμα 75:** LS βολταμμογραφήματα διαλύματος που περιέχει  $100\ \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $1\ \text{mg L}^{-1}$  Au(III) σε  $0,2\ \text{mol L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  χωρίς προσυγκέντρωση (κόκκινο χρώμα) και μετά από  $360\ \text{s}$  (μαύρο χρώμα). Ρυθμός σάρωσης,  $50\ \text{mV s}^{-1}$ .

### 11.5 Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού υδραργύρου

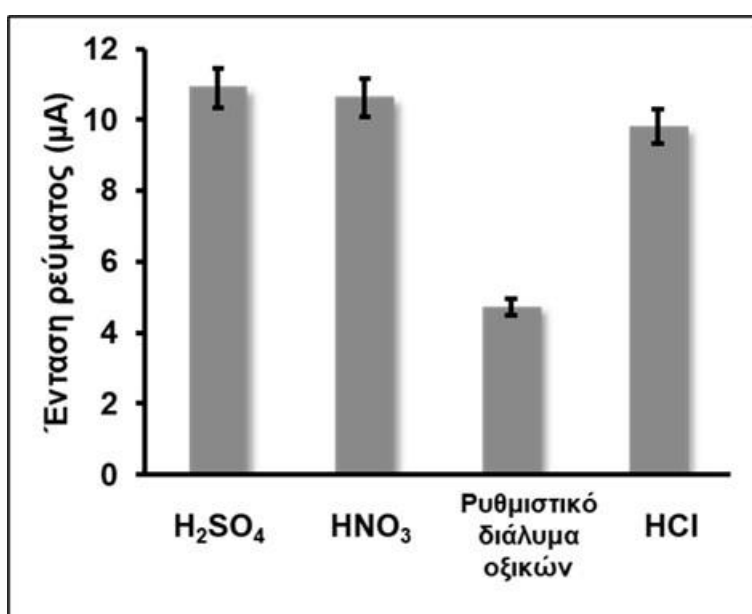
Για να ενισχυθεί η ηλεκτρολυτική απόκριση της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης για τον προσδιορισμό του υδραργύρου μελετήθηκαν τρεις παράμετροι: η σύνθεση του φέρον ηλεκτρολύτη, το δυναμικό και ο χρόνος προσυγκέντρωσης.

#### 11.5.1 Επιλογή ηλεκτρολύτη

Δοκιμάστηκαν, τέσσερις διαφορετικοί ηλεκτρολύτες σε συγκέντρωση  $0,2\ \text{mol L}^{-1}$ . Ο βολταμμετρικός προσδιορισμός του Hg (II) σε ηλεκτρόδια χρυσού, συνήθως, διενεργείται με ισχυρά όξινους ηλεκτρολύτες <sup>(162-170)</sup>, καθώς

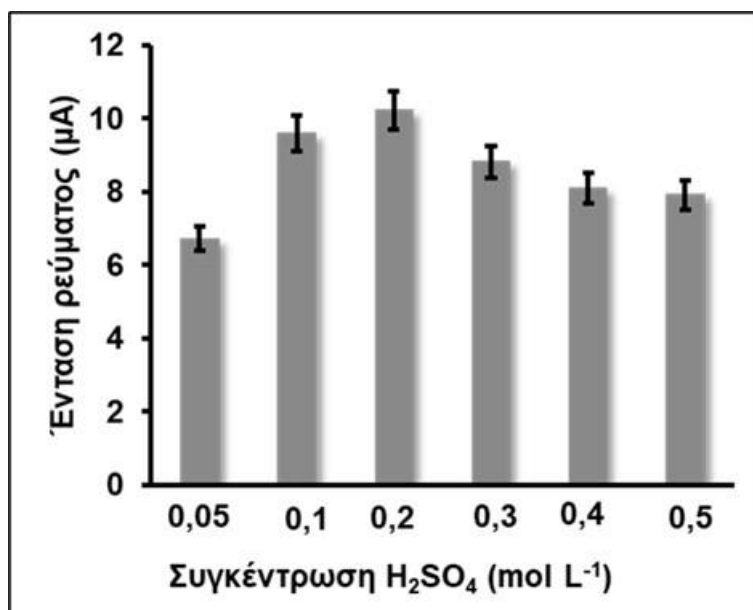


το μικρό pH αποτρέπει την υδρόλυση του  $\text{AuCl}_4^-$  <sup>(179)</sup>. Οι ηλεκτρολύτες που δοκιμάστηκαν ήταν  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}$  και ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (pH 4,5). Στο **σχήμα 76** παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα. Όπως ήταν αναμενόμενο, οι ηλεκτρολύτες  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$  και  $\text{HCl}$  συγκέντρωσης  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  παρείχαν μεγαλύτερα ύψη κορυφής κατά τον προσδιορισμό  $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ Hg(II)}$ . Αντίθετα, το ρυθμιστικό διάλυμα οξικών συγκέντρωσης  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  παρείχε μικρότερη απόκριση. Η χαμηλή ευαισθησία προσδιορισμού Hg σε ρυθμιστικό διάλυμα οξικών, έχει επίσης παρατηρηθεί και σε ηλεκτρόδια οπτού ο σχηματισμός του υμενίου χρυσού γινόταν με ιοντοβολή <sup>(165)</sup>.



**Σχήμα 76:** Σύγκριση του ύψους της κορυφής σε διάλυμα που περιέχει  $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ Hg(II)}$  και  $1 \text{ mg L}^{-1} \text{ Au(III)}$  σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  τεσσάρων διαφορετικών ηλεκτρολυτών,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}$  και ρυθμιστικό διάλυμα οξικών (pH 4,5).

Όπως φαίνεται στο **σχήμα 76**, το  $\text{H}_2\text{SO}_4$  παρείχε τα καλύτερα αποτελέσματα, τόσο ως προς την ευαισθησία, αλλά και την επίδραση του σήματος υποβάθρου. Επιπλέον, μελετήθηκε η επίδραση της συγκέντρωσης του  $\text{H}_2\text{SO}_4$  σε εύρος  $0,050\text{-}0,50 \text{ mol L}^{-1}$  (**σχήμα 77**). Η συγκέντρωση του  $\text{H}_2\text{SO}_4$  που επιλέχθηκε ήταν  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ .

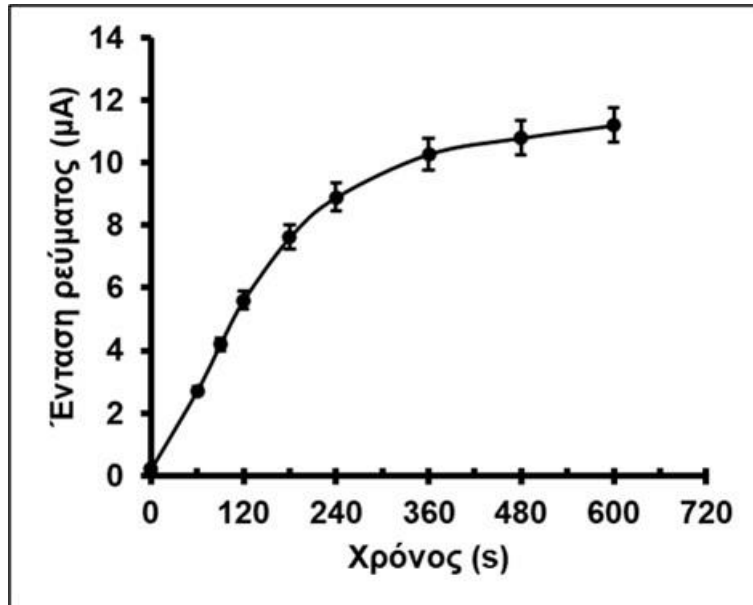


**Σχήμα 77:** Σύγκριση του ύψους της κορυφής σε διάλυμα που περιέχει 20 μg L<sup>-1</sup> Hg(II) και 1 mg L<sup>-1</sup> Au(III) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

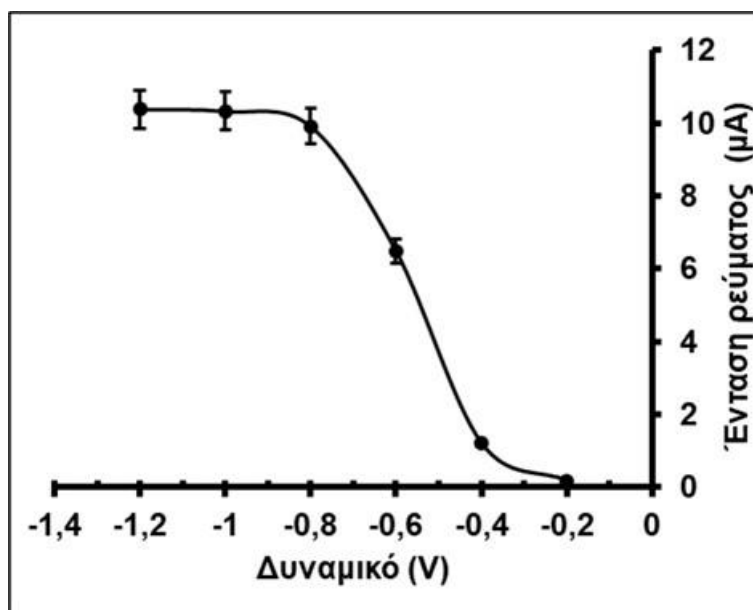
### 11.5.2 Μελέτη χρόνου και δυναμικού προσυγκέντρωσης

Η επίδραση του χρόνου προσυγκέντρωσης μελετήθηκε από 0 έως 600 s. Όπως φαίνεται στο **σχήμα 78**, το ύψος της βολταμμετρικής κορυφής αυξάνεται σχεδόν γραμμικά σε συνάρτηση με το χρόνο προσυγκέντρωσης έως τα 360 s, και στη συνέχεια σταδιακά φτάνει σε πλατό. Επιλέχθηκε χρόνος προσυγκέντρωσης 360 s, συνυπολογίζοντας την ευαισθησία και τον χρόνο μέτρησης.

Το δυναμικό προσυγκέντρωσης μελετήθηκε, εφαρμόζοντας δυναμικό από -1,2 έως -0,2 V (**σχήμα 79**). Οι βολταμμετρικές κορυφές του Hg ήταν χαμηλότερες στα θετικότερα δυναμικά, καθώς σε αυτές τα δυναμικά δεν ήταν επαρκώς αρνητικά ώστε να ανάγεται ο Hg(II). Αντίθετα, όταν το δυναμικό προσυγκέντρωσης ήταν πιο αρνητικό το ύψος της βολταμμετρικής κορυφής του Hg αυξανόταν. Η βέλτιστη τιμή που επιλέχθηκε ήταν το δυναμικό προσυγκέντρωσης -1,0 V (υπολογισμένο με το αντίστοιχο ηλεκτρόδιο ψευδοαναφοράς άνθρακα).



**Σχήμα 78:** Επίδραση του χρόνου προσυγκέντρωσης στο ύψος της κορυφής του υδράργυρου σε διάλυμα που περιέχει  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $1 \text{mg L}^{-1}$  Au(III) σε  $0,2 \text{mol L}^{-1}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

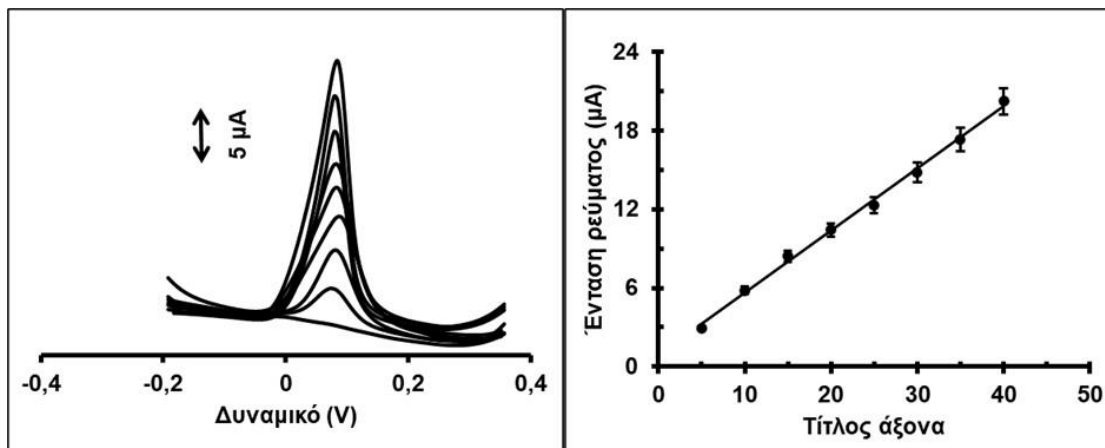


**Σχήμα 79:** Επίδραση του δυναμικού προσυγκέντρωσης (ως προς το ηλεκτρόδιο ψευδοαναφοράς άνθρακα) στο ύψος της κορυφής του υδράργυρου, σε διάλυμα που περιέχει  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $1 \text{mg L}^{-1}$  Au(III) σε  $0,2 \text{mol L}^{-1}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

### 11.6 Καμπύλη αναφοράς

Η καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό του Hg(II) με DPASV χρησιμοποιώντας την τρισδιάστατα εκτυπωμένη μικρο-κυψελίδα διεξήχθη σε

εύρος συγκεντρώσεων 0 - 40  $\mu\text{g L}^{-1}$  (προσθήκες ανά 5  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Τα βολταμμογραφήματα DPASV και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς ( $R^2 = 0,997$ ) απεικονίζονται στο **σχήμα 80**.



**Σχήμα 80:** Βολταμμογραφήματα DP αυξανόμενων συγκεντρώσεων 0 - 40  $\mu\text{g L}^{-1}$  Hg (II). (προσθήκες ανά 5  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

Το LOD, υπολογισμένο χρησιμοποιώντας την εξίσωση  $\text{LOD} = 3s_y/a$ , ήταν 0,52  $\mu\text{g L}^{-1}$ , το οποίο είναι συγκρίσιμο με άλλα ηλεκτρόδια χρυσού όπως είναι τα ηλεκτρόδια κατασκευασμένα με εκτύπωση πλέγματος (screen-printed) κ.α (**πίνακας 10**). Το LOQ που ήταν 1,7  $\mu\text{g L}^{-1}$ , είναι χαμηλότερο από τα όρια που έχουν θεσπιστεί από τον WHO και τον EPA <sup>(162,171)</sup>.

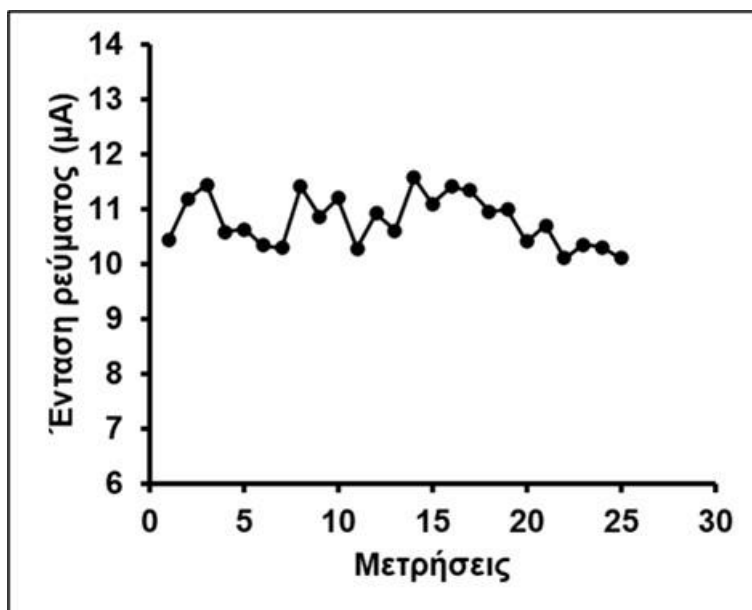
**Πίνακας 10:** Σύγκριση της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης με άλλα μορφοποιημένα ηλεκτρόδια για ηλεκτροαναλυτικές δοκιμές Hg(II).

Ηλεκτρόδια	Γραμμικότητα	LOD	Εφαρμογές	Αναφ.
ex situ Au σε SPCE	1–100 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	υπόγεια ύδατα	163
SPGE	5–400 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,25 $\mu\text{g L}^{-1}$	Ιχθυέλαιο	164
Ιοντοβολή Au σε δίσκο Si	0–140 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$	Ιχθυέλαιο	165
Απόθεση Au με ατμό σε ηλεκτρόδια υάλου	10–1000 $\mu\text{g L}^{-1}$	3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	-	166
SPGE	5–300 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,7 $\mu\text{g L}^{-1}$	Καύσιμο βιοαιθανόλης	167
AuNPs σε SPCE	5–20 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	Βρόχινο νερό και νερό ποταμού	168
AuNPs σε SPCE	0–60 $\mu\text{g L}^{-1}$ και 60–100 $\mu\text{g L}^{-1}$	3,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	Νερό ποταμού και έδαφος	169
in situ Au σε SPCE	2–16 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	Νερό βρύσης	170
in situ Au σε SPCE μορφοποιημένα με γραφένιο	0,5–50 $\mu\text{g L}^{-1}$	0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	Νερό βρύσης και νερό ποταμού	171

### 11.7 Σταθερότητα αισθητήρα

Η επαναληψιμότητα οκτώ συνεχόμενων μετρήσεων, χρησιμοποιώντας τον ίδιο αισθητήρα, ήταν 3,9% και η αναπαραγωγιμότητα που προκύπτει από πέντε διαφορετικούς αισθητήρες ήταν 8,9% (οι συγκεντρώσεις Hg(II) και στις δύο μελέτες ήταν  $20 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Ακόμη, η σταθερότητα ελέγχθηκε περαιτέρω μέσω της απόκρισης της διάταξης σε 25 συνεχόμενες μετρήσεις, χρησιμοποιώντας διάλυμα που περιέχει  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $1 \text{ mg L}^{-1}$  Au(III) σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Η βολταμετρική απόκριση της τρισδιάστατα εκτυπωμένης διάταξης παρέμεινε στατιστικά σταθερή για τουλάχιστον 25

επαναλαμβανόμενους κύκλους μετρήσεων DPASV (**σχήμα 81**) (η μεταβολή της απόκρισης δεν ήταν μεγαλύτερη από τη μέση τιμή  $\pm 10\%$ ).

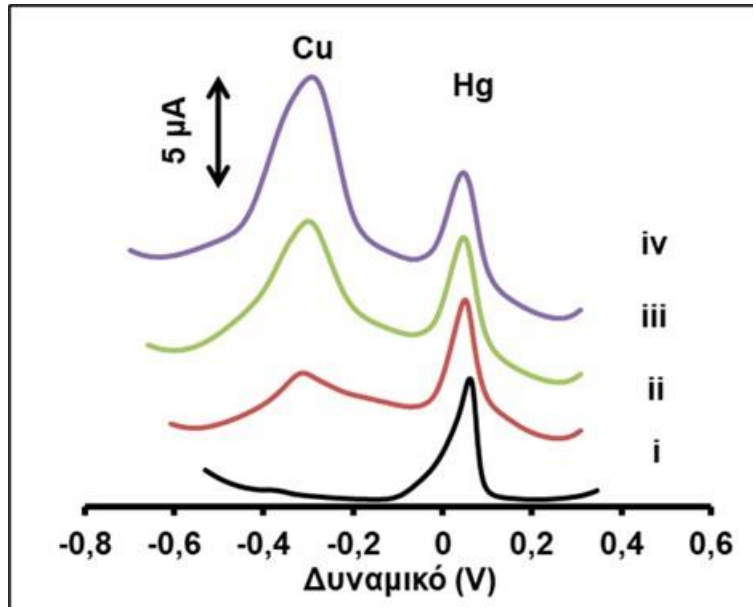


**Σχήμα 81:** Σταθερότητα της παραγόμενης κορυφής με συνεχή χρήση της διάταξης σε διάλυμα που περιέχει  $20 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$  και  $1 \text{mg L}^{-1} \text{Au(III)}$  σε  $0,2 \text{mol L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ .

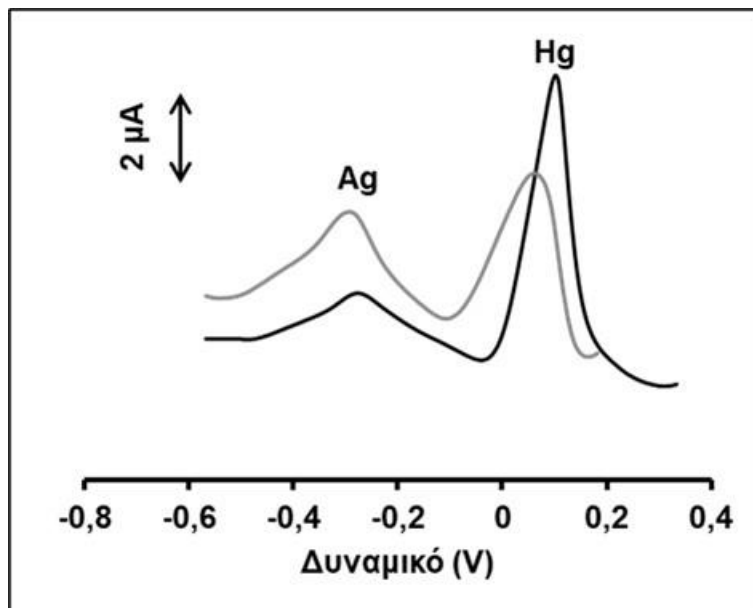
### 11.8 Παρεμποδίσεις

Ελέγχθηκε η πιθανότητα να παρεμποδίζουν ορισμένες ουσίες. Συγκεκριμένα, έγινε προσθήκη δεκαπλάσιας συγκέντρωσης  $\text{Zn(II)}$ ,  $\text{Cd(II)}$ ,  $\text{Pb(II)}$ ,  $\text{Bi(III)}$  και  $\text{Sb(III)}$  σε διάλυμα  $\text{Hg(II)}$ . Τα κατιόντα αυτά δεν παρεμπόδιζαν σε μεγάλο βαθμό τον προσδιορισμό του  $\text{Hg(II)}$ . Το απόλυτο σχετικό σφάλμα ήταν  $\leq 10\%$ .

Επίσης, ελέγχθηκε κατά πόσον παρεμποδίζει η παρουσία  $\text{Cu(II)}$ , που θεωρείται μια από τις ουσίες που παρεμποδίζουν σημαντικά τον προσδιορισμό του  $\text{Hg(II)}$ , με ηλεκτρόδια χρυσού <sup>(165)</sup>. Ο  $\text{Cu(II)}$  μπορεί πολύ ευκολά να προσυγκεντρωθεί στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και η παραγομένη βολταμμετρική κορυφή, συνήθως, επικαλύπτεται με την κορυφή του  $\text{Hg(II)}$ . Στην τρισδιάστατα εκτυπωμένη κυψελίδα, όμως, η κορυφή του  $\text{Cu(II)}$ , εμφανίζεται περίπου σε δυναμικό  $-0,3 \text{V}$ , οπότε και διαχωρίζεται ικανοποιητικά από την κορυφή του  $\text{Hg(II)}$ . Τα βολταμμογραφήματα  $10 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg(II)}$  παρουσία έως και  $100 \mu\text{g L}^{-1} \text{Cu(II)}$ , δείχνουν ότι η παρουσία  $\text{Cu(II)}$  δεν επηρεάζει σημαντικά το σήμα του  $\text{Hg(II)}$ . (**σχήμα 82**)



**Σχήμα 82:** Συγκριτικά βολταμμογραφήματα DP σε διάλυμα που περιέχει : (i)  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II), (ii)  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  Cu(II), (iii)  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Cu(II), (iv)  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  Cu(II).



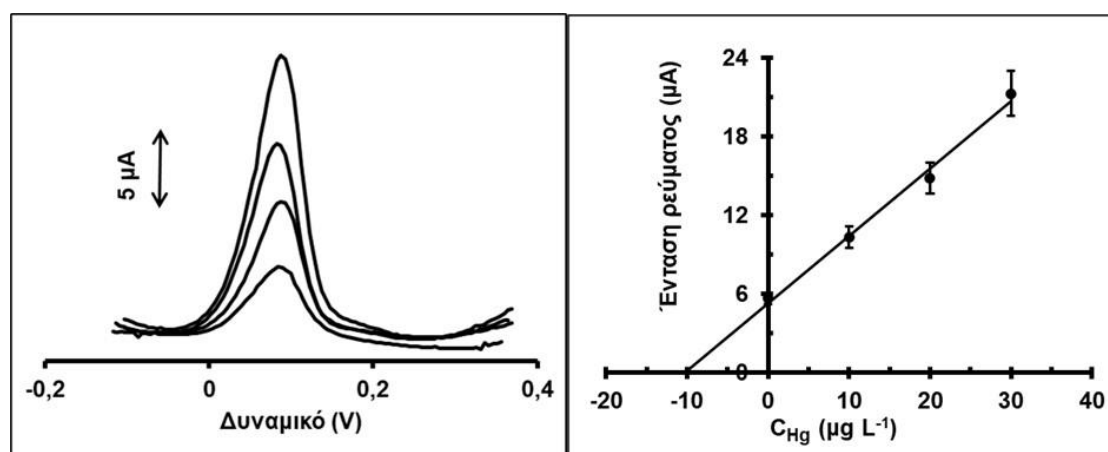
**Σχήμα 83:** Συγκριτικά DP βολταμμογραφήματα σε διάλυμα που περιέχει : (μαύρο χρώμα )  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  Ag(I) , (γρι χρώμα)  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  Hg(II) και  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  Ag(I).

Ο Ag(I) παράγει μια βολταμμετρική κορυφή περίπου στα  $-0,3 \text{ V}$  (έναντι του ηλεκτροδίου ψευδο-αναφοράς), η οποία διαχωρίζεται ικανοποιητικά από την βολταμμετρική κορυφή του Hg (**σχήμα 83**). Το ύψος της βολταμμετρικής κορυφής του Hg δεν επηρεάζεται μέχρι την αναλογία συγκέντρωση μάζας Ag(I): συγκέντρωση μάζας Hg(II) 2:1, ενώ σε υψηλότερες αναλογίες

συγκέντρωσης η παρουσία του Ag(I) προκαλεί μείωση του ύψους κορυφής του Hg(II) (**σχήμα 83**). Σε πραγματικά δείγματα, που περιέχουν μεγαλύτερες ποσότητες Ag(I), το πρόβλημα μπορεί να αντιμετωπιστεί με την εφαρμογή της μεθόδου σταθερής προσθήκης.

### 11.9 Αναλύσεις δειγμάτων

Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 11.1. Η συγκέντρωση του υδραργύρου και στα δύο δείγματα ήταν μικρότερη από το LOD, οπότε η ακρίβεια εκτιμήθηκε με τον υπολογισμό της ανάκτησης με εμβολιασμό των δειγμάτων, αναλύοντας τα με τη μέθοδο της σταθερής προσθήκης. Στο **σχήμα 84** παρουσιάζονται τα DPASV βολταμογραφήματα του δείγματος του ιχθυελαίου και το αντίστοιχο διάγραμμα σταθερής προσθήκης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον **πίνακα 11**. Η ανάκτηση ήταν μεταξύ 98 και 101%.



**Σχήμα 84:** Βολταμογραφήματα DP για τον προσδιορισμό Hg σε ιχθυέλαιο. Στο δείγμα έγινε προσθήκη Hg(II) και τρεις σταθερές προσθήκες 10 µg L<sup>-1</sup> Hg(II). Το αντίστοιχο διάγραμμα σταθερής προσθήκης. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή ± SD (n = 3).



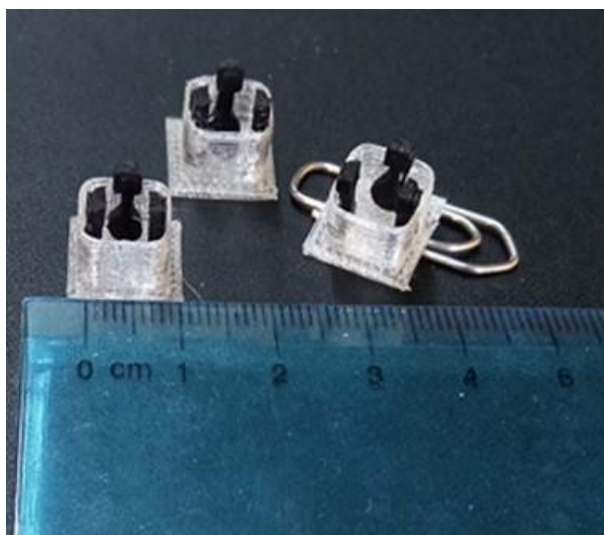
**Πίνακας 11:** Ανάκτηση σε εμβολιασμένα με Hg(II) δείγματα ιχθυελαίου και νερού.

<b>Δείγμα</b>	<b>Ιχθυέλαιο</b>	<b>Εμφιαλωμένο νερό</b>
Περιεκτικότητα Hg ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	< LOD	< LOD
Προστιθέμενη ποσότητα Hg ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	10	10
Προσδιοριζόμενη ποσότητα Hg ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	9.8 ( $\pm 0,6$ )	10.1 ( $\pm 0,5$ )
Ανάκτηση (%)	98	101

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12

### Προσδιορισμός Γ αντιδρώσας πρωτεΐνης και υπεροξειδίου του υδρογόνου

Στην **εικόνα 11** παρουσιάζεται 3D εκτυπωμένος αισθητήρας σε μορφή φρεατίου μικροπιλοδότησης (e-well) που είναι κατάλληλος για μικρού όγκου ( $\leq 300 \mu\text{L}$ ) βιοδοκιμές με τη χρήση κβαντικών κουκίδων (QDs) καθώς και για ενζυμικού τύπου. Κατασκευάζεται όπως περιγράφεται στην παράγραφο 6.2. Η αναλυτική ικανότητα του αποδεικνύεται μέσω του βολταμμετρικού προσδιορισμού της Γ αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) σε τεχνητό πλάσμα αίματος και του αμπερομετρικού προσδιορισμού του υπεροξειδίου του υδρογόνου.



**Εικόνα 11:** Φωτογραφία αισθητήρα σε μορφή ηλεκτροχημικού φρεατίου μικροπιλοδότησης (e-well)

#### 12.1 Αρχές ηλεκτροχημικών μεθόδων

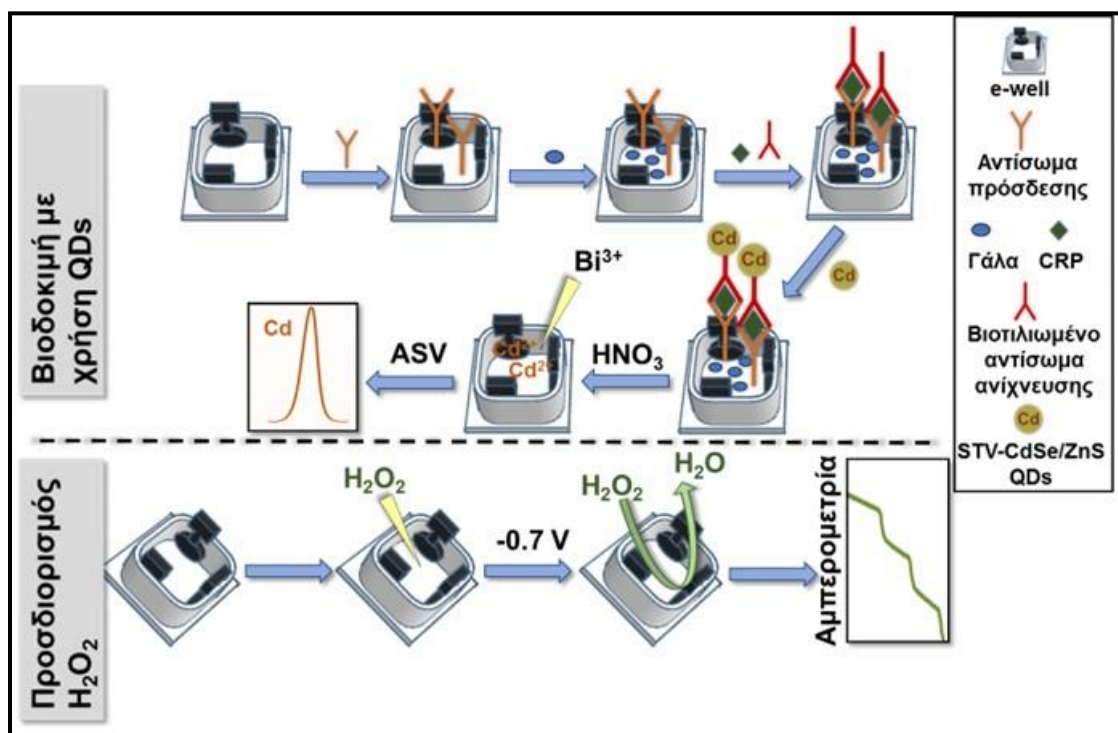
##### 12.1.1 Αρχή της μεθόδου Γ αντιδρώσας πρωτεΐνης

Ο προσδιορισμός της Γ αντιδρώσας πρωτεΐνης με τη χρήση κβαντικών κουκίδων έγινε με τη διεξαγωγή ανοσοδοκιμασίας τύπου σάντουιτς. Στο **σχήμα 85** περιγράφεται σχηματικά η ανοσοδοκιμασίας με τη χρήση QDs για τον βολταμμετρικό προσδιορισμό της CRP, χρησιμοποιώντας βιοτινυλιωμένο

αντίσωμα ανίχνευσης CRP επισημασμένο με στρεπταβιδίνη (STV) συζευγμένο με Cd/QDs. Τα στάδια που πραγματοποιήθηκαν μέσα στη μικροκυψελίδα του αισθητήρα ήταν τα ακόλουθα:

- Ακίνητοποίηση με φυσική προσρόφηση αντισώματος πολυκλωνικού αντισώματος αντι-CRP. Για το σκοπό αυτό προστέθηκαν 150  $\mu\text{L}$  διαλύματος που περιείχε πολυκλωνικό αντίσωμα αντι-CRP 2,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  σε ρυθμιστικό διάλυμα ανθρακικών 50  $\text{mmol L}^{-1}$  (pH 9,2) στα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροπιλοδότσης και αφέθηκαν όλο το βράδυ.
- Έκπλυση δύο φορές με 300  $\mu\text{L}$  ( 50  $\text{mmol L}^{-1}$  PB (pH 7,4) και 1% w/v BSA - διάλυμα έκπλυσης).
- Αποκλεισμός ελευθέρων θέσεων με 300  $\mu\text{L}$  αποβουτυρωμένου αγελαδινού γάλακτος 10% v/v, σε 50  $\text{mmol L}^{-1}$  PB (pH 7,4) για 1 ώρα.
- Έκπλυση δύο φορές με 300  $\mu\text{L}$  διαλύματος έκπλυσης.
- Προσθήκη 150  $\mu\text{L}$  διαλύματος 1:1 που περιείχε CRP (σε συγκεντρώσεις 5, 1, 2,5 και 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) και 2,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  βιοτινυλιωμένο μονοκλωνικό αντίσωμα ανίχνευσης αντι-CRP, τα οποία επωάστηκαν για 45 λεπτά, υπό ανακίνηση.
- Έκπλυση τέσσερις φορές με 300  $\mu\text{L}$  διαλύματος έκπλυσης.
- Επισήμανση με Cd/QDs μορφοποιημένες με στρεπταβιδίνη (STV). Προστέθηκαν 150  $\mu\text{L}$  διαλύματος STV – CdSe / ZnS QDs 5  $\text{nmol L}^{-1}$  σε PBS (50  $\text{mmol L}^{-1}$ , pH 7,4 και 1% w /v BSA) και αφέθηκαν σε ηρεμία για 15 λεπτά προκειμένου να ολοκληρωθεί η αντίδραση με το βιοτινυλιωμένο μονοκλωνικό αντίσωμα ανίχνευσης αντι-CRP.
- Έκπλυση με το διάλυμα έκπλυσης και ξήρανση στον αέρα.
- Διαλυτοποίηση των QDs (προκειμένου να απελευθερωθεί το Cd(II) από τον πυρήνα των QDs) και προσθήκη Bi(III) (ώστε να γίνει η ηλεκτροαπόθεση του υμενίου). Προστέθηκαν 150  $\mu\text{L}$  διαλύματος που περιείχε  $\text{HNO}_3$  0,01  $\text{mol L}^{-1}$  και 0,2  $\text{mg L}^{-1}$  Bi(III). Οι αισθητήρες τοποθετήθηκαν σε συσκευή υπερήχων για 5 λεπτά.
- Βολταμμετρικός προσδιορισμός του Cd(II). Το απελευθερωμένο Cd(II) προσυγκεντρώθηκε στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας στο οποίο είχε σχηματιστεί υμενίου Bi, εφαρμόζοντας δυναμικού -1,4 V για 240 s,

υπό ανάδευση. Το υμένιο βισμούθιου εναποτίθεται στο ηλεκτρόδιο εργασίας με *in situ* ηλεκτροαπόθεση. Στη συνέχεια, το δυναμικό του WE σαρώθηκε από  $-1,1$  έως  $-0,3$  V με βολταμμετρία τετραγωνικού παλμού (συχνότητα: 50 Hz, ύψος παλμού: 40 mV, αύξηση βήματος: 4 mV) και το σήμα καταγράφηκε.



**Σχήμα 85:** Σχηματική αναπαράσταση της ανοσοδοκιμασίας με τη χρήση QDs για τον βολταμμετρικό προσδιορισμό της CRP και τον αμπερομετρικό προσδιορισμό του  $H_2O_2$  στα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροτιτλοδότησης (e-wells).

Η καμπύλη αναφοράς του  $Cd(II)$  έγινε στο ίδιο αισθητήρα, με την προσθήκη  $100\mu L$  διαλύματος που περιείχε  $HNO_3$   $0,01$  mol  $L^{-1}$  και  $0,2$  mg  $L^{-1}$   $Bi(III)$ , ακολουθούμενη από εννέα διαδοχικές προσθήκες  $1\mu L$   $1$  mg  $L^{-1}$   $Cd(II)$ , υπό ανάδευση. Κατά το στάδιο προσυγκέντρωσης εφαρμόστηκε δυναμικό  $-1,4$  V για 240 δευτερόλεπτα.

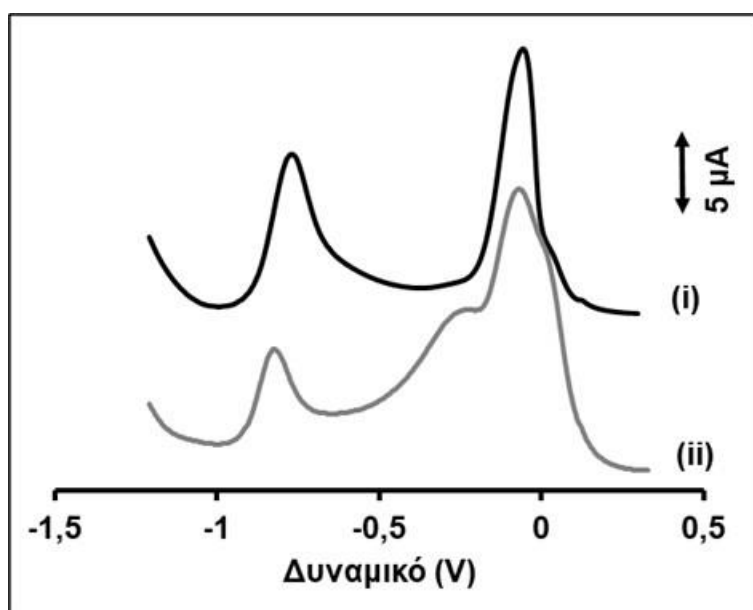
### 12.1.2 Αρχή της μεθόδου υπεροξειδίου του υδρογόνου

Τα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροτιτλοδότησης χρησιμοποιήθηκαν και για αμπερομετρικό προσδιορισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου (σχήμα 86). Οι αισθητήρες χρησιμοποιούνται όπως έχουν εκτυπωθεί, χωρίς καμία μορφοποίηση με νανοσωματίδια ή

ένζυμα. Η καμπύλη αναφοράς έγινε στον ίδιο αισθητήρα με εννέα διαδοχικές προσθήκες 1  $\mu\text{L}$  διαλύματος που περιείχε  $150 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$  σε 100  $\mu\text{L}$  PB  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,0). Το εφαρμοζόμενο δυναμικό ήταν  $-0,7 \text{ V}$ . Όλα τα δυναμικά αναφέρονται σε σχέση με το τρισδιάστατα εκτυπωμένο ψευδο-ηλεκτρόδιο αναφοράς CB/PLA.

## 12.2 Επιλογή αγώγιμου νήματος

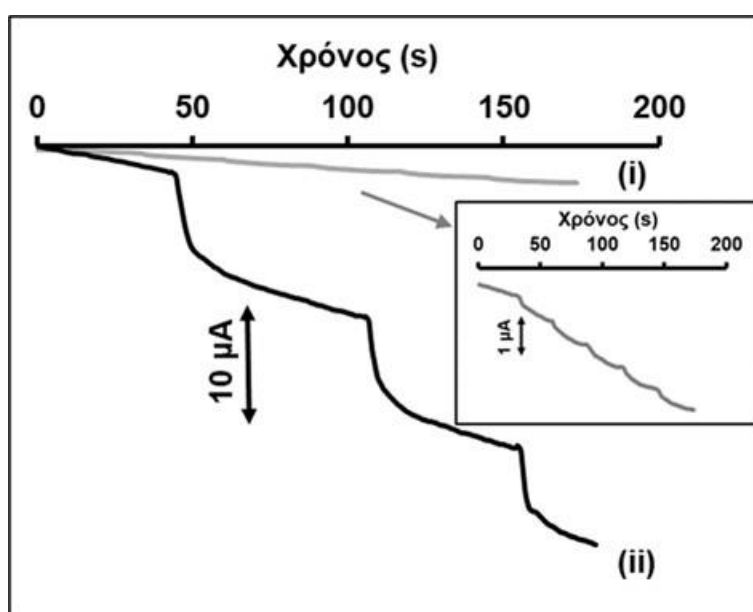
Το νήμα που χρησιμοποιείται για την εκτύπωση του ηλεκτροδίου εργασίας αποτελεί κρίσιμη παράμετρο και επηρεάζει την ευαισθησία του ηλεκτροχημικού προσδιορισμού. Δοκιμάστηκαν δύο διαφορετικά αγώγιμα νήματα από CB/PLA και C/ABS, όσον αφορά τα ύψη κορυφών του τετραγωνικού παλμού ASV (SWASV) του Cd και την αμπερομετρική απόκριση του  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



**Σχήμα 86:** SWASV απόκριση σε  $30 \mu\text{g L}^{-1} \text{ Cd(II)}$  χρησιμοποιώντας τα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροτιποδοδότησης (e-wells). Το ηλεκτρόδιο εργασίας αποτελείται από: i) CB/PLA (μαύρη γραμμή), ii) C/ABS (γκρι γραμμή). Στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων εργασίας έχει σχηματιστεί υμένιο βισμούθιου με *in situ* ηλεκτροαπόθεση  $0,2 \text{ mg L}^{-1} \text{ Bi(III)}$ , σε φέροντα ηλεκτρολύτη  $\text{HNO}_3$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  και στάδιο προσυγκέντρωσης για 240s στα  $-1,4\text{V}$ .

Όπως απεικονίζεται στα **σχήματα 86-87**, το νήμα CB/PLA παρουσίασε υψηλότερη βολταμμετρική κορυφή Cd με χαμηλότερο σήμα υποβάθρου και

σημαντικά υψηλότερη αμπερομετρική απόκριση για το  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Επιλέχθηκε, επομένως, το νήμα CB/PLA για την εκτύπωση τόσο των ηλεκτροδίου εργασίας, αλλά και του βοηθητικού ηλεκτροδίου και ηλεκτροδίου αναφοράς. Οι διαφορές στα ηλεκτροαναλυτικά χαρακτηριστικά μεταξύ των νημάτων CB/PLA και C/ABS μπορούν να αποδοθούν στη διαφορετική περιεκτικότητα και τύπο άνθρακα, που επηρεάζει την ειδική αντίστασή τους. Η ειδική αντίσταση του νήματος CB/PLA είναι  $15 \Omega\cdot\text{cm}$ , ενώ του νήματος C/ABS είναι  $0,1 \Omega\cdot\text{cm}$ , με βάση τις πληροφορίες που λήφθηκαν από τις εταιρίες κατασκευής τους.



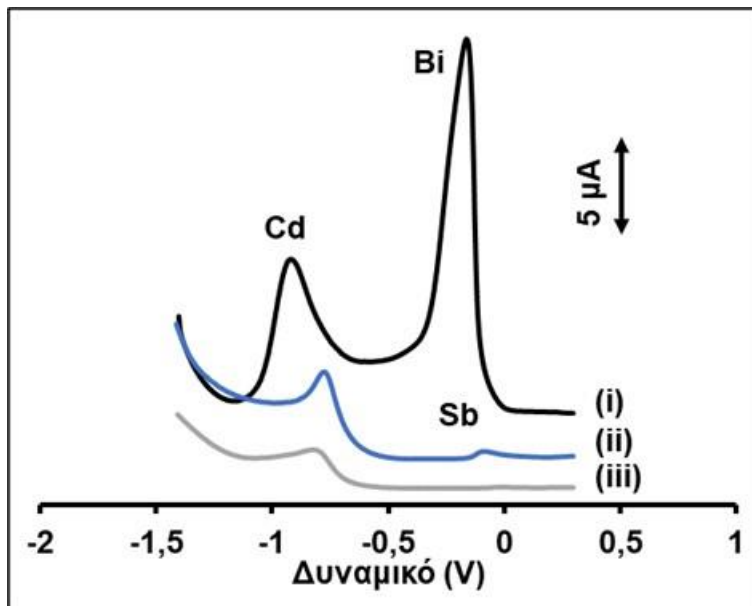
**Σχήμα 87:** Αμπερομετρική απόκριση διαδοχικών προσθέσεων  $4,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$  σε  $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ PB}$  (PH 7,0) χρησιμοποιώντας τις τρισδιάστατα εκτυπωμένες μικροκυψελίδες, χωρίς καμία μορφοποίηση. Το ηλεκτρόδιο εργασίας αποτελείται από: i) CB/PLA (μαύρη γραμμή) και ii) C/ABS (γκρι γραμμή).

### 12.3 Επιλογή ηλεκτροαποτιθέμενου υμενίου

Δεδομένου ότι τα εμπορικά διαθέσιμα συζευγμένα με STV CdSe/ZnS QDs χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτες σε πολυάριθμες ηλεκτροχημικές βιοδοκιμασίες, αρχικά μελετήθηκαν οι παράμετροι που επηρεάζουν την ευαισθησία του αισθητήρα ως προς τον βολταμετρικό προσδιορισμό του Cd(II), αφού απελευθερώνεται μετά την όξινη διαλυτοποίηση των QDs. Λόγω της χαμηλής ευαισθησίας SWASV προσδιορισμού των βαρέων μετάλλων σε μη μορφοποιημένα ηλεκτρόδια

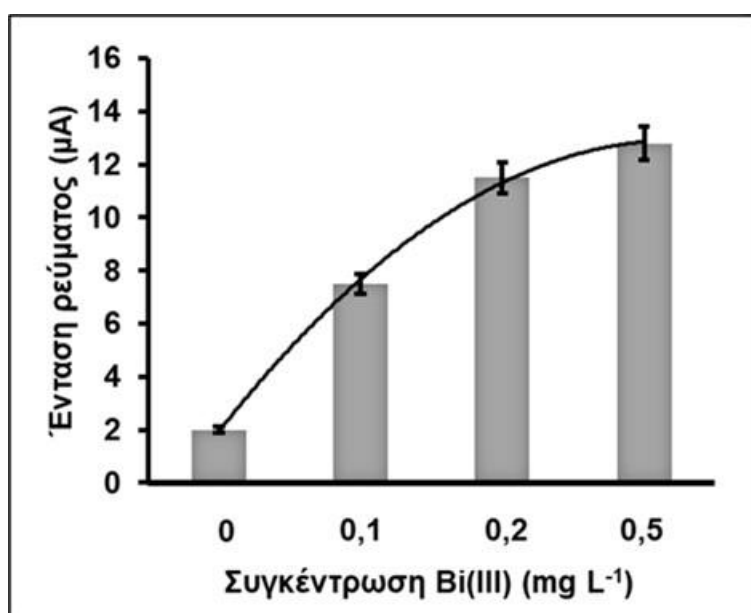
άνθρακα, το ηλεκτρόδιο εργασίας του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροχημικού φρεατίου μικροτιτλοδότησης μορφοποιήθηκε ηλεκτροχημικά με υμένιο βισμούθιου και αντιμονίου.

Για τον σκοπό αυτό, έγινε *in situ* ηλεκτροαπόθεση. Το Bi(III) ή το Sb(III) προστέθηκαν απευθείας στο διάλυμα του δείγματος και το αντίστοιχο υμένιο εναποτέθηκε στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας κατά τη διάρκεια του σταδίου της προσυγκέντρωσης, ταυτόχρονα με την εναπόθεση του Cd(II). Όπως απεικονίζεται στο **σχήμα 88**, τα συγκριτικά βολταμμογραφήματα που λήφθηκαν από μη μορφοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας (CB/PLA) και από μορφοποιημένα ηλεκτρόδια με υμένια Bi και Sb, αποκαλύπτουν ότι η ευαισθησία SWASV στην ανίχνευση Cd(II) με το ηλεκτρόδιο που ήταν μορφοποιημένο με υμένιο Bi είναι περίπου 2,5 φορές υψηλότερη συγκριτικά από αυτό με υμένιο Sb και 5 φορές από αυτό που δεν ήταν μορφοποιημένο με κάποιο μεταλλικό υμένιο. Επομένως, το ηλεκτρόδιο εργασίας με ηλεκτροαποτιθέμενο υμένιο Bi επιλέχθηκε ως βέλτιστο για τον προσδιορισμό του Cd(II).



**Σχήμα 88:** Συγκριτικά SW βολταμμογραφήματα  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  Cd(II). Η επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας έχει μορφοποιηθεί με ηλεκτροαποτιθέμενο υμένιο: i) βισμούθιου, ii) αντιμονίου iii) χωρίς μεταλλικό ηλεκτροαποτιθέμενο υμένιο. Η συγκέντρωση ήταν  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$  Bi(III) ή Sb(III) σε ηλεκτρολύτη  $\text{HNO}_3$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  και στάδιο προσυγκέντρωσης για 240s στα  $-1,4\text{V}$ .

Η συγκέντρωση Bi(III) που χρησιμοποιείται για την ηλεκτροεναπόθεση του υμενίου Bi είναι μια βασική παράμετρος, η οποία επηρεάζει τη βολταμετρική απόδοση του αισθητήρα ως προς την απόκριση Cd(II). Όπως φαίνεται στο **σχήμα 89**, απουσία Bi(III) ελήφθη μια μικρή κορυφή Cd(II), υποδηλώνοντας τη μικρή προσυγκέντρωση του Cd στο μη μορφοποιημένο ηλεκτρόδιο CB/PLA. Με τον σχηματισμό υμενίου Bi στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου, εμφανίστηκαν υψηλότερες κορυφές Cd(II), οι οποίες αυξάνονται καθώς αυξανόταν η συγκέντρωση Bi(III) στο διάλυμα και άρα το πάχος του υμενίου. Τα υμένια Bi που δημιουργήθηκαν με ηλεκτροαπόθεση 0,2 και 0,5 mg L<sup>-1</sup> Bi(III) παρουσίασαν τα μεγαλύτερα ύψη κορυφής του Cd. Επομένως, λαμβάνοντας υπόψιν και την κατανάλωση του Bi(II), η συγκέντρωση 0,2 mg L<sup>-1</sup> Bi(III) επιλέχθηκε ως βέλτιστη για την in situ ηλεκτροαπόθεση υμενίου βισμούθιου στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας.



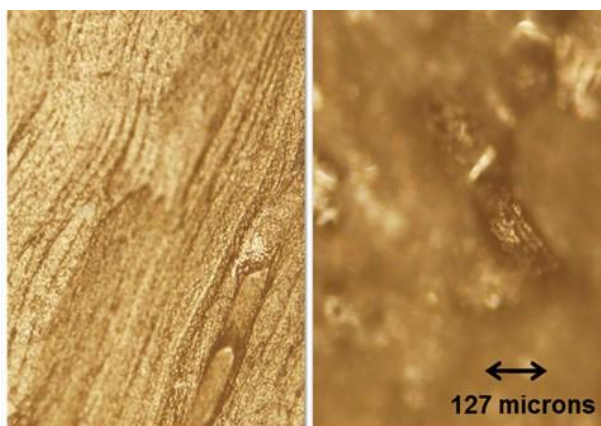
**Σχήμα 89:** Επίδραση της συγκέντρωσης του Bi (III) στο ύψος της βολταμετρικής κορυφής 30 mg L<sup>-1</sup> Cd (II).

#### 12.4 Χαρακτηρισμός του ηλεκτροδίου εργασίας

Το τρισδιάστατα εκτυπωμένο ηλεκτρόδιο εργασίας του φρεατίου μικροτιπλοδότησης που μορφοποιήθηκε με υμένιο Bi εξετάστηκε με οπτικό μικροσκόπιο. Στην **εικόνα 12** παρουσιάζεται φωτογραφία, στην οποία φαίνεται η επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας πριν και μετά την ηλεκτροαπόθεση του υμενίου με 0,2 mg L<sup>-1</sup> Bi(III) και εφαρμογή δυναμικού

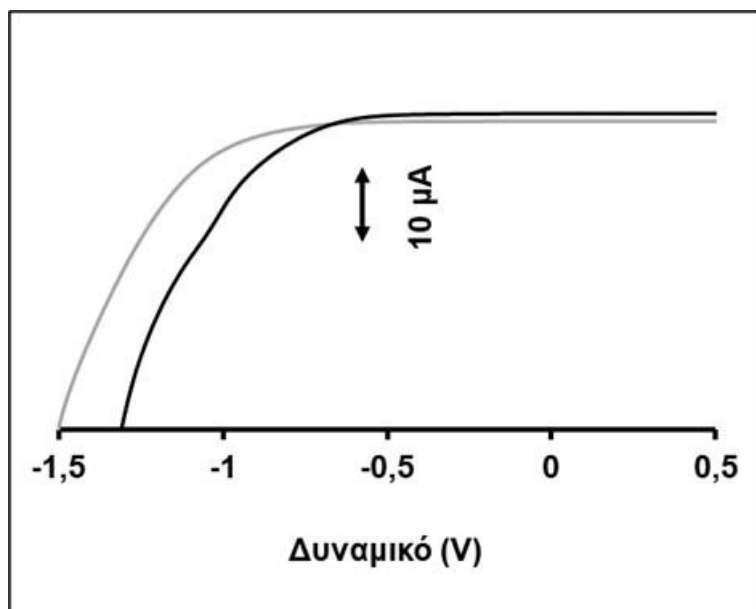


στα  $-1,4\text{ V}$  για  $240\text{ s}$ . Από την εικόνα προκύπτει ότι υπάρχει σχεδόν πλήρης κάλυψη της επιφάνειας του ηλεκτροδίου με υμένιο Bi.



**Εικόνα 12:** Φωτογραφία με οπτικό μικροσκόπιο της επιφάνειας του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου εργασίας πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) την ηλεκτροαπόθεση υμενίου με  $0,2\text{ mg L}^{-1}\text{ Bi(III)}$  και εφαρμογή δυναμικού  $-1,4\text{ V}$  για  $240\text{ s}$ .

Επίσης, προκειμένου να εξεταστεί η καταλληλότητα του για τον προσδιορισμό του  $\text{H}_2\text{O}_2$ , διεξήχθη βολταμμετρία γραμμικής σάρωσης σε  $0,1\text{ mol L}^{-1}\text{ PB}$  ( $\text{pH} = 7,0$ ). Τα βολταμμογραφήματα LS απουσία και παρουσία του  $\text{H}_2\text{O}_2$  παρουσιάζονται στο **σχήμα 90**.



**Σχήμα 90:** LS Βολταμμογραφήματα χρησιμοποιώντας τις τρισδιάστατα εκτυπωμένες μικροκυψελίδες σε διάλυμα: i)  $0,1\text{ mol L}^{-1}\text{ PB}$  ( $\text{pH} = 7,0$ ) (γκρι γραμμή) και ii)  $2,5\text{ mmol L}^{-1}\text{ H}_2\text{O}_2$  (μαύρη γραμμή). Ρυθμός σάρωσης  $50\text{ mV s}^{-1}$ .

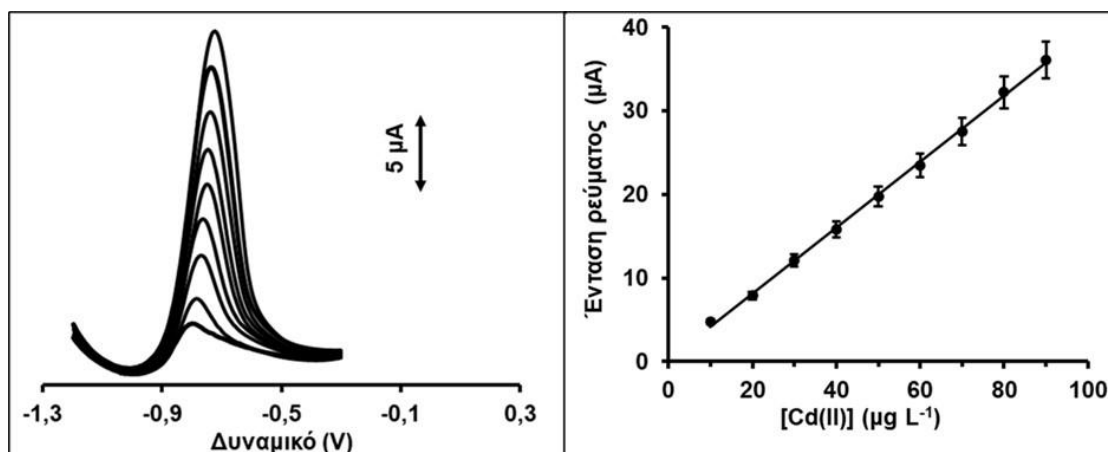
Απουσίας του  $\text{H}_2\text{O}_2$ , η αναγωγή των ανιόντων υδροξωνίου του ηλεκτρολύτη γίνεται περίπου σε δυναμικό  $-1,0 \text{ V}$ , ενώ παρουσία  $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  η αναγωγή του  $\text{H}_2\text{O}_2$  γίνεται σε δυναμικό περίπου  $-0,7 \text{ V}$ , επιβεβαιώνοντας ότι οι τρισδιάστατα εκτυπωμένες μικροκυψελίδες είναι κατάλληλες για τον αμπερομετρικό προσδιορισμό του  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

#### 12.4.1 Σταθερότητα ηλεκτροδίου αναφοράς

Η σταθερότητα του δυναμικού του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου αναφοράς δοκιμάστηκε σε 20 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, ενώ η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ διαφορετικών ηλεκτροδίων αναφοράς αξιολογήθηκε συγκρίνοντας τα αποτελέσματα που προέκυψαν από 6 διαφορετικά τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτρόδια αναφοράς. Όλες οι συγκριτικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε διάλυμα που περιείχε  $40 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$   $\text{Cd(II)}$  σε  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$  με  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$   $\text{Bi(III)}$ . Το δυναμικό, όπου εμφανίζεται η κορυφή του  $\text{Cd}$ , παρέμεινε πρακτικά σταθερό κατά τη διάρκεια των 20 επαναλαμβανόμενων μετρήσεων, ενώ η % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) του δυναμικού κορυφής του  $\text{Cd(II)}$  σε 6 διαφορετικά τρισδιάστατα εκτυπωμένα RE ήταν 3,2%.

#### 12.5 Καμπύλη αναφοράς καδμίου

Προκειμένου να αποδειχθεί ότι ο αισθητήρας είναι κατάλληλος για βιοπροσδιορισμούς που χρησιμοποιούν επισήμανση με  $\text{Cd/QDs}$  έγινε καμπύλη αναφοράς για το  $\text{Cd(II)}$  με SWASV στο μορφοποιημένο με υμένιο  $\text{Bi}$  ηλεκτρόδιο εργασίας του τρισδιάστατα εκτυπωμένου φρεατίου μικροτιτλοδότησης. Η καμπύλη αναφοράς πραγματοποιήθηκε σε εύρος συγκέντρωσης  $10\text{-}90 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  (προσθήκη  $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ). Τα αντίστοιχα SWASV βολταμμογραφήματα και η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζονται στην **σχήμα 91**. Ο αισθητήρας παρουσίασε ικανοποιητική γραμμικότητα στο εξεταζόμενο εύρος συγκεντρώσεων  $\text{Cd(II)}$  ( $10 - 90 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ), με συντελεστή προσδιορισμού  $R^2=0,997$ . Το όριο ανίχνευσης (LOD) (υπολογισμένο χρησιμοποιώντας την εξίσωση  $\text{LOD} = 3s_y/a$ ) ήταν  $0,22 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ .

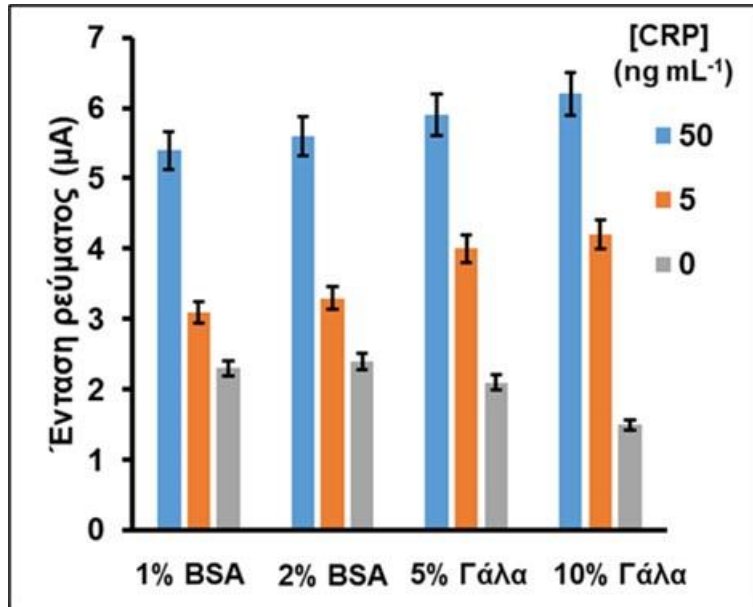


**Σχήμα 91:** (Αριστερά) SW Βολταμογραφήματα σε εύρος συγκεντρώσεων Cd(II) 10 - 90  $\mu\text{g L}^{-1}$  (προσθήκες 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) με τις τρισδιάστατα εκτυπωμένες μικροκυψελίδες μορφοποιημένες με υμένιο βισμούθιου. (Δεξιά) Η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς. Τα σημεία της καμπύλης είναι η μέση τιμή  $\pm$  SD ( $n = 3$ ).

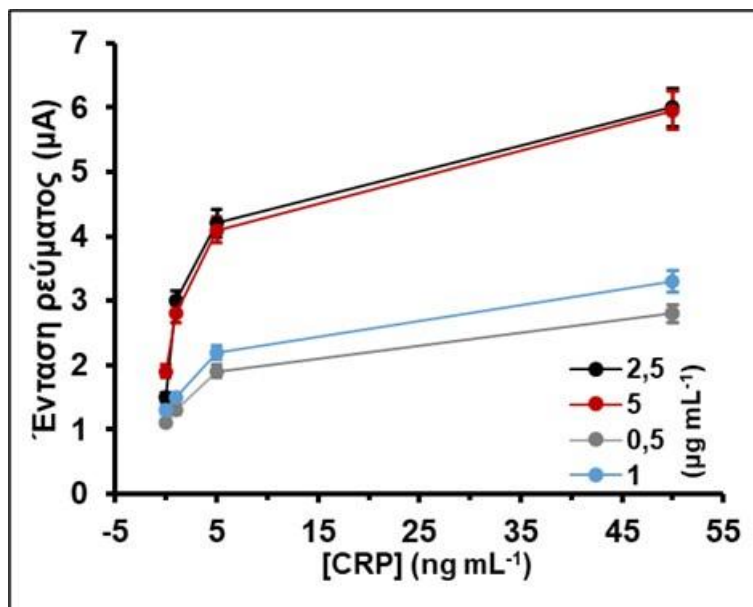
## 12.6 Βελτιστοποίηση της βιοδοκιμής της Γ αντιδρώσας πρωτεΐνης

Ο προσδιορισμός της CRP πραγματοποιήθηκε μέσω ανοσοχημικής μεθόδου τύπου σάντουιτς, όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο 12.1.1 και στο **σχήμα 85**. Αξιολογήθηκαν διαφορετικές παράμετροι της ανοσοδοκιμασίας. Αρχικά διερευνήθηκε η σύσταση του ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης. Συγκεκριμένα, δοκιμάστηκαν τα ακόλουθα ρυθμιστικά διαλύματα: 10 mmol  $\text{L}^{-1}$  PB (pH 7,4), 50 mmol  $\text{L}^{-1}$  PB (pH 7,4), Tris-HCl με pH 7,8 και pH 8,2 που περιείχαν αλβουμίνη βοδινού ορού (BSA) σε εύρος συγκεντρώσεων 0,5 έως 2% w/v. Η υψηλότερη ευαισθησία σε συνδυασμό με το χαμηλότερο μη ειδικό σήμα επιτεύχθηκε όταν χρησιμοποιήθηκαν 50 mmol  $\text{L}^{-1}$  PB (pH 7,4) που περιείχε 1% w/v BSA.

Επίσης, ελέγχθηκε η σύνθεση του διαλύματος αποκλεισμού θέσεων εξετάζοντας 1 και 2% w/v BSA σε 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$ , καθώς και 5 και 10% w/v αποβουτυρωμένο αγελαδινό γάλα σε 50 mmol  $\text{L}^{-1}$  PB (pH 7,4). Όπως φαίνεται στο **σχήμα 92**, στο 10% w/v αγελαδινό γάλα υπήρχε χαμηλότερο μη ειδικό σήμα και μεγαλύτερη ευαισθησία στη CRP και, ως εκ τούτου, επιλέχθηκε ως διάλυμα αποκλεισμού.



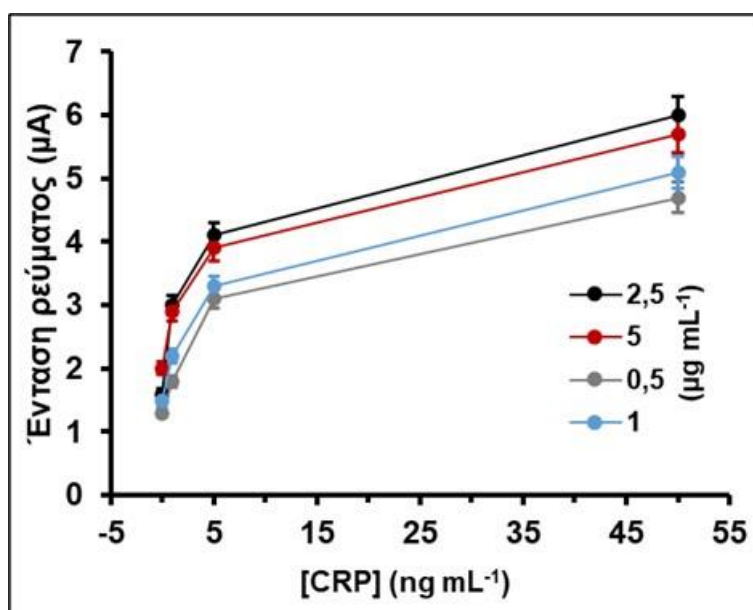
**Σχήμα 92:** Μέση τιμή της έντασης του ρεύματος που λαμβάνεται από 5, 50 ng mL<sup>-1</sup>, καθώς και το μη ειδικό σήμα, χρησιμοποιώντας διαφορετικά διαλύματα αποκλεισμού θέσεων. Κάθε σημείο είναι η μέση τιμή ±SD (n = 3).



**Σχήμα 93:** Μέση τιμή έντασης ρεύματος που λαμβάνεται έναντι του αντισώματος πρόσδεσης αντι-CRP σε συγκεντρώσεις 0,5, 1, 5, 50 ng mL<sup>-1</sup>. Κάθε σημείο είναι η μέση τιμή ±SD (n = 3).

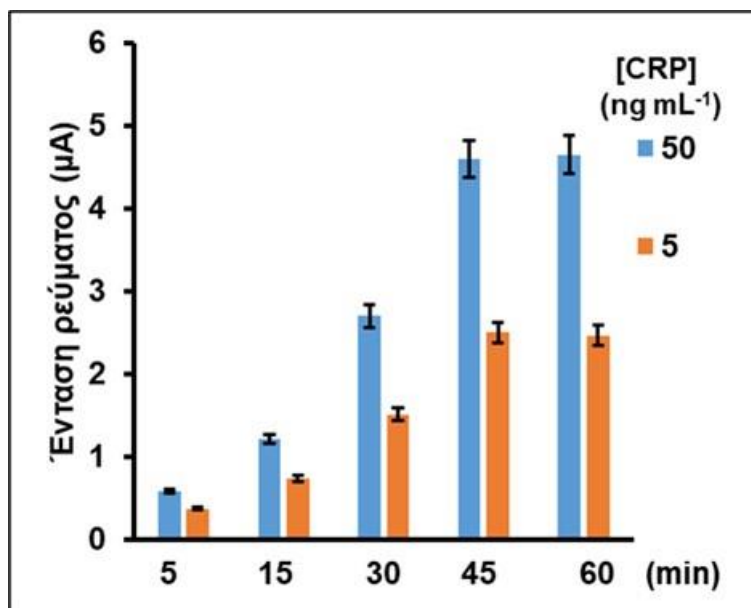
Επιπροσθέτως, δοκιμάστηκε η συγκέντρωση του αντισώματος πρόσδεσης αντι-CRP σε 50 mmol L<sup>-1</sup> ρυθμιστικού διάλυμα ανθρακικών ιόντων (pH 9,2) στην περιοχή από 0,5 έως 5 μg mL<sup>-1</sup>, χρησιμοποιώντας τέσσερις συγκεντρώσεις 0, 1, 5 και 50 ng mL<sup>-1</sup> CRP, 2,5 μg mL<sup>-1</sup>

βιοτινυλιωμένο αντίσωμα αντι-CRP και  $5 \text{ nmol L}^{-1}$  QDs. Όπως φαίνεται στο **σχήμα 93**, επιτεύχθηκαν υψηλά σήματα με αντίσωμα πρόσδεσης αντι-CRP σε συγκεντρώσεις  $2,5$  και  $5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ , ενώ το μη ειδικό σήμα δέσμευσης που ελήφθη από  $2,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  ήταν χαμηλότερο από αυτό των  $5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  και, επομένως,  $2,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  αντισώματος πρόσδεσης επιλέχθηκαν για τη δοκιμασία. Επιπλέον, η συγκέντρωση βιοτινυλιωμένου αντισώματος ανίχνευσης αντι-CRP  $2,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  προσέφερε υψηλά σήματα με χαμηλή επίδραση μη ειδικής δέσμευσης (**σχήμα 94**).



**Σχήμα 94:** Μέση τιμή έντασης ρεύματος που λαμβάνεται έναντι του βιοτινυλιωμένου αντισώματος ανίχνευσης αντι-CRP σε συγκεντρώσεις  $0,5, 1, 5, 50 \text{ ng mL}^{-1}$ . Κάθε σημείο είναι η μέση τιμή  $\pm$ SD ( $n = 3$ ).

Μελετήθηκε επίσης η διάρκεια της ανοσοαντίδρασης και της αντίδρασης με τα QDs. Όπως φαίνεται στο **σχήμα 95**, οι μέγιστες αποκρίσεις επιτεύχθηκαν μετά από 45 λεπτά ανοσοαντίδρασης, οι οποίες ήταν σχεδόν ίσες με αυτές μετά από 60 λεπτά. Όσον αφορά την αντίδραση με QDs, χρόνος αντίδρασης 15 λεπτών παρείχε ικανοποιητικά σήματα, ορίζοντας συνολική διάρκεια ανάλυσης μόλις 1 ώρα. Τέλος, εξετάστηκε η επίδραση του χρόνου προσυγκέντρωσης (στην περιοχή 60–600s) και του δυναμικού (στην περιοχή από  $-1,6$  έως  $-0,7 \text{ V}$ ) χρησιμοποιώντας βιοδοκιμή με  $10 \text{ ng mL}^{-1}$  CRP. Επιλέχθηκε στάδιο προσυγκέντρωσης εφαρμόζοντας δυναμικό  $-1,4 \text{ V}$  για 240 s, συνυπολογίζοντας την υψηλή ευαισθησία και το σύντομο χρόνο ανάλυσης.



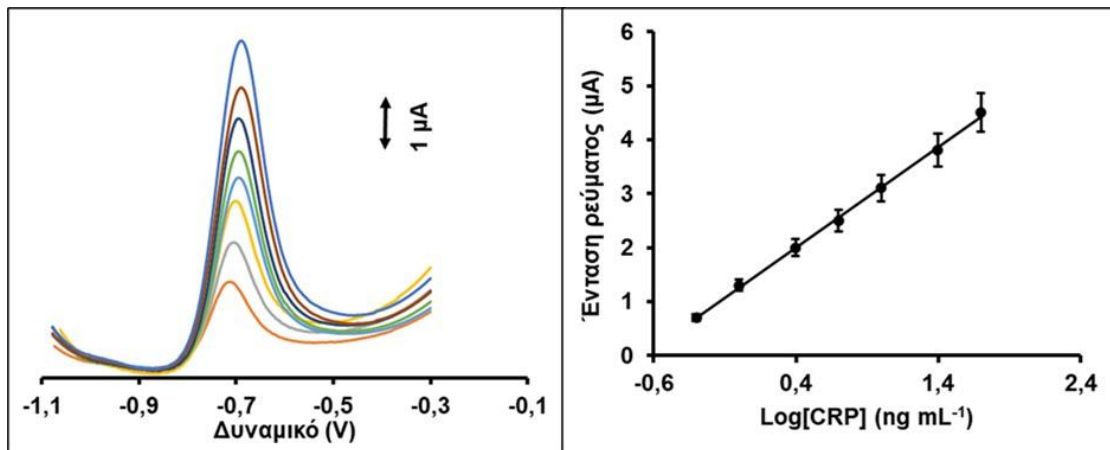
**Σχήμα 95:** Επίδραση του χρόνου επώασης στις καθарές τιμές ρεύματος των 5 και 50 ng mL<sup>-1</sup> CRP. Κάθε σημείο είναι η μέση τιμή ±SD (n = 3).

### 12.7 Βελτιστοποίηση μεθόδου προσδιορισμού υπεροξειδίου υδρογόνου

Για τη βελτιστοποίηση της ευαισθησίας των τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροτιτλοδότησης, για τον αμπερομετρικό προσδιορισμό του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, μελετήθηκε το pH του διαλύματος και το εφαρμοζόμενο δυναμικό. Η επίδραση των τιμών του pH στην απόκριση των 6 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> δοκιμάστηκε σε τιμές pH που κυμαίνονταν από 5,5 έως 8,5. Αυξάνοντας την τιμή του pH, αυξανόταν και η αμπερομετρική απόκριση του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ώσπου έφτασε σε μια μέγιστη τιμή σε pH 7,0, η οποία και επιλέχθηκε για τη πειραματική διαδικασία. Επίσης, το εφαρμοζόμενο δυναμικό επηρεάζει την αναγωγή του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και μελετήθηκε από -0,7 έως -0,3 V. Η αμπερομετρική απόκριση των 6 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ήταν αυξημένη σε αρνητικότερο δυναμικό, οπότε επιλέχθηκε δυναμικό -0,7 V.

### 12.8 Καμπύλη αναφοράς

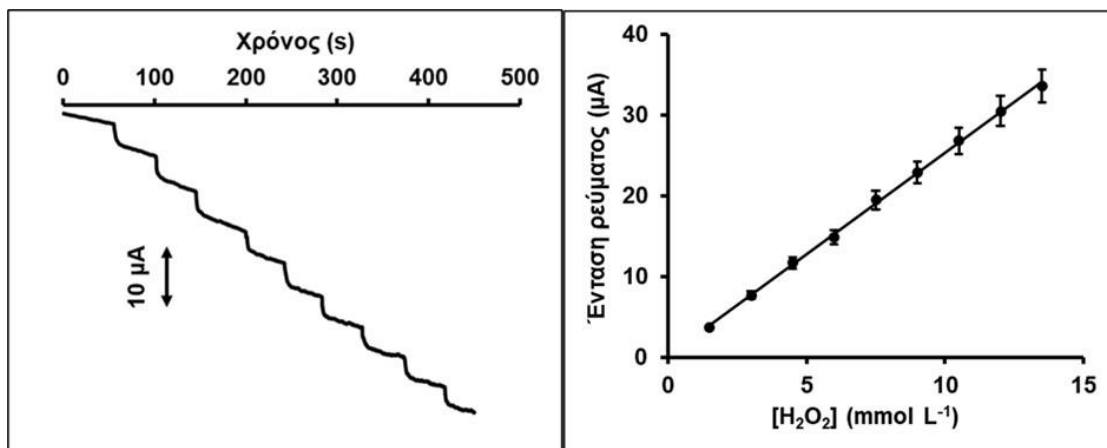
Στο **σχήμα 96** απεικονίζονται τα SWASV βολταμμογραφήματα που ελήφθησαν για διαφορετικές συγκεντρώσεις CRP (0 - 50 ng mL<sup>-1</sup>) και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς.



**Σχήμα 96:** SW βολταμμογραφήματα συγκεντρώσεων 0,0, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 25,0 και 50,0 ng mL<sup>-1</sup> CRP και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς σε λογαριθμική κλίμακα. Κάθε σημείο στην καμπύλη αναφοράς αντιπροσωπεύει τη μέση τιμή ± SD (n = 3) μετά την αφαίρεση του μη ειδικού σήματος.

Το ύψος κορυφής του απελευθερωμένου Cd(II) από τις QDs συσχετίστηκε γραμμικά με τον λογάριθμό της συγκέντρωσης της CRP με  $R^2 = 0,996$ . Το LOD ήταν 0,06 ng mL<sup>-1</sup> και θεωρήθηκε ως η συγκέντρωση της CRP που αντιστοιχεί σε τρεις φορές την τυπική απόκλιση του ύψους κορυφής, του μη ειδικού σήματος. Το LOD είναι συγκρίσιμο ή χαμηλότερο από αυτό άλλων ηλεκτροχημικών αναλύσεων της CRP και πολύ χαμηλότερο από την ελάχιστη κλινική τιμή που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Επομένως, αυτό το LOD προσφέρει ένα μεγάλο πρακτικό όφελος, καθώς επιτρέπει την αραίωση του δείγματος ελαχιστοποιώντας την επίδραση του υποστρώματος που υπάρχει στα κλινικά δείγματα <sup>(113-115)</sup>.

Το **σχήμα 97** απεικονίζει τις αμπερομετρικές αποκρίσεις για διαδοχικές προσθήκες H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> με τα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροτιτλοδότησης και την αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς σε περιοχή συγκέντρωσης 1,5-13,5 mmol L<sup>-1</sup> ( $R^2 = 0,999$ ). Κατά τον προσδιορισμό του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, οι αισθητήρες χρησιμοποιήθηκαν όπως εκτυπώθηκαν, χωρίς καμία μορφοποίηση του ηλεκτροδίου εργασίας με νανοσωματίδια ή κάποιον ένζυμο. Το γραμμικό εύρος συγκέντρωσης του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> είναι συγκρίσιμο με αυτό άλλων μορφοποιημένων ηλεκτροχημικών αισθητήρων <sup>(172-174)</sup>.



**Σχήμα 97:** Αμπερομετρικές αποκρίσεις και η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς για το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε εύρος συγκεντρώσεων 1,5 - 13,5 mmol L<sup>-1</sup>. Τα σημεία στο διάγραμμα είναι η μέση τιμή ± SD (n = 3).

### 12.9 Σταθερότητα αισθητήρα

Η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ των αισθητήρων, εκφραζόμενη ως % RSD με τη χρήση 8 διαφορετικών αισθητήρων, ήταν χαμηλότερη από 10,7% σε όλο το εύρος των συγκεντρώσεων της καμπύλης αναφοράς, για την ανάλυση CRP και χαμηλότερη από 6,4% για το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ενώ η επαναληψιμότητα (οριζόμενη ως το %RSD 10 επαναλαμβανόμενων μετρήσεων διαλύματος που περιέχει 40 μg L<sup>-1</sup> Cd(II) ή 6 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στον ίδιο αισθητήρα) ήταν 4,2% και 3,4%, αντίστοιχα.

### 12.10 Ανάλυση δείγματος

Η ακρίβεια του ανοσοπροσδιορισμού της CRP με τη χρήση QDs ως ιχνηθέτες αξιολογήθηκε περαιτέρω μέσω πειραμάτων ανάκτησης σε δείγματα τεχνητού πλάσματος αίματος. Για τον σκοπό αυτό, αναλύθηκαν δείγματα τεχνητού πλάσματος αίματος με συγκεντρώσεις CRP 5, 15 και 35 ng mL<sup>-1</sup>. Η συγκέντρωση της CRP στα εμβολιασμένα δείγματα πλάσματος υπολογίστηκε μέσω της καμπύλης αναφοράς του **σχήματος 97** και οι τιμές ανάκτησης κυμαίνονταν από 95% έως 103%, επιβεβαιώνοντας την ακρίβεια της μεθόδου προσδιορισμού της CRP.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13

### Προσδιορισμός γλυκόζης

Στις μέρες μας, υπάρχει αυξημένη ζήτηση φορητών αισθητήρων για την παρακολούθηση της γλυκόζης του ιδρώτα, προκειμένου να διευκολυνθεί ο έλεγχος του διαβήτη με φιλικό προς τον ασθενή, μη επεμβατικό τρόπο. Στην **εικόνα 13** παρουσιάζεται διάταξη παρακολούθησης των τιμών γλυκόζης σε ιδρώτα με τη μορφή ηλεκτροχημικού δακτυλίου που κατασκευάζεται με τρισδιάστατη εκτύπωση.



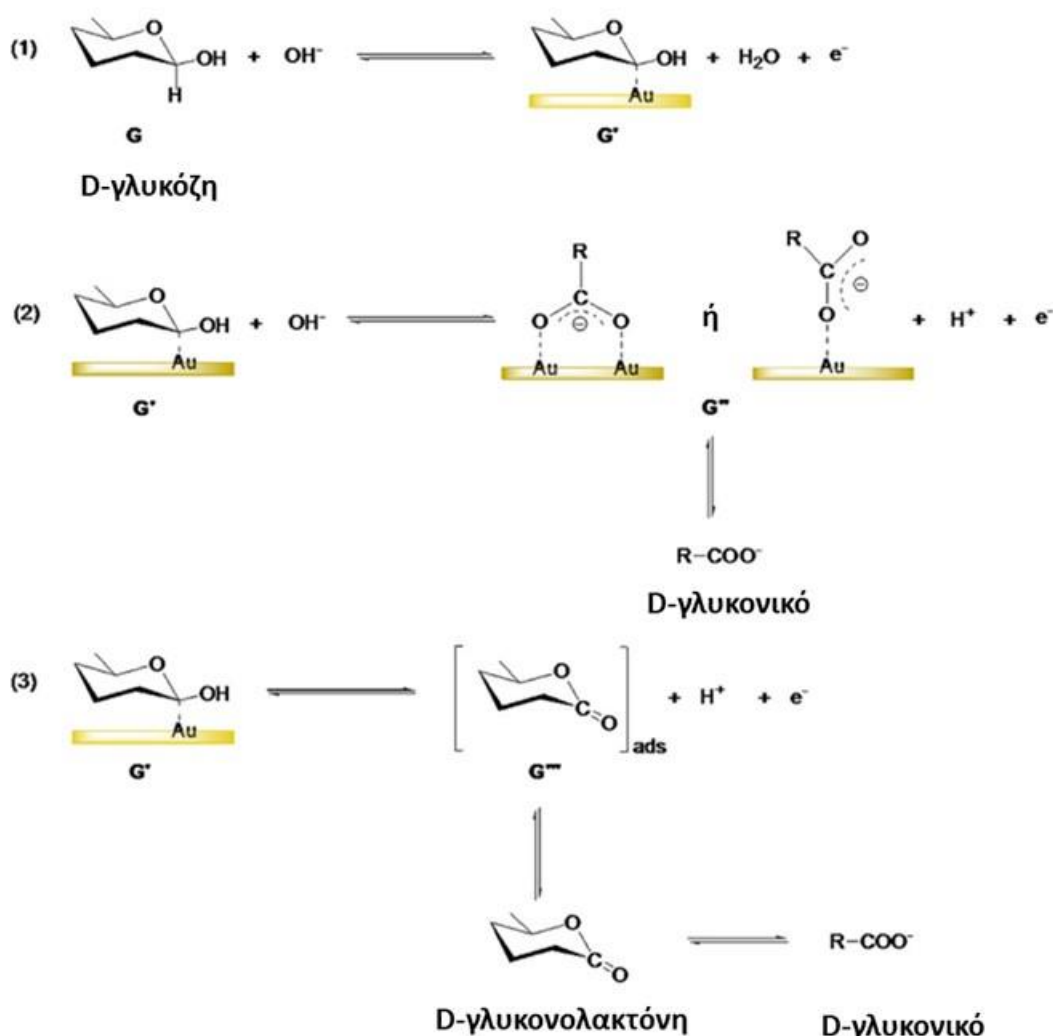
**Εικόνα 13:** Φωτογραφίες του αισθητήρα όπου φαίνονται το μέγεθος και η ελαστικότητα του.

Ο αισθητήρας αποτελείται από τρία ηλεκτρόδια με βάση τον άνθρακα (κατασκευασμένα με αγώγιμο νήμα CB/PLA), ενσωματωμένα στην εσωτερική πλευρά εύκαμπτης πλαστικής θήκης σε σχήμα δακτυλίου (που κατασκευάζεται με τη χρήση μη αγώγιμου νήματος TPU). Το ηλεκτρόδιο εργασίας μορφοποιείται *ex situ* με ηλεκτροαποτιθέμενο υμένιο χρυσού, προσφέροντας τη δυνατότητα για μη ενζυμικό αμπερομετρικό έλεγχο των επιπέδων γλυκόζης στον ιδρώτα. Η διάταξη είναι ανθεκτική στη μηχανική κάμψη και επιτρέπει την ανίχνευση γλυκόζης στον ιδρώτα στο φυσιολογικά σχετικό εύρος συγκέντρωσης 12,5 - 400  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .

#### 13.1 Αρχή ηλεκτροχημικών μεθόδων

Για την *ex situ* ηλεκτρολυτική επιμετάλλωση του υμενίου χρυσού στο τρισδιάστατο ηλεκτρόδιο εργασίας, διάλυμα που περιείχε 20  $\text{mg L}^{-1}$  Au(III) σε 0,2  $\text{mol L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  τοποθετήθηκε σε συμβατική ηλεκτροχημική κυψελίδα, ο

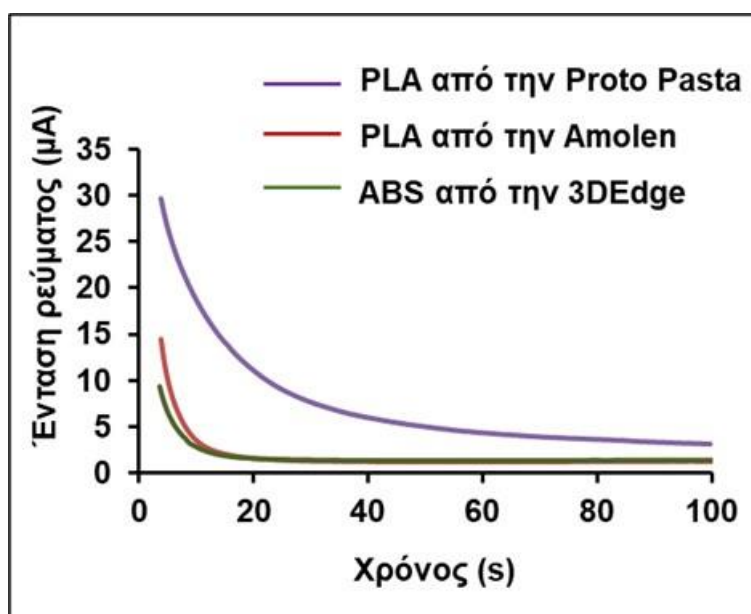
αισθητήρας βυθίστηκε στο διάλυμα επιμετάλλωσης, και το υμένιο χρυσού εναποτέθηκε στο ηλεκτρόδιο εργασίας εφαρμόζοντας δυναμικό -1,0 V για 600 δευτερόλεπτα. Μετά από έκπλυση με δισαπνεσταγμένο νερό, είναι έτοιμο προς χρήση. Για τις βολταμετρικές μετρήσεις διαφορικού παλμού, το δυναμικό σαρώθηκε από -1,0 V έως +1,0 V. Τα χρονοαμπερομετρικά πειράματα πραγματοποιήθηκαν με εφαρμογή δυναμικού +0,3 V. Τα δυναμικά αναφέρονται σε σχέση με το τρισδιάστατο ηλεκτρόδιο ψευδο-αναφοράς. Ο προτεινόμενος μηχανισμός της οξείδωσης γλυκόζης στο επιμεταλλωμένο ηλεκτρόδιο εργασίας με χρυσό παρουσιάζεται στο **σχήμα 98**.



**Σχήμα 98:** Προτεινόμενος μηχανισμός της αντίδρασης σε ηλεκτρόδιο εργασίας από νήμα CB/PLA επιμεταλλωμένο με χρυσό. G = D-γλυκόζη (β-D-γλυκοπιρανόζη σχηματίζεται κυρίως στο νερό), G' = αφυδρογονωμένη γλυκόζη (ενδιάμεσο που παράγεται από αφυδρογόνωση), G'' = D-γλυκονικό, G''' = D-γλυκονολακτόνη.

### 13.2 Επιλογή αγώγιμου νήματος

Συγκρίθηκαν τρία διαφορετικά αγώγιμα νήματα για την κατασκευή των ηλεκτροδίων και δοκιμάστηκαν για τον χρονοαμπερομετρικό προσδιορισμό  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα (CB/PLA της Proto Pasta, CB/PLA της Amolen, C/ABS της 3DEdge). Σε όλες τις περιπτώσεις, η επιφάνεια κάθε ηλεκτροδίου εργασίας μορφοποιήθηκε με υμένιο χρυσού που σχηματίστηκε με ex-situ ηλεκτροαπόθεση με  $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ Au (III)}$  σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ .

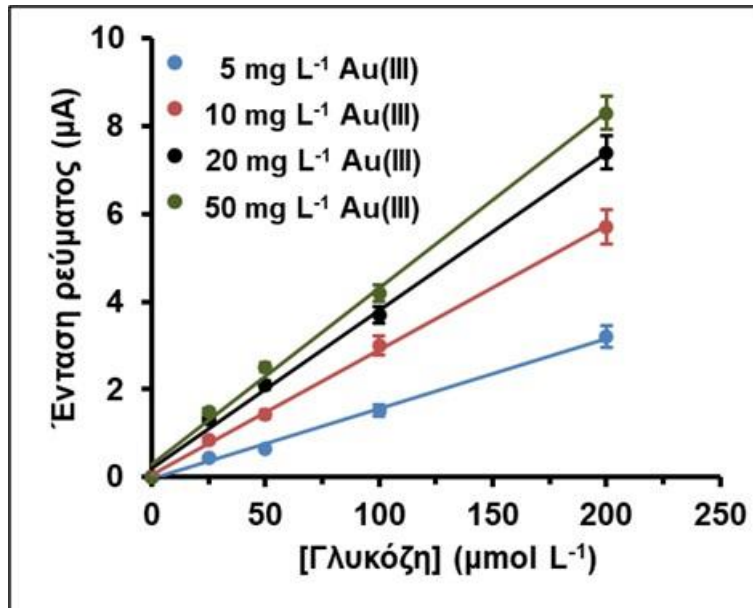


**Σχήμα 99:** Χρονοαμπερομετρική απόκριση  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης στον τεχνητό ιδρώτα με ηλεκτρόδια από άνθρακα και : CB/PLA της Proto Pasta (μωβ χρώμα), CB/PLA της Amolen (κόκκινο χρώμα), C/ABS της 3DEdge (πράσινο χρώμα). Η επιφάνεια κάθε ηλεκτροδίου εργασίας μορφοποιήθηκε με υμένιο χρυσού που σχηματίστηκε με ex-situ ηλεκτροαπόθεση με  $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ Au(III)}$  σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ .

Δύο από τα νημάτια ήταν CB/PLA από την Proto-Pasta και την Amolen και ένα C/ABS που λήφθηκε από την 3DEdge. Το νήμα CB/PLA της Proto-Pasta επέδειξε σημαντικά υψηλότερη ευαισθησία στον προσδιορισμό της γλυκόζης από τα άλλα δύο αγώγιμα νημάτια και έτσι επιλέχθηκε για την εκτύπωση των ηλεκτροδίων (**σχήμα 99**). Το ίδιο υλικό CB/PLA επιλέχθηκε για την εκτύπωση του βοηθητικού ηλεκτροδίου και ψευδο-αναφοράς, για λόγους απλότητας και ταχύτητας κατασκευής.

### 13.3 Επιλογή της συγκέντρωσης του Au(III)

Η συγκέντρωση Au(III) που χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία του υμενίου χρυσού στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας είναι βασική παράμετρος, η οποία επηρεάζει την απόδοση του αισθητήρα όσον αφορά σε ανίχνευση γλυκόζης.



**Σχήμα 100:** Καμπύλες αναφοράς γλυκόζης με χρονοαμπερομετρία (ενδιάμεσος χρόνος 30-35s) σε τεχνητό ιδρώτα με τους τέσσερις αισθητήρες σε συγκεντρώσεις Au(III) 5, 10, 20, 50 mg L<sup>-1</sup> Au (III) σε 0,2 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> για 600 s σε δυναμικό -1,0 V. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή ± SD (n=3).

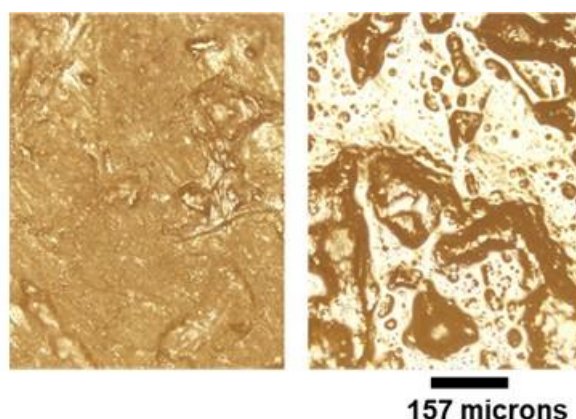
Παρασκευάστηκαν τέσσερις αισθητήρες χρησιμοποιώντας διαφορετικές συγκεντρώσεις Au(III) (5, 10, 20, 50 mg L<sup>-1</sup> Au(III) σε 0,2 mol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Η ηλεκτροεναπόθεση του υμενίου χρυσού στο ηλεκτρόδιο εργασίας του καθενός έγινε ex-situ εφαρμόζοντας δυναμικό -1,0 V για 600 s. Στη συνέχεια, έγιναν χρονοαμπερομετρικές μετρήσεις των 25, 50, 100 και 200 μmol L<sup>-1</sup> γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα χρησιμοποιώντας τους τέσσερις αισθητήρες (**σχήμα 100**).

Τα υμένια χρυσού που σχηματίστηκαν με ηλεκτροεναπόθεση 20 και 50 mg L<sup>-1</sup> Au(III) προσέφεραν υψηλότερη ευαισθησία για τον προσδιορισμό γλυκόζης και, για τα υπόλοιπα πειράματα, επιλέχθηκαν τα 20 mg L<sup>-1</sup> Au(III) για το σχηματισμό υμενίου χρυσού, καθώς αυτή η συγκέντρωση προσέφερε

επαρκή ευαισθησία σε συνδυασμό με χαμηλότερη κατανάλωση του αντιδραστηρίου χρυσού.

#### 13.4 Χαρακτηρισμός του ηλεκτροδίου εργασίας και αναφοράς

Για τον χαρακτηρισμό του ηλεκτροδίου εργασίας χρησιμοποιούνται οπτικές και ηλεκτροχημικές τεχνικές. Το τρισδιάστατα εκτυπωμένο μορφοποιημένο ηλεκτρόδιο εργασίας με υμένιο χρυσού χαρακτηρίστηκε με οπτικό μικροσκόπιο.

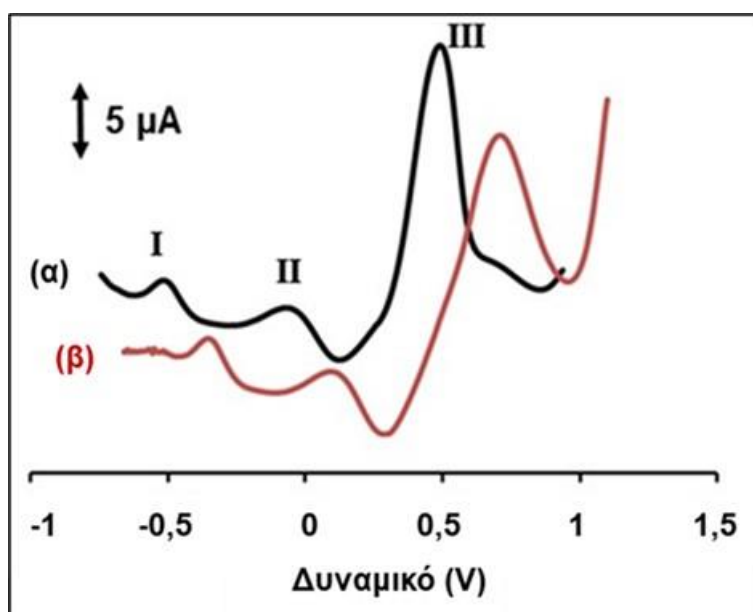


**Εικόνα 14:** Φωτογραφίες με οπτικό μικροσκόπιο της επιφάνειας ηλεκτροδίων εργασίας πριν (αριστερά) και μετά (δεξιά) την ηλεκτροεναπόθεση με  $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ Au(III)}$  σε  $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ , εφαρμόζοντας δυναμικό  $-1,0 \text{ V}$  για  $600 \text{ s}$ .

Φωτογραφία με οπτικό μικροσκόπιο απεικονίζεται στην **εικόνα 14** που δείχνει τη μορφολογία της επιφάνειας του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου εργασίας πριν και μετά την επίστρωση με Au και υποδηλώνει ότι επιτεύχθηκε σχεδόν πλήρης επίστρωση της επιφάνειας με Au.

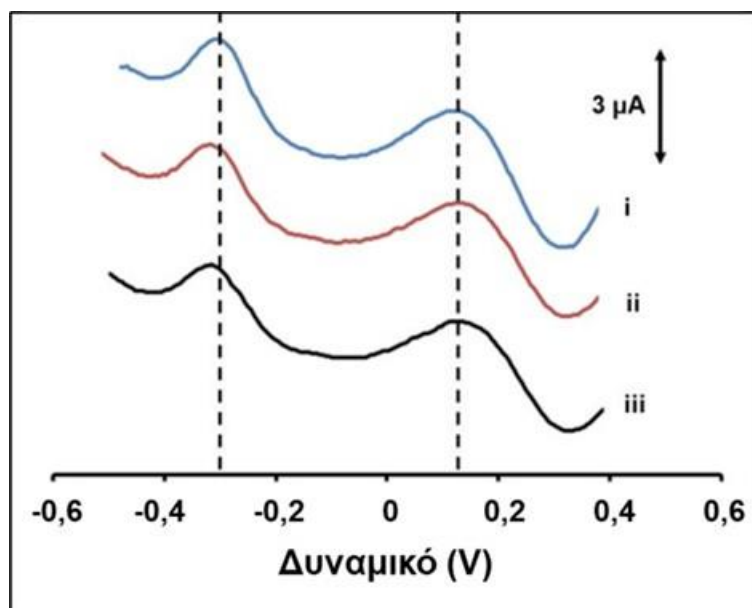
Επίσης έγινε χαρακτηρισμός της οξειδωτικής συμπεριφοράς της γλυκόζης στον αισθητήρα με διαφορική παλμική βολταμμετρία σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών με  $\text{pH} = 7,0$  και τεχνητό ιδρώτα ( $\text{pH} = 4,0$ ). Στο DP βολταμογράφημα που λήφθηκε από διάλυμα που περιείχε  $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης σε  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών με  $\text{pH} 7,0$  φαίνονται τρεις κορυφές οξείδωσης (**σχήμα 101.α**). Η κορυφή I, που εμφανίζεται κατά προσέγγιση στα  $-0,5 \text{ V}$ , οφείλεται στην οξείδωση της καρβονυλικής ομάδας της γλυκόζης, ενώ η δεύτερη κορυφή II στα  $-0,04 \text{ V}$  αποδίδεται στην οξείδωση τόσο των καρβονυλικών όσο και των υδροξυλικών

ομάδων της γλυκόζης <sup>(177,180)</sup>. Η μεγάλη κορυφή III, που εμφανίζεται περίπου στα +0,5 V είναι η κορυφή οξειδωσης του χρυσού. Στον τεχνητό ιδρώτα **(σχήμα 101.β)**, οι τρεις αντίστοιχες κορυφές μετατοπίστηκαν σε πιο θετικά δυναμικά, λόγω της διαφορετικής σύνθεσης του φέροντος ηλεκτρολύτη και διαφορετικό pH.



**Σχήμα 101:** Βολταμμογράφημα DP 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης: α) σε 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών με pH 7,0 και β) σε τεχνητό ιδρώτα.

Ένα κρίσιμο λειτουργικό χαρακτηριστικό του αισθητήρα είναι η σταθερότητα του δυναμικού του ηλεκτροδίου ψευδο-αναφοράς. Για το σκοπό αυτό από δέκα διαδοχικά DP βολταμμογραφήματα 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα καταγράφηκαν με τον ίδιο αισθητήρα. Το **σχήμα 102** απεικονίζει αντιπροσωπευτικά βολταμμογραφήματα αυτών των μετρήσεων, όπου φαίνεται ότι η μεταβολή του δυναμικού είναι στατιστικά σταθερή και η σταθερότητα του τρισδιάστατα εκτυπωμένου ηλεκτροδίου αναφοράς είναι ικανοποιητική.



**Σχήμα 102:** DP Βολταμμογραφήματα  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα 10 συνεχόμενων σαρώσεων: i) η πρώτη, ii) η πέμπτη, iii) η δέκατη.

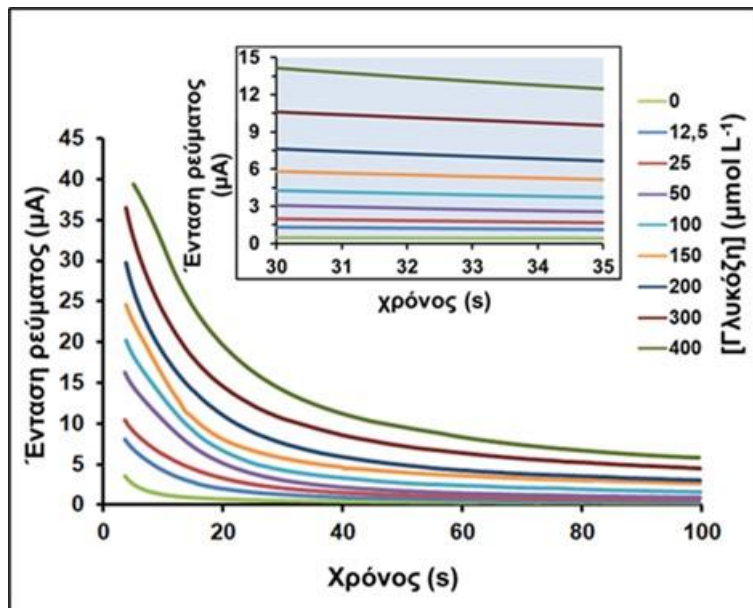
### 13.5 Μελέτη δυναμικού

Ένας άλλος βασικός παράγοντας ήταν η επίδραση του εφαρμοζόμενου αμπερομετρικού δυναμικού. Τα κριτήρια για την επιλογή του εφαρμοζόμενου δυναμικού ήταν η αποτελεσματική οξείδωση της γλυκόζης, η προστασία του υμενίου χρυσού που τοποθετήθηκε στα ηλεκτρόδια και η μείωση των παρεμποδίσεων που μπορούν να προκαλούν οι ενώσεις που περιέχονται στον ιδρώτα (παράγραφος 13.8). Όπως απεικονίζεται στο DP βολταμμογράφημα σε τον τεχνητό ιδρώτα (**σχήμα 101**), ένα δυναμικό  $+0,30 \text{ V}$  ήταν επαρκώς θετικό για να εξασφαλίσει την οξείδωση της γλυκόζης, καθώς ήταν θετικότερο από το δυναμικό της πιο θετικής κορυφής της οξείδωσης της γλυκόζης (κορυφή II). Ενώ παράλληλα παρέμενε ακέραιο το υμενίου χρυσού, καθώς ήταν λιγότερο θετικό από την έναρξη της οξείδωσης του χρυσού (κορυφής III).

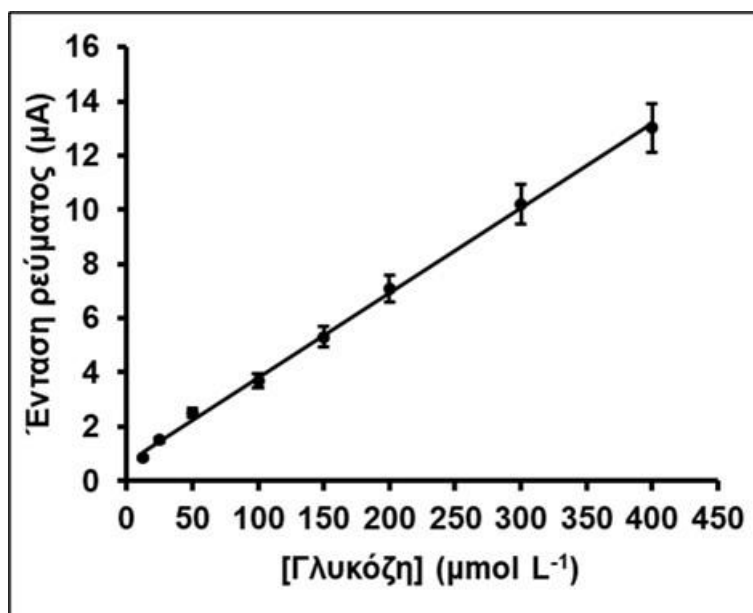
### 13.6 Καμπύλη αναφοράς

Το **σχήμα 103** δείχνει τη χρονοαμπερομετρική απόκριση του αισθητήρα για τον προσδιορισμό διαφορετικών συγκεντρώσεων γλυκόζης στον τεχνητό ιδρώτα και στο **σχήμα 104** παρουσιάζεται η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς (σε χρονικό διάστημα 30-35 s).





**Σχήμα 103:** Χρονοαμπερομετρική απόκριση αυξανόμενων συγκεντρώσεων γλυκόζης από 0 έως 400  $\mu\text{mol L}^{-1}$  σε τεχνητό ιδρώτα. Εσωκλείεται: μεγέθυνση των αντίστοιχων αποκρίσεων για χρονικό διάστημα 30-35 s.



**Σχήμα 104:** Η αντίστοιχη καμπύλη αναφοράς. Τα σημεία στο γράφημα έχουν προκύψει από τη μέση τιμή  $\pm$  SD ( $n=3$ ).

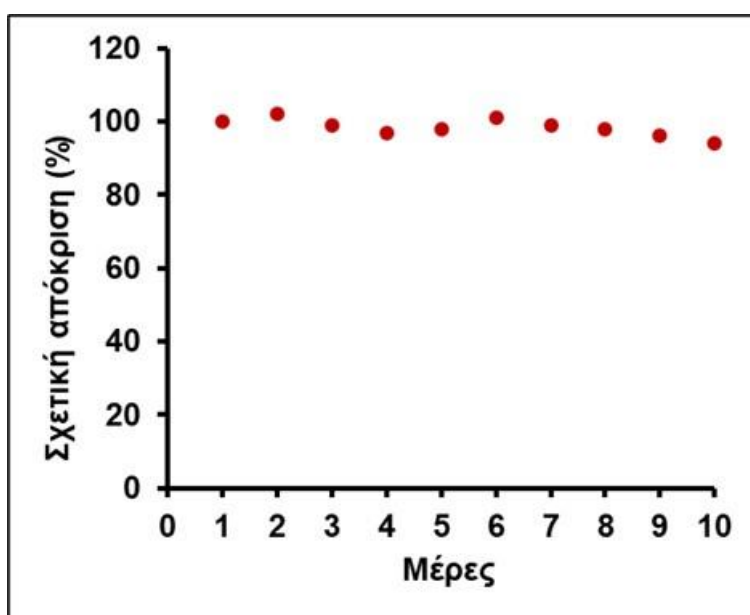
Η καμπύλη αναφοράς ήταν γραμμική με  $R^2 = 0,998$  στην περιοχή 12,5–400  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , η οποία περιλαμβάνει τα φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης που υπάρχουν στον ανθρώπινο ιδρώτα<sup>(175)</sup>. Το όριο ανίχνευσης (LOD) ήταν 1,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (υπολογίζεται με την εξίσωση  $\text{LOD} = 3s_y/a$ ). Το συγκεκριμένο LOD



είναι χαμηλότερο από αυτό άλλων μη ενζυμικών φορητών βιοαισθητήρων γλυκόζης (που κυμαίνεται από 1,3 έως 38,4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) (176-178).

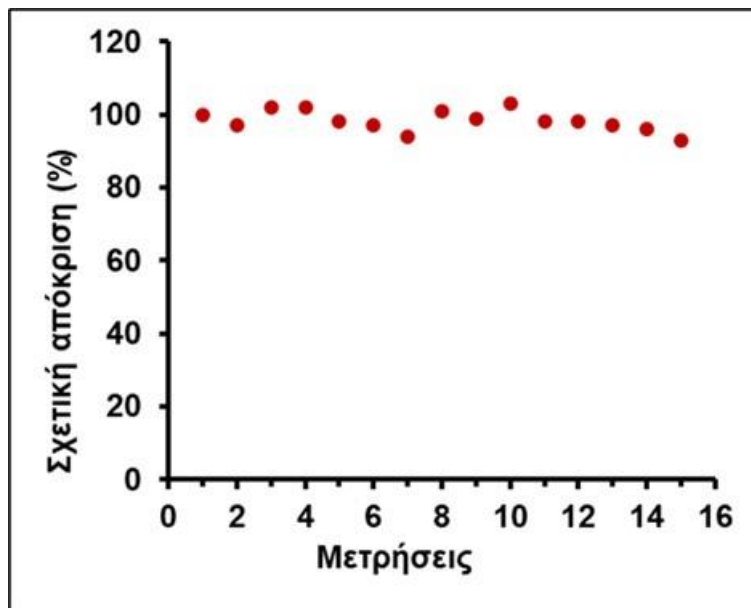
### 13.7 Σταθερότητα αισθητήρα

Η επαναληψιμότητα του αισθητήρα (εκφρασμένη ως % σχετική τυπική απόκλιση έξι επαναλαμβανόμενων μετρήσεων) ήταν 3,4% και η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ αισθητήρα (σε όρους % της σχετικής τυπικής απόκλισης σε τέσσερα διαφορετικούς αισθητήρες) ήταν 6,8%, (και τα δύο σε επίπεδο γλυκόζης 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) επιδεικνύοντας ικανοποιητική ακρίβεια και κατασκευαστική αναπαραγωγιμότητα. Επιπλέον, η σταθερότητα του αισθητήρα αξιολογήθηκε με τη διεξαγωγή διαδοχικών χρονοαμπερομετρικών μετρήσεων 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης (εις τριπλούν) σε τεχνητό ιδρώτα. Συγκεκριμένα μελετήθηκε η σταθερότητα του σε περίοδο 10 ημερών. Σε αυτή την περίπτωση, κάθε μέρα, μετά την ολοκλήρωση των τριών επαναληπτικών μετρήσεων, ο αισθητήρας εκπλύθηκε με δισαππεσταγμένο νερό και αποθηκεύεται σε συνθήκες δωματίου (**σχήμα 105**).



**Σχήμα 105:** Η σταθερότητα του αισθητήρα. Η % σχετική χρονοαμπερομετρική απόκριση 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα για περίοδο 10 ημερών

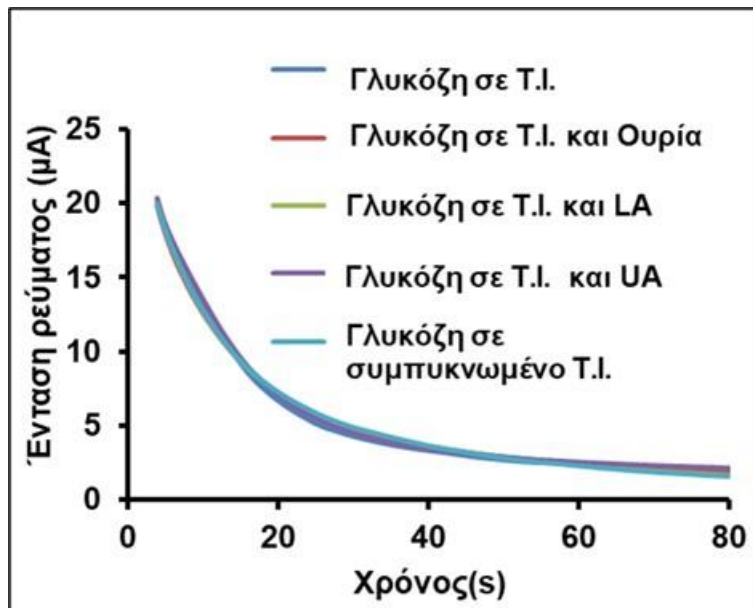
Επίσης μελετήθηκε η σταθερότητα του κατά τη διάρκεια δεκαπέντε διαδοχικών μετρήσεων (**σχήμα 106**) η σχετική απόκριση του τρισδιάστατου αισθητήρα παρέμεινε στατιστικά σταθερή.



**Σχήμα 106:** Η σταθερότητα του αισθητήρα. Η % σχετική χρονοαμπερομετρική απόκριση 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα δεκαπέντε διαδοχικών μετρήσεων.

### 13.8 Παρεμποδίσεις

Στα +0,30 V, οι ηλεκτροενεργοί κοινοί μεταβολίτες (ουρία, ουρικό οξύ, γαλακτικό οξύ) που συνυπάρχουν με τη γλυκόζη στον ιδρώτα δεν παρεμπόδιζαν τον προσδιορισμό της γλυκόζης. Αυτό επαληθεύτηκε με την προσθήκη δεκαπλάσιας συγκέντρωσης από κάθε ένωση χωριστά αλλά και όλων μαζί (δηλ. 220  $\text{mmol L}^{-1}$  ουρίας, 250  $\mu\text{mol L}^{-1}$  ουρικού οξέος, 55  $\text{mmol L}^{-1}$  γαλακτικού οξέος) σε τεχνητό ιδρώτα που περιέχει 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης. Οι προαναφερθέντες ηλεκτροενεργοί μεταβολίτες δεν προκάλεσαν σημαντική παρεμπόδιση ( $<\pm 15\%$ ) στη χρονοαμπερομετρική απόκριση της γλυκόζης (σχήμα 107).



**Σχήμα 107:** Χρονοαμπερομετρική απόκριση  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  γλυκόζης σε τεχνητό ιδρώτα και με την προσθήκη  $200 \text{mmol L}^{-1}$  ουρίας,  $250 \mu\text{mol L}^{-1}$  ουρικό οξύ και  $55 \mu\text{mol L}^{-1}$  γαλακτικό οξύ, τα οποία προστέθηκαν χωριστά αλλά και όλα μαζί. (Τ.Ι.: τεχνητός ιδρώτας, UA: ουρικό οξύ, LA: γαλακτικό οξύ).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14

### Συμπεράσματα

Η παρούσα διδακτορική διατριβή επικεντρώθηκε στην ανάπτυξη χαμηλού κόστους ηλεκτροχημικών διατάξεων, εξ ολοκλήρου κατασκευασμένων μέσω τρισδιάστατης εκτύπωσης, από εκτυπωτή δύο κεφαλών, οι οποίες αποτελούνταν από μικροκυψελίδα ή στήριγμα (εκτυπωμένο από μη αγώγιμο νήμα) και τρία ηλεκτρόδια (εκτυπωμένα από αγώγιμο νήμα). Οι ηλεκτροχημικές μέθοδοι προσδιορισμού που αναπτύχθηκαν παρουσίασαν υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα, μειωμένους χρόνους ανάλυσης και αποτελούν βέλτιστη λύση για αναλύσεις στο πεδίο ανάγκης.

Αρχικά, αναπτύχθηκε ηλεκτροχημικός αισθητήρας, αποτελούμενος από τρία ηλεκτρόδια, ο οποίος χρησιμοποιήθηκε για τον βολταμετρικό προσδιορισμό οργανικής ένωσης και μετάλλου (καφεΐνης και υδραργύρου, αντίστοιχα). Τα ηλεκτρόδια εργασίας δεν είχαν υποστεί μορφοποίηση ή ενεργοποίηση. Ο ίδιος αισθητήρας μορφοποιήθηκε με Οξειδάση της γλυκόζης και χρησιμοποιήθηκε για τον αμπερομετρικό προσδιορισμό γλυκόζης.

Στη συνέχεια, σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε διάταξη για τον βολταμετρικό προσδιορισμό της κουετιαπίνης και της κολχικίνης σε φαρμακευτικά δισκία, καθώς επίσης και σε ανθρώπινα ούρα και τεχνητό πλάσμα αίματος, αντίστοιχα. Προκειμένου να επιτευχθεί μεγαλύτερη ευαισθησία για τον προσδιορισμό της κουετιαπίνης, εφαρμόστηκε στάδιο ηλεκτροχημικής ενεργοποίησης του ηλεκτροδίου εργασίας. Ο προσδιορισμός της κολχικίνης έγινε με τη χρήση μη ενεργοποιημένου ηλεκτροδίου.

Επίσης, κατασκευάστηκε κυψελίδα με τρία ενσωματωμένα ηλεκτρόδια σε ένα βήμα. Η συγκεκριμένη διάταξη εφαρμόστηκε στον ταυτόχρονο προσδιορισμό παρακεταμόλης και καφεΐνης. Παρόμοια διάταξη με ηλεκτρόδιο εργασίας που ήταν μορφοποιημένο με ηλεκτροαποτιθέμενο υμένιο χρυσού χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό υδραργύρου σε δείγμα εμφιαλωμένου νερού και μουρουνέλαιο.

Ακόμη, μέσω τρισδιάστατου εκτυπωτή κατασκευάστηκαν φρεάτια μικροτιτλοδότησης (e-wells) με ενσωματωμένα ηλεκτρόδια για την ανάπτυξη

βιοδοκιμών. Οι αισθητήρες μορφοποιήθηκαν με ειδικό αντίσωμα και χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση της CRP. Η ανοσοδοκιμασία τύπου σάντουιτς που αναπτύχθηκε χρησιμοποίησε κβαντικές κουκίδες καδμίου ως ιχνηθέτες. Για τον SWASV προσδιορισμό των ιόντων Cd(II) που απελευθερώνονταν μετά την όξινη διαλυτοποίηση των κβαντικών κουκίδων το ηλεκτροδίων εργασίας ήταν μορφοποιημένο με υμένιο βισμούθιου. Τα τρισδιάστατα εκτυπωμένα ηλεκτροχημικά φρεάτια μικροπιλοδότησης χρησιμοποιήθηκαν και για τον αμπερομετρικό προσδιορισμό του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, που αποτελεί παραπροϊόν αρκετών ενζυμικών αντιδράσεων. Σε αντίθεση με τις κοινές ηλεκτροχημικές βιοδοκιμές, οι συγκεκριμένοι αισθητήρες υπερέχουν καθώς αποφεύγεται η μεταφορά του δείγματος από μικρά φρεάτια σε ξεχωριστές ηλεκτροχημικές κυψέλες, επομένως, η ροή εργασιών απλοποιείται και η αραίωση του δείγματος εξαλείφεται.

Επίσης, στην παρούσα διατριβή αναπτύχθηκε και περιεγράφηκε φορετός αισθητήρας σε σχήμα δακτυλιδιού για την μη ενζυμική ανίχνευση γλυκόζης στον ιδρώτα. Ο αισθητήρας διαθέτει αγωγίμα ηλεκτρόδια ενσωματωμένα σε θήκη σχήματος δακτυλίου, το ηλεκτρόδιο εργασίας μορφοποιήθηκε επίσης ηλεκτροχημικά με υμένιο χρυσού. Ο καταλυτικός προσδιορισμός γλυκόζης σε ηλεκτρόδια χρυσού, σε αντίθεση με τον ενζυμικό, εμφανίζει καλύτερη σταθερότητα καθώς η απόδοση των ενζυμικών αισθητήρων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η ιοντική ισχύ και το pH.

Καταληκτικά, οι αισθητήρες που κατασκευάστηκαν αξιοποιούν τα πλεονεκτήματα της τεχνολογίας της τρισδιάστατης εκτύπωσης. Η διαδικασία σχεδιασμού τους είναι απλή. Η κατασκευή τους είναι φιλική προς το περιβάλλον, καθώς δεν παράγονται απόβλητα. Ο χρόνος και το κόστος κατασκευής τους είναι μειωμένο, συγκριτικά με άλλες τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή αισθητήρων. Επίσης οι ηλεκτροχημικές μέθοδοι που αναπτύχθηκαν ήταν απλές, με μικρούς χρόνους ανάλυσης και μεγάλη ευαισθησία.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
Acrylonitrile butadiene styrene, abs	Συμπολυμερές ακρυλονιτρίλιου βουταδιένιου στυρόλιου
Additive manufacturing	Προσθετική κατασκευή
Adsorptive Stripping Voltammetry, ADSV	Προσροφητική αναδιαλυτική βολταμμετρία
Anodic stripping voltammetry, ASV	Ανοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία
Binder jetting	Ψεκασμός συνδετικού υλικού
Bulk solution	Φέρον ηλεκτρολύτης
Carbon nanotubes	Νανοσωλήνες άνθρακα
Cathodic stripping voltammetry, CSV	Καθοδική αναδιαλυτική βολταμμετρία
Charge-transfer overpotential	Υπερδυναμικό μεταφοράς φορτίου
Computer - aided design, CAD	Λογισμικό σχεδίασης
Counter electrode	Βοηθητικό ηλεκτρόδιο
Cyclic voltammetry, CV	Κυκλική βολταμμετρία
Depletion layer	Κορεσμένη στοιβάδα
Deposition potential	Δυναμικό απόθεσης
Deposition time	Χρόνος προσυγκέντρωσης
Differential pulse voltammetry, DPV	Διαφορική παλμική βολταμμετρία
Direct ink writing, DIW	Άμεση γραφή με μελάνι
Faradaic preconcentration	Προσυγκέντρωση με ηλεκτρόλυση
Filament	Νήμα
Fused Deposition Modeling, FDM	Μοντελοποίηση συντυγμένης εναπόθεσης
Glycol Modified version of Polyethylene Terephthalate	Συμπολυμερές πολύ (τερεφθαλικού εστέρα αιθανογλυκόλης)
Laminated object manufacturing, LOM	Συγκόλληση επαλλήλων φύλλων
Linear sweep voltammetry, LSV	Βολταμμετρία γραμμικής σάρωσης
Mass-transfer overpotential	Υπερδυναμικό μεταφοράς μάζας
Microfluidic systems	Συστήματα μικρορευστονικής
Model material	Κύριο υλικό
Nernst layer	Στοιβάδα Nernst

Non-faradaic preconcentration	Προσυγκέντρωση με προσρόφηση
Normal hydrogen electrode, NHE	Πρότυπο ή κανονικό ηλεκτρόδιο υδρογόνου
Polyamide, PA	Πολυαμίδια
Polycarbonates, PC	Πολυκαρβονικά
Polylactic acid, PLA	Πολυλακτικό οξύ
Preconcentration step	Στάδιο προσυγκέντρωσης
Reference electrode, RE	Ηλεκτρόδιο αναφοράς
Rise time	Χρόνος αύξησης
Saturated calomel electrode, SCE	Κορεσμένο ηλεκτρόδιο καλομέλινα
Selective laser melting, SLM	Επιλεκτική σύντηξη λέιζερ
Selective laser sintering, SLS	Επιλεκτική συσσωμάτωση λέιζερ
SLA	Στερεολιθογραφία
Spectrochemical cell	Φασματοηλεκτροχημικές κυψελίδες
Square wave voltammetry, SWV	Βολταμμετρία τετραγωνικού παλμού
Stripping step	Στάδιο αναδιάλυσης
Stripping techniques	Αναδιαλυτικές τεχνικές
Support material	Υποστηρικτικό υλικό
Working electrode, WE	Ηλεκτρόδιο εργασίας
Electron Beam Melting, EBM	Τήξη με βομβαρδισμό ηλεκτρονίων

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

### Ακρωνύμια και ανάπτυξη τους

ASV	Anodic Stripping Voltammetry
AuNPs	Gold Nanoparticles
CE	Carbon Electrode
CNT	Carbon Nanotubes
DP	Differential Pulse
DPASV	Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry
ETAAS	Electro Thermal Atomic Absorption
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantitation
SPCE	Screen Printed Carbon Electrode
SPGE	Screen Printed Gold Electrode
WHO	World Health Organization
EPA	European Environment Agency
TPU	Thermoplastic polyurethane
ABS	Acrylonitrile Butadiene Styrene
PLA	Polylactic Acid
GCP	Good Clinical Practice
FDM	Fused Deposition Modeling
SCE	Saturated Calomel Electrode
NHE	Normal Hydrogen Electrode
CV	Cyclic Voltammetry
LSV	Linear Sweep Voltammetry
UWED	Universal Wireless Electrochemical Detector
DPV	Differential Pulse Voltammetry
SWV	Square Wave Voltammetry
WE	Working Electrode
R	Reference Electrode
CSV	Cathodic Stripping Voltammetry
AdSV	Adsorptive Stripping Voltammetry,



CAD	Computer - Aided Design
STL	Standard Triangle Language
PC	Polycarbonates, PC
PA	Polyamide, PA
DIW	Direct Ink Writing
SLS	Selective Laser Sintering
SLM	Selective Laser Melting
EBM	Electron Beam Melting
LOM	Laminated Object Manufacturing,
PVA	Polivinil Alcohol
PETG	Glycol Modified version of Polyethylene Terephthalate
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
ASP	Aspirin
PAR	Paracetamol
AA	Ascorbic Acid
SPEs	Screen Printed Electrodes
QF	Quetiapine Fumarate
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
GOx	Glucose Oxidase Enzyme
CRP	C-Reactive Protein
QDs	Quantum Dots
CPE	Carbon Paste Electrode

## Δημοσιεύσεις στα πλαίσια της παρούσας διατριβής

1. Katerina Ragazou, Rallis Lougkovois, **Vassiliki Katseli**, Christos Kokkinos, “Fully Integrated 3D-Printed Electronic Device for the On-Field Determination of Antipsychotic Drug Quetiapine”, *Sensors* 21 (14), 4753, 2021, <https://doi.org/10.3390/s21144753>.
2. **Vassiliki Katseli**, Michailia Angelopoulou, Christos Kokkinos “3D Printed Bioelectronic Microwells”, *Advanced Functional Materials*, 31, 2102459, 2021, <https://doi.org/10.1002/adfm.202102459>.
3. **Vassiliki Katseli**, Anastasios Economou, Christos Kokkinos “Smartphone-Addressable 3D-Printed Electrochemical Ring for Nonenzymatic Self-Monitoring of Glucose in Human Sweat” *Anal. Chem.*, 93 (7), 3331, 2021, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c05057>.
4. **Vassiliki Katseli**, Anastasios Economou, Christos Kokkinos, “A novel all-3D-printed cell-on-a-chip device as a useful electroanalytical tool: Application to the simultaneous voltammetric determination of caffeine and paracetamol”, *Talanta*, 208, 120388, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120388>.
5. **Vassiliki Katseli**, Nicolaos Thomaidis, Anastasios Economou, Christos Kokkinos, “Miniature 3D-printed integrated electrochemical cell for trace voltammetric Hg (II) determination”, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 308, 127715, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127715>.
6. **Vassiliki Katseli**, Anastasios Economou, Christos Kokkinos, “Single-step fabrication of an integrated 3D-printed device for electrochemical sensing applications”, *Electrochemistry Communications*, 103, 100, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.05.008>.

## Ανακοινώσεις σε διεθνή επιστημονικά συνέδρια

1. **Vassiliki Katseli**, Michailia Angelopoulou, Christos Kokkinos, “3D-Printed Electrochemical Microwells for Quantum Dot-based Bioassays”, XXVI International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, May 9-13, Cluj-Napoca, Romania, 2021.

## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. P. Monk, "Fundamentals of Electroanalytical Chemistry", John Wiley & Sons Ltd, 2001.
2. A. J. Bard, L. R. Faulkner, "Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications", 2nd edition, John Wiley & Sons, 2001.
3. W. Gibbs, "Beitrage zur Chemie aus dem Laboratorium der Lawrence Scientific School", Z. Anal. Chem., 1864, 3, 327-336;
4. W. Gibbs, "Beitrage zur Chemie aus dem Laboratorium der Lawrence Scientific School", 2nd Series, Amer. J. Set. Arts, 1865, 89, 58-65.
5. M. Faraday, "Faraday." A History of Chemistry. Palgrave, London, 1964. 99-141.
6. M. Heyrovsky', L. Novotny, I. "Smoler, in Electrochemistry, Past and Present (Eds. J. T. Stock, M. V. Orna)", ACS Symposium Series, No. 390, American Chemical Society, Washington 1989, 370 – 379.
7. J. E.B. Randles, "A cathode ray polarograph. Part II – The current-voltage curves", Trans. Faraday Soc., 44, 327, 1948.
8. M. Cremer, "Über die Ursache der electromotorischen Eigenschaften der Gewebe, zugleich ein Beitrag zur Lehre von den polyphasischen elektrolytketten", Z. Biol., 47, 562-608, 1906.
9. F. Haber, Z. Klemensiewicz, "Über elektrische Phasengrenzkräfte", Z. Phys. Chem., 67, 385, 1909.
10. L. Gorton, "Carbon paste electrodes modified with enzymes, tissues and cells", Electroanalysis, 7 (1), 23, 1995.
11. Karl-Heinz Lubert, Kurt Kalcher, "History of Electroanalytical Methods", Electroanalysis, 22, (17-18), 1937 - 1946, 2010.
12. Κ. Η. Ευσταθίου, Θ. Π. Χατζηγιάννου, "Ενόργανες Τεχνικές Αναλύσεως", Τόμος Α, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 1998.
13. Μ. Προδρομίδης, Ηλεκτροχημικοί Αισθητήρες & Βιοαισθητήρες, Εκδόσεις Κωσταράκη, 2012.
14. D.A. Skoog, D. F. J. Holler, T. A. Nieman, "Αρχές της Ενόργανης Ανάλυσης", Εκδόσεις Κωσταράκη, 2002.
15. <https://www.als-japan.com/1824.html>

16. <https://www.metrohmautolab.com/Products/Echem/CompactNonModular/PGSTAT101.html>
17. A. Ainla, M. P. S. Mousavi, M. N. Tsaloglou, J. Redston, J. G. Bell, T. Fernandez-Abedul, G. M. Whiteside, "Open-Source Potentiostat for Wireless Electrochemical Detection with Smartphones", *Anal. Chem.*, 90 (10), 6240 - 6246, 2018.
18. D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Voros, E. Reimhult, "Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures", *Sensors*, 8 (3), 1400 - 1458, 2008.
19. A. Ambrosi, M. Pumera, "3D-printing technologies for electrochemical applications", *Chem. Soc. Rev.*, 45, 2740 - 2755, 2016.
20. R. M. Cardoso, C. Kalinke, R. G. Rocha, P. L. dos Santos, D. P. Rocha, P. R. Oliveira, B. C. Janegitz, J. A. Bonacin, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, "Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review", *Anal. Chim. Acta*, 1118, 73 - 91, 2020.
21. S. S. Crump, "Apparatus and method for creating three-dimensional objects", US Patent, 5121329 A, 1992.
22. Ι. Γιαννατσής, Β. Δεδούσης, Β. Κανελλίδης, "Σύγχρονες Τεχνολογίες Κατασκευής με τη βοήθεια Η/Υ, κεφ. 3: Τεχνολογίες προσθετικής κατασκευής και τρισδιάστατης εκτύπωσης", Εκδόσεις Κάλλιππος, 2015.
23. L.E. Murr, S. M. Gaytan, D. A. Ramirez, E. Martinez, J. Hernandez, K. N. Amato, P. W. Shindo, F. R. Medina, R. B. Wicker, "Metal fabrication by additive manufacturing using laser and electron beam melting technologies", *J. Mater. Sci. Technol.*, 28 (1), 1 - 14, 2012.
24. L. E. Murr, E. Martinez, K. N. Amato, S. M. Gaytan, J. Hernandez, D. A. Ramirez, P. W. Shindo, F. R. Medina, R. B. Wicker, "Fabrication of metal and alloy components by additive manufacturing: Examples of 3D materials science", *J. Mater. Sci. Technol.*, 1 (1), 42 - 54, 2012.
25. M. Feygin, A. Shkolnik, M. N. Diamond, E. Dvorskiy, "Laminated object manufacturing system", US Patent, 5730817 A, 1998.

26. S. Dul, L. Fambri, A. Pegoretti, Fused deposition modelling with ABS-graphene nanocomposites”, *Compos. Part A: Appl. Sci. Manuf.*, 85, 181 - 191, 2016.
27. X. Wang, M. Jiang, Z. Zhou, J. Gou, D. Hui, “3D printing of polymer matrix composites: A review and prospective”, *Compos. Part B: Eng.*, 110, 442 - 458, 2017.
28. T. D. Ngo, A. Kashani, G. Imbalzano, K. T. Q. Nguyen, D. Hui, “Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges”, *Compos. Part B: Eng.*, 143, 172 - 196, 2018.
29. H. H. Hamzah, S. A. Shafiee, A. Abdalla, B. A. Patel, “3D printable conductive materials for the fabrication of electrochemical sensors: A mini review”, *Electrochem. Commun.*, 96, 27 - 31, 2018.
30. J. J. Tully, G. N. Meloni, “A scientist's guide to buying a 3D printer: How to choose the right printer for your laboratory”, *Anal. Chem.*, 92 (22), 14853 - 14860, 2020.
31. A. L. Silva, G. Maia, S. V. F. Castro, N. M. F. Carvalho, R. A. A. Munoz, “A 3D printed guide for the development and application of electrochemical cells and devices”, *Front. Chem.*, 9, 684256, 2021.
32. A. Rodríguez - Panes, J. Claver, A. M. Camacho, “The influence of manufacturing parameters on the mechanical behavior of PLA and ABS pieces manufactured by FDM: A comparative analysis”, *Materials*, 11 (8), 1333, 2018.
33. A. K. Ravi, A. Deshpande, K. H. Hsu, “An in-process laser localized pre-deposition heating approach to inter-layer bond strengthening in extrusion-based polymer additive manufacturing”, *J. Manuf. Process*, 24, 179 - 185, 2016.
34. H. Polli, L.A.M. Pontes, A.S. Araujo, J.M.F. Barros, V.J. Fernandes, “Degradation behavior and kinetic study of ABS polymer”, *J. Therm. Anal. Calorim.* 95, 131-134, 2009.
35. J. A. Brydson, “Plastics based on styrene, in: E. Brydson (Ed.), *Plastic Materials*”, 7th edition, Butterworth-Heinemann, Oxford, 1999.

36. D.L. Milenius, "ABS extrusion compositions", US Patent, 4150009A, 1979.
37. H.H. Bin Hamzah, O. Keattch, D. Covill, B. A. Patel, "The effects of printing orientation on the electrochemical behaviour of 3D printed acrylonitrile butadiene styrene (ABS)/carbon black electrodes", *Sci. Rep.*, 8, 1 - 8, 2018.
38. V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, "A novel all-3D-printed cell-on-a-chip device as a useful electroanalytical tool: Application to the simultaneous voltammetric determination of caffeine and paracetamol", *Talanta*, 208, 120388, 2020.
39. V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, "Single-step fabrication of an integrated 3D-printed device for electrochemical sensing applications", *Electrochem. Commun.*, 103, 100 - 103, 2019.
40. J.-B. Donnet, R.C. Bansal, M.-J. Wang, N. Probst, Conducting carbon black, in: *Carbon Black*, Routledge, 271-288, 2018.
41. V. Katic, P. L. Dos Santos, M. F. Dos Santos, B. M. Pires, H.C. Loureiro, A. P. Lima, J. C. M. Queiroz, R. Landers, R. A.A. Muñoz, J. A. Bonacin, "3D Printed Graphene Electrodes Modified with Prussian Blue: Emerging Electrochemical Sensing Platform for Peroxide Detection", *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 11 (38), 35068 - 35078, 2019.
42. R. G. Rocha, J. S. Stefano, R. M. Cardoso, P. J. Zambiasi, J. A. Bonacin, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, "Electrochemical synthesis of Prussian blue from iron impurities in 3D-printed graphene electrodes: Amperometric sensing platform for hydrogen peroxide", *Talanta*, 219, 121289, 2020.
43. A. F. João, S. V. F. Castro, R. M. Cardoso, R. R. Gamela, D. P. Rocha, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, "3D printing pen using conductive filaments to fabricate affordable electrochemical sensors for trace metal monitoring", *J. Electroanal. Chem.*, 876, 114701, 2020.
44. A. F. João, A. L. Squissato, E. M. Richter, R. A. A. Muñoz, "Additive-manufactured sensors for biofuel analysis: copper determination in bioethanol using a 3D-printed carbon black/polylactic electrode", *Anal. Bioanal. Chem.*, 412 (12), 2755 - 2762, 2020.

45. D. P. Rocha, C. Foster, E. Keefe, R. A. A. Munoz, G. Buller, C. E. Banks, "Trace manganese detection via differential pulse cathodic stripping voltammetry using disposable electrodes: additively manufactured nanographite electrochemical sensing platforms", *Analyst*, 145, 3424, 2020.
46. E. M. Richter, D. P. Rocha, R. M. Cardoso, E. M. Keefe, C. W. Foster, R. A. A. Munoz, C. E. Banks, "Complete additively manufactured (3D-printed) electrochemical sensing platform", *Anal. Chem.*, 91 (20), 12844 - 12851, 2019.
47. V. Katseli, A. Economou, C. Kokkinos, "Smartphone-addressable 3D-printed electrochemical ring for nonenzymatic self-monitoring of glucose in human sweat", *Anal. Chem.*, 93 (7), 3331 - 3336, 2021.
48. V. A. O. P. Silva, W. S. Fernandes-Junior, D. P. Rocha, J. S. Stefano, R. A. A. Munoz, J. A. Bonacin, B. C. Janegitz, "3D-printed reduced graphene oxide/polylactic acid electrodes: A new prototyped platform for sensing and biosensing applications", *Biosens. Bioelectron.*, 170, 112684, 2020.
49. D. P. Rocha, A. L. Squissato, S. M. da Silva, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, "Improved electrochemical detection of metals in biological samples using 3D-printed electrode: Chemical/electrochemical treatment exposes carbon-black conductive sites", *Electrochim. Acta*, 335, 135688, 2020.
50. R. M. Cardoso, P. R. L. Silva, A. P. Lima, D. P. Rocha, T. C. Oliveira, T. M. do Prado, E. L. Fava, O. Fatibello-Filho, E. M. Richter, R. A. A. Muñoz, "3D-Printed graphene/polylactic acid electrode for bioanalysis: Biosensing of glucose and simultaneous determination of uric acid and nitrite in biological fluids", *Sensors Actuat. B-Chem.*, 307, 127621, 2020.
51. R. M. Cardoso, S. V. F. Castro, M. N. T. Silva, A. P. Lima, M. H. P. Santana, E. Nossol, R. A. B. Silva, E. M. Richter, T. R. L. C. Paixão, R. A. A. Muñoz, "3D-printed flexible device combining sampling and detection of explosives", *Sensors Actuat. B-Chem.*, 292, 308 - 313, 2019.

52. S. V. F. Castro, A. P. Lima, R. G. Rocha, R. M. Cardoso, R. H. O. Montes, M. H. P. Santana, E. M. Richter, R. A. A. Muñoz, "Simultaneous determination of lead and antimony in gunshot residue using a 3D-printed platform working as sampler and sensor", *Anal. Chim. Acta*, 1130, 126 - 136, 2020.
53. R. M. Cardoso, D. P. Rocha, R. G. Rocha, J. S. Stefano, R. A. B. Silva, E. M. Richter, R. A. A. Muñoz, "3D-printing pen versus desktop 3D-printers: Fabrication of carbon black/poly(lactic acid) electrodes for single-drop detection of 2,4,6-trinitrotoluene", *Anal. Chim. Acta*, 1132, 10 - 19, 2020.
54. R. M. Cardoso, D. M. H. Mendonça, W. P. Silva, M. N. T. Silva, E. Nossol, R. A. B. da Silva, E. M. Richter, R. A. A. Muñoz, "3D printing for electroanalysis: From multiuse electrochemical cells to sensors", *Anal. Chim. Acta*, 1033, 49 - 57, 2018.
55. J. Junpha, A. Wisitsoraat, R. Prathumwan, W. Chaengsawang, K. Khomungkhun, K. Subannajui, "Electronic tongue and cyclic voltammetric sensors based on carbon nanotube/poly(lactic acid) composites fabricated by fused deposition modelling 3D printing", *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, 117, 111319, 2020.
56. V. Katseli, N. Thomaidis, A. Economou, C. Kokkinos, "Miniature 3D-printed integrated electrochemical cell for trace voltammetric Hg (II) determination", *Sensors Actuat. B-Chem.*, 308, 127715, 2020.
57. J. G. Walters, S. Ahmed, I. M. Terrero Rodríguez, G. D. O'Neil, "Trace analysis of heavy metals (Cd, Pb, Hg) using native and modified 3D printed graphene/poly (Lactic Acid) Composite Electrodes", *Electroanalysis*, 32 (4), 859 - 866, 2020.
58. Z. Rymansaib, P. Irvani, E. Emslie, M. Medvidović-Kosanović, M. Sak-Bosnar, R. Verdejo, F. Marken, "All-polystyrene 3D-printed electrochemical device with embedded carbon nanofiber-graphite-polystyrene composite conductor", *Electroanalysis*, 28 (7), 1517-1523, 2016.
59. F. Novotný, V. Urbanová, J. Plutnar, M. Pumera, "Preserving fine structure details and dramatically enhancing electron transfer rates in



- graphene 3d-printed electrodes via thermal annealing: toward nitroaromatic explosives sensing”, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 11 (38), 35371 - 35375, 2019.
60. M. J. Glowacki, M. Cieslik, M. Sawczak, A. Koterwa, I. Kaczmarzyk, R. Jendrzewski, L. Szykiewicz, T. Ossowski, R. Bogdanowicz, P. Niedzialkowski, “Helium-assisted, solvent-free electro-activation of 3D printed conductive carbon-poly lactide electrodes”, *Appl. Surf. Sci.*, 556, 149788, 2021.
  61. K. P. A. Kumar, K. Ghosh, O. Alduhaish, M. Pumera, “Metal-plated 3D-printed electrode for electrochemical detection of carbohydrates”, *Electrochemical Commun.*, 120, 106827, 2020.
  62. C. L. Manzanares Palenzuela, F. Novotný, P. Krupička, Z. Sofer, M. Pumera, “3D-printed graphene/poly lactic acid electrodes promise high sensitivity in electroanalysis”, *Anal. Chem.*, 90 (9), 5753 - 5757, 2018.
  63. P. L. dos Santos, V. Katic, H. C. Loureiro, M. F. dos Santos, D. P. dos Santos, A. L. B. Formiga, J. A. Bonacin, “Enhanced performance of 3D printed graphene electrodes after electrochemical pre-treatment: Role of exposed graphene sheets”, *Sensors Actuat. B-Chem.*, 281, 837 - 848, 2019.
  64. F. M. de Oliveira, E. I. de Melo, R. A. B. da Silva, “3D Pen: A low-cost and portable tool for manufacture of 3D-printed sensors”, *Sensors Actuat. B-Chem.*, 321, 128528, 2020.
  65. R. G. Rocha, R. M. Cardoso, P. J. Zambiasi, S. V. F. Castro, T. V.B. Ferraz, G. de O. Aparecido, J. A. Bonacin, R. A. A. Munoz, E. M. Richter, “Production of 3D-printed disposable electrochemical sensors for glucose detection using a conductive filament modified with nickel microparticles”, *Anal. Chim. Acta*, 1132, 1 - 9, 2020.
  66. R. G. Rocha, J. R. Santos, M. H. Santana, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, “3D-printing for forensic chemistry: voltammetric determination of cocaine on additively manufactured graphene–poly lactic acid electrodes”, *Anal. Methods*, 13 (15), 1788 - 1794, 2021.

67. C. Kalinke, N. V. Neumsteir, P. Roberto de Oliveira, B. C. Janegitz, J. A. Bonacin, "Sensing of L-methionine in biological samples through fully 3D-printed electrodes", *Anal. Chim. Acta*, 1142, 135 - 142, 2020.
68. M. Zafir Mohamad Nasir, F. Novotný, O. Alduhaish, M. Pumera, "3D-printed electrodes for the detection of mycotoxins in food", *Electrochem. Commun.*, 115, 106735, 2020.
69. A. F. João, R. G. Rocha, T. A. Matias, E. M. Richter, J. Flávio S. Petrucci, R. A. A. Muñoz, "3D-printing in forensic electrochemistry: Atropine determination in beverages using an additively manufactured graphene-poly(lactic acid) electrode", *Microchem. J.*, 167, 106324, 2021.
70. A. Abdalla, F. Perez, A. T. Cañadas, S. Ray, B. A. Patel, "How normalisation factors influence the interpretations of 3D-printed sensors for electroanalysis", *J. Electroanal. Chem.*, 881, 114937, 2021.
71. J. Muñoz, E. Redondo, M. Pumera, "Chiral 3D-printed Bioelectrodes", *Adv. Funct. Mater.*, 1, 2010608, 2021
72. A. Fontana-Escartin, A. Puiggali-Jou, S. Lanza-laco, O. Bertran, C. Alemán, "Manufactured Flexible Electrodes for Dopamine Detection: Integration of Conducting Polymer in 3D-Printed Poly(lactic acid)", *Adv. Eng. Mater.*, 23, 6, 2100002, 2021.
73. A. M. López Marzo, C. C. Mayorga-Martinez, M. Pumera, "3D-printed graphene direct electron transfer enzyme biosensors", *Biosens. Bioelectron.*, 151, 111980, 2020.
74. G. Martins, J. L. Gogola, L. H. Badin, B. C. Janegitz, L. H. Marcolino-Junior, M. F. Bergamini, "3D-printed electrode as a new platform for electrochemical immunosensors for virus detection", *Anal. Chim. Acta*, 1147, 30-37, 2021.
75. J. Muñoz, M. Pumera, "3D-Printed COVID-19 immunosensors with electronic readout", *Chem. Eng. J.*, 425, 131433, 2021.
76. C.W. Foster, M.P. Down, Y. Zhang, X. Ji, S.J. Rowley-Neale, G.C. Smith, P.J. Kelly, C.E. Banks, "3D Printed Graphene Based Energy Storage Devices" *Sci. Rep.*, 7, 42233, 2017.
77. D. P. Rocha, V. N. Ataíde, A. De Siervo, J. M. Gonçalves, R. A. A. Muñoz, T. R. L. C. Paixão, L. Angnes, "Reagentless and sub-minute

- laser-scribing treatment to produce enhanced disposable electrochemical sensors via additive manufacture” *Chem. Eng. J.*, 425, 130594, 2021.
78. R. Gusmão, M. P. Browne, Z. Sofer, M. Pumera, “The capacitance and electron transfer of 3D-printed graphene electrodes are dramatically influenced by the type of solvent used for pre-treatment”, *Electrochem. Commun.*, 102, 83–88, 2019.
  79. C. L. Manzanares-Palenzuela, S. Hermanova, Z. Sofer, M. Pumera, “Proteinase-sculptured 3D-printed graphene/polylactic acid electrodes as potential biosensing platforms: towards enzymatic modeling of 3D-printed structures”, *Nanoscale*, 11, 12124, 2019.
  80. A. Abdalla, H. H. Hamzah, O. Keattch, D. Covill, B. A. Patel, Augmentation of conductive pathways in carbon black/PLA 3D-printed electrodes achieved through varying printing parameters, *Electrochim. Acta*, 354, 136618, 2020.
  81. C. Kokkinos, A. Economou, Integrated electrochemical immunosensors, in: K. Wandelt (Ed.), “Encyclopedia of Interfacial Chemistry: Surface Science and Electrochemistry”, Elsevier, 7, 261–268, 2018.
  82. A. Economou, C. Kokkinos, M. Prodromidis, “Flexible plastic, paper and textile lab-on-a chip platforms for electrochemical biosensing Lab Chip”, 18, 1812–1830, 2018.
  83. G. Hughes, K. Westmacott, K.C. Honeychurch, A. Crew, R.M. Pemberton, J.P. “Hart, Recent Advances in the Fabrication and Application of Screen-Printed Electrochemical (Bio)Sensors Based on Carbon Materials for Biomedical, Agri-Food and Environmental Analyses”, *Biosensors*, 6(4), 50, 2016.
  84. R.A.S. Couto, J.L.F.C. Lima, M.B. Quinaz, “Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis” *Talanta*, 146, 801–814, 2016.
  85. A. Morrin, “Inkjet printed electrochemical sensors, in: J.G. Korvink, P.J. Smith, D.-Y. Shin (Eds.), *Inkjet-Based Micromanufacturing*”, 1st edition, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 295–310, 2012.

86. N. Komuro, S. Takaki, K. Suzuki, D. Citterio, "Inkjet printed (bio)chemical sensing devices" *Anal. Bioanal. Chem.*, 405, 5785–5805, 2013.
87. C. Kokkinos, A. Economou, I. Raptis, T. Speliotis, *Analytica Chimica Acta*, "Disposable mercury-free cell-on-a-chip devices with integrated microfabricated electrodes for the determination of trace nickel(II) by adsorptive stripping voltammetry " ,622, 111-118, 2008.
88. C. Kokkinos, A. Economou, T. Speliotis, P. Petrou, S. Kakabakos, "Flexible Microfabricated Film Sensors for the in Situ Quantum Dot-Based Voltammetric Detection of DNA Hybridization in Microwells", *Analytical Chemistry*, 87, 853-857, 2015.
89. C. Kokkinos, A. Economou, N. G. Goddard, P. R. Fielden, S. J. Baldock, "Determination of Pb(II) by sequential injection/stripping analysis at all-plastic electrochemical fluidic cells with integrated composite electrodes", *Talanta*, 153, 170-176, 2016.
90. S.M. Cheer, A.J. Wagstaff, "Quetiapine: A Review of Its Use in the Management of Schizophrenia", *CNS Drugs*, 18, 173–199, 2004.
91. Bodoki E., Laschi S., Palchetti I., Sandulescu R., Mascini M., "Electrochemical behavior of colchicine using graphite-based screen-printed electrodes", *Talanta*, 76, 288–294, 2008.
92. Zhang H., "Electrochemistry and voltammetric determination of colchicine using an acetylene black-dihexadecyl hydrogen phosphate composite film modified glassy carbon electrode", *Bioelectrochemistry* 68,197 – 201, 2006.
93. Bodoki E., Sandulescu R., Roman L., "Method validation in quantitative electrochemical analysis of colchicine using glassy carbon electrode", *Central European Journal of Chemistry*, 5, 766–778, 2007.
94. Afzali M., Mostafavi A., Shamspur T., "Sensitive detection of colchicine at a glassy carbon electrode modified with magnetic ionic liquid/CuO nanoparticles/carbon nanofibers in pharmaceutical and plasma samples", *Journal of the Iranian Chemical Society*,17,(2020)1753–1764, 2020.

95. Bishop E., Hussein W., "Anodic voltammetry of colchicine", *Analyst*, 109, 623-625, 1984.
96. Zhang K., Zhou J., Liu J., Li K., Li Y., Yang L., Ye B., "Sensitive determination of colchicine at carbon paste electrode doped with multiwall carbon nanotubes", *Analytical Methods*, 5, 1830-1836, 2013.
97. Stankovic D. M., Svorc L., Mariano J. F. M. L., Ortner A., Kalcher K., "Electrochemical determination of natural drug colchicine in pharmaceuticals and human serum sample and its interaction with DNA", *Electroanalysis*, 29, 2276-2281, 2017.
98. Pang T. T., Zhang X. Y., Xue Y. B., "Supramolecular detoxification of colchicine through electrochemical recognition", *Analytical Letters*, 50, 1743-1753, 2017.
99. Tardif J.C., Bouabdallaoui N., L L'Allier P., Gaudet D., et.al., "Colchicine for community-treated patients with COVID-19 (COLCORONA): a phase 3, randomised, double-blinded, adaptive, placebo-controlled, multicentre trial", *The lancet Respiratory Medicine*, 9, 924-932, 2021.
100. C.J Toro-Huamanchumo, J.K Benites-Meza, C.S. Mamani-García, D. Bustamante-Paytan, A.E. Gracia-Ramos, C. Diaz-Vélez, J.J Barboza, "Efficacy of Colchicine in the Treatment of COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis" *J. Clin. Med.*, 11, 2615, 2022.
101. Q. Chu, L. Jiang, X. Tian, J. Ye, "Rapid determination of acetaminophen and p-aminophenol in pharmaceutical formulations using miniaturized capillary electrophoresis with amperometric detection", *Anal. Chim. Acta*, 606(2), 246-251, 2008.
102. R.N. Goyal, V.K. Gupta, M. Oyama, N. Bachheti, "Differential pulse voltammetric determination of paracetamol at nanogold modified indium tin oxide electrode", *Electrochem. Commun.*, 7(8), 803, 2005.
103. S.C. Antunes, R. Freitas, E. Figueira, F. Goncalves, B. Nunes, "Biochemical effects of acetaminophen in aquatic species: edible clams *Venerupis decussata* and *Venerupis philippinarum*" *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 20, 6658-6666, 2013.

104. M. Petrović, S. Gonzalez, D. Barceló, "Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water", *Trends Anal. Chem.*, 22(10), 685-669, 2003.
105. M.E. Bosch, A.J.R. Sanches, F.S. Rojas, C.B. Ojeda "Determination of paracetamol: Historical evolution" *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 42, 291-321, 2006.
106. N. S. Leal, Y. Yu, Yuwen Chen, G. Fedele, L. M. Martins, "Paracetamol Is Associated with a Lower Risk of COVID-19 Infection and Decreased ACE2 Protein Expression: A Retrospective Analysis", *COVID*, 1(1), 218-229, 2021.
107. H. Montaseri, P.B.C. Forbes, "Analytical techniques for the determination of acetaminophen: A review", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 108, 122-134, 2018.
108. Lubomir Svorc, "Determination of Caffeine: A Comprehensive Review on Electrochemical Methods", *Int. J. Electrochem. Sci.*, 8, 5755-5765, 2013.
109. C.M.L. Carvalho, E. Chew, S.I. Hashemy, J. Lu, A. Holmgren, "Inhibition of the human thioredoxin system: a molecular mechanism of mercury toxicity", *J. Biol. Chem.* 283, 11913–11923, 2008.
110. T.W. Clarkson, L. Magos, "The toxicology of mercury and its chemical compounds", *Crit. Rev. Toxicol.* 36, 609–662, 2006.
111. A.H. Stern, "A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment", *Environ. Res.* 98, 133–142, 2005.
112. Βαλαβανίδης, Αθ., *Οικοτοξικολογία και Περιβαλλοντική Τοξικολογία*, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2007.
113. C. Kokkinos, M. Prodromidis, A. Economou, P. Petrou, S. Kakabakos, "Disposable integrated bismuth citrate-modified screen-printed immunosensor for ultrasensitive quantum dot-based electrochemical assay of C-reactive protein in human serum", *Anal. Chim. Acta*, 886, 29, 2015.
114. S. H. D. Ribeiro, L. M. Alves, J. M. R. Flauzino, A. C. R. Moço, M. S. Segatto, J. P. Silva, L. F. A. Borges, J. M. Madurro, A. G. B. Madurro,

- “Reusable Immunosensor for Detection of C-reactive Protein in Human Serum”, *Electroanalysis*, 32, 2316, 2020.
115. L. O. Resende, A. C. H. de Castro, A. O. Andrade, J. M. Madurro, A. G. Brito-Madurro, “Immunosensor for electro detection of the C-reactive protein in serum”, *J. Solid State Electrochem.*, 22, 1365 - 1372, 2018.
  116. C.S. Pundir, R. Deswal, V. Narwal, “Quantitative analysis of hydrogen peroxide with special emphasis on biosensors”. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 41, 313–329, 2018.
  117. S. Yunus, A.M. Jonas, B. Lakard, “Potentiometric biosensors. In *Encyclopedia of Biophysics*”; Roberts, G.C.K., Ed.; Springer: Berlin, Germany, 2013.
  118. J.P. Villagrasa, J. Colomer-Farrarons, P.L. Miribel, “Bioelectronics for amperometric biosensors. In *State of the Art in Biosensors-General Aspects*”, IntechOpen: London, UK, 2013.
  119. J. Meier, E.M. Hofferber, J.A. Stapleton, N.M. Iverson, “Hydrogen Peroxide Sensors for Biomedical Applications”, *Chemosensors*, 7(4), 64, 2019.
  120. Diabetes [WWW Document], 2018. WHO diabetes. URL. <https://www.who.int/diabetes/world-diabetes-day-2018/en/>
  121. M. Murea, L. Ma, B.I Freedman, “Genetic and environmental factors associated with type 2 diabetes and diabetic vascular complications”, *Rev. Diabet. Stud.* 9(1), 6–22, 2012.
  122. J. Xiao, Y. Liu, L. Su, D. Zhao, L. Zhao, X. Zhang, “Microfluidic Chip-Based Wearable Colorimetric Sensor for Simple and Facile Detection of Sweat Glucose”, *Anal.Chem.* 91(23), 14803–14807, 2019.
  123. D.W. Hwang, S. Lee, M. Seo, T.D. Chung, “Recent advances in electrochemical non-enzymatic glucose sensors – A review”, *Anal. Chim. Acta*, 1033, 1–34, 2018.
  124. A. Heller, B. Feldman, “Electrochemical Glucose Sensors and Their Applications in Diabetes Management”, *Chem. Rev.* 108 (7), 2482–2505, 2008.
  125. E.H. Yoo, S.Y. Lee, “Glucose Biosensors: An Overview of Use in Clinical Practice”, *Sensors*, 10(5), 4558–4576, 2010.

126. J. Monzo, I. Insua, F. Fernandez-Trillo, P. Rodriguez, "Fundamentals, achievements and challenges in the electrochemical sensing of pathogens", *Analyst*, 140, 7116–7128, 2015.
127. S.A. Ansari, A. Ahmed, F.K. Ferdousi, M.A. Salam, A.A. Shaikh, H.R. Barai, N.S. Lopa, M.M. Rahman, "Conducting poly(aniline blue)-gold nanoparticles composite modified fluorine-doped tin oxide electrode for sensitive and non-enzymatic electrochemical detection of glucose", *J. Electroanal. Chem.*, 850,113394, 2019.
128. X. Niu, X. Li, J. Pan, Y. He, F. Qiu, Y. Yan, "Recent advances in non-enzymatic electrochemical glucose sensors based on non-precious transition metal materials: opportunities and challenges", *RSC Adv.* 6, 84893–84905, 2016.
129. M. G. Jaise, A. Arun, M. Beena. "Metal oxide nanoparticles in electrochemical sensing and biosensing: a review", *Microchim. Acta* 185, 358, 2018.
130. K. Shim, W.C. Lee, M.S. Park, M. Shahabuddin, Y. Yamauchi, M.S.A. Hossain, Y.B. Shim, J.H. Kim, "Au decorated core-shell structured Au@Pt for the glucose oxidation reaction", *Actuator. B Chem.*, 278, 88–96, 2019.
131. Z. Galus, "Fundamentals of Electrochemical Analysis" Ellis Horwood: Chichester, UK; Halsted Press, a division of Wiley: New York, NY, USA, 1976.
132. E. V. Karpova, A.A. Karyakin, "Noninvasive monitoring of diabetes and hypoxia by wearable flow-through biosensors", *Curr. Opin. Electrochem.*, 23,16–20, 2020.
133. H. Teymourian, A. Barfidokht, J. Wang, "Electrochemical glucose sensors in diabetes management: an updated review (2010–2020)", *Chem. Soc. Rev.*, 49, 7671-7709, 2020.
134. M. Padash, C. Enz, S. Carrara, "Microfluidics by Additive Manufacturing for Wearable Biosensors: A Review", *Sensors*, 20(15), 4236, 2020.



135. J. Kim, A.S. Campbell, B. E.-F.de Avila, J. Wang, "Wearable biosensors for healthcare monitoring", *Nature Bio-tech.*, 37, 389–406, 2019.
136. S.A. El-Safty, M. A. Shenashen, "Advanced Nanoscale Build-Up Sensors for Daily Life Monitoring of Diabetics" *Adv. Mater. Interfaces*, 7(15), 2000153, 2020.
137. M. Adeel, Md. M Rahman, I. Caligiuri, V. Canzonieri, F. Rizzolio, S. Daniele, "Recent advances of electrochemical and optical enzyme-free glucose sensors operating at physiological conditions", *Biosens. Bioelectron.*165, 112331, 2020.
138. A. Haryńska, I. Gubanska, J Kucinska-Lipka, H Janik, Fabrication and Characterization of Flexible Medical-Grade TPU Filament for Fused Deposition Modeling 3DP Technology, *Polymers*, 10(12), 1304, 2018.
139. G. Palla, K. Malecka, W. Dehaen, J. Radecki, H. Radecka, "Immunosensor incorporating half-antibody fragment for electrochemical monitoring of amyloid- $\beta$  fibrils in artificial blood plasma", *Bioelectrochemistry*, 137, 107643, 2021.
140. A. M. V. Mohan, V. Rajendran, R. K. Mishra, M. Jayaraman, "Recent advances and perspectives in sweat-based wearable electrochemical sensors" *TrAC, Trends Anal. Chem.*2020, 131, 116024
141. J. Mocák, I. Janiga, E. Rábarová, "Evaluation of IUPAC limit of detection and ISO minimum detectable value - electrochemical determination of lead.", *Nova Biotechnologica*, 9 (1), 91–100, 2009.
142. D. Bruen, C. Delaney, L. Florea, D. Diamond, "Glucose Sensing for Diabetes Monitoring: Recent Developments", *Sensors*, 17(8),1866, 2017.
143. E.W. Nery, M. Kundys, P.S. Jeleń, M. Jönsson-Niedziółka, "Electrochemical Glucose Sensing: Is There Still Room for Improvement?", *Anal. Chem.*, 88 (23), 11271–11282, 2016.
144. A. Motaharian, K Naseri, O. Mehrpour, S. Shoeibi, "Electrochemical Determination of Atypical Antipsychotic Drug Quetiapine Using Nano-Molecularly Imprinted Polymer Modified Carbon Paste Electrode", *Analytica Chimica Acta*, 1097, 214–221, 2020.

145. M.A. El-shal, "Electrochemical Studies for the Determination of Quetiapine Fumarate and Olanzapine Antipsychotic Drugs", *Adv. Pharm Bull*, 3, 339–344, 2013.
146. B. Nigović, J. Spaji, "A novel electrochemical sensor for assaying of antipsychotic drug quetiapine", *Talanta*, 86, 393–399, 2011
147. M. Nebsen, C. Maged, E. Maraghy, H. Salem, S.M. Amer, "Novel membrane sensors for the determination of quetiapine fumarate in plasma and in presence of its related compounds" *Anal. Bioanal. Electrochem.*, 8, 50–63, 2016.
148. M. Lawrywianiec, J. Smajdor, B. Paczosa-Bator, R. Piech, "Application of a glassy carbon electrode modified with carbon black nanoparticles for highly sensitive voltammetric determination of quetiapine" *Anal. Methods*, 9, 6662–6668, 2017.
149. B. Nigovi, A. Mornar, M. Serti, "Graphene nanocomposite modified glassy carbon electrode for voltammetric determination of the antipsychotic quetiapine", *Microchim. Acta*, 183, 1459–1467, 2016.
150. S.A. Ozkan, B. Dogan, B. Uslu, "Voltammetric Analysis of the Novel Atypical Antipsychotic Drug Quetiapine in Human Serum and Urine" *Microchim. Acta*, 35, 27–35, 2006.
151. M.A. El-shal, El-Brashy, F. Belal, N. El-Bahay, "Polarographic Analysis of Quetiapine in Pharmaceuticals". *Port. Electrochim. Acta*, 27, 113-125, 2009.
152. H. Arida, M. Al, M. Elbeshlawy, A. Fataftah, G. Al-sllami, "A New Coated Wire Selective Electrode for Quetiapine in Biological and Pharmaceutical Analysis", *Int. J. Electrochem. Sci.*, 12, 4120-4121, 2017.
153. M.P. Browne, F. Novotný, Z. Sofer, M. Pumera, "3D-Printed graphene/polylactic acid electrodes promise high sensitivity in electroanalysis", *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 10, 40294–40301, 2018.
154. C.Y. Foo, H.N. Lim, M.A. Mahdi, M.H. Wahid, N.M. Huang, "3D printed graphene electrodes' electrochemical activation", *Sci. Rep.*, 8, 7399, 2018.

155. G.D. O'Neil, S. Ahmed, K. Halloran, J.N. Janusz, A. Rodriguez, I.M.T. Rodriguez, "Single-step fabrication of electrochemical flow cells utilizing multi-material 3D printing" *Electrochem. Commun.*, 99, 56–60, 2019.
156. T.R. De Oliveira, W.T. Fonseca, G. De Oliveira Setti, R.C. Faria, "Fast and flexible strategy to produce electrochemical paper-based analytical devices using a craft cutter printer to create wax barrier and screen-printed electrodes", *Talanta*, 95, 480–489, 2019.
157. H.S. Ali, A.A. Abdullah, P.T. Pinar, Y. Yardim, Z. Senturk, "Simultaneous voltammetric determination of vanillin and caffeine in food products using an anodically pretreated boron-doped diamond electrode: its comparison with HPLC-DAD", *Talanta* 170, 384–39, 2019.
158. A. Yigit, Y. Yardim, Z. Senturk, "Voltammetric sensor based on boron-doped diamond electrode for simultaneous determination of paracetamol, caffeine, and aspirin in pharmaceutical formulations", *IEEE Sens. J.* 16,1674–1680, 2016.
159. B.C. Lourencao, R.A. Medeiros, R.C. Rocha-Filho, O. Fatibello-Filho, "Simultaneous differential pulse voltammetric determination of ascorbic acid and caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode", *Electroanalysis*, 22,1717–1723, 2010.
160. W.C. Silva, P.F. Pereira, M.C. Marra, D.T. Gimenes, R.R. Cunha, R.A.B. da Silva, R.A.A. Munoz, E.M. Richter, "A simple strategy for simultaneous determination of paracetamol and caffeine using flow injection analysis with multiple pulse amperometric detection", *Electroanalysis*, 23, 2764–2770, 2011.
161. A.P.P. Eisele, C.F. Valezi, E.R. Sartori, "Exploiting the high oxidation potential of carisoprodol on a boron-doped diamond electrode: an improved method for its simultaneous determination with acetaminophen and caffeine", *Analyst*, 142,3514–3521, 2017.
162. A.L. Suherman, E.E.L. Tanner, R.G. "Compton, Recent developments in inorganic Hg(II) detection by voltammetry", *TrAC*, 94, 161–172, 2017.
163. I.T. Some, A.K. Sakira, D. Mertens, S.N. Ronkart, J.M. Kauffmann, "Determination of groundwater mercury(II) content using a disposable

- gold modified screen printed carbon electrode”, *Talanta*, 152, 335–340, 2016.
164. A.L. Squissato, D.P. Rocha, E.S. Almeida, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, “Stripping voltammetric determination of mercury in fish oil capsules using a screen-printed gold electrode”, *Electroanalysis* 30, 20–23, 2019.
165. E. Roditi, M. Tsetsoni, C. Kokkinos, A. Economou, “Integrated on-chip sensor with sputtered Ag-Au-Au thin-film electrodes for the voltammetric determination of trace Hg(II)”, *Sens. Actuators B*, 286, 125–130, 2019.
166. C. Chen, J. Zhang, Y. Du, X. Yang, E. Wang, “Microfabricated on-chip integrated Au–Ag–Au three-electrode system for in situ mercury ion determination” *Analyst*, 135, 1010-1014, 2010.
167. E. S. Almeida, E. M. Richter, R. A. A. Munoz, “On-site fuel electroanalysis: Determination of lead, copper and mercury in fuel bioethanol by anodic stripping voltammetry using screen-printed gold electrodes”, *Anal. Chim. Acta*, 837, 38-43, 2014.
168. E. Bernalte, C. Marín Sánchez, E. Pinilla Gil, “Gold nanoparticles-modified screen-printed carbon electrodes for anodic stripping voltammetric determination of mercury in ambient water samples” *Sens. Actuators B Chem.*, 161, 669–674, 2012.
169. S. Cinti, F. Santella, D. Moscone, F. Arduini, “Hg<sup>2+</sup> detection using a disposable and miniaturized screen-printed electrode modified with nanocomposite carbon black and gold nanoparticles”, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 8192–8199, 2016.
170. A. Mandil, L. Idrissi, A. Amine, “Stripping voltammetric determination of mercury (II) and lead (II) using screen-printed electrodes modified with gold films and metal ion preconcentration with thiol-modified magnetic particles”, *Microchim. Acta* 170, 299–305, 2010.
171. D. Martin-Yerga, M.B. Gonzalez-Garcia, A. Costa-Garcia, “Use of nanohybrid materials as electrochemical transducers for mercury sensors”, *Sens. Actuators B Chem.* 165, 143–150, 2012.

172. J. Ju, W. Chen, "In Situ Growth of Surfactant-Free Gold Nanoparticles on Nitrogen-Doped Graphene Quantum Dots for Electrochemical Detection of Hydrogen Peroxide in Biological Environments", *Anal. Chem.*, 87, 1903, 2015.
173. S. Karakaya, Y. Dilgin, "Sensitive Flow-Injection Electrochemical Determination of Hydrogen Peroxide at a Palladium Nanoparticle-Modified Pencil Graphite Electrode", *Anal. Lett.*, 52, 998, 2019.
174. M. Ş. Teker, E. Karaca, N. Ö. Pekmez, U. Tamer, K. Pekmez, "An Enzyme-free H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Sensor Based on Poly(2-Aminophenylbenzimidazole)/Gold Nanoparticles Coated Pencil Graphite Electrode", *Electroanalysis*, 31(1), 75-82, 2019.
175. Y. Zhao, Q. Zhai, D. Dong, T. An, S. Gong, Q. Shi, W. Cheng, "Highly Stretchable and Strain-Insensitive Fiber-Based Wearable Electrochemical Biosensor to Monitor Glucose in the Sweat", *Anal. Chem.*, 91, 6569–6576, 2019.
176. S.Y. Oh, S. Y. Hong, Y.R. Jeong, J. Yun, H. Park, S.W. Jin, G. Lee, J. H. Oh, H. Lee, S.S. Lee, J.S. Ha, J. S. "Skin-Attachable, Stretchable Electrochemical Sweat Sensor for Glucose and pH Detection". *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 10, 13729–13740, 2018.
177. T. Sun, L. Shen, Y. Jiang, J. Ma, F. Lv, H. Ma, D. Chen, N. Zhu, "Wearable Textile Supercapacitors for Self-Powered Enzyme-Free Smartsensors". *ACS Appl. Mater. Inter-faces*, 12, 21779–21787, 2020.
178. X. Zhu, Y. Ju, J. Chen, D Liu, H. Liu, "Nonenzymatic Wearable Sensor for Electrochemical Analysis of Perspiration Glucose". *ACS Sensors*, 3, 1135–1141, 2018.
179. S. Ivanova, C. Petit, V. Pitchon, "A new preparation method for the formation of gold nanoparticles on an oxide support", *App. Catal. A-Gen.* 267, 191–201, 2004.
180. M. B. Jensen, D. C. Johnson, "Fast Wave Forms for Pulsed Electrochemical Detection of Glucose by Incorporation of Reductive Desorption of Oxidation Products". *Anal. Chem.*, 69, 1776–1781, 1997.
181. S. A. Pullano, M. Greco, M. G. Bianco, D. Foti, A. Brunetti, A. S. Fiorillo, "Glucose biosensors in clinical practice: principles, limits and

perspectives of currently used devices”, *Theranostics*, 12, 493–511, 2022.

182. C. Chen, Q. Xie, D. Yang, H. Xiao, Y. Fu, Y. Tan, S. Yao, “Recent advances in electrochemical glucose biosensors: a review”, *RSC Advances*, 3, 4473, 2013.