

Санкт-Петербургский государственный университет

ФОМИН Андрей Дмитриевич

Выпускная квалификационная работа

*Лазерно-индуцированный синтез и исследование свойств бесферментных
микросенсоров на основе иридийсодержащих материалов*

Уровень образования: магистратура

Направление: 28.04.04 «Наносистемы и наноматериалы»

Основная образовательная программа: *ВМ.5724.2018 «Фундаментальные и прикладные
аспекты наноматериалов и нанотехнологий»*

Научный руководитель:
кафедра лазерной химии и
лазерного материаловедения,
кандидат химических наук,
доцент, Рязанцев Михаил
Николаевич

Рецензент: заведующий
кафедрой нанобиотехнологий,
Федеральное государственное
бюджетное учреждение высшего
образования и науки «Санкт-
Петербургский национальный
исследовательский
Академический университет
имени Ж.И. Алферова
Российской академии наук,
Вязьмин Сергей Юрьевич

Санкт-Петербург
2020

СОДЕРЖНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1 Биосенсоры.....	6
1.1.1 Области применения.....	6
1.1.2 Основной принцип работы.....	7
1.1.3 Ферментные и бесферментные биосенсоры.....	8
1.1.4 Бесферментные электрохимические биосенсоры для определения глюкозы.....	10
1.2 Иридийсодержащие биосенсоры.....	12
1.2.1 Микросенсоры на основе иридия.....	13
1.2.2 Иридийсодержащие сенсоры для определения глюкозы.....	15
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	19
2.1 Метод лазерно-индуцированного осаждения металла из раствора.....	20
2.1.1 Механизм ЛОМР.....	20
2.1.2 Влияющие на процесс осаждения факторы.....	23
2.2 Описание установки и принципов её работы.....	24
2.3 Методика процесса осаждения микроструктур.....	26
2.4 Получение иридийсодержащих материалов методом ЛОМР.....	27
2.4.1 Приготовление исходных растворов.....	27
2.4.2 Осаждение иридийсодержащих микроэлектродов. Итоги синтеза.....	28
2.5 Методы исследования полученных микроструктур.....	31
2.5.1 Сканирующая электронная микроскопия.....	31
2.5.2 Энергодисперсная рентгеновская спектроскопия.....	31
2.5.3 Рентгено-фазовый анализ.....	32
2.5.4 Циклическая вольтамперометрия и амперометрия.....	33
3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	34
3.1 Результаты лазерно-индуцированного синтеза иридийсодержащих микроструктур.....	34

3.2 Исследование морфологии и структуры синтезированных иридийсодержащих микроструктур.....	35
3.3 Исследование сенсорных свойств синтезированных иридийсодержащих микроэлектродов в растворах с различным содержанием D-глюкозы.....	42
3.4 Сравнительная характеристика.....	49
ВЫВОДЫ.....	50
БЛАГОДАРНОСТИ.....	52
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	53

ВВЕДЕНИЕ

Получение новых материалов для экспрессного определения биологически важных маркеров заболеваний (например, сахарного диабета) в крови человека представляет огромный интерес для многих областей медицины [1]. Кроме того, в связи с множеством недостатков существующих ферментных сенсорных устройств для определения глюкозы, создание новых дешевых бесферментных сенсоров, предназначенных для прямого определения биологически значимых аналитов и обладающих лучшей чувствительностью, стабильностью и селективностью, также является актуальной проблемой современной науки и промышленности [2]. Особенный интерес представляют сенсорно-активные материалы на основе различных биметаллических микро- и наноструктур, например, нанопористые Ir-Pt-катализаторы проявляют высокую чувствительность и селективность при бесферментном определении глюкозы [3].

В рамках данной работы мы использовали метод лазерно-индуцированного осаждения металлов из раствора (ЛОМР) [4]. В основе этого метода лежит протекающая в локальном объеме раствора в пределах фокуса лазерного луча реакция восстановления металла, приводящая к осаждению его на поверхности диэлектрической подложки (например, стекло и стеклокерамика). В результате такого лазерного синтеза образуются микроосадки, которые можно применять в качестве бесферментных электрохимических сенсоров. Таким образом, нами были получены иридиевые (Ir), иридиево-золотые (Ir-Au), иридиево-платиновые (Ir-Pt), а также иридиево-золото-платиновые (Ir-Au-Pt) микроосадки на поверхности стекла и стеклокерамики под воздействием лазерного излучения на длине волны 532 нм. Морфология поверхности, элементный и фазовый состав полученных образцов были изучены с помощью электронной микроскопии, энергодисперсионного и рентгенофазового анализа, соответственно. Для определения пределов обнаружения, чувствительности, а также изучения селективности полученных микросенсоров по отношению к D-глюкозе нами применялись вольтамперометрические методы. Материалы, синтезированные предложенным методом (ЛОМР), весьма перспективны в дизайне и последующем производстве

новых недорогих и эффективных сенсорных устройств для экспрессного лабораторного и домашнего биохимического анализа крови человека.

Цель данной научной работы - синтез бесферментных микросенсоров на основе иридийсодержащих моно- и полиметаллических материалов с помощью метода лазерно-индуцированного осаждения металлов из раствора; изучение сенсорных свойств полученных материалов по отношению глюкозе.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Биосенсоры

Различные типы биосенсоров, такие как ферментные, тканевые, иммуносенсоры, ДНК-биосенсоры, тепловые и пьезоэлектрические биосенсоры, обеспечивает простые в использовании, эффективные устройства для медицинского, экологического и агропродовольственного анализа [5]. Эти инструменты позволяют избежать некоторых недостатков, связанных с традиционными аналитическими методами, таких как пробоподготовка [6,7], высокая стоимость и потребность в квалифицированном персонале [8].

1.1.1. Области применения

Говоря об основных областях применения биосенсоров, можно выделить принципы их работы и использования. Пищевая промышленность, которая следит за ее качеством и безопасностью; в ферментации и в процессе осахаривания для определения точных концентраций глюкозы. Они используются в метаболической инженерии, дабы сделать возможным мониторинг клеточного метаболизма *in vivo*. Биосенсоры и их роль в медицине, включая раннее обнаружение человеческого интерлейкина-10, вызывающего сердечные заболевания, быстрое обнаружение вируса папилломы человека и т.д., являются важными аспектами. Флуоресцентные биосенсоры играют жизненно важную роль в открытии лекарств и при раковых заболеваниях. Применение биосенсоров широко распространено в секторе биологии растений для выявления недостающих звеньев, необходимых для метаболических процессов. Также они используются в оборонной, клинической и морской областях применения.

1.1.2. Основной принцип работы

Конструктивно биосенсор представляет собой комбинированное устройство, состоящее из двух преобразователей, или трансдюсеров, - биохимического и физического, находящихся в тесном контакте друг с другом. Принцип работы биосенсора достаточно прост, и представлен на Рис. 1. Если разделить принцип работы рядового биосенсора поэтапно, то можно выделить три стадии:

- 1) осуществляется «узнавание» биоэлементом специфического вещества, которое содержится в многокомпонентной смеси.
- 2) осуществляется преобразование информации о протекании конкретной биохимической реакции в форму электрохимического сигнала.
- 3) Электрический сигнал от преобразователя (трансдюсера) преобразуется в форму сигнала, которая приемлема для обработки.

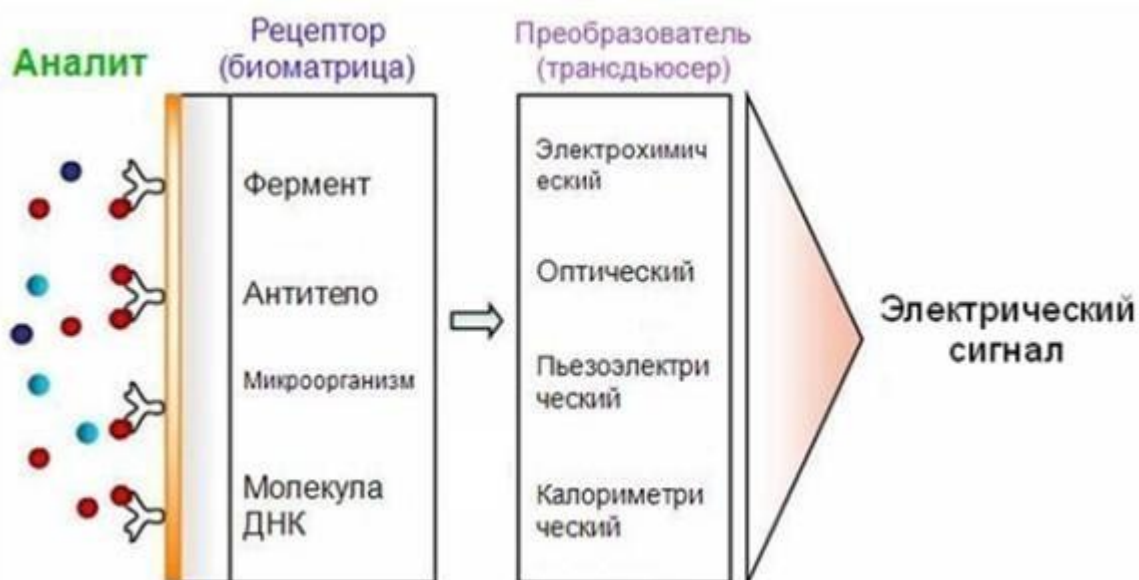


Рис. 1. Принцип работы биосенсора

Среди преимуществ биосенсоров можно выделить возможность анализа сложных смесей на наличие определенного химического вещества без проведения предварительной очистки, высокую чувствительность, что позволяет обнаружить даже в малых образцах низкие концентрации вещества, безопасность в применении, возможность получения быстрого ответа, миниатюрность устройств, высочайшую точность, возможность массового производства, и большие перспективы. Однако они имеют и ряд недостатков, в виде невозможности стерилизации, низкой стабильности, и малой прочности.

1.1.3. Ферментные и бесферментные биосенсоры

Биосенсор также может быть определен как компактное аналитическое устройство для идентификации и количественного определения конкретного молекулярного объекта (аналита) с использованием элемента распознавания, связанного с преобразователем. Многочисленные исследования были сосредоточены на разработке новых биосенсорных сборок, стратегий иммобилизации и применении новых материалов, которые могут принести эти методы в реальный мир [9–10]. Надежный биосенсор должен обеспечивать недорогую, быструю, инертную и стабильную платформу для селективного и чувствительного обнаружения молекулы-мишени [11,12]. Биосенсоры имеют множество потенциальных применений в клинической диагностике и прогнозировании, анализе пищевых продуктов, мониторинге биологических процессов, экологическом мониторинге и биоанализах [13]. Поскольку измерение глюкозы имеет множество клинических и экспериментальных применений, производство быстрых, точных и недорогих биосенсоров является привлекательной исследовательской линией во многих лабораториях по всему миру. Действительно, биосенсоры глюкозы являются одними из немногих коммерчески успешных сенсорных продуктов на сегодняшний день [14]. Коммерческие полоски для самоконтроля уровня глюкозы в крови были введены очень давно [15]. Сигнал обнаружения глюкозных биосенсоров исходит непосредственно от глюкозы или путем стимуляции превращения глюкозы в другие определяемые электроактивные вещества. До настоящего времени для

определения уровня глюкозы использовались как фермент-зависимые, так и фермент-независимые стратегии. Тем не менее, обнаружение иммобилизованной глюкозооксидазы (GOx) представляется наиболее популярным. Поскольку иммобилизация ферментов, безусловно, влияет на реакцию биосенсора [16], всегда приветствуются новые стратегии иммобилизации, модификаторы поверхности электрода и иммобилизующие агенты. В последние годы нанотехнологии открыли захватывающие перспективы в биосенсорах, представив новые наноматериалы, которые включают, но не ограничиваются ими, нанотрубки, квантовые точки, нанокремнезем, нановолокна, наночастицы и наностержни [17]. Обладая рядом важных преимуществ по сравнению с обычными материалами, наноматериалы пригодны для интеграции в новые мини-устройства, микроустройства и наноустройства. Эти особенности включают большое отношение поверхности к объему, сверхмалые размеры, уникальное поведение, высокую химическую реактивность и перестраиваемые свойства [18]. Эти особые характеристики наноразмерных материалов делают их привлекательными кандидатами в области биотехнологии и биоаналитической химии.

Металлические наночастицы (MNP) нашли многочисленные применения во многих биомедицинских дисциплинах. Недавно MNP нашли широкое применение в биосенсорах глюкозы, увеличив площадь поверхности и способствуя переносу электронов от фермента к электроду, что впоследствии привело к улучшению сигнала обнаружения. Кроме того, магнитная природа MNP облегчает сборку GOx-связанных NP на поверхности электрода [19]. Они также могут образовывать «провода» на поверхности электрода [20]. Включение наноматериалов в целом способствовало миниатюризации биосенсоров. Различные MNP (например, Au, Pt, Ag, Fe, Zn, Cu, Pd, Ir и сплавы) были включены в биосенсоры глюкозы в качестве модификаторов, факторов мечения или иммобилизирующих агентов [21–23].

В виду ряда недостатков ферментных биосенсоров, наиболее важными из которых являются высокая стоимость ферментов и сложная процедура иммобилизации фермента на поверхность электрода, в последнее время все больший интерес представляют сенсоры, в которых отсутствует фермент. Основным их преимуществом перед ферментными является тот фактор, что перенос электрона происходит непосредственно на электрохимически активные

центры поверхностного слоя сенсорного материала, что позволяет увеличить аналитический сигнал, снизить соотношение «сигнал-шум» и увеличить чувствительность и точность определения. Количество научных публикаций, посвященных разработке бесферментных сенсоров для определения глюкозы [24-27], основанных на нано- и микроструктурах металлов и их оксидов, весьма велико.

1.1.4. Бесферментные электрохимические биосенсоры для определения глюкозы

Электрохимические биосенсоры представляют собой класс биосенсоров, которые функционируют с использованием электрохимического преобразователя. Они могут обнаруживать биологические материалы, такие как ферменты, целые клетки, специфические лиганды и ткани, но также и небιологические матрицы [28].

Существует ряд различных типов электрохимических биосенсоров в зависимости от их метода обеспечения биологической избирательности или метода передачи сигнала или их комбинации. Рецептор может быть селективным в отношении биокаталитического события, такого как реакция, которая катализируется макромолекулами, включая ферменты, или в отношении определенной биоаффинности, такой как взаимодействие между аналитом и макромолекулой, независимо от их биологической среды.

Методы обнаружения электрохимических преобразователей разнообразны. Методы включают амперометрию, которая основана на измерении тока электрохимического окисления или восстановления электроактивных частиц. Ток напрямую связан с концентрацией электроактивных частиц. Другим методом является кондуктометрия, которая основана на кондуктометрии ферментативных реакций и биологических мембран.

Потенциометрия - это метод обнаружения, который включает разность потенциалов индикаторного электрода и электрода сравнения, когда между ними нет тока. Чаще всего это рН-электроды, но они могут быть ионоселективными. Наконец, электрохимические биосенсоры могут измерять аналиты по

поверхностному заряду, используя полевые транзисторы. Они могут определять концентрации ионов путем присоединения ионоселективной мембраны к транзистору, который становится биосенсором, когда соединен с биокаталитическим или биоаффинным слоем.

Электрохимические биосенсоры имеют явные преимущества, такие как отсутствие высокой сложности настройки датчика и высокая стоимость других биосенсоров, так как они связаны с дешевым производством микронэлектронных схем и удобным для пользователя интерфейсом с традиционной электронной обработкой и результатами. Электрохимические биосенсоры также надежны, их легко миниатюризировать и предлагают широкие пределы обнаружения, даже когда присутствуют только небольшие объемы аналита. Кроме того, электрохимические биосенсоры могут быть использованы для анализа биологических жидкостей с высокой мутностью и оптически поглощающими и флуоресцентными соединениями [29].

Электрохимические биосенсоры, способные определять уровень сахара в крови (глюкометры) крайне востребованы в наше время. Подтверждению тому служит большое количество научных исследований, посвящённых разработке и усовершенствованию сенсорных устройств [30-32]. Используемые в нашем исследовании металлы, за исключением иридия, а именно золото и платина, имеют широкое распространение среди основных материалов для синтеза моно- и полиметаллических сенсорных микроструктур.

Так, в работе Ву [33] был разработан неферментативный электрохимический метод определения глюкозы с использованием стеклоуглеродного электрода, модифицированного платиновыми наночастицами, нанесёнными на оксид графена (PtNPs-GO). PtNPs-GO был синтезирован с использованием нетоксичного, быстрого, однокамерного и без темплатного метода. Модифицированный электрод проявлял сильные и чувствительные амперометрические ответы на глюкозу даже в присутствии высокой концентрации хлорид-ионов, а время отклика было в пределах 5 с. Полученный биосенсор также применяли для определения глюкозы в растворах для инъекций глюкозы, и полученные удовлетворительные результаты показали, что он был перспективным для разработки нового неферментативного электрохимического сенсора глюкозы.

В другой публикации [34] биметаллические монослойные коллоидные кристаллы Ni-Au (МКК) были изготовлены путем гальванической замены монослоев Ni солью Au. В ней было изучено влияние концентрации Au, используемой в гальванических замещающих растворах, на морфологию и структуру получаемой поверхности Ni-Au, ввиду чего было обнаружено, что использование монослойных коллоидных кристаллов, которые демонстрируют образование когезионных структур на монослое, приводит к тому, что реакция гальванического замещения протекает более равномерно по поверхности по сравнению с тонкопленочным аналогом. Изготовленные устройства были проанализированы в щелочных условиях с использованием хроноамперометрических методов для определения концентрации глюкозы в диапазоне от 20 μM до 10 μM . Оптимальная подложка Ni Au МКК была получена с использованием 0,1 mM солевого раствора Au и показала очень низкий экспериментальный предел обнаружения 14,9 μM и расчетную чувствительность 506 $\mu\text{A}/\text{mM}^{-1}\times\text{cm}^{-2}$, которая была примерно в три раза больше, чем обычный Ni МКК подложка. Субстрат Ni-Au МКК также показал минимальные изменения отклика по току в присутствии общих физиологических загрязнений, таким образом являясь высокоселективным электрохимическим сенсором глюкозы.

1.2. Иридийсодержащие электрохимические биосенсоры

На сегодняшний день существует большое количество электрохимических иридийсодержащих биосенсоров, применяемых преимущественно в медицине, экологии и пищевой промышленности. В медицине, как правило, они используются в качестве устройств, детектирующих различного рода аналиты, представляющих собой маркеры различных заболеваний [35]. Также они находят применение как высокочувствительные pH-сенсоры [36,37].

Это вызвано высокой электрокаталитической активностью иридия, в сравнении как с наноразмерными, так и объёмными частицами других благородных металлов. Действительно, в исследовании Тобиаса Рейера [38] было определено число участков поверхности для катализаторов Ru, Ir и Pt. Здесь число

активных поверхностных участков использовалось для определения удельных плотностей тока. В Табл. 1 суммировано количество электрохимически доступных участков поверхности для катализаторов Pt, Ir и Ru в виде наночастиц и объемных материалов.

Табл. 1. Абсолютное число поверхностных участков для наночастиц и объемных катализаторов Ru, Ir и Pt, определенное из экспериментов по отгонке CO

Катализатор	Количество активных поверхностных участков / 10^{-9} моль	
	Объемная частица	Наночастицы
Ru	4,50	5,54
Ir	0,45	3,26
Pt	0,40	3,38

Объемные Pt и Ir выявили сравнимое количество поверхностных участков для объемных материалов и наночастиц. Как и ожидалось авторами, количество электрохимически доступных участков поверхности было в семь раз выше для наночастиц Ir и Pt, чем для соответствующих объемных материалов.

1.2.1. Микросенсоры на основе иридия

Биосенсоры, состоящие из иридийсодержащих материалов, используются в качестве pH-микросенсоров. К примеру, стабильный pH является признанным биомаркером здоровья, относящимся ко всем тканям организма, включая сердце. Клинический мониторинг pH на практике с высоким пространственно-временным разрешением особенно затруднен в таких органах, как сердце, из-за его мягкой механики, криволинейной геометрии, неоднородных поверхностей и непрерывного сложного ритмического движения. Гомеостаз pH имеет решающее значение для здоровья человека. Изменение pH указывает на физиологические изменения, такие как ишемия, [39, 40] развитие атеросклеротической бляшки, [41] воспаление, [42, 43] и рост опухоли. [44–46]

И в исследовании Хён Джунг Чунга [47], посвящённому разработке эластичных мультиплексных датчиков pH с демонстрацией на сердцах кроликов и

людей, перенесших ишемию, результаты показывают, что новые стратегии сборки материалов и электрохимического роста могут давать взаимосвязанные массивы миниатюрных датчиков рН IrOx, инкапсулированных в тонкие низко модульные эластомеры, для создания конформных систем мониторинга, способных проводить неинвазивные измерения на поверхности бьющегося сердца.

В целом, имеется большое количество публикаций, посвящённых разработке иридийсодержащих рН сенсоров как с использованием ферментов, так и без.

Дополнительным примером использования иридийсодержащих сенсоров может служить работа, посвящённая созданию улучшенного электроосажденного датчика рН на основе оксида иридия, изготовленного на травленных титановых подложках [48]. Датчик в данной работе основан на электроосажденной пленке оксида иридия в качестве рН-чувствительного слоя. Преимущества настоящего датчика включают превосходную адгезию чувствительного к рН слоя к подложке, отличную воспроизводимость изготовления датчика, более быструю процедуру подготовки и низкую стоимость титановой подложки. Эти преимущества, как описывается в работе, реализуются путем объединения травленного кислотой титана в качестве подложки электрода с оптимизированным раствором для электроосаждения, состоящим из IrCl₄ в качестве источника иридия, перекиси водорода, оксалата калия и карбоната калия. Нагревание раствора для электроосаждения до 90°C сокращает время, необходимое для проявления раствора, с 3 дней до 10 минут. рН-чувствительный слой защищен слоем Nafion и микропористой полиэфирной мембраной. Усовершенствованный датчик показал супернёрсовский отклик (1,2 mV на единицу рН) в диапазоне рН 1,5-11,5. Настоящий датчик рН, изготовленный в трубчатой форме, используется в качестве детектора в анализе впрыска потока (АВП) как система для измерения рН. Оптимизация экспериментальных параметров АВП привела к линейной зависимости высоты пиков от рН вводимых образцов в диапазоне рН 2-11, что показано на Рис. 2.

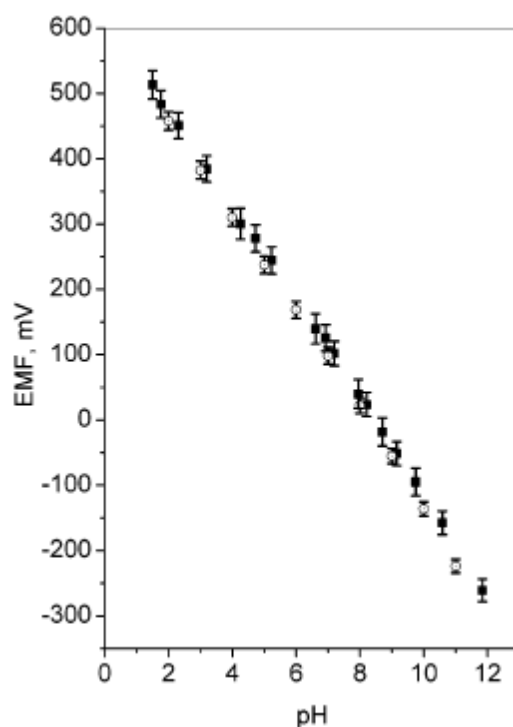


Рис. 2. Типичный потенциометрический отклик двух групп датчиков AEIROFpH из двух разных партий, демонстрирующий превосходную «воспроизводимость между партиями».

Помимо измерения pH иридийсодержащие материалы используются в создании биосенсоров, чувствительных к различного рода биологическим анализам. В данном контексте интерес представляет собой научная работа Шиангмин Миао [49], в которой рассматривается применение комплекса иридия (III) для неферментативного электрохимического обнаружения пероксида водорода на основе новой переключающей платформы «включено-выключено».

1.2.2. Иридийсодержащие сенсоры для определения глюкозы

В данном разделе, для лучшего понимания использования биосенсоров для определения глюкозы, содержащих в своём составе частицы иридия, либо его оксиды, или биметаллические структуры, будут представлены примеры исследований других авторов, которые также помогут создать представление о разнообразии используемых методов синтеза подобных материалов, их эффективности, и, непосредственно, вариативности использования иридия с

другими материалами, и принципах детекции ими глюкозы (напрямую или косвенно).

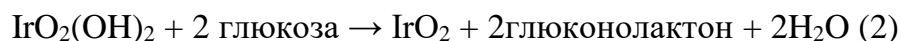
Также необходимо отметить, что, невзирая на достаточно большую популярность исследований всевозможных биосенсоров как потенциальных глюкометров, довольно малое количество внимания уделяется созданию именно бесферментных иридийсодержащих электрохимических сенсорных материалов, независимо от методов их синтеза.

Так, в работе Киучен Донга [50] в качестве нового класса многофункциональных материалов были синтезированы нановолокна (nanofibers) оксида иридия с высокой температурой отжига (NF IrO₂), которые затем использовались в качестве чувствительного элемента для изготовления нового двойного датчика глюкозы и pH в этом исследовании. NF IrO₂ не только обладают хорошей и обратимой чувствительностью к pH, как ожидалось, но также демонстрируют электрокаталитическую активность по отношению к глюкозе, которая, по-видимому, связана с кристалличностью, обусловленной эффектом высокотемпературного отжига во время приготовления NF IrO₂. Эта уникальная двойная функциональность позволила автору разработать датчик, который можно применять как для неферментативного измерения глюкозы, так и для измерения pH в твердом состоянии. Результаты исследования показывали, что двойной сенсор на основе NF IrO₂ имеет постоянную Нернста, близкую к теоретическому значению, с превосходной обратимостью при титровании pH, а также обладает чувствительностью 22,22 mA/mM×sm⁻², пределом обнаружения в 2,9 mM и хорошей селективностью в отношении различных мешающих веществ при неферментативном обнаружении глюкозы. Высокоточность определения глюкозы в образце сыворотки человека также была продемонстрирована в сравнении с коммерческим глюкометром.

И действительно, все эти признаки указывают на то, что высокотемпературная отожженная IrO₂ NF является многообещающим многофункциональным чувствительным материалом в разработке встроенного твердотельного датчика pH и неферментативного датчика глюкозы.

Однако окисление глюкозы на IrO₂ практически не изучено, поскольку IrO₂ в основном используется в качестве поддерживающего шаблона для роста NiO

(структура оболочки ядра IrO₂@NiO) [51], в которой NiO отвечает за восприятие глюкозы. Согласно предложенному в литературе механизму, основанному на оксидах различных металлов, и факту процесса двухэлектронного переноса для окисления IrO₂, окисление глюкозы на NF IrO₂ в щелочном растворе можно предположительно выразить в виде следующих реакций:

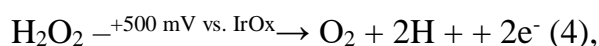


Когда тот же IrO₂ NFs-Nafion/GCE использовали в нейтральном буфере PBS в отсутствие и в присутствии 5 mM глюкозы, в обоих случаях не наблюдалось явного пика, указывающего на необходимость окисления OH⁻ в глюкозе для IrF₂ NF.

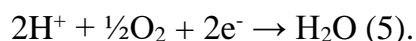
В работе Федерико Реберта [52], в которой представлен ультраминиатюрный электрохимический биосенсор для непрерывного мониторинга глюкозы, сделан акцент на миниатюризацию размера сенсора для обеспечения минимально инвазивного мониторинга глюкозы в интерстициальной жидкости в дермальной области, в отличие от более крупных современных систем, которые обязательно размещаются в подкожный слой, что также может быть ключевым фактором для повышения стабильности и надежности чрескожных датчиков из-за уменьшения вредной реакции инородного тела и последующих потенциальных отказов. Реализованное устройство состоит из трехэлектродного энзимного датчика, изготовленного из микроэлектростанций, с общей площадью поверхности чувствительной части менее 0,04 mm², что делает его самой маленькой полностью интегрированной плоской амперометрической областью измерения глюкозы, зарегистрированной на момент издания данной публикации. Рабочий и вспомогательный электроды состоят из платины и функционализируются методом литья под давлением трех полимерных мембран. Встроенный электрод из оксида иридия (IrO_x) обеспечивает необходимую стабильность для измерений в физиологических условиях. Устройство способно динамически и линейно измерять концентрации глюкозы *in vitro* в соответствующем физиологическом диапазоне, демонстрируя при этом достаточную селективность по отношению к известным

интерферирующим веществам, присутствующим в интерстициальной жидкости, с разрешением и чувствительностью (1,51 nA/mM), сравнимыми с таковыми для состояния современные коммерческие системы непрерывного мониторинга глюкозы (НМГ). Таким образом, эта работа может обеспечить менее инвазивное и улучшенное НМГ у пациентов, страдающих диабетом.

Здесь амперометрический датчик основан на селективном превращении молекул глюкозы через глюкозооксидазу (GOx) в перекись водорода (H₂O₂). Далее концентрация H₂O₂ обнаруживается анодно на поверхности рабочего электрода (РЭ), когда применяется смещение +0,6V, согласно следующему набору реакций [53]:



в то время как на вспомогательном электроде (ВЭ) поток тока уравнивается реакцией восстановления:



Ввиду участия в реакции (3) кислорода, появляется необходимость обеспечить избыток O₂ по отношению к глюкозе на поверхности РЭ, чтобы избежать нежелательных эффектов насыщения в физиологически значимом диапазоне глюкозы. Кроме того, при +0,6V другие электроактивные вещества, присутствующие в тканевой жидкости, такие как мочевая, аскорбиновая кислоты, препятствуют обнаружению пероксида водорода, окисляются и вносят вклад в общий ток, таким образом генерируя ложные показания глюкозы. Как следствие, в РЭ необходимы дополнительные меры предосторожности для обеспечения правильной работы и избирательности датчика. Наконец, для того, чтобы сохранить потенциал РЭ фиксированным (и, следовательно, для поддержания стабильности датчика и обеспечения надежного отклика во времени), необходим третий электрод, выступающий в качестве эталона [54].

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Среди известных методов синтеза подобных бесферментных биосенсоров являются электрохимический рост (AIROF), электроосаждение, метод напыления оксидиридиевых плёнок (SIROF), метод термического осаждения (пиролиз IrCl_3 на подложке из Ti при 400-500 C)[55-57] и другие. Также существуют лазерные методы получения подобных структур, а именно: лазерный прямой перенос вещества (LIFT)[58]; индуцированное лазером химическое осаждение металла из газовой фазы (LCVD) [59]; импульсное лазерное осаждение (PLD)[60]. В каждом из вышеперечисленных методов присутствует ряд недостатков, связанный со слабым выделением вещества, как это происходит в AIROF, дороговизной метода, что порою обуславливается как высокой стоимостью оборудования, так и необходимостью поддержания дополнительных условий, такие как проведение эксперимента в вакууме, либо поддержания конкретных внешних условий, будь то высокие температуры или давление. В методе PLD недостатками являются следующие факторы: не подходит для нанесения толстых слоев металла, трудности в контроле толщины осаждённых материалов, необходимость перемещения мишени в условиях вакуума. В LIFT же минусами будет низкий уровень локализации, что приводит к осаждению не только на указанной области, и то, что данный метод находит применение только в формировании топологии одиночных металлизированных слоев.

В данной же работе предложен более легкий и дешевый способ – метод лазерно-индуцированного осаждения металлов из раствора (ЛОМР). Он основан на локальном осаждении металла из раствора путем химического восстановления металла или разложения его соли (комплекса), вызванного лазерным излучением. Лазерное осаждение металлов из растворов электролитов может быть использовано для изготовления микро- и наноразмерных металлических структур на поверхности диэлектриков и полупроводников различных типов.

Его преимуществами являются экономическая эффективность, поскольку не требуется дорогостоящее оборудование; образование небольшого количества токсичных отходов; ЛОМР обеспечивает более высокие скорости осаждения по сравнению с LCVD и LIFT; использование малых объемов растворов

металлизации. Метод позволяет получить микроструктуры заданного размера толщиной 10-100 мкм с высокоразвитой и пористой поверхностью. Кроме того, ЛОМР может быть выполнен за один этап, если металлизируемая поверхность имеет композитную (двух- или многофазную) структуру или включает области существенно разных составов [61], или за два этапа, если требуется предварительная активация поверхности. Значительное преимущество по сравнению с другими методами, использующими лазерное излучение, заключается в том, что его можно использовать для изготовления высокопроводящих металлических конструкций [62, 63].

2.1. Метод лазерно-индуцированного осаждения металла из раствора

Лазерно–индуцированное осаждение металла из раствора (ЛОМР) – это метод, основанный на протекающей в локальном объеме раствора в фокусе луча лазера химической реакции восстановления металла, приводящей к осаждению последнего на поверхности диэлектрической подложки. Среди минусов этого метода можно выделить возможную расфокусировку лазерного луча из-за движения подложки, и воздействие внешних условий (температуры окружающей среды) на результат осаждения.

1.1.1. Механизм ЛОМР

Лазерное излучение обладает уникальными характеристиками - малой расходимостью луча и монохроматичностью. Поскольку луч лазера может быть локально сфокусирован, то он служит идеальным источником энергии для инициации реакций в областях с микронными размерами, причем параметры облучения могут быть подобраны так, чтобы достаточное для протекания химической реакции поглощение излучения достигалось только в точке фокусировки лазерного луча [64]. Сфокусированное лазерное излучение имеет высокую интенсивность, особенно в случае использования импульсных лазеров. Поэтому под действием лазерного излучения в системе появляются состояния

далекие от равновесия и образуются большие температурные и концентрационные градиенты в месте воздействия. При возникновении таких условий появляются новые пути протекания процессов, которые не возникают в классической химической системе.

Процесс лазерно-индуцированного осаждения может протекать по двум механизмам – фотохимически, и термохимически.

В первом случае при облучении вещества происходит образование свободных радикалов, возбужденных электронных состояний или свободных электронов при поглощении определенной длины волны на отдельные молекулы или группы атомов, с протеканием фотохимической реакции.

В случае термохимического механизма реакция протекает из-за локального возрастания температуры ввиду поглощения излучения веществом. Для растворов процесс может быть количественно описан по закону Бугера-Ламберта-Бера:

$$\ln(I/I_0) = -\varepsilon \cdot C \cdot l,$$

где I_0 и I - интенсивность попавшего в поглощающую среду и прошедшего излучения, соответственно; ε – молярный коэффициент поглощения, C – концентрация компонента, l - длина оптического пути лазерного луча.

Термохимический механизм, в свою очередь, может иметь два пути развития:

1) В случае больших концентраций компонентов принцип, согласно которому способность молекулы поглощать излучение не зависит от состояния других молекул, может нарушаться, и в концентрированных растворах может потребоваться более сложный расчет. Энергия поглощаемого излучения переходит в кинетическую энергию движения молекул, что провоцирует увеличение температуры в определенном объеме раствора. При проведении реакции особое значение следует придавать молярному коэффициенту поглощения вещества, концентрациям компонентов и учету излучения, поглощенного на оптическом пути луча от границы атмосфера - поглощающая среда, до точки фокусировки лазера.

Повышение температуры в точке фокусировки приводит к возрастанию скорости реакции.

2) Во втором случае коэффициент поглощения раствора и материала подложки на длине волны падающего излучения мал и не достаточен для заметного повышения температуры в области фокусировки лазера. Известно, что, как правило, в первую очередь осаждение металла происходит на каталитически-активных центрах, образовавшихся на поверхности подложки под воздействием излучения. В результате формирования с участием активных центров тонкого слоя осаждённого металла на поверхности подложки, локально происходит усиление энергии лазерного луча, приводящее к большому росту температуры и, вследствие, ускорению химической реакции. Следует заметить, что описанный выше механизм может проходить и как вторичный процесс после реализации фото- либо термохимического механизма при условии осаждения слоя металла достаточной толщины.

Существуют критерии, согласно которым реакции могут быть отнесены к термо- или фотоиндуцированным. Самый лёгкий способ различить данные типы реакций, инициированные лазером, - это изучение зависимости ширины зоны осаждения от мощности лазерного луча на подложке. Дополнительно можно изменять температуру всего раствора, охлаждая или нагревая кювету целиком. При фотохимическом процессе изменение температуры не возымеет существенного влияния на скорость протекания реакции. В ином же случае процесс будет ускоряться с увеличением температуры (иначе говоря, процесс окажется возможен при более низкой мощности лазерного излучения, а при той же мощности и большей температуре будет осаждаться больше материала).

В случае если реализуются одновременно два механизма, оценить вклад каждого будет трудно: реакция будет протекать лишь в локальном объеме раствора в фокусе лазерного луча, из-за чего проведение исследования стандартными методами химической кинетики с целью установления истинного механизма будет невозможным. В данном случае лишь на качественном уровне можно говорить о доминировании термоиндуцированного механизма [65].

1.1.2. Влияющие на процесс осаждения факторы

На результат процесса лазерно-индуцированного осаждения металла влияют следующие группы факторов.

1) Физические факторы, к которым относятся длина волны и мощность лазерного излучения, скорость сканирования, а также температура как окружающей среды, так и раствора.

2) К химическим факторам относится состав раствора, концентрации компонентов, рН среды, и протекающие в растворе химические реакции.

3) Свойства поверхности подложки также имеют своё влияние. На результат может влиять структура диэлектрика, на которой происходит осаждение, наличие на ней активированных и каталитических центров, её дефектность, фазовый состав, и непосредственно химические свойства компонентов диэлектрика.

2.2. Описание установки и принципов её работы

Для осаждения структур использовалась установка для лазерно-индуцированного синтеза с кюветой для жидкой фазы. Установка для проведения лазерно-индуцированного синтеза приведена на Рис. 3.

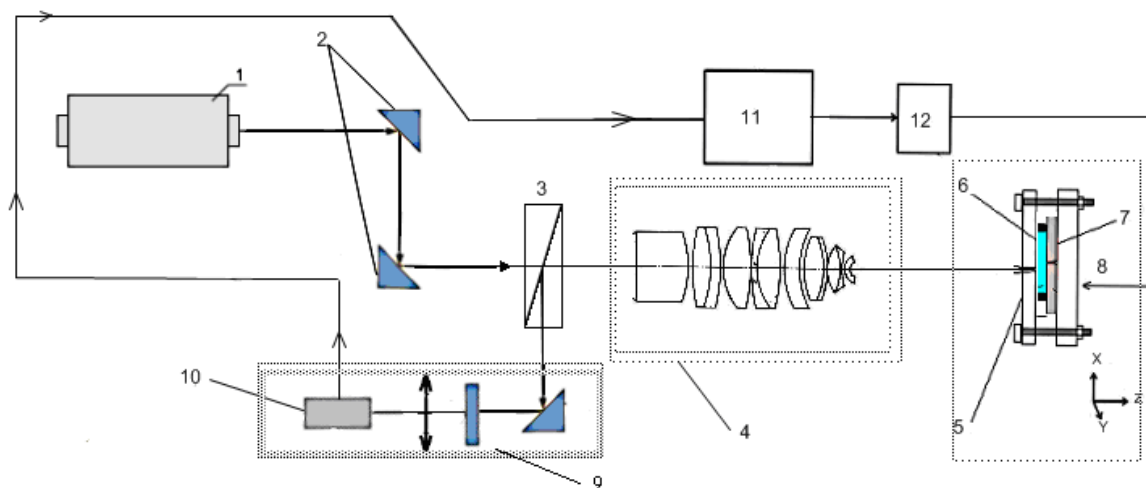
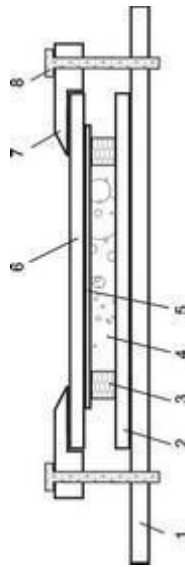


Рис. 3. Схема экспериментальной установки для лазерно-индуцированного осаждения металлов из раствора. Твердотельный лазер с диодной накачкой (CW 532 нм) (1) система коллимирующих зеркал (2), светоделительная пластина (3), объектив (4), прозрачное кварцевое стекло рабочей кюветы (5), рабочий раствор (6), диэлектрическая подложка (7), трехосный транслятор (8), система визуального наблюдения, интегрированная в систему фокусировки (9), CCD-камера (10), контроллер транслятора (12), ПК (11).

Луч лазера фокусируется неподвижно с помощью системы фокусировки на плоской диэлектрической подложке, которую перемещали на моторизованном трансляторе относительно точки фокуса с заданной скоростью, что позволяет получать пористые осадки заданных геометрических размеров и форм. Мощность лазерного излучения контролируется ваттметром LPM-905.

Облучаемая подложка находится в кювете для жидкой фазы, схема которой приведена на Рис. 4.

Ячейка для осаждения металла на диэлектрическую подложку представляет собой две плоскопараллельные пластины (1), разделенные силиконовой прокладкой (3), в которую, в свою очередь, заливается раствор (4). Между пластинами помещается диэлектрическая подложка (5), а также светофильтры (2 и 6), через которые проходит лазерное излучение перед тем, как попасть на поверхность подложки. С помощью крепежей (7 и 8) поддерживается прочность и герметичность кюветы.



Ячейка для осаждения структур

Рис. 4. Схематическое изображение осадительной ячейки.

Ниже показан вид лазерной установки, а также процедура лазерно-индуцированного осаждения металла из раствора (Рис. 5а и б соответственно)

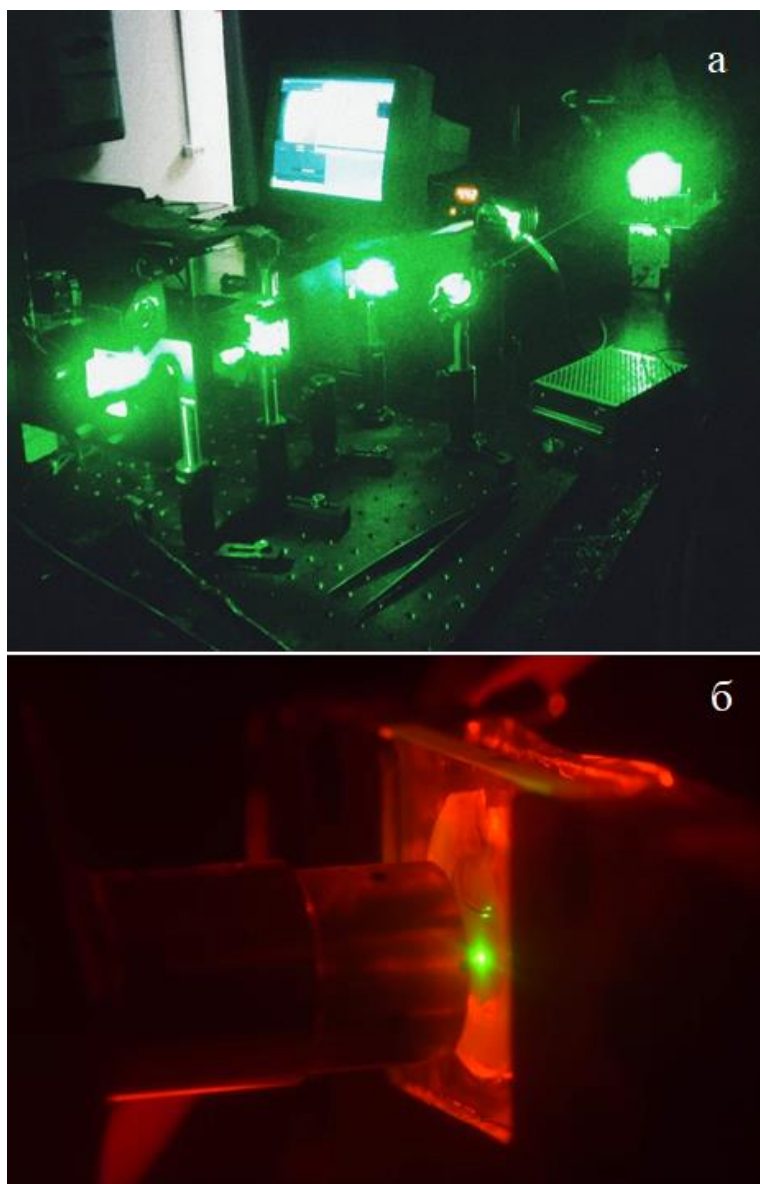


Рис. 5. Внешний вид лазерной установки (а); изображение процесса лазерно-индуцированного осаждения металла из раствора (б)

2.3. Методика процесса осаждения микроструктур

Методика выполнения процесса осаждения иридийсодержащих микроструктур с помощью лазерной установки проходит следующим образом:

1. Включение лазерной установки;
2. Настройка фокуса. В ходе данной настройки необходимо убедиться в точности прохождения лазерного луча через объектив. Далее измеряют

погрешность между входящей и выходящей мощностями излучения, которая не должна превышать 30%;

3. Подбор необходимой (в зависимости от образца) мощности излучения;

4. Настройка программы движения установки (транслятора) для осаждения вещества в виде полосы или иной геометрической формы (при необходимости);

5. Подготовка кюветы для раствора происходит следующим образом: между двумя чистыми плоскопараллельными пластинами с помощью резиновой прокладки крепится диэлектрическая подложка. Далее, путём вливания в кювету пробного объема раствора (либо же дистиллированной воды), проверяется герметичность кюветы, после чего та вставляется в кюветодержатель, закрепляется, и заполняется исследуемым раствором;

6. Настройка фокуса с помощью камеры, проверка на наличие процесса реакции, либо её инициации в кювете. Если осаждение одного металла проходит на поверхности осаждённого ранее второго, необходимо убедиться, что лазерный луч попадает непосредственно на уже осаждённую область.

7. Запуск программы (выстраивается необходимая программа с определенной траекторией и скоростью осаждения) и контроль качества хода эксперимента - поддержание объёма раствора в кювете и отслеживание протекания реакции;

8. По окончании процесса осаждения металла минимизировать влияние лазерного излучения на подложку либо уменьшением мощности излучения, либо перекрытием луча специальной заслонкой.

2.4. Получение иридийсодержащих материалов методом ЛОМР

1.1.3. Приготовление исходных растворов

Составы растворов для лазерно-индуцированного осаждения иридия и его полиметаллических микроструктур представлены в Табл. 2.

Для приготовления раствора для лазерно-индуцированного осаждения иридийсодержащих микросенсоров на аналитических весах брали навески трис(2-фенилпиридин)иридия(III), дихлор(дициклопентадиенил)платины(II), и хлор(трифенилфосфин)золота(I), и аккуратно переносили в стеклянные баночки малого объёма (от 10 до 20 мл) с герметично закрывающейся крышкой. Далее в мерным цилиндром отмеряли объём растворителя (ДМФА). Для каждой навески брался свой объём (для навески иридия 20 мл, для навесок золота и платины по 10 мл). Вымеренное количество растворителя аккуратно переливали в стеклянные баночки с навесками исходных веществ. В виду медленного растворения трис(2-фенилпиридин)иридия(III) в ДМФА, раствор аккуратно помешивался стеклянной палочкой. После полного растворения кристаллов растворы можно считать готовыми к применению. Навески брались в расчёт приготовления 2-3 мМ раствора.

Табл. 2. Составы растворов для лазерно-индуцированного осаждения иридия и его полиметаллических микроструктур.

Компонент	Данные по компоненту		Данные по растворам	
	М [г/моль]	m _{нав.} [мг]	V _{р-ля} ДМФА [мл]	С [мМ]
C33H24IrN3	654,78	40,15	20	3,07
C10H12Cl2Pt	398,19	11,92	10	2,99
C18H15AuClP	495,71	13,70	10	2,76

1.1.4. Осаждение иридийсодержащих микроэлектродов. Итоги синтеза

В первую очередь осаждался иридий. Для этого раствор заливался в кювету с подложкой, на которой лазером в ходе перемещения кюветы с фиксированной скоростью при помощи трёхосного транслятора образовывалась полоса. Таким образом была получена серия исключительно иридиевых (Ir) микроструктур в количестве одиннадцати штук.

Далее некоторые из полученных полосок отбирались для последующего наслоения (осаждения металла из раствора поверх имеющегося образца) платиной и золотом. Остальные были оставлены для изучения их свойств.

В начале поверх иридия осаждалась платина. Поместив подложку с осаждённым иридием в кювету, заливался раствор платины, после чего лазерный луч фиксировался на начале полосы, и осаждал платиновые микроструктуры поверх имеющихся. Так была получена иридиево-платиновая (Ir-Pt) серия микросенсоров, в количестве двух единиц.

Аналогичным образом были синтезированы иридиево-золотая (Ir-Au), и иридиево-золото-платиновая (Ir-Au-Pt) серии микросенсоров по 2 образца каждая. В последней платиновые микроструктуры образовывались поверх осаждённого на иридий золота.

Так как добиться скорого начала инициации реакции осаждения после фокусировки лазерного излучения на подложке было крайне трудно, траектория, по которой синтезировался микросенсор, заранее прогревалась лазером. В случаях, когда иридий после первого «скана» (процесса осаждения микроструктуры в виде полосы) образовывался на поверхности подложки в малых количествах, процедура повторялась до тех пор, пока полученная полоса не будет явной и достаточно широкой, что свидетельствовало о прохождении реакции по всей траектории.

Для облучения использовался твердотельный лазер с диодной накачкой, рабочая длина волны 532 нм, режим работы одномодовый TEM₀₀. Каждый образец синтезировался в виде дорожки, длинной в 10 мм, на ситалле СТ-50-1 (SiO₂ (60.5%), Al₂O₃ (13.5%), CaO (8.5%), MgO (7.5%), TiO₂ (10%)) размерами 15/30 мм и толщиной 0.6 мм. Осаждение велось на шероховатой стороне (Rz не ниже 0,032 мкм). В качестве второй подложки выступала стеклянная пластина размером 45/45/1,5 мм, размещённая во фронтальной части ячейки, на внутренней стороне которой (где стеклянная поверхность непосредственно контактирует с раствором) и проходило осаждение.

Итоги осаждения микроструктур из каждой серии представлены в Табл. 3.

Табл. 3. Итоги осаждения иридийсодержащих микроструктур.

Серия	№	~ w [W] [A]	~ R [кОм]	
			Стекло	Ситалл
Ir	1	1,3 4,75	0,5	2
	2		1,5	4
	3		3	3,5
	4		50	5
	5		3	-
	6		30	3
	7		8	5
	8		7	2,5
	9		24	4
	10		4	-
	11		6	-
Ir-Pt	6	0,9 3,85	70	5
	7		16	8
Ir-Au	1	1,1 4,3	4	3
	2		30	4,5
Ir-Au-Pt	8	0,8 3,65	13	3
	9		14	5

Скорость, при которой трёхосный транслятор передвигал кювету, составляла $0,45 \times 10^{-2}$ мм/с, что позволяло сфокусированному лазерному излучению тщательно идти по заданной траектории, а микроструктурам осаждаться на подложке в полной мере. Для каждой серии были подобраны оптимальные условия осаждения при различных мощностях (w), величины которых показаны в Табл. 3. Там же показано, какие из одиннадцати иридиевых образцов по порядковому номеру были отобраны для наслоения другими металлами. После каждой процедуры осаждения полученные материалы изучались на сопротивление (R) для предварительной оценки их потенциальных электрохимических свойств.

2.5. Методы исследования полученных микроструктур

1.1.5. Сканирующая электронная микроскопия

Сканирующий электронный микроскоп (SEM) использует сфокусированный пучок электронов высокой энергии для генерации разнообразных сигналов на поверхности твердых образцов [66]. Сигналы, которые происходят от взаимодействия электронов с образцом раскрывают информацию об образце, включая внешнюю морфологию (текстуру), химический состав, кристаллическую структуру и ориентацию материалов, из которых состоит образец. Данные собираются на выбранной области поверхности образца, и генерируется двухмерное изображение, которое отображает пространственные изменения этих свойств. Области шириной приблизительно от 1 см до 5 мкм могут быть отображены в режиме сканирования с использованием традиционных методов SEM (увеличение в диапазоне от 20х до приблизительно 30000х, пространственное разрешение от 50 до 100 нм). SEM также может выполнять анализ выбранных точек на образце. Этот подход особенно полезен при качественном или полуколичественном определении химических составов (с использованием EDX), кристаллической структуры и ориентации кристаллов (с использованием EBSD).

1.1.6. Энергодисперсная рентгеновская спектроскопия

Энергетическая дисперсионная рентгеновская спектроскопия (EDS или EDX) - это метод химического микроанализа, используемый в сочетании со сканирующей электронной микроскопией (SEM). Метод EDX обнаруживает рентгеновское излучение, испускаемое образцом при бомбардировке электронным пучком, для характеристики элементного состава анализируемого объема. Элементы поверхности образца и его фазы размером до 1 мкм или менее могут быть проанализированы.

Когда образец бомбардируется электронным пучком SEM, электроны выбрасываются из атомов, составляющих поверхность образца. Получающиеся электронные вакансии заполнены электронами из более высокого состояния, и рентгеновское излучение испускается, чтобы уравновесить разность энергий между состояниями двух электронов. Энергия рентгеновского излучения характерна для элемента, из которого она была излучена.

Детектор рентгеновских лучей EDX измеряет относительное количество испускаемых рентгеновских лучей в зависимости от их энергии. Детектор, как правило, представляет собой твердотельное устройство с кремниевым дрейфующим литием. Когда падающий рентгеновский луч попадает на детектор, он создает зарядный импульс, который пропорционален энергии рентгеновского излучения. Импульс заряда преобразуется в импульс напряжения (который остается пропорциональным энергии рентгеновского излучения) с помощью чувствительного к заряду предварительного усилителя. Затем сигнал отправляется в многоканальный анализатор, где импульсы сортируются по напряжению. Энергия, определенная из измерения напряжения, для каждого падающего рентгеновского излучения отправляется на компьютер для отображения и дальнейшей оценки данных.

1.1.7. Рентгено-фазовый анализ

Основной задачей рентгенофазового анализа является идентификация различных фаз в и смеси на основании анализа дифракционной картины, даваемой исследуемым образцом. Качественный рентгенофазовый анализ проводят сравнением экспериментальных значений межплоскостных расстояний и относительных интенсивностей с эталонными рентгенограммами, так как каждое вещество имеет свою «картину» расположения линий на рентгенограмме. Качественный фазовый анализ позволяет разделять и идентифицировать отдельные фазы гетерогенной системы. Объектами исследования в фазовом анализе являются металлы, сплавы, химические соединения, минералы, руды. С помощью рентгенофазового анализа можно определить состав неметаллических включений в металлах (оксидов, сульфидов, нитридов, карбидов), распределение легирующих элементов в многофазных сплавах. Широкое применение рентгенофазового анализа объясняется хорошо разработанной теорией, простотой приготовления образцов, относительной экспрессностью получения качественных результатов, сохранением образцов без изменения после исследования, возможностью использования поликристаллического материала, возможностью массовых измерений, возможностью различения полиморфных модификаций,

возможностью получения из экспериментальной дифрактограммы, наряду с данными о фазовом составе, данных о структурных характеристиках отдельных фаз и их количестве.

1.1.8. Циклическая вольтамперометрия и амперометрия

Циклическая вольтамперометрия (ЦВА) является методом с быстрой разверткой потенциала. Основными преимуществами данного метода являются значительное быстродействие, простота и эффективность при исследовании свойств веществ и динамики их электрохимических реакций. Суть метода заключается в увеличении потенциала во всем рабочем диапазоне, после чего направление развертки меняется на обратное так, что при обратном изменении потенциала он возвращается практически к исходному значению.

Амперометрия – это группа неравновесных электрохимических методов анализа, основанных на измерении зависимости тока от внешних параметров аналитического процесса (например, от объема титранта) при постоянном значении поляризации индикаторного электрода. Амперометрия является частным случаем вольтамперометрии, и её методы подразделяются на прямые и косвенные. Прямая амперометрия в дополнение к прямой потенциометрии является одним из основных принципов функционирования электрохимических сенсоров.

Для анализа использовалась стандартная трехэлектродная ячейка (Рис. 6), состоящая из индикаторного электрода – МПО, вспомогательного – платинового электрода, и электрода сравнения – хлорсеребряного электрода.

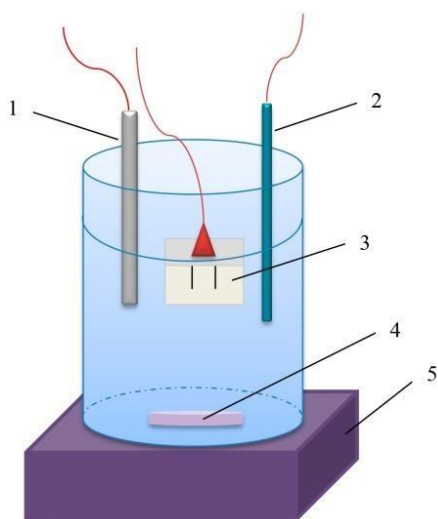


Рис. 6. Схема стандартной трёхэлектродной ячейки: хлорсеребряный электрод (1), платиновый электрод (2), индикаторный электрод (3), магнит (4), магнитная мешалка (5).

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1. Результаты лазерно-индуцированного синтеза иридийсодержащих микроструктур

В настоящей работе нами были синтезированы микроструктуры на основе иридия, золота и платины с помощью метода лазерно-индуцированного осаждения металлов из раствора (ЛОМР). Таким образом, мы получили иридиевые (Ir) микроструктуры из раствора трис(2-фенилпиридин)иридия(III) в *N,N*-Диметилформамиде (ДМФА) на поверхности стекла и стеклокерамики (ситалл СТ-50-1). Иридиево-платиновые (Ir-Pt) и иридиево-золотые (Ir-Au) микроструктуры были получены с помощью последовательного лазерно-индуцированного осаждения платины и золота из растворов дихлор(дициклопентадиенил)платины(II) и хлорида трифенилфосфина золота(I) в ДМФА соответственно на поверхность предварительно синтезированных иридиевых микроосадков.

Иридиево-золото-платиновые (Ir-Au-Pt) микроструктуры были получены с помощью последовательного лазерно-индуцированного осаждения платины на поверхность иридиево-золотых (Ir-Au) микроосадков, а также с помощью соосаждения этих трёх металлов из соответствующих растворов в ДМФА. Оптические микрофотографии этих микроосадков показаны на Рис. 7.

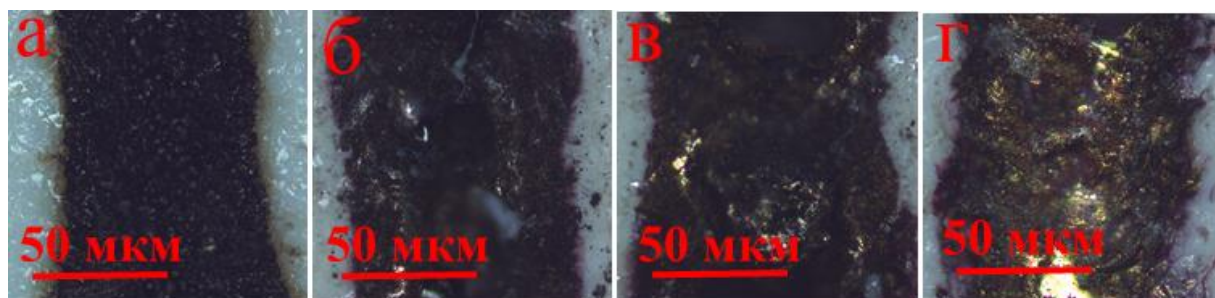


Рис. 7. Оптические микрофотографии (а) иридиевых (Ir), (б) иридиево-платиновых (Ir-Pt), (в) иридиево-золотых (Ir-Au) и (г) иридиево-золото-платиновых (Ir-Au-Pt) микроструктур, полученных на поверхности стеклокерамики.

Электрические свойства каждого из синтезированных микроосадков представлены в Табл. 3. Электрическая проводимость иридийсодержащих материалов является допустимой для их дальнейшего использования в качестве микроэлектродов в электрохимических исследованиях.

3.2. Исследование морфологии и структуры синтезированных иридийсодержащих микроструктур

Для того, чтобы получить информацию о морфологии поверхности и качественной оценки элементного состава осажденных микроструктур были проведены исследования с помощью метода сканирующей электронной микроскопии (SEM) и энергодисперсионного рентгеновского анализа (EDX). Результаты этих исследований представлены на Рис. 8-15. Осаждение иридия непосредственно на поверхность диэлектрической подложки (стекло) имеет непрерывный и однородный характер. Микроскопический и элементный анализ (Рис. 8-9) показал, что Ir имеет достаточно развитую поверхность. В свою очередь, EDX-анализ, помимо иридия, выявил наличие некоторых других элементов, которые, вероятнее всего, связаны с материалом подложки.

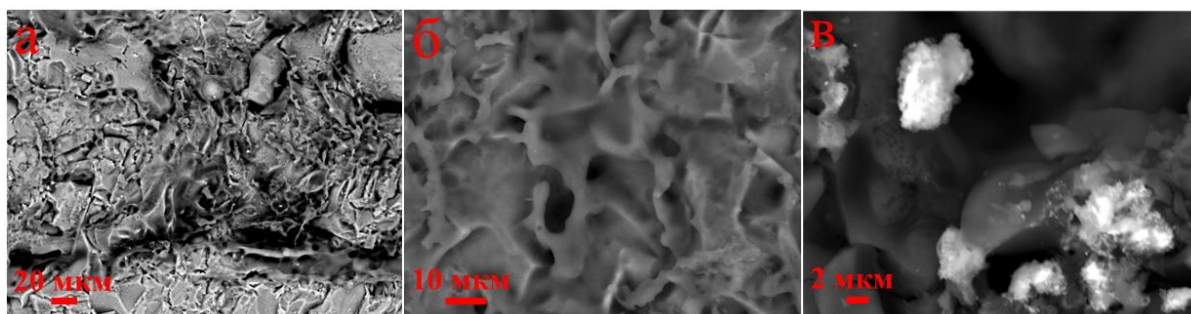


Рис. 8. Электронные микрографии иридиевых (Ir) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

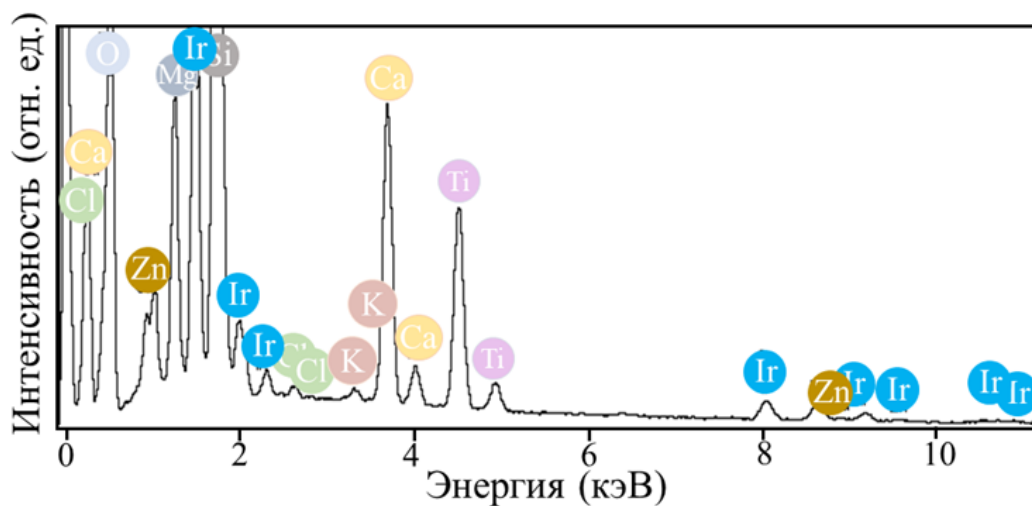


Рис. 9. Энергодисперсионные рентгеновские спектры иридиевых (Ir) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

Модификация поверхности иридия платиной не привело к значительному повышению развитости поверхности. Электронная микроскопия показала, что платина образует микроразмерные структуры неправильной формы на поверхности иридия (Рис. 10б и в). Наличие других элементов в Ir-Pt также связано с материалом подложки.

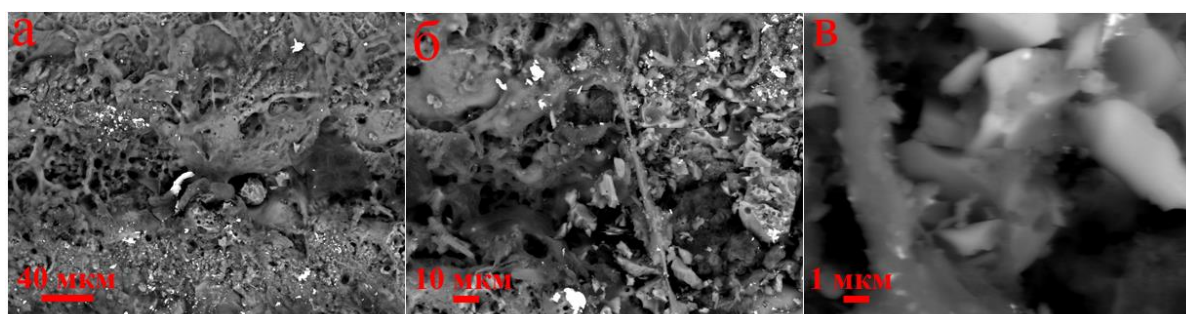


Рис. 10. Электронные микрографии иридиево-платиновых (Ir-Pt) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

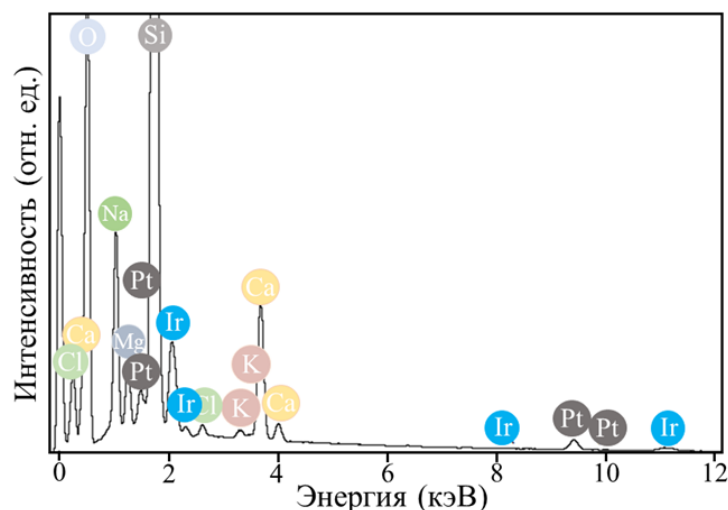


Рис. 11. Энергодисперсионные рентгеновские спектры иридиево-платиновых (Ir-Pt) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

В результате лазерно-индуцированного последовательного синтеза происходит осаждение золота на поверхность иридиевого микроосадка. Полученный осадок имеет как островковый, так и непрерывный характер (Рис. 12а), поверхность которого развита значительно по сравнению с двумя предыдущими материалами. Золото высаживается в виде отдельных микро- и наноразмерных капель (Рис. 12в), подверженных агломерации (Рис. 12б). Наличие других элементов в Ir-Au также связано с материалом подложки.

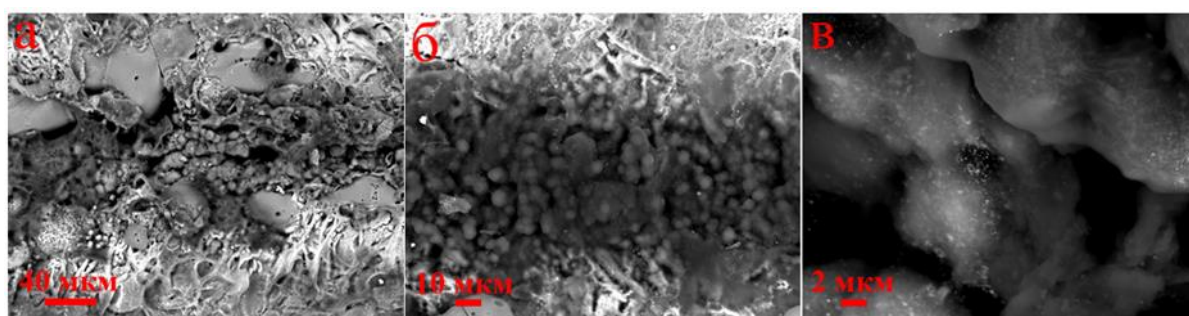


Рис. 12. Электронные микрографии иридиево-озолотых (Ir-Au) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

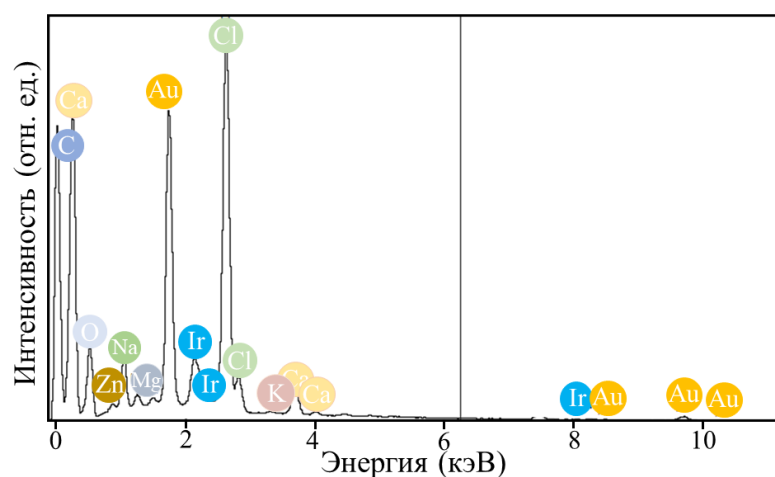


Рис. 13. Энергодисперсионные рентгеновские спектры иридиев-озолотых (Ir-Au) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

Самые интересные результаты были получены при последовательном осаждении платины на поверхность Ir-Au. Итак, под воздействием лазерного излучения нами был получен материал, который в ряде моментов сходен с Ir-Au, однако имеет ряд принципиальных отличий (Рис. 14). Осадок Ir-Au-Pt представляет собой шаровую упаковку с высокоразвитой поверхностью, состоящий из частиц сферической формы диаметром 40-400 нм каждого из этих металлов как индивидуально, так и в виде смеси (Рис. 14в). В отличие от предыдущего образца, не наблюдается полная агломерация мелких частиц в кластеры, однако появляется существенный разброс по их размеру (Рис. 14б и в). EDX-анализ показывает четкое разделение фаз иридия, золота и платины (Рис. 14в и 15). Это может служить косвенным доказательством того, что осаждение проходит в относительно мягких условиях, без процесса плавления золота и платины. EDX-анализ также показал избыточное содержание кислорода, кальция и хлора, что можно связать с материалом подложки.

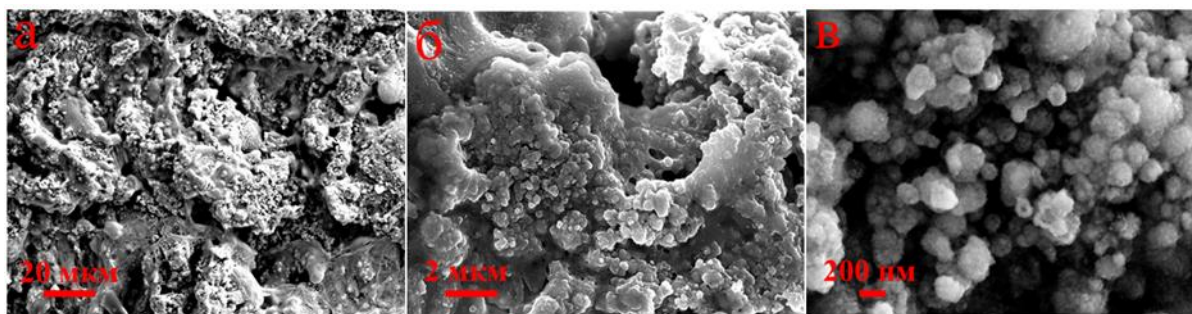


Рис. 14. Электронные микрографии иридиево-золото-платиновых (Ir-Au-Pt) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

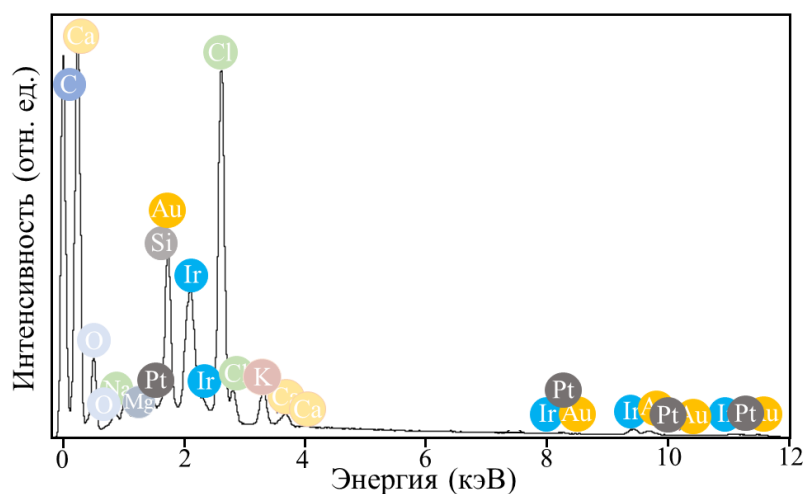


Рис. 15. Энергодисперсионные рентгеновские спектры иридиево-золото-платиновых (Ir-Au-Pt) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

Для всех четырех материалов сравнение элементного анализа части микроосадка и поля подложки не выявил существенного различия между ними.

Для установления фазового состава полученных иридийсодержащих микроструктур были проведен рентгенофазовый анализ (РФА). Проведенный рентгенофазовый анализ микроосадков показал наличие полифазной многокомпонентной системы с содержанием металлических и оксидной фаз (Рис. 16-19). Для всех образцов металлической фазой является иридий, а оксидной фазой служит четырехвалентный оксид иридия (IrO_2). Дополнительными металлическими фазами являются: платина для Ir-Pt, золото для Ir-Au, а также платина и золота для Ir-Au-Pt. Наличие IrO_2 во всех микроосадках согласуется с их достаточно высокими значениями электрического сопротивления ($\sim 2\text{-}16$ кОм), близкими к полупроводниковым.

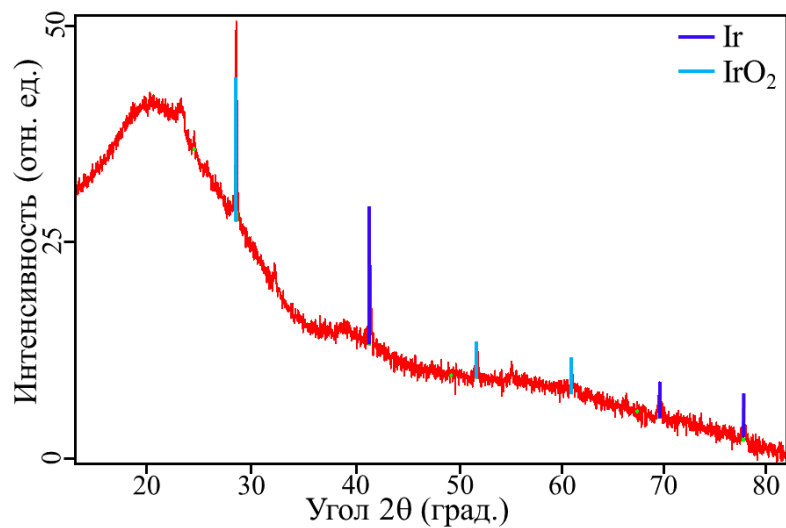


Рис. 16. Дифрактограмма иридиевых (Ir) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

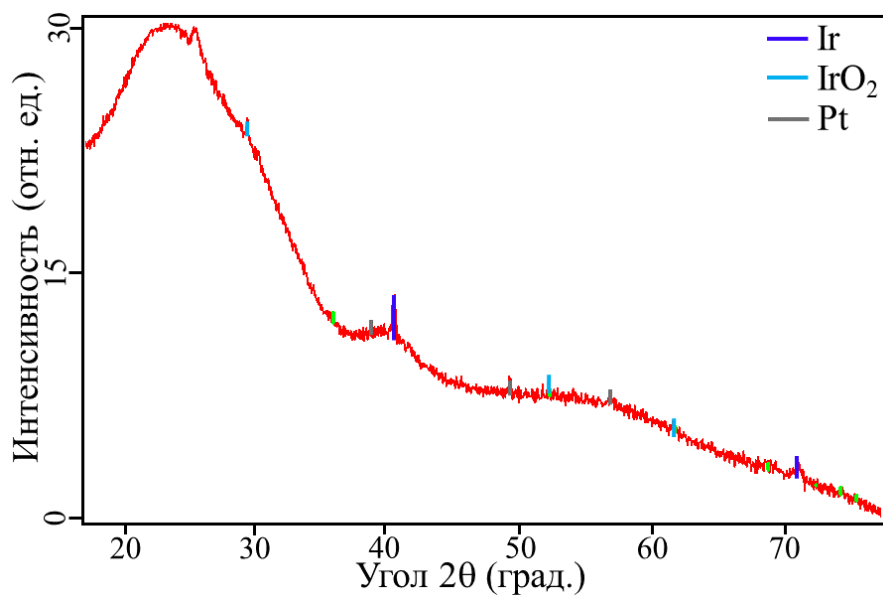


Рис. 17. Дифрактограмма иридиево-платиновых (Ir-Pt) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

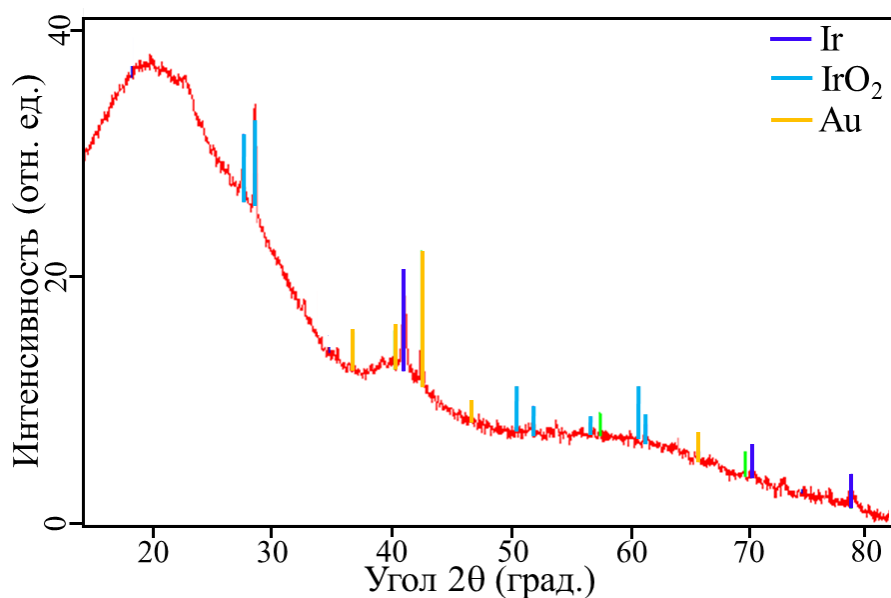


Рис. 18. Дифрактограмма иридиево-золотых (Ir-Au) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

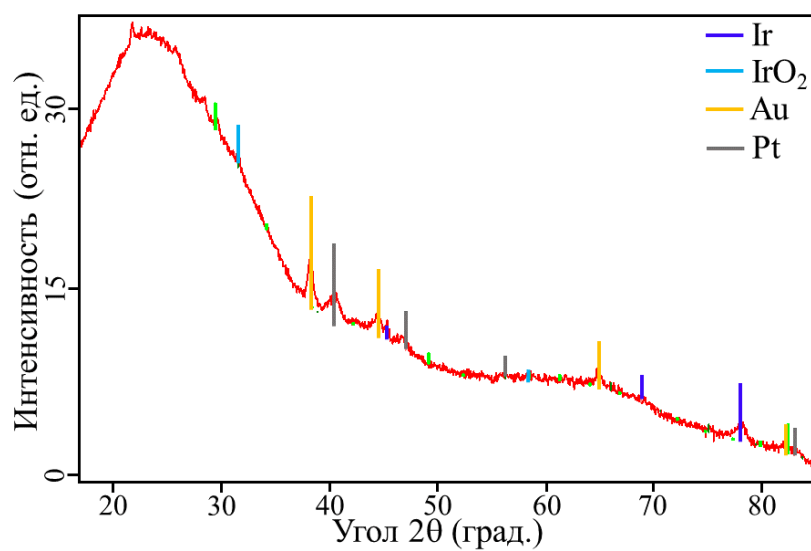


Рис. 19. Дифрактограмма иридиево-золото-платиновых (Ir-Au-Pt) микроструктур, полученных методом лазерно-индуцированного осаждения.

Таким образом, фазовый состав микроосадков, определенный рентгенофазовым анализом, согласуется с результатами EDX-анализа и исследований их электрических свойств.

3.3. Исследование сенсорных свойств синтезированных иридийсодержащих микроэлектродов в растворах с различным содержанием D-глюкозы

Для изучения сенсорной активности иридийсодержащих микроэлектродов, полученных с помощью ЛОМР, по отношению к глюкозе были сняты циклические вольтамперограммы на диапазоне потенциалов от -800 до 800 мВ в растворах с различным содержанием D-глюкозы. Диапазон тока – 1000мкА.

Пики потенциалов электрокаталитического окисления и восстановления глюкозы для Ir не имеют четко выраженной формы. Приблизительно их можно наблюдать: окисление – в диапазоне от -50 до 200 мВ, а восстановление – в диапазоне от -100 до 300 мВ и от -600 до -200 мВ (Рис. 20).

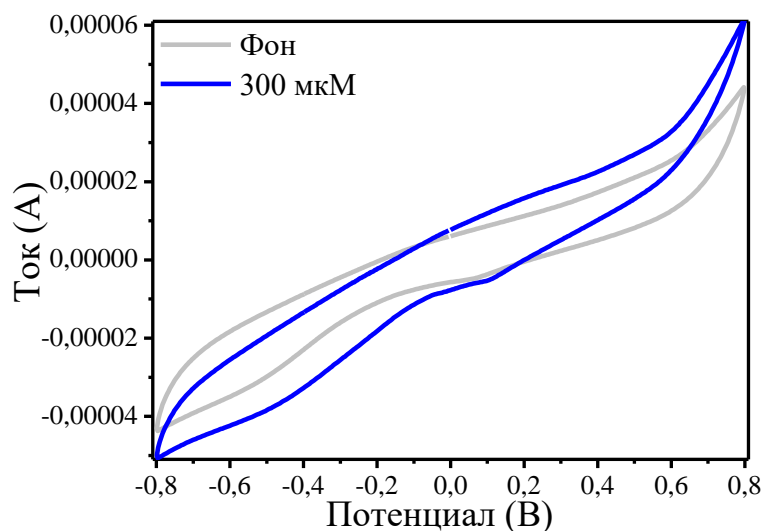


Рис. 20. Циклические вольтамперограммы иридиевых (Ir) микроструктур, полученные в фоновом растворе (0,1 М NaOH) и растворе 300 мкМ D-глюкозы.

Для Ir-Pt пики потенциалов Ox-Red реакций также не имеют четкой формы. Область потенциалов электрокаталитического окисления ~ 200-400 мВ и 500-600 мВ, а область восстановительных потенциалов ~ от -500 до -200 мВ (Рис. 21).

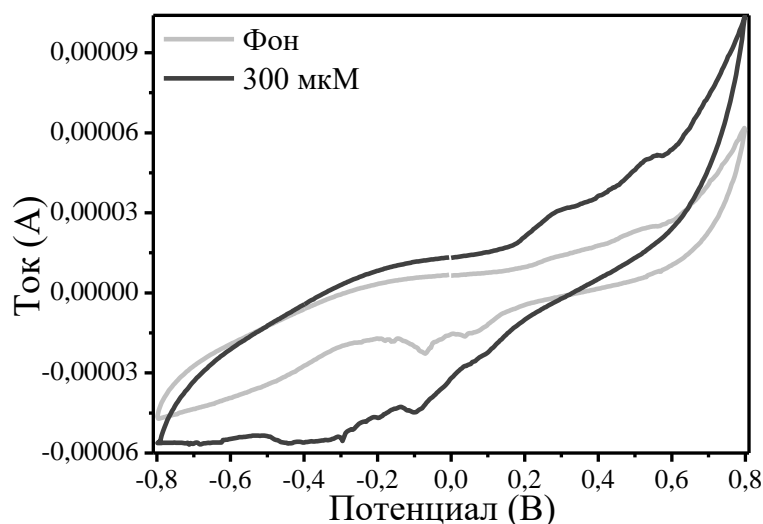


Рис. 21. Циклические вольтамперограммы иридиево-платиновых (Ir-Pt) микроструктур, полученные в фоновом растворе (0,1 М NaOH) и растворе 300 мкМ D-глюкозы.

Область потенциалов анодного и катодного окисления глюкозы для Ir-Au наблюдаются в диапазоне ~ от 50 до 200 мВ и от ~ -450 до -200 мВ, соответственно (Рис. 22).

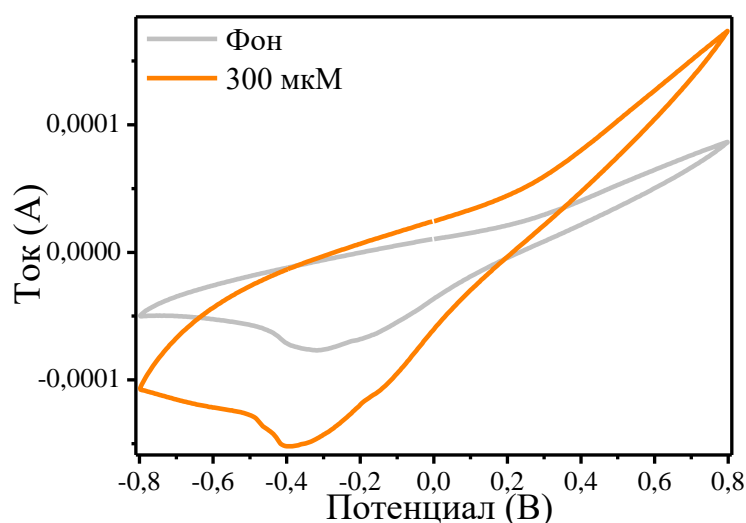


Рис. 22. Циклические вольтамперограммы иридиево-золотых (Ir-Au) микроструктур, полученные в фоновом растворе (0,1 М NaOH) и растворе 300 мкМ D-глюкозы.

Пики потенциалов электрокаталитического окисления и восстановления глюкозы для Ir-Au-Pt имеют ярко выраженный характер для всей области концентраций аналита. Область анодного окисления: ~ от -100 до 100 мВ, а также области катодного окисления глюкозы между -500 и -300 мВ и между 0 и 100 мВ.

Кроме того, наблюдается сдвиг второй области катодного окисления при увеличении концентрации D-глюкозы (Рис. 23).

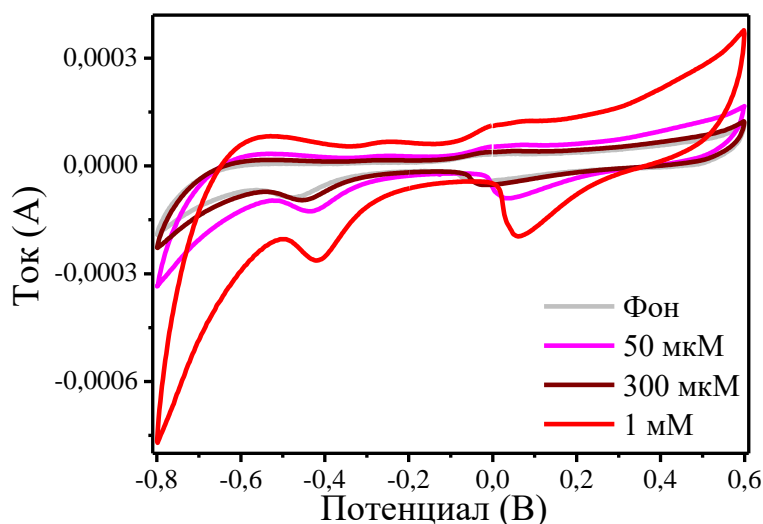


Рис. 23. Циклические вольтамперограммы иридиево-золото-платиновых (Ir-Au-Pt) микроструктур, полученные в фоновом растворе (0,1 М NaOH) с различным содержанием D-глюкозы.

Для всех микроэлектродов значение токов и потенциалов воспроизводились при проведении измерений в разное время, что указывает на их устойчивость и достаточную прочность.

На рис. 24 продемонстрированы циклические вольтамперограммы (ЦВА) всех иридийсодержащих микроструктур (микроэлектродов), полученные в растворах 1 мМ D-глюкозы.

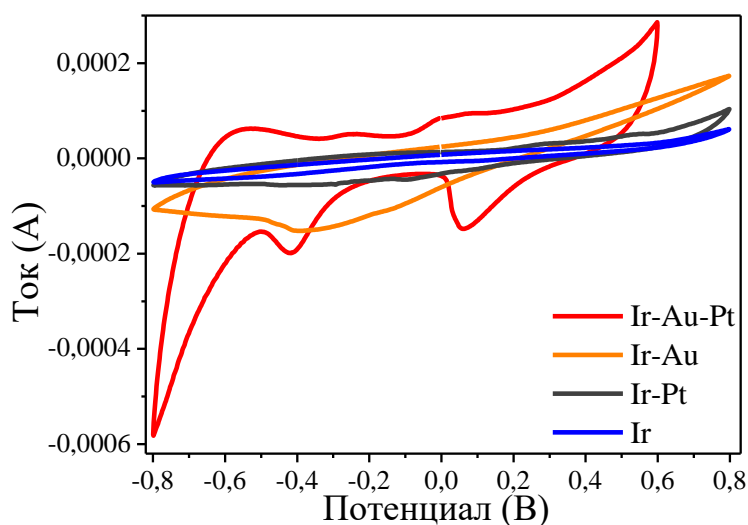


Рис. 24. Циклические вольтамперограммы иридийсодержащих микроструктур, полученные в растворах 1 мМ D-глюкозы.

Здесь можно отметить, что форма ЦВА для Ir-Au-Pt значительно отличается от других микроэлектродов, синтезированных нами. Известно, что площадь ЦВА напрямую связана со степенью развитости поверхности электрода. Более того, величина этого параметра определяет чувствительность электрода к тому или иному аналиту. Как показано на рис. 28, модификация иридиевого (Ir) микроосадка платиной значительно не улучшает его сенсорные свойства. В отличие от этого, модификация иридия золотом и, в особенности, смесью золота и платины вызывает заметное увеличение площади ЦВА. В результате чего, последовательное лазерно-индуцированное осаждение иридия, золота и платины позволяет получить микроэлектрод с гораздо более высоким аналитическим откликом. Поэтому, в дальнейшем более подробные исследования проводились только для Ir-Au-Pt.

Амперометрический метод также был использован для оценки сенсорных свойств иридийсодержащих микроэлектродов по отношению к глюкозе.

Рис. 25 иллюстрируют типичную амперограмму, характеризующую реакцию Ir-Au-Pt на последовательные добавки D-глюкозы к фоновому раствору при потенциале 65 мВ, соответствующего области двойного электрического слоя. Здесь можно заметить, что увеличение концентрации глюкозы приводит к увеличению аналитического сигнала.

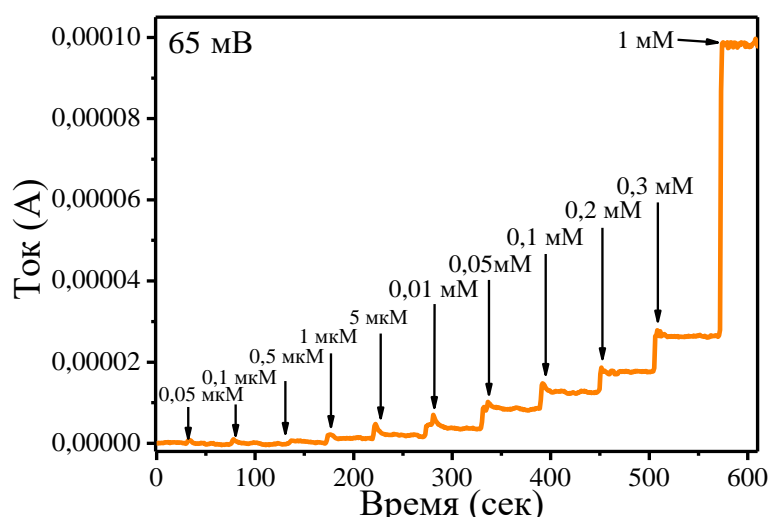


Рис. 25. Амперограмма иридиево-золото-платинового (Ir-Au-Pt) микроэлектрода в фоновом растворе 0,1 М NaOH с добавлением D-глюкозы различной концентрации при потенциале 65 мВ.

Также, на Рис. 26 представлены линейные зависимости фарадеевского тока для Ir-Au-Pt, измеренного при потенциале 65 мВ, от концентрации добавки D-

глюкозы. Кроме того, на рисунках 27-29 показаны аналогичные зависимости для остальных микроэлектродов, полученные при соответствующих потенциалах анодного и катодного окисления глюкозы.

Предел обнаружения (LOD) глюкозы для микроэлектродов был вычислен с помощью следующего уравнения: $LOD = 3S/b$, где S – это стандартное отклонение от линейности, b – наклон калибровочной кривой (линейные отрезки на Рис. 26-29). LOD для Ir-Au-Pt по отношению к бесферментному определению D-глюкозы составляет 0,12 мкМ, а максимальная чувствительность – 9959 мкА/мМ см². Режим линейности – 0,5-1000 мкМ. Низкий предел обнаружения, проявляемый Ir-Au-Pt, можно объяснить большой площадью поверхности этого материала; тогда как, его высокая чувствительность может быть связана с электрокаталитической синергией между иридием, золотом и платиной.

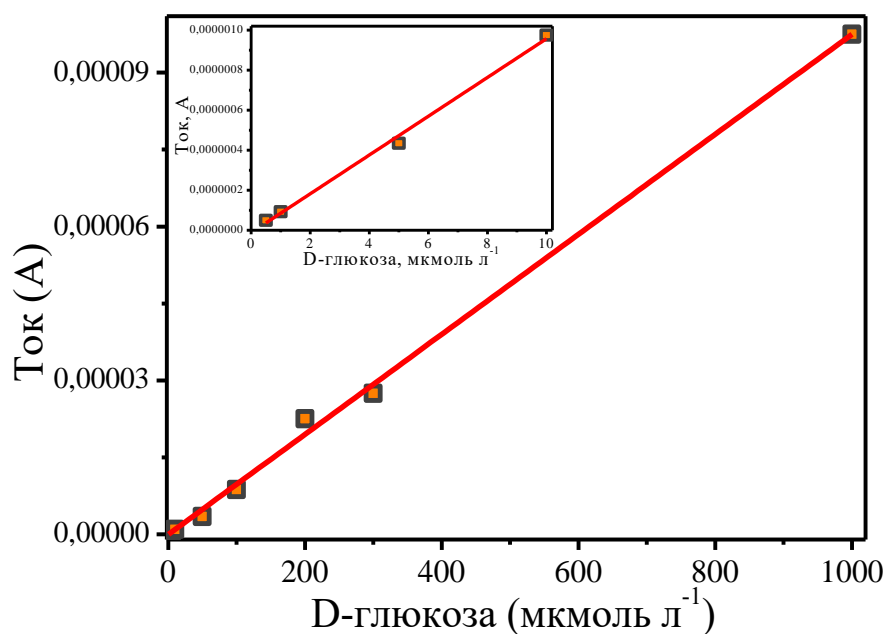


Рис. 26. Зависимость изменения фарадеевского тока, измеренного при потенциале 65 мВ, от концентрации добавки D-глюкозы для иридиево-золото-платинового (Ir-Au-Pt) микроэлектрода.

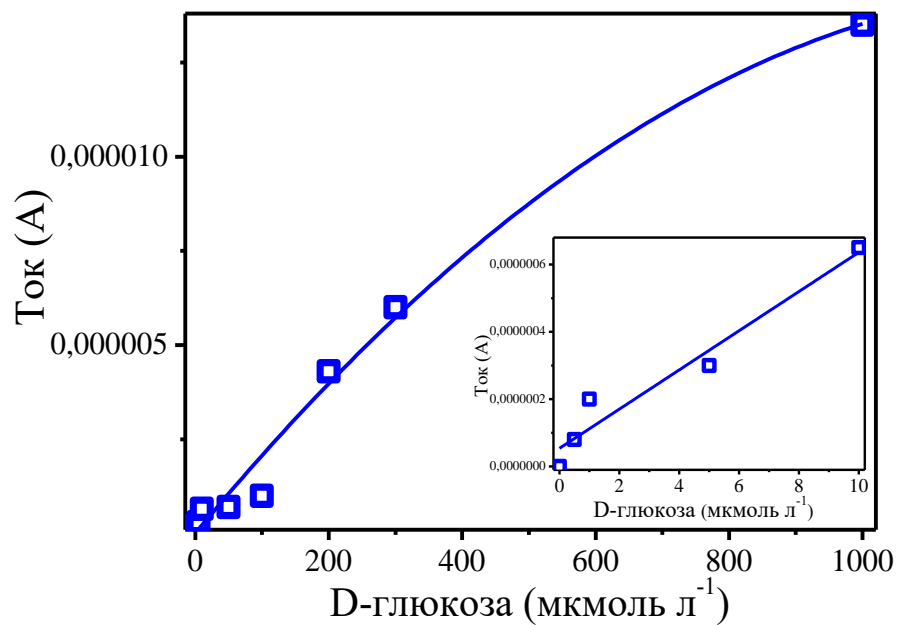


Рис. 27. Зависимость изменения фарадеевского тока, измеренного при потенциале 170 мВ, от концентрации добавки D-глюкозы для иридиевого (Ir) микроэлектрода.

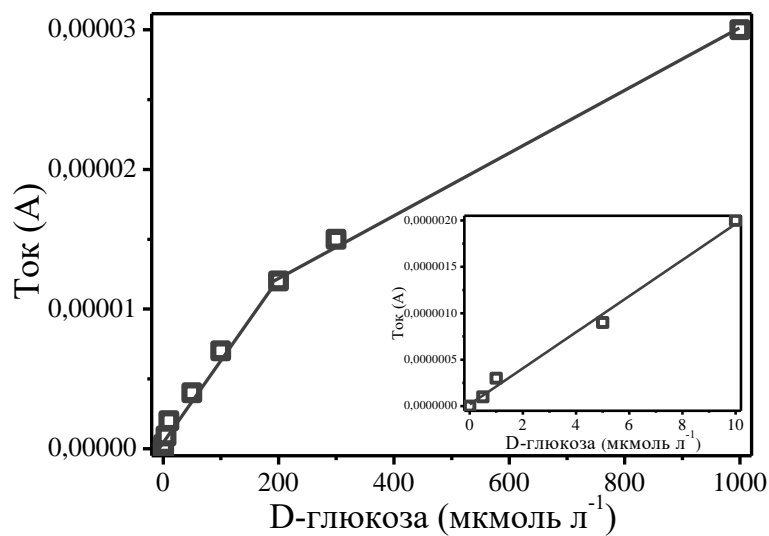


Рис. 28. Зависимость изменения фарадеевского тока, измеренного при потенциале 280 мВ, от концентрации добавки D-глюкозы для иридиево-платинового (Ir-Pt) микроэлектрода.

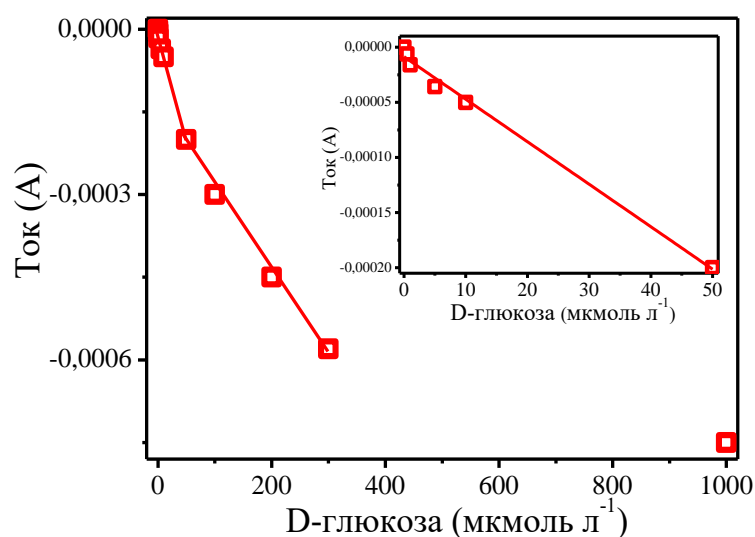


Рис. 29. Зависимость изменения фарадеевского тока, измеренного при потенциале -300 мВ, от концентрации добавки D-глюкозы для иридиево-золотого (Ir-Au) микроэлектрода.

Нами было проведена сравнительная характеристика сенсорных свойств, синтезированных материалов (Табл. 4). Было установлено, что лазерно-индуцированная модификация иридия смесью золота и платины приводит к наибольшему улучшению сенсорной активности по отношению к бесферментному определению D-глюкозы.

Табл. 4. Сравнение сенсорной активности к определению D-глюкозы для всех микроэлектродов, полученных в рамках данной работы.

Электрод	Чувствительность [мкА/мМ×см ²]	Линейный диапазон [мкМ]	Предел обнаружения [мкМ]
Ir	-*	до 10	-*
Ir-Pt	1897	0,5 - 200 и 200 - 1000	0,85 и 184
Ir-Au	3434	0,5 - 50 и 50 - 300	0,55 и 54
Ir-Au-Pt	9959	0,5 - 1000	0,12
*низкая сенсорная активность (не установлено)			

Селективность является довольно важной характеристикой любого сенсора, нами была изучена селективность Ir-Au-Pt микроэлектрода по отношению к D-глюкозе в присутствии таких мешающих веществ как мочевая кислота (UA), аскорбиновая кислота (AA), 4-ацетидамофенол (AP) и перекись водорода (H_2O_2) которые обычно сосуществуют с глюкозой в крови человека. Результаты этих исследований представлены на Рис. 30. На этом рисунке мы можем наблюдать постепенное увеличение амперометрического тока с последовательным добавлением аналитов. Здесь совершенно очевидно, что аналитический отклик, демонстрируемый Ir-Au-Pt по отношению к глюкозе гораздо заметнее чем тот, который наблюдается для всех мешающих аналитов при потенциале 65 мВ. Таким образом, согласно результатам этого эксперимента, можно сделать вывод, что Ir-Au-Pt проявляет хорошую селективность по отношению к D-глюкозе.

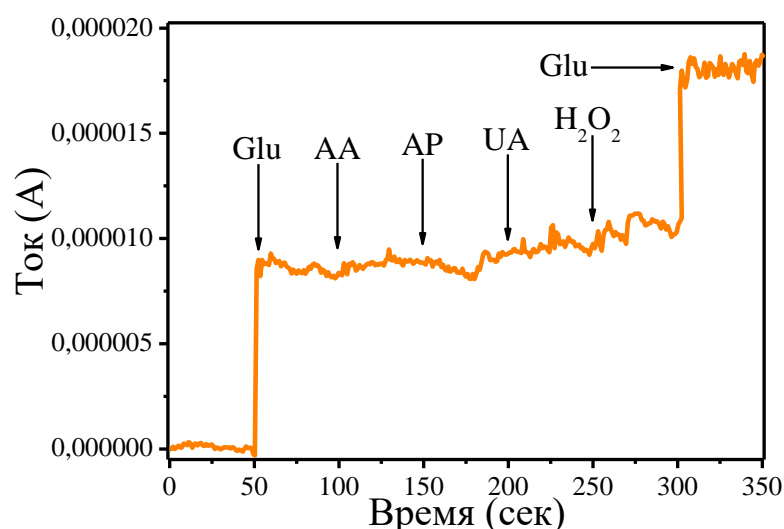


Рис. 30. Амперометрический отклик иридиево-золото-платинового (Ir-Au-Pt) микроэлектрода, полученного при потенциале 65 мВ, по отношению к последовательному добавлению 50 мкМ D-глюкозы (Glu), 10 мкМ аскорбиновой кислоты (AA), 10 мкМ 4-ацетидамофенола (AP), 10 мкМ мочевины (UA), 10 мкМ пероксида водорода (H_2O_2) и 50 мкМ D-глюкозы (Glu) в фоновый раствор 0,1 М NaOH.

3.4. Сравнительная характеристика

В заключении, сенсорные характеристики Ir-Au-Pt сравнивались с аналогичными характеристиками бесферментных сенсоров на основе похожих металлических и биметаллических структур, опубликованных за последнее время (Табл. 5). Необходимо отметить, что полученный Ir-Au-Pt микроэлектрод имеет достаточно низкий предел обнаружения (LOD), широкий диапазон линейности и высокую чувствительность по отношению к бесферментному определению глюкозы в сравнении со многими современными аналогами.

Табл. 5. Сравнение различных бесферментных сенсорных материалов, используемых для определения глюкозы

Материал	Чувствительность [мкА/мМ×см ²]	Линейный диапазон [М]	Предел обнаружения [М]	Ссылка на статью
Ir-Au-Pt	9,96×10 ³	0,5×10 ⁻⁶ - 1,0×10 ⁻³	1,2×10 ⁻⁷	-
IrO ₂ NFs Nafion/ GCE	22,22	0 - 1,6×10 ⁻²	2,93×10 ⁻⁶	[50]
Ir-carbon	48,83	0 - 5,0×10 ⁻²	2,8×10 ⁻²	[67]
Ir-GO _x -GCE	0,461	3,8×10 ⁻³ - 6,1×10 ⁻²	3,7×10 ⁻⁴	[68]
IrO _x layer	12,7	0 - 2,78×10 ⁻⁴	-	[69]
Pt-Ir(38%)	93,7	0 - 1,0×10 ⁻²	-	[70]
Nanoorous Pt	10,0	1,0×10 ⁻³ - 1,0×10 ⁻²	5,0×10 ⁻⁵	[71]
Porous Au	11.8	2,0×10 ⁻³ - 1,0×10 ⁻²	5,0×10 ⁻⁶	[72]
Au nanocorals	22.6	5,0×10 ⁻⁷ - 3,0×10 ⁻⁴	1,0×10 ⁻⁷	[73]
PtNi-ERGO*	20,42×10 ⁻³	5,0×10 ⁻⁴ - 3,5×10 ⁻²	1,0×10 ⁻⁵	[74]

*ERGO – электрохимически восстановленный оксид графена (GO)

ВЫВОДЫ

В данной работе разработан синтез проводящих иридиевых (Ir), иридиево-золотых (Ir-Au), иридиево-платиновых (Ir-Pt), и иридиево-золото-платиновых (Ir-Au-Pt) микроструктур. Синтез был осуществлен с помощью метода ЛОМР посредством осаждения и соосаждения вышеупомянутых структур на поверхность стекла и стеклокерамики под воздействием лазерного излучения на длине волны 532 нм из растворов, содержащих соли соответствующих металлов. Морфология поверхности, элементный и фазовый состав полученных микроосадков были изучены с помощью сканирующей электронной микроскопии, энергодисперсионного рентгеноструктурного анализа и рентгенофазового анализа.

В результате, было установлено, что Ir-Au-Pt обладает наиболее развитой поверхностью по сравнению с остальными материалами, полученными в данной работе. Этот микроосадок представляет собой шаровую упаковку с высокоразвитой поверхностью, состоящий из частиц сферической формы диаметром 40-400 нм каждого из этих металлов как индивидуально, так и в виде смеси.

Методами циклической вольтамперометрии (ЦВА) и прямой амперометрии были исследованы электрохимические свойства синтезированных иридийсодержащих микроосадков (микроэлектродов) и изучена их сенсорная активность по отношению к бесферментному определению глюкозы. Результаты показали, что модификация иридия золотом и, в особенности, смесью золота и платины вызывает заметное увеличение площади ЦВА. В результате чего, последовательное лазерно-индуцированное осаждение иридия, золота и платины позволяет получить микроэлектрод с гораздо более высоким аналитическим откликом. Предел обнаружения (LOD) для Ir-Au-Pt по отношению к бесферментному определению D-глюкозы составил 0,12 мкМ при линейном диапазоне концентраций между 0,5 и 1000 мкМ, тогда как максимальная чувствительность составила 9959 мкА/мМ \times см². Также была продемонстрирована хорошая селективность этого композитного микроэлектрода по отношению к D-глюкозе в присутствии ряда мешающих веществ, которые обычно сосуществуют с глюкозой в крови человека. Низкий предел обнаружения, проявляемый Ir-Au-Pt, можно объяснить большой площадью поверхности этого материала; тогда как его

высокая чувствительность может быть связана с электрокаталитической синергией между иридием, золотом и платиной.

В заключении можно отметить, что композитный материал на основе иридия, золота и платины, синтезированный нами в рамках данной работы, представляет большой интерес для дизайна и разработки недорогих и эффективных портативных сенсорных устройств для бесферментного определения различных биологически важных аналитов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает большую благодарность научному руководителю Рязанцеву Михаилу Николаевичу за оказание помощи в выполнении данной выпускной квалификационной работы, и руководство.

Кроме того, автор глубоко признателен научному сотруднику кафедры лазерной химии и лазерного материаловедения Панову Максиму Сергеевичу за неоценимый вклад и поддержку на протяжении всего эксперимента, вовлечённость и непосредственное участие в самом исследовании.

Автор также выражает благодарность коллеге Хайруллиной Евгении за оказание помощи в обработке и анализе полученных материалов.

Отдельная благодарность Междисциплинарному Ресурсному Центру по направлению «Нанотехнологии», Ресурсному Образовательному Центру по направлению «Химия», Ресурсному Центру «Геомодель», Ресурсному Центру «Рентгенодифракционные методы исследования» и Ресурсному центру «Оптические и лазерные методы исследования вещества».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rothwell, S.A.; Killoran, S.J.; Neville, E.M.; Crotty, A.M.; O'Neill, R.D. Poly(o-phenylenediamine) electrosynthesized in the absence of added background electrolyte provides a new permselectivity benchmark for biosensor applications. *Electrochem. Commun.* 2008, 10, 1078-1081.
2. Si, P., Huang, Y., Wang, T., & Ma, J. Nanomaterials for electrochemical non-enzymatic glucose biosensors. *RSC Advances*, 2013, 3(11), 3487.
3. Holt-Hindle, P., Nigro, S., Asmussen, M., & Chen, A. Amperometric glucose sensor based on platinum-iridium nanomaterials. *Electrochemistry Communications*, 2008, 10(10), 1438–1441.
4. Kochemirovsky, V.A., Skripkin, M.Yu., Tveryanovich, Yu.S., Mereshchenko, A.S., Gorbunov, A.O., Panov, M.S., Tumkin, I.I., Safonov, S.V., 2015. *Russian Chemical Reviews* 84 (10), 1059–1075.
5. A.P.F. Turner, Biosensors: sense and sensibility, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 3175–3648.
6. G. Calia, G. Rocchitta, R. Migheli, G. Puggioni, Y. Spissu, G. Bazzu, V. Mazzarello, J.P. Lowry, R.D. O'Neill, M.S. Desole, P.A. Serra, Biotelemetric monitoring of brain neurochemistry in conscious rats using microsensors and biosensors, *Sens. (Basel)* 9 (2009) 2511–2523.
7. A. Rasooly, K.E. Herold, Biosensors for the analysis of food- and waterborne pathogens and their toxins, *J. AOAC Int.* 89 (2006) 873–883.
8. A. Kaushik, S.K. Arya, A. Vasudev, S. Bhansali, Recent advances in detection of Ochratoxin-A, *Crit. Rev. Biotechnol.* 2 (2013) 1–11.
9. A. Morales, F. Cespedes, S. Alegret, *Mater. Sci. Eng., C* 7 (2000) 99.
10. T. Coradin, J. Livage, *CR Chim.* 6 (2003) 147.
11. J.E.N. Dolatabadi, Y. Omid, D. Losic, *Curr. Nanosci.* 7 (2011) 297.
12. M. Hasanzadeh, N. Shadjou, L. Saghatfroush, J.E.N. Dolatabadi, *Colloids. Surf., B* 92 (2012) 91.
13. J. Wang, *Chem. Rev.* 108 (2008) 814.
14. E. Magner, *Analyst (Cambridge, UK)* 123 (1998) 1967.
15. J. Wang, *Electroanalysis (NY)* 13 (2001) 983.
16. L.A. DeLouise, B.L. Miller, *Anal. Chem.* 76 (2004) 6915.
17. K.J. Cash, H.A. Clark, *Trends Mol. Med.* 16 (2010) 584.
18. G. Cao, *Nanostructures & Nanomaterials: Synthesis, Properties & Applications*, Imperial College Press, London, UK, 2004.
19. J. Li, X. Wei, Y. Yuan, *Sens. Actuators, B* 139 (2009) 400.
20. J. Jimenez, R. Sheparovych, M. Pita, A.N. Garcí'a, E. Dominguez, S. Minko, E. Katz, *J. Phys. Chem. C.* 112 (2008) 7337.

21. B. Khalilzadeh, M. Hasanzadeh, S. Sanati, L. Saghatforoush, N. Shadjou, J.E.N. Dolatabadi, P. Sheikhzadeh, *Int. J. Electrochem. Sci.* 6 (2011) 4164.
22. J.E.N. Dolatabadi, M. de la Guardia, *Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 1538.
23. J.E.N. Dolatabadi, O. Mashinchian, B. Ayoubi, A.A. Jamali, A. Mobed, D. Losic, Y. Omid, M. de la Guardia, *Trends Anal. Chem.* 30 (2011) 459.
24. K. Besteman, J.O. Lee, F.G.M. Wiertz, H.A. Heering, C. Dekker, *Nano Lett.* 3 (2003) 727.
25. J. Lin, C. He, Y. Zhao, S. Zhang, *Sens Actuators, B* 137 (2009) 768.
26. Z. Wen, S. Ci, J. Li, *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 13482.
27. L.-H. Li, W.-D. Zhang, J.-S. Ye, *Electroanalysis (NY)* 20 (2008) 2212
28. Grieshaber, D. et al. (2008). Electrochemical biosensors – sensor principles and architectures. *Sensors*. <https://doi.org/10.3390/s80314000>
29. Thévenot, D.R. et al. (2001). Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors and Bioelectronics*. [https://doi.org/10.1016/s0956-5663\(01\)00115-4](https://doi.org/10.1016/s0956-5663(01)00115-4)
30. Park, S., Boo, H., & Chung, T. D. (2006). Electrochemical non-enzymatic glucose sensors. *Analytica Chimica Acta*, 556(1), 46–57. doi:10.1016/j.aca.2005.05.080
31. Shen, J., Dudik, L., & Liu, C.-C. (2007). An iridium nanoparticles dispersed carbon based thick film electrochemical biosensor and its application for a single use, disposable glucose biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 125(1), 106–113. doi:10.1016/j.snb.2007.01.043
32. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 5 (2010) 1246 - 1301
33. G. Wu et al. / *Talanta* 105 (2013) 379–385
34. Lay, B., Coyle, V. E., Kandjani, A. E., Amin, M. H., Sabri, Y. M., & Bhargava, S. K. (2017). Nickel–gold bimetallic monolayer colloidal crystals fabricated via galvanic replacement as a highly sensitive electrochemical sensor. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(27), 5441–5449. doi:10.1039/c7tb00537g
35. Miao, X. *et al.* Application of iridium(III) complex in label-free and non-enzymatic electrochemical detection of hydrogen peroxide based on a novel "on-off-on" switch platform. *Sci. Rep.* 6, 25774; doi: 10.1038/srep25774 (2016).
36. Dong, Q., Song, D., Huang, Y., Xu, Z., Chapman, J. H., Willis, W. S., ... Lei, Y. (2018). High-temperature annealing enabled iridium oxide nanofibers for both non-enzymatic glucose and solid-state pH sensing. *Electrochimica Acta*, 281, 117–126. doi:10.1016/j.electacta.2018.04.205
37. *J. Electrochem. Soc.* 2001, Volume 148, Issue 4, Pages H29-H36.
38. Tobias Reier, Mehtap Oezaslan, Peter Strasse. [dx.doi.org/10.1021/cs3003098](https://doi.org/10.1021/cs3003098) | *ACS Catal.* 2012, 2, 1765–1772.
39. S. Marzouk , S. Ufer , R. Buck , T. Johnson , W. Cascio , *Anal. Chem.* 1998 , 70 , 5054 .
40. A. M. Sayed , S. Marzouk , R. Buck , L. Dunlap , T. Johnson , W. Cascio , *Anal. Biochem.* 2002 , 308 , 52 .
41. T. Khan , B. Soller , M. Naghavi , W. Cassecells , *Cardiol.* 2005 , 103 , 10 .
42. G. Gettin , *Wounds* 2007 , 3 , 52

43. L. A. Schneider , A. Korber , S. Grabbe , J. Dissemond , *Arch. Dermatol. Res.* 2007 , 298 , 413 .
44. S. Grinstein , D. Rotin , M. J. Mason , *Biochim. Biophys. Acta* 1989 , 988 , 73 .
45. M. L. Garcia-Martin , G. Herigault , C. Remy , R. Farion , P. Ballesteros , C. A. Coles , S. Cerdan , A. Ziegler , *Cancer Res.* 2001 , 61 , 6524
46. I. N. Rich , D. Worthington-White , O. A. Garden , P. Musk , *Blood* 2000 , 95 , 1427
47. 2013 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. *Adv. Healthcare Mater.* 2014, 3, 59–68
48. *Analytical Chemistry*, Vol. 75, No. 6, March 15, 2003. 10.1021/ac0261404
49. Miao, X. et al. Application of iridium(III) complex in label-free and non-enzymatic electrochemical detection of hydrogen peroxide based on a novel "on-off-on" switch platform. *Sci. Rep.* 6, 25774; doi: 10.1038/srep25774 (2016).
50. Dong, Q., Song, D., Huang, Y., Xu, Z., Chapman, J. H., Willis, W. S., ... Lei, Y. (2018). High-temperature annealing enabled iridium oxide nanofibers for both non-enzymatic glucose and solid-state pH sensing. *Electrochimica Acta*, 281, 117–126. doi:10.1016/j.electacta.2018.04.205
51. J. Wang, L. Xu, Y. Lu, K. Sheng, W. Liu, C. Chen, Y. Li, B. Dong, H. Song, Engineered IrO₂@ NiO Core–Shell Nanowires for Sensitive Non-enzymatic Detection of Trace Glucose in Saliva, *Analytical Chemistry*, 88 (2016) 12346-12353.
52. Ribet, F., Stemme, G., & Roxhed, N. (2017). Ultra-miniaturization of a planar amperometric sensor targeting continuous intradermal glucose monitoring. *Biosensors and Bioelectronics*, 90, 577–583. doi:10.1016/j.bios.2016.10.007
53. Wang, X., Chen, H., Zhou, T., Lin, Z., Zeng, J., Xie, Z., ... Wang, X. (2009). Optical colorimetric sensor strip for direct readout glucose measurement. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(12), 3702–3705. doi:10.1016/j.bios.2009.05.018
54. Shinwari, M. W., Zhitomirsky, D., Deen, I. A., Selvaganapathy, P. R., Deen, M. J., & Landheer, D. (2010). Microfabricated Reference Electrodes and their Biosensing Applications. *Sensors*, 10(3), 1679–1715. doi:10.3390/s100301679
55. S. Ardizzzone, A. Carugati, and S. Trasatti, *J. Electroanal. Chem.*, 126, 287 ~1981!
56. K. Kinoshita and M. J. Madou, *J. Electrochem. Soc.*, 131, 1089 ~1984!.
57. . P. J. Kinlen, J. E. Heider, and D. E. Hubbard, *Sens. Actuators*, B22, 13 ~1994!.
58. Aoun, S. Ben et al. Effect of metal ad-layers on Au(111) electrodes on electrocatalytic oxidation of glucose in an alkaline solution. *J. Electroanal. Chem.* 567, 175–183 (2004).40. Kurniawan, F., Tsakova, V. & Mirsky, V. M. Gold Nanoparticles in Nonenzymatic Electrochemical Detection of Sugars. *Electroanalysis* 18, 1937–1942 (2006).
59. Saurina J, Hernandez-Cassou S, Alegret S, Fabregas E. Amperometric determination of lysine oxidase biosensor based on rigid-conducting composites. *BiosensBioelectron* 1999;14:211–20.
60. Vrbova E, Marek M, Ralys E. Biosensor for determination of L-lysine. *Anal ChimActa* 1992;279:131–6.

61. I I Tumkin, V A Kochemirovsky, M D Bal'makov, S V Safonov, E S Zhigley, L S Logunov, E V Shishkova *Surf. Coat. Technol.* 264 187 (2014)
62. V A Kochemirovsky, L S Logunov, S V Safonov, I I Tumkin, Yu S Tver'yanovich, L G Menchikov *Appl. Surf. Sci.* 259 55 (2012)
63. V A Kochemirovsky, S V Safonov, M K Strukov, I I Tumkin, L S Logunov, L G Menchikov *Glass Phys. Chem.* 39 403 (2013)
64. Khlebtsov B.N., Melnikov A.G., Zharov V.P., Khlebtsov N.G. // *Nanotechnology.* 2006. V. 17. P. 1437–1445.
65. Templeton A.C., Pietron J.J., Murray R.W., Mulvaney P. // *J. Phys. Chem. B.* 2000. V. 104. P. 564–570.
66. Egerton, R. F. (2005) *Physical principles of electron microscopy: an introduction to TEM, SEM, and AEM.* Springer, 202.
67. Shen, J., Dudik, L., & Liu, C.-C. (2007). An iridium nanoparticles dispersed carbon based thick film electrochemical biosensor and its application for a single use, disposable glucose biosensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 125(1), 106–113. doi:10.1016/j.snb.2007.01.043
68. Rodríguez, M. C., & Rivas, G. A. (1999). Glucose Biosensor Prepared by the Deposition of Iridium and Glucose Oxidase on Glassy Carbon Transducer. *Electroanalysis*, 11(8), 558–564.
69. Federico Ribet, Göran Stemme and Niclas Roxhed, Ultraminiaturization of a planar amperometric sensor targeting continuous intradermal glucose monitoring, *Biosensors and Bioelectronic*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2016.10.007>
70. Holt-Hindle, P., Nigro, S., Asmussen, M., & Chen, A. (2008). Amperometric glucose sensor based on platinum–iridium nanomaterials. *Electrochemistry Communications*, 10(10), 1438–1441. doi:10.1016/j.elecom.2008.07.042
71. Kim SH, Choi JB, Nguyen QN, Lee JM, Park S, Chung TD, Byun JY (2013) Nanoporous platinum thin films synthesized by electrochemical dealloying for nonenzymatic glucose detection. *Phys Chem Chem Phys* 15:5782–5787.
72. Li, Y.; Song, Y.-Y.; Yang, C.; Xia, X.-H., *Electrochem. Commun.*, 2007, 9, 981-988.
73. Cheng, T.-M.; Huang, T.-K.; Lin, H.-K.; Tung, S.-P.; Chen, Y.-L.; Lee, C.-Y.; Chiu, H.-T., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2010, 2, 2773-2780.
74. Gao H, Xiao F, Ching CB, Duan H (2011) One-step electrochemical synthesis of PtNi nanoparticle-graphene nanocomposites for nonenzymatic amperometric glucose detection. *ACS Appl Mater Inter* 3:3049–3057.