

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **20.01.2009**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **28.07.2010**
(Věstník č. 30/2010)

(21) Číslo dokumentu:

2009-22

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

G01N 27/26 (2006.01)

G01N 27/27 (2006.01)

G01N 27/403 (2006.01)

(71) Přihlašovatel:

BVT Technologies a. s., Brno, CZ

(72) Původce:

Krejčí Jan RNDr. Ph.D., Předklášeři, CZ

Sajdlová Zuzana Ing., Brno, CZ

Chromá Lenka, Tišnov, CZ

Vránová Hana Ing., Brno, CZ

(74) Zástupce:

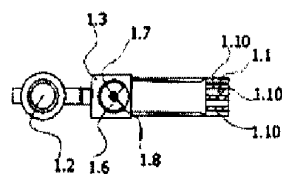
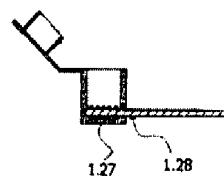
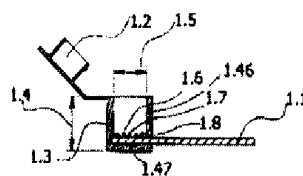
RNDr. Kateřina Hartvichová, Na Bělidle 3, Praha 5,
15000

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Elektrochemický senzor a způsob jeho
výroby**

(57) Anotace:

Předložené řešení popisuje elektrochemický senzor, obsahující podložku (1.1) senzoru a alespoň jednu sadu elektrod zahrnující pracovní elektrodu (1.7), referenční elektrodu (1.6) a popřípadě pomocnou elektrodu (1.8), dále obsahující alespoň jednu reakční nádobku (1.3), která je těsně spojena s podložkou (1.1) senzoru a uvnitř které je umístěna alespoň jedna pracovní elektroda (1.7), přičemž alespoň část podložky (1.1) senzoru tvoří dno nádobky (1.3). Nádobka (1.3) může obsahovat víčko (1.2) a popsána jsou i další výhodná provedení. Řešení dále popisuje způsob výroby elektrochemického senzoru s integrovanou reakční nádobkou, zejména lisostifikováním.



Elektrochemický senzor a způsob jeho výroby

Oblast techniky

Vynález se týká elektrochemického senzoru obsahujícího podložku, pracovní elektrodu, referenční elektrodu a případně i pomocnou elektrodu, obsahujícího navíc reakční nádobku, a způsobu jeho výroby.

Dosavadní stav techniky

Elektrochemické detektory tvoří významné detekční prvky v celé řadě oborů analytické chemie. Často jsou uspořádány do polí, která umožňují současné měření několika látek. Ukázalo se však, že díky vzájemnému ovlivňování jednotlivých elektrodových systémů jsou často signály obtížně vyhodnotitelné. Tento problém např. řeší P. Skládal a T. Kaláb v publikacích Disposable Multichannel Immunosensor for 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Using Acetylcholinesterase as an Enzyme Label, *Electroanalysis* 9, No. 4, 1997, 293-297 a A multichannel immunochemical sensor for determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, *Analytica Chimica Acta* 316, 1995, 73-78 tím, že na povrchu elektrod je nalepena podložka obsahující otvory, které oddělují jednotlivé systémy elektrod (vyrábí BVT Technologies, a.s.). Obdobně je tento problém řešen na osmikanálových senzorech vyráběných Universitou ve Florencii a distribuovaných firmou Palm Instruments, kdy pomocí podložky obsahující otvory jsou jednotlivé systémy elektrod odděleny.

Pole dvou elektrod pro současné sledování hladiny glukózy a laktátu je popsáno v dokumentu F. Palmisano, R. Rizzi, D. Centonze and P. G. Zamboni, *Biosen. Bioelectron.* 15, 9-10(2000)531. Cílem tohoto jednoduchého pole a jeho geometrického uspořádání v kanálu je eliminovat vzájemný vliv elektrod a na nich imobilizovaných látek. Současným měřením a orientací průtoku je způsobeno, že produkty jsou odnášeny od elektrod a vzájemně se neovlivňují. Složitost řešení neumožňuje jeho použití v jednoduchých analyzátoch.

Pole elektrod mohou být využita i jiným způsobem. V práci D. J. Strike, A. Hengsternberg, M. Quinto, Ch. Kurzawa, M. Koudelka-Hep, W. Schuhmann, *Mikrochim. Acta* 131 (1999) 47 je ukázka pole čtyř mikroelektrod o rozměrech 25 mikronů, které byly využity jako detekční prvek skenovací elektrochemické mikroskopie. Toto použití se týká vysoce speciálních aplikací a nemá vztah k rutinním elektrochemickým analýzám.

V publikaci Jia, N. Q., Zahng, Z. R., Zhu, J. Z., Zhang, G. X., Chinese Chemical Letters 15, 3 (2004) 322 jsou uvedeny výsledky současného měření glukózy a galaktózy polem dvou elektrod. Senzor je kopií senzoru AC2 vyráběného firmou BVT Technologies, a.s. Elektrochemické vlastnosti senzorů byly zajištěny nanesením iontoměničové membrány (Nafion-DuPont). Membrána zajišťuje vlastnosti stříbrné vrstvy jako referenční elektrody. Membrána byla vytvořena nanesením roztoku nafionu a následně usušena. Technické uspořádání v tomto případě ukazuje kombinaci imobilizovaných enzymů s iontoměničovou membránou, jejímž cílem je zvýšit stabilitu elektrochemického systému a současně zajistit sníženou interakci mezi elektrodami.

Jiný příklad uspořádání senzoru se dvěma pracovními elektrodami je uveden v publikaci J. Wu, Z. Zhang, Z. Fu and H. Ju, Biosen. Bioelectron. 23, 1 (2007) 114. Imunosenzor s dvěma pracovními elektrodami byl připraven pro stanovení markerů rakoviny. Detekční vlastnosti byly zajištěny koimobilizací mediátoru společně s imunolátkami. Senzor byl vytvořen tiskem grafitových elektrod na čip. Dvě kompetitivní imunostanovení používající křenovou peroxidázu zajišťují vyšší stabilitu a lepší robustnost metody. Vzájemné ovlivňování elektrod není plně odstraněno.

Bylo publikováno řešení, kde je elektrochemická cela spojena se sítotiskovou elektrodou. Elektroda může být vyjmuta a vyměněna za jinou stejného typu. Cela je navržena pro průtočnou analýzu, a tudíž obsahuje veškeré vstupy pro vtok a výtok kapaliny, vstup pro referenční a pomocnou elektrodu. (Hsu, Ch.-T., Chung, H.-H., Lyuu, H.-J., Tsai, D.-M., Kumar, A.S., Zen, J.-M: An electrochemical cell coupled with disposable screen-printed electrodes for use in flow injection analysis, *Analytical Sciences* 22 (2006) 35). Systém je komplikovaný a drahý. Jiné řešení je uvedeno v Chang, J.-L., Zen, J.-M.: A poly(dimethylsiloxane)-based electrochemical cell coupled with disposable screen-printed edge band ultramicroelectrodes for use in flow injection analysis, *Elchem Commun* 9 (2007) 2744. Cela pro sítotiskovou mikroelektrodu (SPME) je určena pro průtokové měření. Cela je vyrobena z poly(dimethylsiloxanu) a SPME a je natištěna na polypropylénovém podkladu. Cela je určena pro průtokovou analýzu ve formátu wall-jet. Funkce byla prověřena na detekci dusičnanů v jezerních (povrchových) a podzemních vodách. Podobně měřící cela v publikaci Ke, J.-H., Tseng, H.-J., Hsu, Ch.-T., Chen, J.-Ch., Muthuraman, G., Zen, J.-M: Flow injection analysis of ascorbic acid based on its thermoelectrochemistry at disposable screen-printed carbon electrodes, *Sens Actuator B* 130 (2008) 614 je určena pro průtokové měření s elektrodami připravenými sítotiskem. Cela obsahuje přívod, odvod kapaliny, vstupy pro referenční a pomocnou elektrodu a vstup světelného zdroje pro zahřívání povrchu elektrody,

což umožňuje termoelektrochemickou detekci. Funkce byla ověřena na detekci askorbové kyseliny. Další známé řešení je popsáno v patentu US 7,046,357. Patent zahrnuje princip biočipu s oddělitelným mikrofluidním elementem. Mikrofluidní element je navržen tak, aby přiváděl kapalinu s analytem ke specifickému reaktantu imobilizovanému na určitém místě na biočipu. Interakce analytu s biočipem se může snímat dvěma různými detektory. Řešení využívá jiné principy (povrchovou plazmovou vlnu a hmotnostní spektroskopii) a je určeno pro průtokovou analýzu. Dokument US 2006/0160205 se týká možnosti analýzy pomocí několika biočipů současně. Přístroj je navržen tak, aby mohl nést několik kazet biočipů. Tyto biočipy mohou být např. tzv. array nukleových kyselin umožňující vysoký počet analyzovaných vzorků. Kazety jsou navrženy tak, že mohou mít jednu či více reakčních cel. Tyto cely obsahují vtok a výtok pro kapalinu, ventily pro kontrolu vtoku a výtok a pumpu. Řešení je složité a přednostně určeno pro komplikované biochemické analyzátory např. nukleových kyselin.

Jiným známým uspořádáním je konfigurace v dokumentu US 2006/0076236. Senzor je tvořen kanálkem a aktivní částí s imobilizovaným enzymem. Senzor se skládá ze dvou do sebe zapadajících částí. V patentu je popsána metodika, kdy přístroj využívá dvou a více kanálů k detekci analytu, přičemž jeden či více kanálů jsou překryty membránou, a které v případě potřeby mohou být aktivovány externím signálem. Tímto způsobem může být navýšena životnost detektoru. Tento systém je rovněž komplikovaný. Je také známo řešení popsané v publikaci Lenihan, J.S., Ball, J.Ch., Gavalas, V.G., Lumpp, J.K., Hines, J., Daunert, S., Bachas, L.G.: Microfabrication of screen-printed nanoliter vials with embedded surface-modified electrodes, *Anal Bioanal Chem* 387 (2007) 259. Elektrochemické cely jsou zde vytvořeny sítotiskem a následnou laserovou ablací. Tyto cely mají nanolitrové objemy a na stěnách mají pracovní a referenční elektrody. Nevýhodou je komplikovaná příprava senzorů využívající drahou technologii. Dalším známým řešením je řešení podle patentové přihlášky EP 0 969 281. Elektrochemická cela je zde navržena způsobem, kdy může být inkorporována jedena či více proužkových sítotiskových elektrod, jež obsahují pracovní elektrodu, jejíž aktivní materiál je modifikován rtutí. Elektrochemická cela je použita při technice stripping voltammetry. Řešení v publikaci Dong, H., Li, Ch.-M., Zhang, Y.-F., Cao, X.-D., Gan, Y.: Screen-printed microfluidic device for electrochemical immunoassay, *Lab Chip* 7 (2007) 1752 se týká využití tištěných elektrod pro průtokovou analýzu. Mikrofluidní elementy jsou složeny z několika částí – spodní stěnu kanálku tvoří tištěné elektrody, stěny pak spacerem definované kanálky a horní stěnu kanálku tvoří PDMS kryt. Tímto způsobem vznikají definované elektrochemické cely určené pro průtokovou analýzu. Přístroj je vhodný pro

sendvičovou elektrochemickou immunoassay s využitím polypyrolu pro ukotvení primární sondy.

Nevýhodami uspořádání, v nichž je vzorek nanášen volně na plochu senzoru, jsou následující skutečnosti:

- vzorek se nedefinovaně rozlévá. Geometrický tvar naneseného vzorku kapaliny je nereprodukovatelný, a proto je nereprodukovatelný i přenos hmoty mezi elektrodou a objemem vzorku.
- lze nanést pouze malé množství vzorku.
- vzorek se odpařuje, což ve spojení s předchozím bodem může významně změnit jeho objem.
- vzorek nelze míchat.
- vzorek nelze nebo lze pouze obtížně skladovat.
- nelze provádět měření vyžadující inkubaci.
- nelze jednoduchým způsobem doplnit další prvky, které umožňují zvýšit kvalitu měření nebo rozšířit možnosti měření.

Je-li vzorek nanesen do jamky, např. u osmikanálového senzoru vyráběného Universitou ve Florencii a firmou Palm Instruments, může při manipulaci dojít k vytečení nebo vystříknutí kapaliny. Velmi obtížné je míchání kapaliny v malém objemu, neboť reakční nádobka není uzavřena a při míchání kapalina vystřikuje a může kontaminovat okolní prostředí nebo způsobit zkrat na kontaktech. Další nevýhodou stávajících řešení je technologie lepení dílů vytvářejících nádobky nebo přepážky na senzoru, při níž může dojít ke kontaminaci aktivního povrchu elektrody. Často také nejsou lepidla dostatečně chemicky stabilní. Zmíněné nevýhody se mimo jiné projevují v tom, že většina senzorů, které pracují s malými objemy, je založena na průtokových principech. To však přináší další nevýhody, zejména spojení kapilár, nutnost čerpadel, spojení čipu (senzoru) s analyzátozem, které zvyšují cenu jedné analýzy a znemožňují využití senzorů jako levných rutinních analyzátorů.

Výše zmíněné nevýhody odstraňuje předkládaný vynález.

Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu je elektrochemický senzor, obsahující podložku senzoru a alespoň jednu sadu elektrod zahrnující pracovní elektrodu, referenční elektrodu a popřípadě pomocnou elektrodu, jehož podstata spočívá v tom, že obsahuje alespoň jednu reakční nádobku, která je

těsně spojena s podložkou senzoru a uvnitř které je umístěna alespoň jedna pracovní elektroda, přičemž alespoň část podložky senzoru tvoří dno nádoby.

Těsné spojení reakční nádoby s podložkou senzoru je spojení, kde spoj nepropouští kapalinu, tedy neprodyšné spojení.

Podložka senzoru může být vyrobena z jakéhokoliv materiálu obvyklého pro toto použití, zejména z korundové keramiky, skla či korundu.

Podložka senzoru může být opatřena topným prvkem a případně také prvkem pro měření teploty, jak je popsáno v patentové přihlášce PCT/CZ2008/000048 (WO 2008/131701). Toto řešení umožňuje při měření dosáhnout lepšího transportu látek k pracovní elektrodě a také teplotně stimulovat procesy uvnitř reakční nádoby.

Význakem vynálezu je, že reakční nádoba je vyrobena lisostříkováním. Technologie lisostříkování je odborníkovi v daném oboru dobře známa. Obvykle zahrnuje následující postup: Senzor nebo jeho část je vložen do ocelové kalené formy. Pod tlakem 1 – 1000 MPa při teplotě 100 – 300 °C je vstříknut plast, který v místech určených formou obepne senzor, současně vytváří požadovaný tvar a těsné spojení podložky a senzoru. Forma je chlazená a vstříknutí proběhne velmi rychle, takže plast všude zateče. Potom plast zchladne a smrští se. Forma se rozevře a výrobek je vyjmut. Typický výrobní cyklus trvá 1 - 10 s. Materiálů pro tuto technologii je známo mnoho. Nejobvyklejší z nich jsou polyethylen, různě větvený a s různou molekulovou hmotností, polypropylen, různě větvený a s různou molekulovou hmotností, ABS (akrylonitril butadien styren), PBT (polybutylen tereftalát), PET (polyethylen tereftalát), polystyren, polymethylmetakrylát, a mnoho dalších, známých odborníkovi v daném oboru. Všechny materiály mohou obsahovat až do 30 % plniv. Jako plnivo lze použít např. sklo. Plniva jsou ve formě kuliček nebo jehlic a ovlivňují konečnou pevnost výrobku. Díky využití technologie lisostříkování lze dosáhnout těsného, neprodyšného spojení reakční nádoby s podložkou senzoru. Technologie lisostříkování také umožňuje výrobu komplikovaných tvarů reakčních nádobek při nízkých nákladech a vysoké přesnosti, jak vyplývá z příkladů uvedených dále.

Reakční nádoba zahrnuje podstavu a plášť. Podstava je vytvořena pod podložkou senzoru (tj. na opačné straně podložky než jsou elektrody) a je spojena s pláštěm pouze v části spodního

obvodu pláště. Reakční nádobka může mít válcovitý tvar nebo tvar hranolu. Reakční nádobka je vytvořena tak, že její část přesahuje povrch podložky senzoru, a právě v tomto místě je vytvořeno spojení podstavy reakční nádobky s částí spodního obvodu pláště. Reakční nádobka může být uzavíratelná víčkem, přičemž uzavření může být hermeticky těsné. Reakční nádobka může být s víčkem neoddělitelně spojena, např. prostřednictvím ohebného prvku umožňujícího uzavření a případně i další otevření víčka. Ve víčku může být umístěn např. zdroj světla nebo fotodetektor, je-li prováděná analytická reakce fotoreakcí nebo při ní vznikající produkt emituje světlo.

Ve výhodném provedení je výška reakční nádobky 1-20 mm, vnitřní průměr reakční nádobky je 1-20 mm a vnitřní tvar reakční nádobky může být např. tvar válce s kruhovou nebo eliptickou podstavou nebo tvar válce s oválnou podstavou nebo tvar hranolu, jehož hrany kolmé k ploše senzoru jsou zaobleny poloměrem 0,1 – 5 mm, nebo tvar elipsoidu.

Výhodou těsného spojení reakční nádobky s podložkou senzoru je vytvoření prostoru odděleného od okolí, v němž je možno měřit vzorky a provádět s nimi operace jako je míchání, reakce, inkubace a další bez nebezpečí ovlivnění elektrod nacházejících se v okolí reakční nádobky nebo kontaminace okolního prostředí chemikáliemi použitými pro analýzu.

Výhodou vynálezu je dále to, že reakční nádobka umožňuje definovat plochu styku vzorku s pracovní elektrodou. K tomuto účelu může sloužit reakční nádobka s kuželovitou vnitřní stranou pláště nebo kuželovitou částí vnitřní strany pláště (tvaru komolého kužele) zužující se směrem k pracovní elektrodě, soustřeďující analyzovaný roztok na pracovní elektrodu, přičemž ve výhodném uspořádání může být mezi referenční a pomocnou elektrodou na jedné straně a vnitřním prostorem reakční nádobky na druhé straně uspořádána vodivá membrána s kruhovým otvorem, jehož průměr je větší než průměr pracovní elektrody a menší nebo roven průměru zakončení kuželovité části vnitřní strany pláště reakční nádobky. Tato membrána zajišťuje elektricky vodivé spojení mezi analyzovaným roztokem a pomocnou a referenční elektrodou, aniž by byly v přímém kontaktu s analyzovaným roztokem.

Vnitřní strana pláště reakční nádobky a vnitřní strana víčka mohou mít v jiném výhodném provedení vynálezu tvar povrchu elipsoidu nebo části povrchu elipsoidu, s výhodou elipsoidu s ohniskem shodným s umístěním pracovní elektrody. Toto provedení je zvláště vhodné pro provádění reakcí, které jsou stimulovány světlem, nebo reakcí, při nichž světlo vzniká

(elektroluminiscence). Je výhodné, je-li v druhém ohnisku elipsoidu umístěn zdroj světla, např. LED dioda, nebo fotodetektor. Je také výhodné, je-li vnitřní strana pláště reakční nádoby a vnitřní strana víčka potažena materiálem odrážejícím světlo. Vnitřní strana pláště reakční nádoby a vnitřní strana víčka mohou být také potaženy materiálem chemicky netečným s vysokou optickou propustností, např. polymethylmetakrylátem, sklem, polystyrenem. Mohou být použity obě vrstvy najednou, pak je vnitřní strana pláště reakční nádoby a vnitřní strana víčka potažena nejprve materiálem odrážejícím světlo a následně chemicky netečným materiálem.

Víčko reakční nádoby může obsahovat látku ovlivňující vlastnosti, např. stabilitu, materiálů elektrod a/nebo látek v reakční nádobě nebo může obsahovat reagenty. Alespoň část víčka reakční nádoby může být vytvořena z pružného materiálu a víčko, případně i nádoba jsou pak uzavřeny membránou z křehkého materiálu, např. skla. Pružná část víčka je pak po uzavření nádoby víčkem zmáčknuta, tím se rozbije membrána z křehkého materiálu a obsah víčka se smísí s obsahem nádoby.

Elektrochemické senzory opatřené reakčními nádobkami lze sestavovat do polí senzorů. K tomu je vhodné, aby elektrochemické senzory obsahovaly spojovací prvky, např. zámkové a výřezy nebo zářezy pro vložení odpovídajících spojovacích prvků.

Dalším možným provedením je kombinace uspořádání reakční komůrky s členy, které umožňují ovlivňování dějů na pracovní elektrodě, aniž jsou ovlivněny ostatní elektrody. Tímto členem může být například člen soustředěný magnetický pole na pracovní elektrodu, jímž je například magnet tvaru komolého kužele, s menší podstavou směřující k pracovní elektrodě. V takovém případě obsahuje podstava reakční nádoby vybrání odpovídající tvaru členu ovlivňujícího děje na pracovní elektrodě. Člen ovlivňující děje na pracovní elektrodě může být připevněn neoddělitelně k senzoru nebo vkládán oddělitelně do odpovídajícího vybrání v podstavě reakční nádoby.

Předmětem vynálezu je také způsob výroby elektrochemického senzoru obsahujícího reakční nádobku zahrnující krok lisostříkání, při němž se do formy se vytvarované tak, aby bylo možno dosáhnout popsaného tvaru reakční nádoby obsahující podstavu a plášť, vloží senzor nebo jeho část, pod tlakem v rozmezí 1 – 1000 MPa při teplotě v rozmezí 100 – 300 °C se vstříkne do formy plast a následně se hotový výrobek zchladí. Horký plast vytvoří podstavu

reakční nádoby na spodní straně podložky senzoru a plášť reakční nádoby na horní straně podložky senzoru, která je opatřena pracovními elektrodami, přičemž v části reakční nádoby přesahující povrch podložky senzoru je vytvořeno spojení podstavy s částí spodního obvodu pláště. Při zchlazení se plast smrští, tím dojde k vytvoření tlakové síly podstavy reakční nádoby proti spodní straně podložky senzoru a k vytvoření tlakové síly pláště reakční nádoby proti horní straně podložky senzoru, čímž je zajištěna těsnost spojení, tj. nepropustnost spojení pro kapaliny, a tím izolace části senzoru nacházející se uvnitř reakční nádoby. Toto spojení je zároveň nerozebíratelné. Výhodou uvedeného způsobu výroby je to, že nádoba je na senzoru vytvořena v jediném kroku.

Reakční nádoba může být v dalším provedení vynálezu také vyrobena tak, že podstava a plášť se vyrobí samostatně a odděleně od podložky senzoru, podstava se vloží pod podložku z opačné strany než jsou elektrody a plášť se vloží na podložku tak, aby uvnitř něj byla pracovní elektroda, přičemž mezi plášť a podložku se vloží těsnící prvek, např. o-kroužek, a podstava a plášť se poté spojí mechanickým spojením, např. zámkem.

Nevýhody řešení známých ve stavu techniky tedy odstraňuje vynález tím způsobem, že reakční nádoba je vyrobena z plastu a lisostřikováním je upevněna na plochu senzoru obsahující aktivní elektrody tím způsobem, že vzniká jediný kompaktní a těsný celek, který obsahuje i víčko umožňující uzavírání. Lze jej naplnit chemikáliemi, uzavřít, promíchat např. vibračním způsobem nebo protřepáním. Senzor dle vynálezu lze využít i tak, že v uzavřených nádobkách jsou připraveny lyofilizované reagenty nutné pro jeho použití. Metoda stanovení může tedy být pro uživatele ve vysokém stupni připravena, což zvyšuje komfort obsluhy a dále umožňuje provedení složitých chemických analýz (z hlediska přípravy chemikálií) laickým uživatelem bez nutnosti speciálního vybavení (váhy, chemická technologie pro přípravu vzorku).

Kombinací lisostřikování se senzory připravenými na keramické podložce např. dle patentu CZ (291411) je možno připravit nejen jednoduché systémy, které odstraňují některé nevýhody současného stavu, ale zcela nová uspořádání, která lze obtížně realizovat klasickými postupy. Dostatečně malý pracovní objem významným způsobem šetří spotřebu chemikálií. Dostatečně malý objem a celkové rozměry umožňují, že k vyrovnání koncentrací stačí pouhá difúze. Protože je umožněno celek po vnesení vzorku hermeticky uzavřít, je možno použít přiměřeně delší časy, aniž je objem ovlivňován odpařováním. Také je možné senzor se vzorkem mechanicky promíchat např. protřepáním. Tím, že senzor s nádobkou tvoří celek, který lze

hermeticky uzavřít, je možné senzor dodávat se všemi reagensy nutnými pro stanovení nebo používat materiály, jejichž použití je u běžných senzorů nebezpečné, např. rtuť. V případě použití nebezpečných materiálů lze dosáhnout toho, že možnost kontaminace okolí je minimální. Další výhodou senzorů dle vynálezu je možnost využití nanostrukturovaných pracovních elektrod. Vytvořením nanostruktur lze významně zlepšit detekční vlastnosti elektrod. Vzniká však problém, jak s elektrodami, které mají nanostrukturované povrchy manipulovat, aniž by došlo k poškození povrchu. Toto umožňuje vynález tím způsobem, že senzor tvoří nerozebíratelný celek s reakční nádobkou, který je hermeticky uzavíratelný. Vynález je dále popsán na příkladech provedení ve spojení s připojenými výkresy, aniž je jimi jakkoliv omezen.

Přehled výkresů

Obr. 1 znázorňuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 1 při pohledu ze strany a při pohledu shora a také uspořádání senzoru s vyhřívanou podložkou.

Obr. 2 znázorňuje formu a uspořádání při výrobě senzoru podle příkladu 1.

Obr. 3 ukazuje záznam odezvy senzoru při měření koncentrace inhibitoru acetylcholinesterázy podle příkladu 1.

Obr. 4 ukazuje detail jednotlivé odezvy senzoru z obrázku 3.

Obr. 5 znázorňuje kalibrační křivku pro stanovení koncentrace Syntostigminu podle příkladu 1.

Obr. 6 znázorňuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 2 při pohledu ze strany a při pohledu shora.

Obr. 7 znázorňuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 3 při pohledu ze strany, detail spodní části nádoby a části podložky s elektrodami a detail membrány.

Obr. 8 znázorňuje pole elektrochemických senzorů v uspořádání podle příkladu 4, detail reakční nádoby a detail jejího pláště se spojovacími prvky.

Obr. 9 znázorňuje pole elektrochemických senzorů v uspořádání podle příkladu 4, detail pláště reakční nádoby se spojovacími zářezy a detail jednoho senzoru se spojovacím prvkem.

Obr. 10 ukazuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 5 a detail nádoby.

Obr. 11 ukazuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 6 a detail nádoby.

Obr. 12 ukazuje detail vztahu poloměrů pracovní elektrody a vrchní plochy kuželovitého vybrání podle příkladu 6.

Obr. 13 znázorňuje část elektrochemického senzoru v uspořádání podle příkladu 7.

Obr. 14 znázorňuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 8.

Obr. 15 ukazuje záznam odezvy senzoru při stanovování elektrodového potenciálu $K_3[Fe(CN)_6]$ podle příkladu 8.

Obr. 16 ukazuje detail odezvy senzoru z příkladu 8 při optické stimulaci.

Obr. 17 ukazuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 9.

Obr. 18 ukazuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 10.

Obr. 19 ukazuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 11.

Obr. 20 ukazuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 12 a detail podstavy nádobky.

Obr. 21 ukazuje dvourozměrné pole senzorů podle příkladu 12 a detail kontaktů pro připojení senzorů.

Obr. 22 ukazuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 13.

Obr. 23 znázorňuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 14.

Obr. 24 znázorňuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 15.

Obr. 25 znázorňuje elektrochemický senzor v uspořádání podle příkladu 16.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Elektrochemický senzor podle příkladu 1 je schematicky znázorněn na obr. 1 a sestává z keramické podložky senzoru 1.1, na které jsou nanесeny pracovní elektroda 1.7, referenční elektroda 1.6 a pomocná elektroda 1.8. Tyto elektrody jsou nanесeny např. technologií sítotisku (uspořádání senzoru vytvořeného na podložce 1.1 může být provedeno podle patentu CZ 291411 nebo dle jejich jiných uspořádání uvedených na www.bvt.cz). Reakční nádobka 1.3, o výšce 1.4 a průměru reakčního prostoru 1.5, mající podstavu 1.47 a plášť 1.46, je lisostříkem nanесena na elektrochemický senzor tak, že vytváří ohraničený prostor nad a kolem aktivní plochy senzoru. Nádobka 1.3 může být vyrobena např. z polypropylenu. Nádobka je uzavíratelná víčkem 1.2. Senzor s integrovanou reakční nádobkou dle vynálezu je připojen k vyhodnocovací jednotce prostřednictvím kontaktů 1.10. Postup jeho výroby je schematicky znázorněn na obr. 2.

S výhodou může být senzor opatřen topným prvkem 1.27 a prvkem pro měření teploty 1.28, jak je popsáno v patentové přihlášce PCT/CZ2008/000048 (WO 2008/131701).

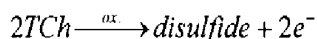
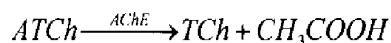
Senzor 2.1 je vložen do dolního dílu formy 2.50. Materiál formy je např. nástrojařská ocel 52 HRC. Forma je uzavřena horním dílem 2.51, čímž je vytvořen uzavřený prostor 2.54, který má tvar reakční nádoby a jehož součástí je i senzor 2.1. Horní díl formy 2.51 a dolní díl formy 2.50 jsou odděleny dělicími rovinami 2.55, jejichž poloha je důležitá pro kvalitu výrobku. V horním dílu formy 2.51 je vytvořen opěrný člen 2.56, který podpírá vložený senzor a zabraňuje jeho zlomení nebo deformaci při vstříknutí materiálu. Opěrný člen 2.56 je na konci opatřen vhodným vybráním 2.57, které chrání povrch pracovních elektrod, s výhodou opatřených nanostrukturou zvyšující jejich citlivost, před poškozením nebo znečištěním vstříkovaným materiálem. Jakmile je forma sestavena, je vstřikovací tryskou 2.53 vstříknut roztavený plast, např. polypropylen, polyetylen, xantoprén, desmopan, ABS (akrylonitril butadien styren), PBT (polybutylen tereftalát), PET (polyethylen tereftalát), polystyren, polymethylmetakrylát. Schematicky popsané operace výše jsou prováděny poloautomatickým zařízením pro lisostřikování tak, že výrobní cyklus včetně vložení senzoru je menší než 10 s. Zařízení také zajišťuje a kontroluje ostatní technologické požadavky nutné pro výrobu (přesné sestavení formy, tlak roztavené plastické hmoty v rozmezí 1 až 1000 MPa, s výhodou v rozmezí 1 až 100 MPa, teplotu plastu v rozmezí 100 až 300 °C, přesné rozevření formy a vyjmutí výrobku). Nastavení těchto parametrů je známo odborníkovi v oblasti lisostřikování.

Postup výroby je stejný ve všech dalších příkladech. V každém jednotlivém příkladu je nutno zhotovit formu obsahující opěrné členy, které zabraňují zlomení senzoru a chrání jeho aktivní plochy. Forma zároveň definuje tvar reakční nádoby.

Příklad použití senzoru pro měření koncentrace inhibitoru acetylcholinesterázy (AChE):

Senzor byl připraven postupem popsaným výše. Na pracovní elektrodu hotového senzoru byl imobilizován enzym AChE. Senzor byl vložen do konektoru propojeného s analytickou jednotkou BA1 (BVT Technologies, a.s., www.bvt.cz), která snímá proud vznikající v elektrochemické reakci, převádí jej do digitální formy a přenáší jej k dalšímu zpracování a vyhodnocení do PC.

Při měření se využívá následující reakce: Substrát reakce ATCh (acetylthiocholin) je pomocí enzymu AChE katalyticky rozkládán na elektroaktivní produkt thiocholin a kyselinu octovou. Elektrochemické měření detekuje proudovou odezvu elektroaktivního produktu thiocholinu, která je přímo úměrná jeho koncentraci.



Po přidání inhibitoru, např. Syntostigminu, dojde ke snížení aktivity enzymu AChE (inhibici), což má za následek pokles proudového signálu.

Rychlost poklesu proudu pozorovaná po přidavku inhibitoru, vyjádřená dI/dt , je úměrná inhibičnímu účinku dané látky. Pro vyhodnocování naměřených závislostí se používá veličina relativní inhibice, která vyjadřuje relativní pokles proudu,

$$RI = \frac{dI/dt}{I_{ss}}$$

kde I_{ss} je rovnovážný (ustálený) proud po přidavku substrátu (P.Skládal: Detection of organophosphate and carbamate pesticides using disposable biosensors based on chemically modified electrodes and immobilized cholinesterase, *Anal.Chim.Acta*, 269, 281-287 (1992)).

Měření bylo prováděno bez míchání. Reakce substrátu ATCh s enzymem probíhá spontánně v imobilizované vrstvě AChE. Vždy po 40 s bylo provedeno měření v trvání 10 s při polarizačním napětí 300 mV a byla změřena odezva odpovídající množství produktu enzymové reakce, který se naakumuloval v enzymové membráně. Po ustálení odezvy (difuzní procesy vyrovnají spotřebu produktu v elektrochemické reakci) byl přidán inhibitor enzymové reakce. Typická odezva je na obr. 3. Z obr.3 je zřejmé, jak je využito výhod uspořádání dle vynálezu. Detekci naakumulovaného množství produktu v uzavřené nádobce lze dosáhnout velmi účinné analýzy malého množství vzorku.

Použité chemikálie:

Biologický pufr MOPSO - 0,04 M MOPSO sodium salt (Sigma Aldrich), upraveno zředěnou HCl na pH = 7

Acetylthiocholin chlorid, 25mM (Sigma Aldrich, A-5626, cholinesterase substrate)

Syntostigmin, neostigmini metilsulfas, 0,5 mg v 1 ampuli, Biotika,a.s., Slovenská Ľupča, SR

Základní měřicí roztok:

100 μ l pufru MOPSO

Přídavky: 50 μ l substrátu ATCh 0,5 mM

50 μ l inhibitoru Syntostigminu (testovány různé koncentrace)

Pro vyhodnocení naměřených dat je použit software Beep a programy Synchronní detekce a Relativní inhibice (BVT Technologies, a.s., www.bvt.cz).

Na obr. 4 jsou detailně zobrazeny tvary odezev (detaily z obr.3) a vliv inhibitoru na odezvu, který způsobuje postupný pokles odezvy. Na obr.5 je znázorněna kalibrační křivka pro stanovení koncentrace Syntostigminu.

Příklad 2

Jiné uspořádání senzoru dle vynálezu je zobrazeno na obr. 6. Elektrochemický senzor podle příkladu 2 sestává z keramické podložky senzoru 6.1, na které jsou nanесeny elektrody. Tyto elektrody jsou nanесeny např. technologií sítotisku (uspořádání senzoru vytvořeného na podložce 6.1 může být provedeno podle patentu CZ 291411 nebo dle jejich jiných uspořádání uvedených na www.bvt.cz). Na této podložce 6.1 je vytvořena reakční nádobka 6.3, mající podstavu 6.47 a plášť 6.46, kde vnitřní strana 6.9 pláště má kuželovitý tvar zužující se směrem k pracovní elektrodě 6.7, přičemž kuželovitý tvar 6.9 je vytvořen vhodnou úpravou opěrného členu 2.56. Nádobka 6.3 může být vyrobena např. z polyethylenu. Takto je soustředěn analyzovaný roztok přímo nad pracovní elektrodu nebo nad pracovní elektrody. Reakční nádobka je opatřena víčkem 6.2, které umožňuje její uzavření.

Příklad 3

Další uspořádání senzoru dle vynálezu je zobrazeno na obr. 7. Elektrochemický senzor je vytvořen nanесením, např. sítotiskem, pracovní elektrody 7.7, pomocné elektrody 7.8 a referenční elektrody 7.6 na korundovou podložku 7.1. Nad aktivní elektrody elektrochemického senzoru 7.6, 7.7 a 7.8 je umístěna membrána 7.13 s kruhovým otvorem 7.15, jehož průměr je větší než průměr pracovní elektrody a menší nebo roven než průměr zakončení kuželovité části 7.9 nádoby. Membrána 7.13 zabraňuje kontaktu analyzované kapaliny s elektrodami referenční 7.6 a pomocnou 7.8, aniž brání vodivému spojení mezi analyzovaným roztokem a referenční elektrodou 7.6 a pomocnou elektrodou 7.8. Na rozdíl od známého použití membrány (Jia, N. Q., Zahng, Z. R., Zhu, J. Z., Zhang, G. X., Chinese Chemical Letters 15, 3 (2004) 322) je membrána ve styku s analyzovaným roztokem pouze v těsné blízkosti pracovní elektrody, a tím eliminuje ohmický odpor kapaliny. Uspořádání se blíží klasickému použití Lugginovy kapiláry. Membrána 7.13 je před uzavřením formy nanесena vhodnou technologií, např. je nanесena sítotiskem nebo je její tvar připraven nezávislou technologií, např. vyseknutím nebo vyřezáním laserem z dostupných membrán, a vložena na elektrody. Jako membránu lze s výhodou použít Nafion (www.fuelcellstore.com, typ Nafion® 115CS nebo Nafion® 117CS). V případě nanесení membrány lze s výhodou použít Nafion v roztoku (www.sigmaaldrich.com) nebo akrylamidový gel sycený KCl (www.sigmaaldrich.com). Membrána může být tvořena dialyzační membránou napuštěnou roztokem např. gelu KCl, případně jinou porézní membránou napuštěnou gelem obsahující KCl nebo jinou sůl zajišťující její vodivost např. LiCl, NaCl. Senzor je opatřen nádobkou 7.3

včetně kuželovitého ukončení, které soustřeďuje analyzovaný roztok na pracovní elektrodu 7.7 a víčkem 7.2, které umožňuje uzavření reakční nádoby.

Nastříknutím tvaru nádoby 7.3 včetně kuželovitého zakončení 7.9, je dosaženo toho, že je vytvořeno kapalinové rozhraní mezi analyzovaným roztokem a pracovním roztokem. Nádoba 7.3 může být vyrobena např. z xantoprénu. Membrána 7.13 zajišťuje také to, že referenční elektroda pracuje při definované koncentraci např. KCl v případě AgCl referenční elektrody, a tím je zajištěno reprodukovatelné nastavení pracovního potenciálu. Vložená nebo nanesená membrána nemusí obsahovat otvor 7.15. Potom překrývá i pracovní elektrodu a brání adsorpci např. proteinu, která může ovlivňovat průběh detekční elektrochemické reakce.

Příklad 4

Elektrochemický senzor dle příkladu 4 je zobrazen na obr. 8 a obr. 9. Senzor sestává z keramické podložky 8.1, na které jsou nanесeny pracovní elektroda 8.7 a referenční elektroda 8.6. Tyto elektrody jsou nanесeny např. technologií síťotisku. Na aktivní plochu senzoru je lisostříkáním nanесena reakční nádoba 8.3 o výšce 8.4 a průměru reakčního prostoru 8.5, s podstavou 8.47. Nádoba 8.3 může být vyrobena např. z desmopanu. Plášť reakční nádoby 8.46 je opatřen alespoň dvěma zářezy 8.11 a alespoň dvěma pružnými elementy 8.14 opatřenými výstupky 8.48, které zapadají do zářezů 8.11. Uspořádání pláště reakční nádoby 8.46 se zářezy 8.11 a pružnými elementy 8.14 s výstupky 8.48 umožňuje sestavovat lineární pole senzorů, přičemž jednotlivé senzory se nemohou ovlivňovat.

Jiné uspořádání pole senzorů je znázorněno na obr. 9. Uspořádání je totožné s předchozím uspořádáním pouze s tím rozdílem, že spojovací člen 9.12 je samostatný díl, který není spojen s pláštěm 9.46 reakční nádoby 9.3 senzoru. Plášť 9.46 reakční nádoby 9.3 senzoru je opatřen pouze zářezy 9.11. Ze senzorů je opět možno sestavovat lineární pole senzorů, přičemž nedochází ke vzájemnému ovlivňování detekčních reakcí.

Příklad 5

Elektrochemický senzor dle příkladu 5 je zobrazen na obr.10. Senzor se skládá z keramické podložky 10.1, na kterou jsou nanесeny pracovní elektroda 10.7, referenční elektroda 10.6 a pomocná elektroda 10.8. Tyto elektrody jsou nanесeny např. technologií síťotisku. Na aktivní plochu senzoru je lisostříkáním nanесena reakční nádoba 10.3 o výšce 10.4 a průměru reakčního prostoru 10.5, jejíž podstava 10.47 obepíná senzor a je opatřena kuželovitým vybráním 10.16, které umožňuje vložení elementu, který ovlivňuje děje probíhající na pracovní elektrodě. Nádoba 10.3 může být vyrobena např. z ABS (akrylonitril butadien

styrenu). S výhodou může být použit např. komolý kužel z měkkého magnetického materiálu a permanentní magnet. Komolý kužel z měkkého magnetického materiálu soustředí magnetické pole na pracovní elektrodu. Nehomogenní magnetické pole koncentruje látky značené magnetickými nanočásticemi na pracovní elektrodu, kde jsou detekovány. Uvedené uspořádání lze s výhodou použít pro provedení, kde vnitřní strana pláště má kuželovitý tvar zužující se směrem k pracovní elektrodě, přičemž kuželovitý tvar je vytvořen vhodnou úpravou opěrného členu jak je uvedeno v příkladu 2 a na obr. 6.

Příklad 6

Elektrochemický senzor dle příkladu 6 je zobrazen na obr. 11 a obr. 12. Senzor sestává z keramické podložky 11.1, na níž jsou nanесeny pracovní elektroda 11.7, referenční elektroda 11.6 a pomocná elektroda 11.8. Elektrody jsou nanесeny např. technologií sítotisku. Na aktivní plochu senzoru je lisostříkovaním nanесena reakční nádobka 11.3 o výšce 11.4 a průměru reakčního prostoru 11.5. Nádobka 11.3 může být vyrobena např. z PBT (polybutylen tereftalát styrenu). Podstava senzoru 11.47 kuželovitým vybráním 10.16, do něhož je však nerozebíratelně vložen, např. lepením, kuželovitý člen 11.17, který ovlivňuje děje probíhající na pracovní elektrodě. Kuželovitý člen 11.17 je připraven např. s výhodou z magneticky měkkého materiálu, např. Fe, pokud je nutno ovlivňovat děje na pracovní elektrodě magnetickým polem. Kuželovitý člen 11.17 může být vytvořen z materiálu s vysokou teplotní vodivostí, např. Cu, pokud mají být děje na pracovní elektrodě ovlivňovány teplotou. Aby bylo působení pole přenášeného kuzelem 11.17 soustředěno na pracovní elektrodu, musí být její průměr 12.18 (viz obr. 12) větší nebo roven průměru vrcholového kuželu 12.19 vkládaného kuželovitého členu 11.17. Uvedené uspořádání lze s výhodou použít pro provedení, kde vnitřní strana pláště má kuželovitý tvar zužující se směrem k pracovní elektrodě, přičemž kuželovitý tvar je vytvořen vhodnou úpravou opěrného členu jak je uvedeno v příkladu 2 a na obr. 6.

Příklad 7

Elektrochemický senzor dle příkladu 7 je zobrazen na obr. 13. Senzor sestává z keramické podložky 13.1, na níž jsou nanесeny pracovní elektroda 13.7, referenční elektroda 13.6 a pomocná elektroda 13.8. Elektrody jsou nanесeny např. technologií sítotisku. Reakční nádobka je vyrobena odděleně od senzoru a skládá se ze dvou částí - samostatné podstavy 13.21 a samostatného pláště s víčkem 13.20, které jsou opatřeny zámkem 13.22, který umožňuje nerozebíratelné sestavení obou částí. Reakční prostor je utěsněn „o“ kroužkem

13.35. Spojením samostatného pláště 13.20 a samostatné podstavy 13.21 prostřednictvím zámku 13.22 tak, aby vznikl reakční prostor obsahující membránu 13.13 utěsněnou „o“ kroužkem 13.35, je dokončena příprava senzoru. Senzor dle tohoto příkladu je vhodný pro ty aplikace, kde imobilizovaná aktivní vrstva na senzoru může být poškozena při lisostříkovaní nebo při lisostříkovaní mohou být poškozeny nanostruktury vytvořené na povrchu pracovní elektrody (např. teplem).

Příklad 8

Elektrochemický senzor dle příkladu 8 je zobrazen na obr. 14. Senzor sestává z keramické podložky 14.1, na níž jsou nanесeny pracovní elektroda 14.7, referenční elektroda 14.6 a pomocná elektroda 14.8. Elektrody jsou nanесeny např. technologií sítotisku. Na aktivní plochu senzoru je lisostříkovaním nanесena reakční nádobka 14.3 o výšce 14.4 a průměru reakčního prostoru 14.5. Nádobka 14.3 může být vyrobena např. z PET (polyethylen tereftalátu). Ve víčku senzoru je nerozebíratelně vložen zdroj světla 14.29 umožňující stimulaci dějů na pracovní elektrodě. Jako zdroj světla je možno s výhodou použít LED diodu.

Příklad měření: Přesné stanovení elektrodového potenciálu $K_3[Fe(CN)_6]$

Elektrochemická nádobka byla naplněna 100 μ l roztokem 0,001 M $K_3[Fe(CN)_6]$. Pracovní elektroda byla postupně polarizována od -400 mV do 600 mV s krokem 50 mV. Po 15 s od změny potenciálu byla pracovní elektroda stimulována LED s maximem vlnové délky 350 nm. Příklad odezvy senzoru na změnu polarizačního napětí ze 100 mV na 150 mV a následnou stimulaci UV zářením je uveden na obr. 15. Stimulace se projevuje v exponenciálním členu popisujícím závislost proudu na polarizačním napětí tj.

$$I \approx -\frac{1}{1 + e^{\frac{ne\alpha(U-U_0)F + h\nu}{RT}}}$$

Je-li člen $|ne\alpha(U-U_0)F| \gg h\nu$, vliv světla se neprojevuje. Je-li však $ne\alpha(U-U_0)F \approx 0$, bude vliv stimulujícího záření maximální. Na obr. 16 je vidět experimentální závislost proudové odezvy na stimulaci. Maximum odpovídá teoretické hodnotě U_0 pro teplotu 22°C.

Uspořádání popsané v tomto příkladu je vhodné pro ty aplikace, ve kterých je možno elektrochemické reakce stimulovat světlem.

Příklad 9

Elektrochemický senzor dle příkladu 9 je zobrazen na obr. 17. Senzor sestává z keramické podložky 17.1, na níž jsou nanесeny pracovní elektroda 17.7, referenční elektroda 17.6 a pomocná elektroda 17.8. Elektrody jsou nanесeny např. technologií sítotisku. Na aktivní plochu senzoru je lisostříkovaním nanесena reakční nádobka 17.3 o výšce 17.4 a průměru reakčního prostoru 17.5. Nádobka 17.3 může být vyrobena např. z polystyrenu. Ve víčku senzoru je nerozebíratelně vložen zdroj světla 17.29 nebo detektor světla 17.30. S výhodou je možno použít LED diodu nebo FOTO diodu. Elektrochemická nádobka má tvar rotačního elipsoidu, přičemž dělicí rovina 17.23 koncové části víčka 17.31 a vnitřní části reakční nádobky leží v rovině určené dvěma poloosami rotačního elipsoidu. Zdroj světla 17.29 nebo detektor světla 17.30 jsou umístěny tak, že jejich aktivní prvek leží alespoň svou částí v ohnisku rotačního elipsoidu a pracovní elektroda leží v protilehlém ohnisku rotačního elipsoidu. Toto uspořádání zajišťuje, že světlo produkované zdrojem světla 17.29 je soustřeďováno na pracovní elektrodě, jak je naznačeno několika paprsky 17.32.

Uspořádání v příkladu 9 může pracovat i tak, že látka soustřeďená na pracovní elektrodě může vyzařovat světlo, např. elektroluminiscencí, a ve víčku integrována fotodiody 17.30, která snímá vznikající záření. Tvarem elektrochemické nádobky ve tvaru elipsoidu dochází k soustřeďení světla vyzářeného optoelektrochemickými reakcemi na pracovní elektrodě na detekčním čipu fotodiody a tím k podstatnému zvýšení citlivosti.

Příklad 10

Příklad 10 ukazuje reakční nádobku se dvěma magnety, s nichž jeden je opatřen pólovým nástavcem soustřeďujícím magnetické pole na pracovní elektrodu. Vzniklé nehomogenní magnetické pole ovlivňuje reakci paramagnetických látek na pracovní elektrodě.

Elektrochemický senzor dle příkladu 10 je zobrazen na obr. 18. Senzor se sestává z keramické podložky 18.1, na níž jsou nanесeny pracovní elektroda 18.7, referenční elektroda 18.6 a pomocná elektroda 18.8. Elektrody jsou nanесeny např. technologií sítotisku. Nad aktivní elektrody elektrochemického senzoru 18.6, 18.7 a 18.8 je umístěna membrána 18.13 s kruhovým otvorem 7.15 (viz obr. 7), jehož průměr je větší než průměr pracovní elektrody 12.18 a menší nebo roven průměru zakončení kuželovité části 12.19 (viz obr. 12 – provedení této části je stejné jako v příkladě 6). Víčko 18.2 je opatřeno magnetem 18.26, jehož jižní (severní) pól je vzdálen od povrchu pracovní elektrody 2 – 20 mm 18.49. Vzniklé nehomogenní magnetické pole mění koncentraci paramagnetických látek v blízkosti pracovní

elektrody 18.7, a tím mění její signál. Tento jev může být využit pro zvýšení citlivosti analýzy některých paramagnetických látek. Hlavní výhoda uspořádání dle příkladu 10 spočívá v tom, že jednoduchými prostředky a nízkými náklady lze vytvořit komplikovanou elektrochemickou reakční nádobku.

Příklad 11

Příklad 11 ukazuje reakční nádobku opatřenou dvěma magnety pro vytvoření vhodného magnetického pole. Na rozdíl od příkladu 10 je jeden magnet prstencového tvaru a umožňuje současné působení světla a magnetického pole na pracovní elektrodu.

Elektrochemický senzor podle příkladu 11 je zobrazen na obr. 19 a sestává z keramické podložky senzoru 19.1, na které jsou nanесeny pracovní elektroda 19.7, referenční elektroda 19.6 a pomocná elektroda 19.8. Tyto elektrody jsou nanесeny například technologií sítotisku (uspořádání senzoru vytvořeného na podložce 19.1 může být provedeno podle patentu CZ 291411 nebo dle jejich jiných uspořádání uvedených na www.bvt.cz). Na aktivní plochu senzoru je lisostříkem nanесena reakční nádobka podle příkladu 3 a zobrazená na obr. 7. Víčko 19.2 je opatřeno prstencovým magnetem 19.26. Jižní (severní) pól magnetu 19.26 je umístěn ve vzdálenosti 19.49 od povrchu pracovní elektrody. Uvnitř prstence magnetu 19.26 je umístěna LED 19.29, která umožňuje nezávisle ovlivňovat děje na pracovní elektrodě elektromagnetickým zářením. Druhý magnet 19.26 je opatřen pólovým nástavcem 19.25, který usměrňuje magnetické pole na pracovní elektrodu. V reakční nádobce vzniká nehomogenní magnetické pole, které mění koncentraci zejména paramagnetických látek v blízkosti elektrody a ovlivňuje elektrodovou reakci. Elektrodovou reakci je možno dále nezávisle ovlivňovat elektromagnetickým zářením vyzařovaným LED umístěným v prstenci magnetu. Nezávislé ovlivňování signálu pracovní elektrody elektromagnetickým zářením umožňuje zvýšení citlivosti vzhledem k příkladu 10 a to zejména využitím synchronní detekce vzhledem k optické stimulaci pomocí LED. Senzor s integrovanou reakční nádobkou dle vynálezu je připojen k vyhodnocovací jednotce prostřednictvím kontaktů 1.10 (viz obr. 1).

Příklad 12

Příklad 4 ukázal způsoby jak vytvořit jednorozměrná pole senzorů. V některých aplikacích (např. DNA analýza) je nutno provádět paralelně velké množství analýz. V těchto případech může být jednorozměrné pole senzorů příliš dlouhé a může se s ním špatně manipulovat. Řešení této situace ukazuje příklad 12, který ukazuje uspořádání dvourozměrného pole senzorů.

Elektrochemický senzor podle příkladu 12 je zobrazen na obr. 20 a sestává z keramické podložky senzoru 20.1, která je připravena například technologií LTCC (Low Temperature Cofired Ceramics), na které jsou nanášeny pracovní elektroda 20.7, referenční elektroda 20.6 a pomocná elektroda 20.8. Tyto elektrody jsou nanášeny například technologií sítotisku. Keramická podložka s elektrodami je opatřena kontakty na rubu senzoru 20.38, které jsou spojeny vodivými drahami 20.36 s pracovní elektrodou 20.7, referenční elektrodou 20.6 nebo pomocnou elektrodou 20.8. Vodivé dráhy mohou být vedeny uvnitř keramiky nebo po jejím povrchu.

Na aktivní plochu senzoru je lisostříkem nanášena reakční nádobka dle příkladu 1 s tím rozdílem, že v podstavě 20.47 reakční nádobky jsou otvory 20.37, které umožňují vodivé připojení aktivních elektrod. Plášť 20.46 reakční nádobky je opatřen alespoň dvěma výstupy 20.39, které umožňují aretaci reakční nádobky se senzorem do kontaktního pole 21.52, které je zobrazeno na obr. 21. Kontaktní pole 21.52 je opatřeno zářezy 21.41, která umožňují zapadnutí aretačních výstupků 20.39 reakční nádobky zobrazené na obr. 20. Dále kontaktní pole 21.52 obsahuje pružné kontakty 20.40, jejichž posuvná pružně uložená část zapadá do otvorů 20.37 reakční nádobky, dotýká se kontaktů na rubu senzoru 20.38 a zajišťuje vodivé spojení mezi senzorem a kontaktním polem 21.52. Dno senzorů může být opatřeno kuželovitým otvorem 20.16 pro člen soustředující pole, např. magnetické nebo tepelné, na pracovní elektrodu obdobně jako v příkladu 5. Dvojměrné pole s pružnými kontakty může být opatřeno i polem kuželovitých členů 21.17, které zapadají do těchto výřezů. Sensory umístěné v tomto poli mohou být stejně nebo rozdílně ovlivněny zapadnutím kuželovitých členů. Uspořádání umožňuje vytvořit rozsáhlá pole senzorů s reakčními nádobkami umožňující i složité paralelní analýzy, jako je například analýza DNA.

Příklad 13

V příkladu 9 bylo ukázáno výhodné uspořádání vnitřního prostoru reakční nádobky ve tvaru rotačního elipsoidu. Toto uspořádání lze dále zlepšit pokrytím vnitřního povrchu reakční nádobky materiálem s vysokou odrazivostí 22.58, např. Al, Au, Ag. Uspořádání dle příkladu 13 je znázorněno na obr. 22.

Reakční nádobka je uspořádána stejně jako v příkladu 9. Vnitřní stěny reakční nádobky jsou pokryty vrstvou materiálu s vysokou odrazivostí 22.58, který je nanášen naprašáním. Toto uspořádání je výhodné zejména v těch případech, kdy zdroj světla emituje UV nebo IR záření, které má špatnou odrazivost na povrchu z plastické hmoty, nebo v případě, že fotodetektor 22.30 umístěný ve víčku reakční nádobky může být ovlivňován IR zářením, které prochází

přes plastové stěny reakční nádoby. Protože materiály s vysokou odrazivostí nejsou chemicky inertní a může se u nich objevovat specifická a nespecifická adsorpce, je vrstva materiálu s vysokou odrazivostí 22.58 překryta materiálem chemicky inertním s vysokou optickou propustností 22.42. Jako inertní materiál s vysokou optickou propustností je možno nanést naprášením například SiO_2 . Uspořádání zajišťuje nižší ztráty při odrazu paprsku 22.32, a tím vyšší účinnost reakční nádoby při optoelektrochemických měřeních. Senzor s integrovanou reakční nádobkou dle vynálezu je připojen k vyhodnocovací jednotce prostřednictvím kontaktů 1.10 (viz obr. 1).

Příklad 14

Jednou z hlavních výhod uspořádání dle vynálezu je možnost vyrábět reakční komůrky hromadně s připravenými reagensy pro uživatele. V této aplikaci je důležité zajistit, aby během skladování nedošlo ke znehodnocení chemických látek, které jsou lyofilizovány. Uspořádání je zobrazeno na obr. 23. Elektrochemický senzor dle příkladu 1 je doplněn víčkem 23.2, které je opatřeno vložkou 23.44 z porézního materiálu nebo opatřeno otvory, která umožňuje umístit do víčka částice vysoušedla 23.43, např. silikagelu, nebo materiál udržující definovanou vlhkost nebo materiál odstraňující absorpcí stopy látek, které mohou rozkládat aktivní látky v reakční nádobce se senzorem. Uspořádání zlepšuje skladovatelnost reakčních komůrek se senzory v případě, že obsahují připravené reagensy.

Příklad 15

Příklad 15 ukazuje jiný způsob vytvoření členu, který soustřeďuje látku na pracovní elektrodu a/nebo který umožňuje upevnění membrán dle příkladu 3, a jehož jiné technické uspořádání bylo popsáno v příkladech 3, 7 a 10 a zobrazeno na obr. 6, obr. 7 a obr. 18. Reakční nádoba je uspořádána dle příkladu 2 s tím rozdílem, že kuželovité uspořádání 6.9, které soustřeďuje kapalinu na pracovní elektrodu je vytvořeno nerozebíratelným vložením členu 24.45, který je do vnitřního prostoru nádoby vlisován. Uspořádání je znázorněno na obr. 24.

Příklad 16

Elektrochemický senzor podle příkladu 16 je zobrazen na obr. 25 a sestává z keramické podložky senzoru 25.1, na které jsou nanášeny pracovní elektroda 25.7, referenční elektroda 25.6 a pomocná elektroda 25.8. Tyto elektrody jsou nanášeny například technologií sítotisku (uspořádání senzoru vytvořeného na podložce 25.1 může být provedeno podle patentu CZ 291411 nebo dle jejich jiných uspořádání uvedených na www.bvt.cz). Na aktivní plochu

senzoru je lisostříkem nanесena reakční nádobka 25.3 o výšce 25.4 a průměru reakčního prostoru 25.5, mající podstavu 25.47 a plášť 25.46. Nádobka 25.3 může být vyrobena např. z polymethylmetakrylátu. Senzor s integrovanou reakční nádobkou dle vynálezu je připojen k vyhodnocovací jednotce prostřednictvím kontaktů 1.10 (viz obr. 1). Reakční nádobka 25.3 je opatřena lepicí vrstvou 25.59, na níž je přilepena fólie 25.60. Ve vnitřním prostoru 25.63 reakční nádoby je reagentie A, buď v roztoku, nebo lyofilizovaná. Víčko reakční nádoby je upraveno tak, že vnitřní prostor 25.64 obsahující reagentii B je uzavřeno membránou 25.61, která je přilepena vrstvou 25.59 nebo přivařena např. ultrazvukem. Membrána uzavírající prostor pro reagentii B ve víčku 25.2, je vyrobena z materiálu, který je křehký, např. sklo. Víčko dále obsahuje pružnou část 25.62, jejímž stlačením praskne membrána 25.61 a reagentie A a B jsou smíchány. Reakční nádobka dle tohoto příkladu umožňuje velmi jednoduchým způsobem sledovat reakce, které probíhají po smíchání dvou reakčních složek A a B a které je možno ovlivňovat zkoumaným vzorkem. Z reakční nádoby připravené výrobcem je sejmuta ochranná fólie 25.60. Je opatrně vloženo uzavírací víčko 25.2. Jeho dotlačením se protrhne membrána 25.61 a je spuštěna reakce. Celý děj je prováděn se senzorem připojeným k měřicímu přístroji a je možno sledovat průběh chemické reakce složek A a B. Vzhledem k malým objemům použitých chemikálií a pokud se použijí reakce dostatečně pomalé, není nutné reakční směs míchat, neboť pro promíchání postačuje difuze.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Elektrochemický senzor, obsahující podložku senzoru a alespoň jednu sadu elektrod zahrnující pracovní elektrodu, referenční elektrodu a popřípadě pomocnou elektrodu, vyznačený tím, že obsahuje alespoň jednu reakční nádobku, která je těsně spojena s podložkou senzoru a uvnitř které je umístěna alespoň jedna pracovní elektroda, přičemž alespoň část podložky senzoru tvoří dno nádoby.

2. Elektrochemický senzor podle nároku 1, vyznačený tím, že reakční nádobka je vyrobena z plastu lisostřikováním.

3. Elektrochemický senzor podle nároku 1, vyznačený tím, že reakční nádobka zahrnuje podstavu a plášť, přičemž podstava je vytvořena pod podložkou senzoru a je spojena s pláštěm pouze v části spodního obvodu pláště, a to v místě přesahu části reakční nádoby přes povrch podložky senzoru.

4. Elektrochemický senzor podle nároku 1, vyznačený tím, že reakční nádobka je opatřena víčkem, s výhodou je s víčkem neoddělitelně spojena prostřednictvím ohebného prvku.

5. Elektrochemický senzor podle nároku 3, vyznačený tím, že vnitřní strana pláště reakční nádoby je tvaru komolého kužele nebo část vnitřní strany pláště reakční nádoby je tvaru komolého kužele, zužující se směrem k pracovní elektrodě.

6. Elektrochemický senzor podle nároku 5, vyznačený tím, že mezi referenční a pomocnou elektrodou na jedné straně a vnitřním prostorem reakční nádoby na druhé straně je uspořádána vodivá membrána s kruhovým otvorem, jehož průměr je větší než průměr pracovní elektrody a menší nebo roven průměru zakončení kuželovité části vnitřní strany pláště reakční nádoby nebo jeho části.

7. Elektrochemický senzor podle nároku 4, vyznačený tím, že vnitřní strana pláště reakční nádoby a vnitřní strana víčka mají tvar povrchu elipsoidu nebo části povrchu elipsoidu, s výhodou elipsoidu s ohniskem shodným s umístěním pracovní elektrody.

8. Elektrochemický senzor podle nároku 7, vyznačený tím, že je v druhém ohnisku elipsoidu umístěn zdroj světla, s výhodou LED dioda, nebo fotodetektor.

9. Elektrochemický senzor podle nároku 7, vyznačený tím, že je vnitřní strana pláště reakční nádoby a vnitřní strana víčka potažena materiálem odrážejícím světlo, s výhodou je vrstva materiálu odrážejícího světlo dále potažena vrstvou chemicky netečného materiálu s vysokou optickou propustností.

10. Elektrochemický senzor podle nároku 1, vyznačený tím, že je opatřen spojovacími prvky pro spojení do pole senzorů, s výhodou zámky a výřezy nebo zářezy pro vložení odpovídajících spojových prvků.

11. Elektrochemický senzor podle nároku 1, vyznačený tím, že podložka senzoru je opatřena topným prvkem a s výhodou je dále opatřena prvkem pro měření teploty senzoru.

12. Elektrochemický senzor podle nároku 1, vyznačený tím, v podstavě reakční nádoby je vybrání, umožňující vložit člen ovlivňující děje na pracovní elektrodě.

13. Elektrochemický senzor podle nároku 4, vyznačený tím, že víčko reakční nádoby obsahuje látku ovlivňující vlastnosti materiálů elektrod a/nebo látek v reakční nádobě nebo obsahuje reagentie.

14. Elektrochemický senzor podle nároku 13, vyznačený tím, že alespoň část víčka reakční nádoby je vytvořena z pružného materiálu a víčko, případně i nádoba jsou uzavřeny membránou z křehkého materiálu.

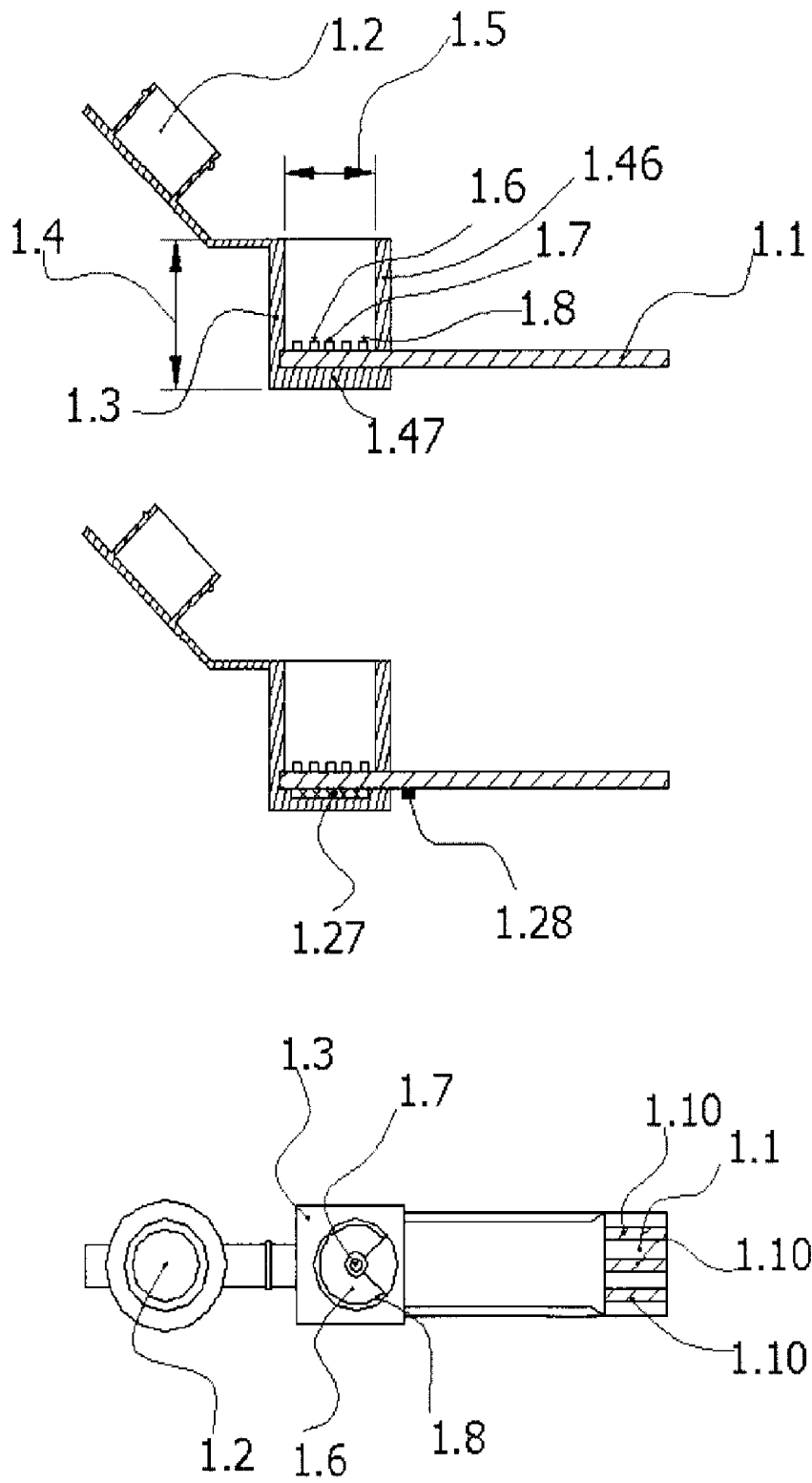
15. Způsob výroby elektrochemického senzoru podle kteréhokoliv z předchozích nároků, vyznačený tím, že zahrnuje krok lisostříkování, při němž se do formy vytvarované tak, aby bylo možno dosáhnout požadovaného tvaru reakční nádoby obsahující podstavu a plášť, vloží senzor nebo jeho část, pod tlakem v rozmezí 1 – 1000 MPa, s výhodou v rozmezí 1 – 100 MPa, při teplotě v rozmezí 100 – 300 °C se vstříkne do formy plast a následně se hotový výrobek zchladí.

16. Způsob výroby elektrochemického senzoru podle kteréhokoliv z nároků 1 až 14, vyznačený tím, že podstava a plášť se vyrobí samostatně a odděleně od podložky senzoru, podstava se vloží pod podložku z opačné strany než jsou elektrody a plášť se vloží na podložku tak, aby uvnitř něj byla pracovní elektroda, přičemž mezi plášť a podložku se vloží těsnící prvek, a podstava a plášť se poté spojí mechanickým spojením.

1/25

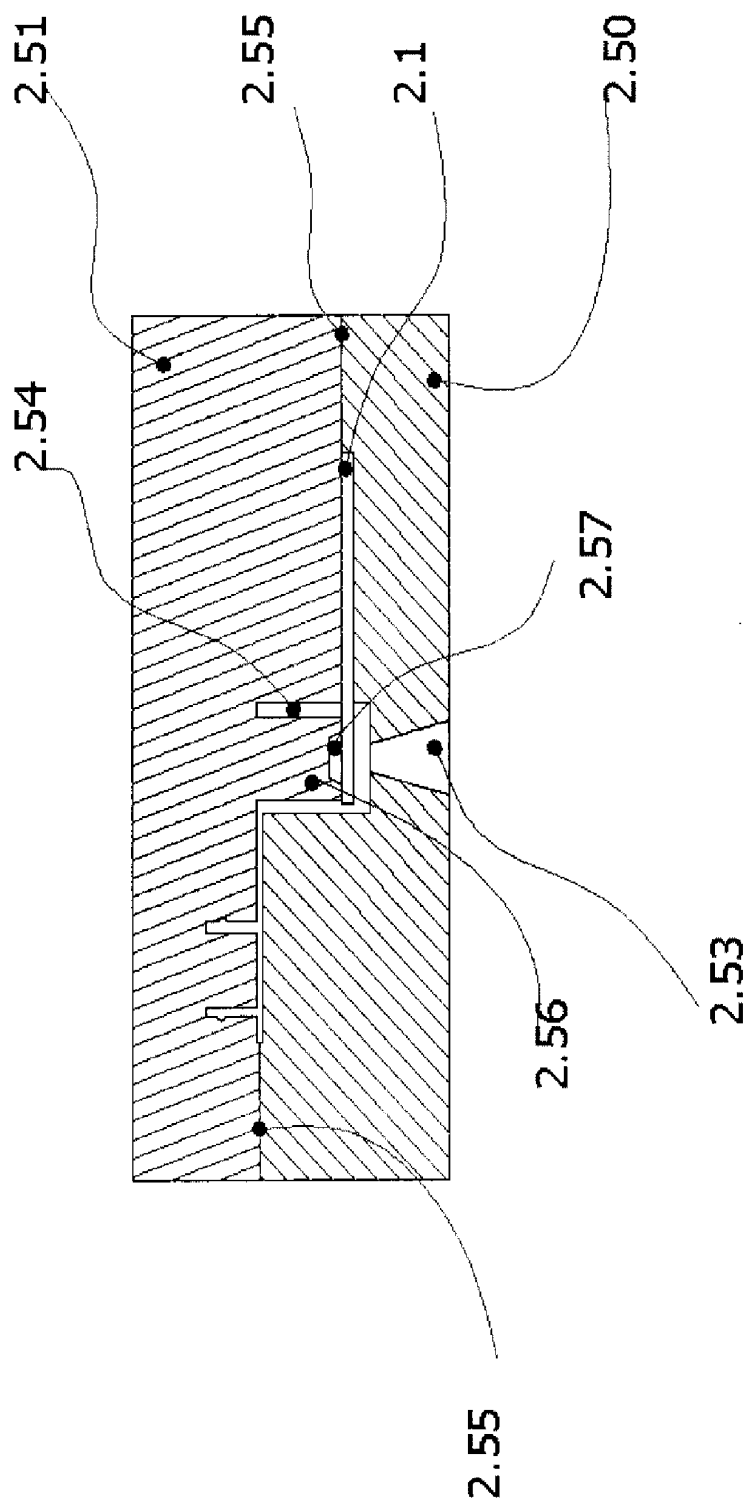
28

Obr. 1



2/25 127

Obr. 2

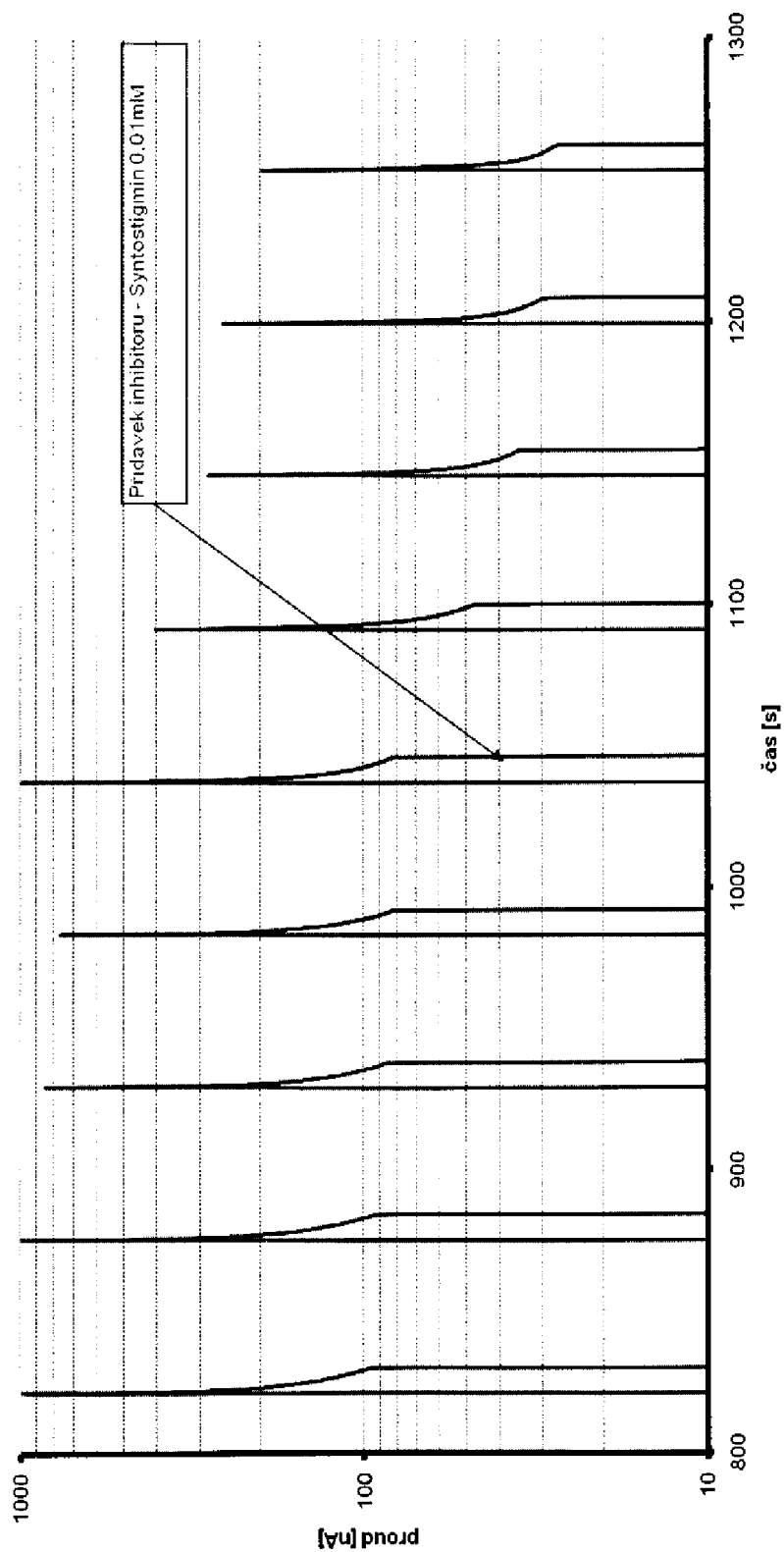


PV2009-22
2001.09

3/25 28

Obr. 3

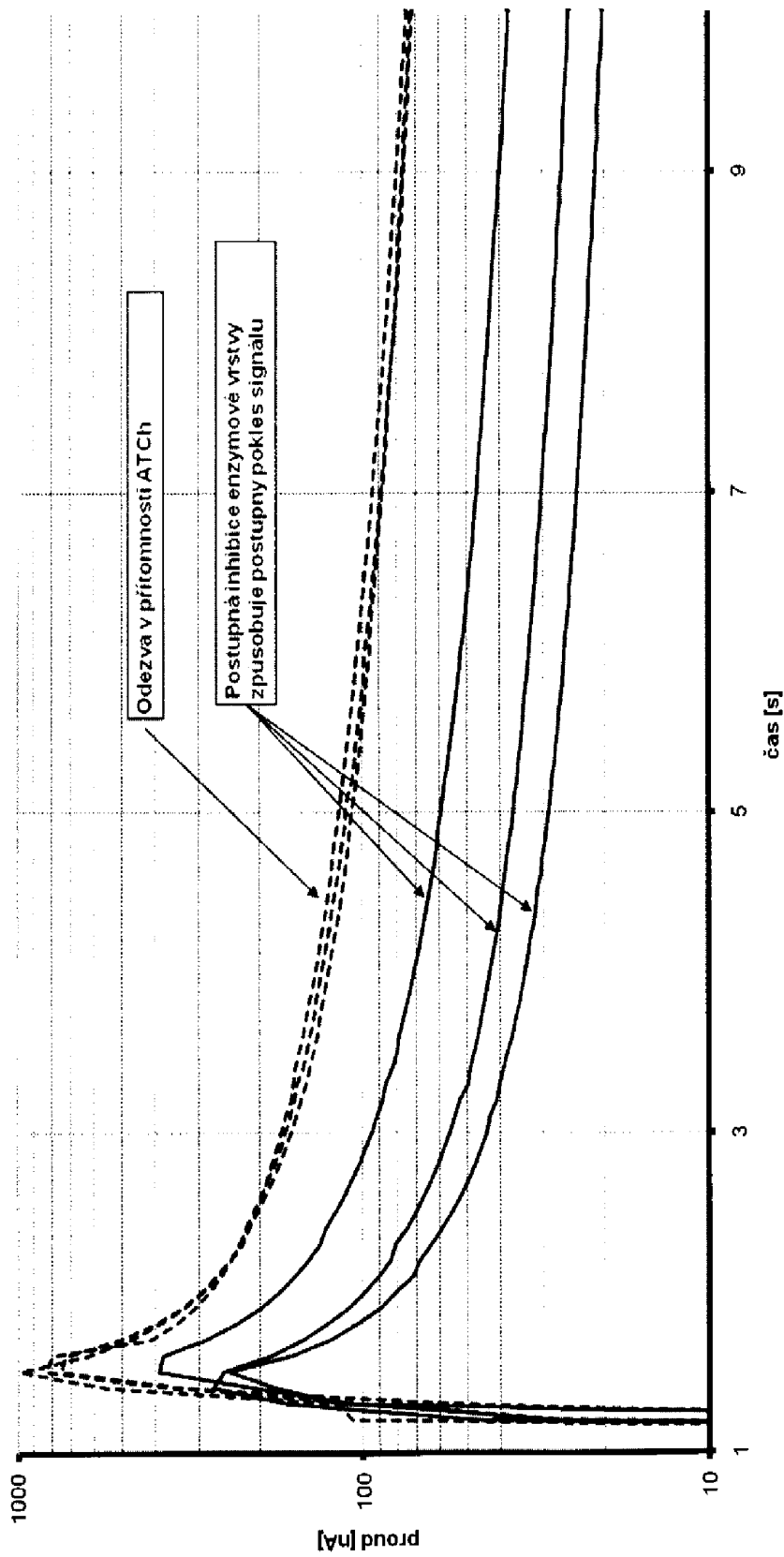
Odezva na přidavek inhibitoru - Syntostigmin



4/25 291

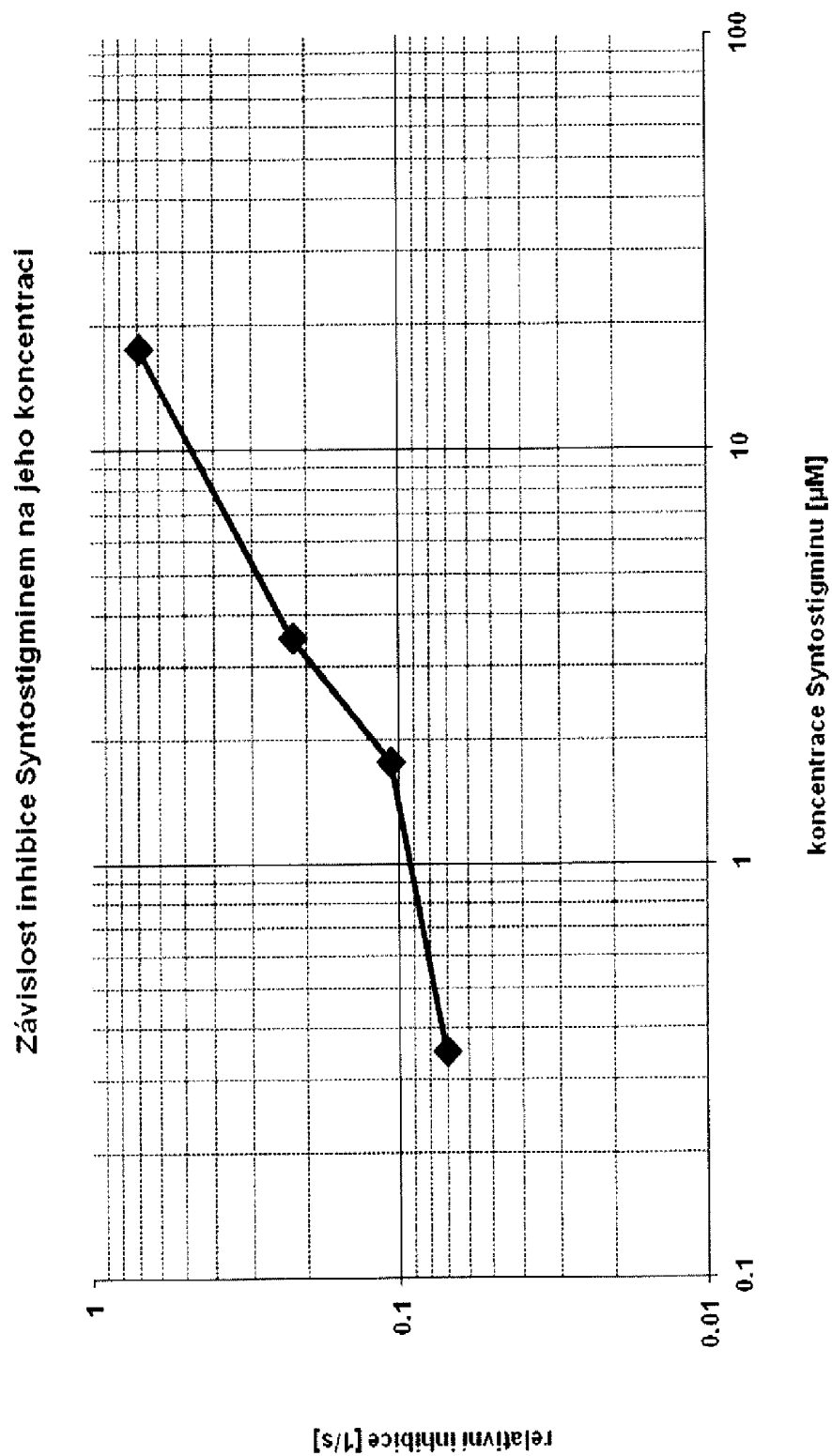
Obr. 4

Jednotlivé odezvy pro Syntostigmin



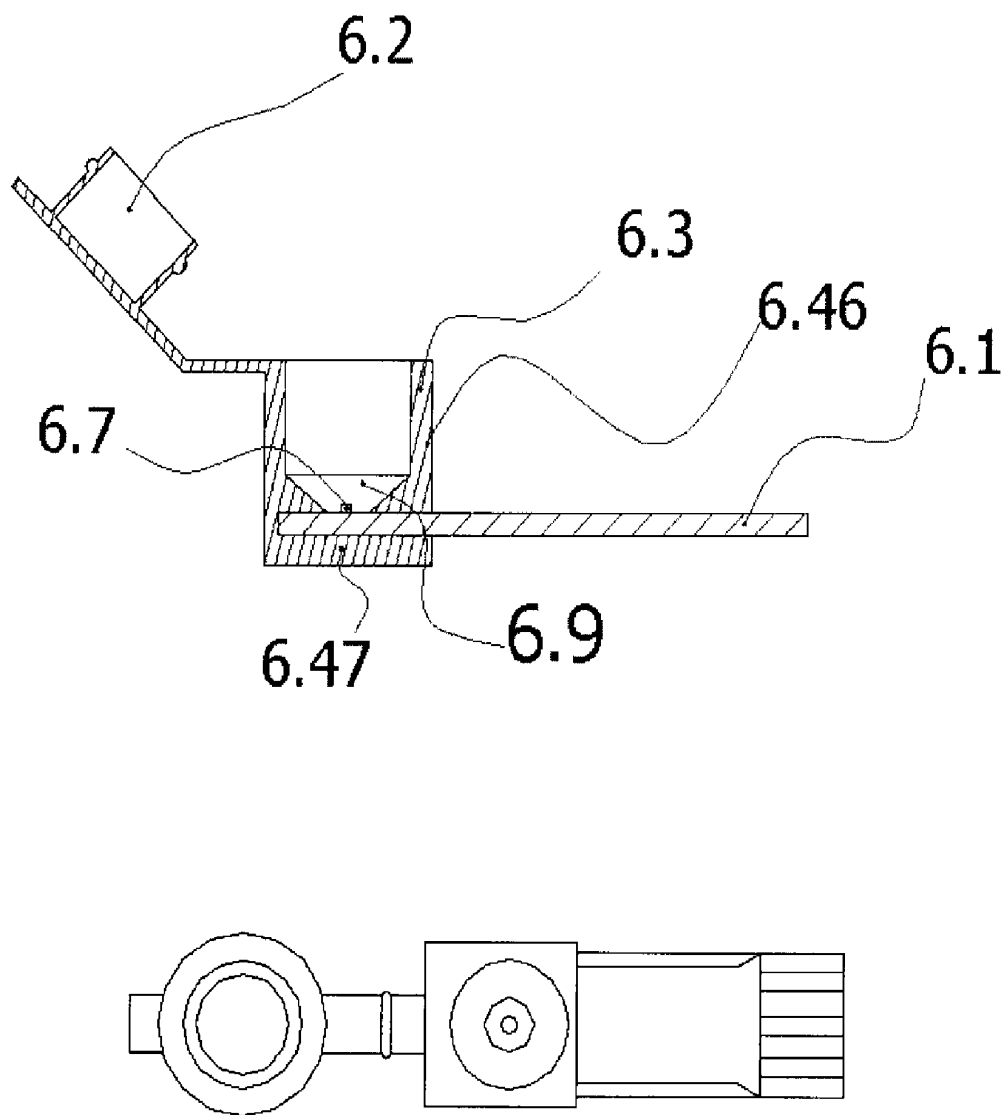
5/25 30'

Obr. 5



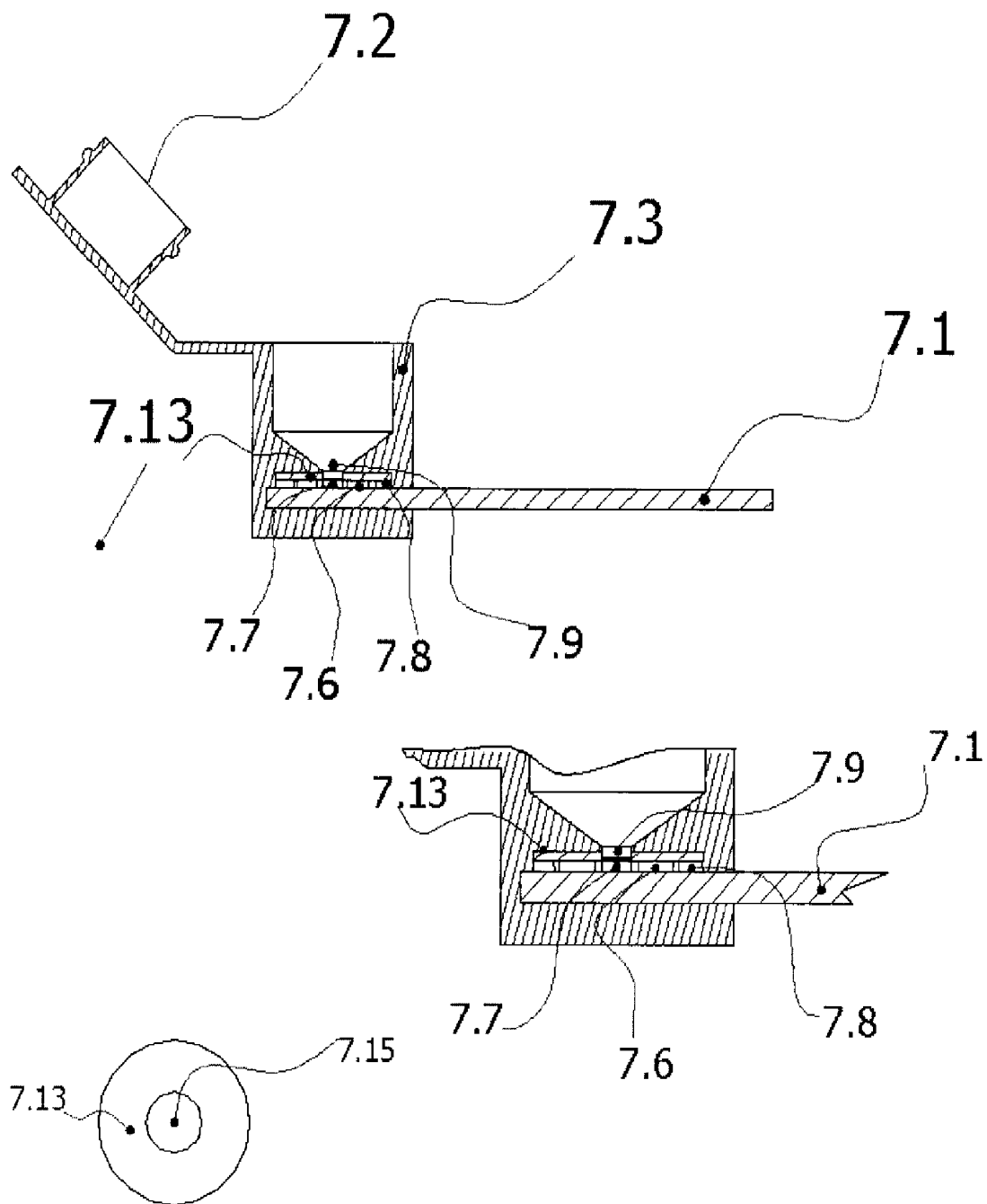
6/25 ~~34~~

Obr. 6



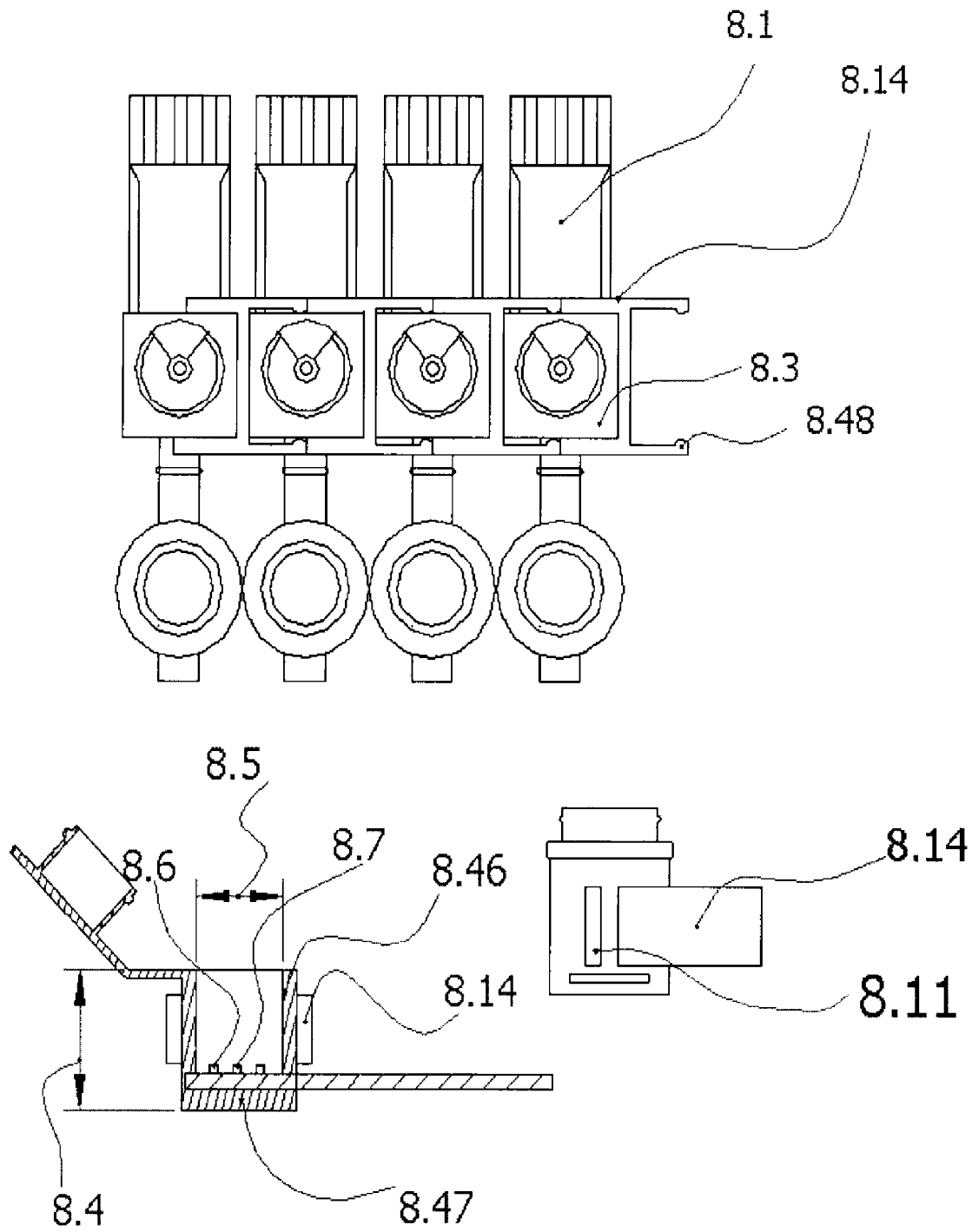
7/25 12/

Obr. 7



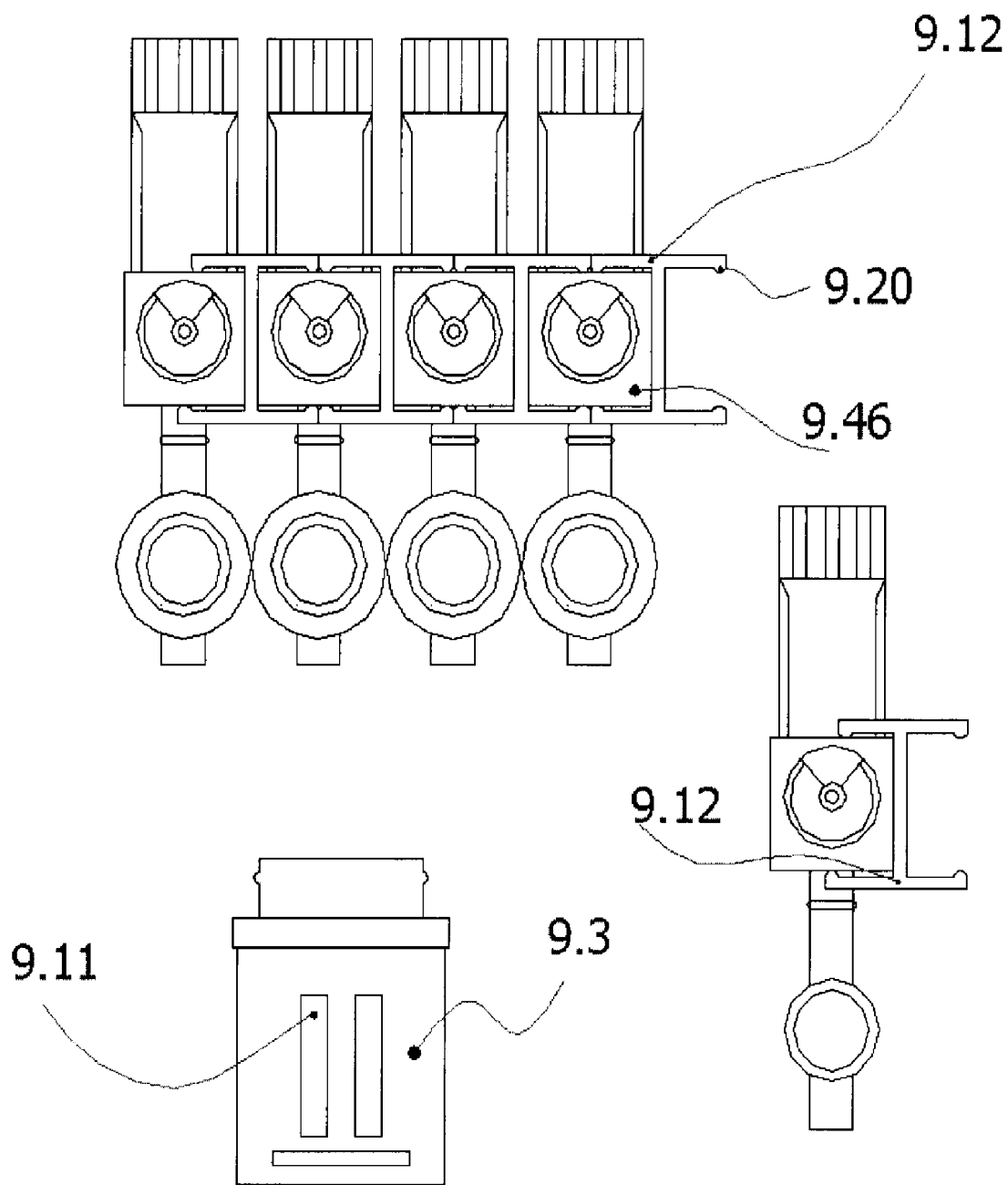
8/25 83

Obr. 8



9/25 B41

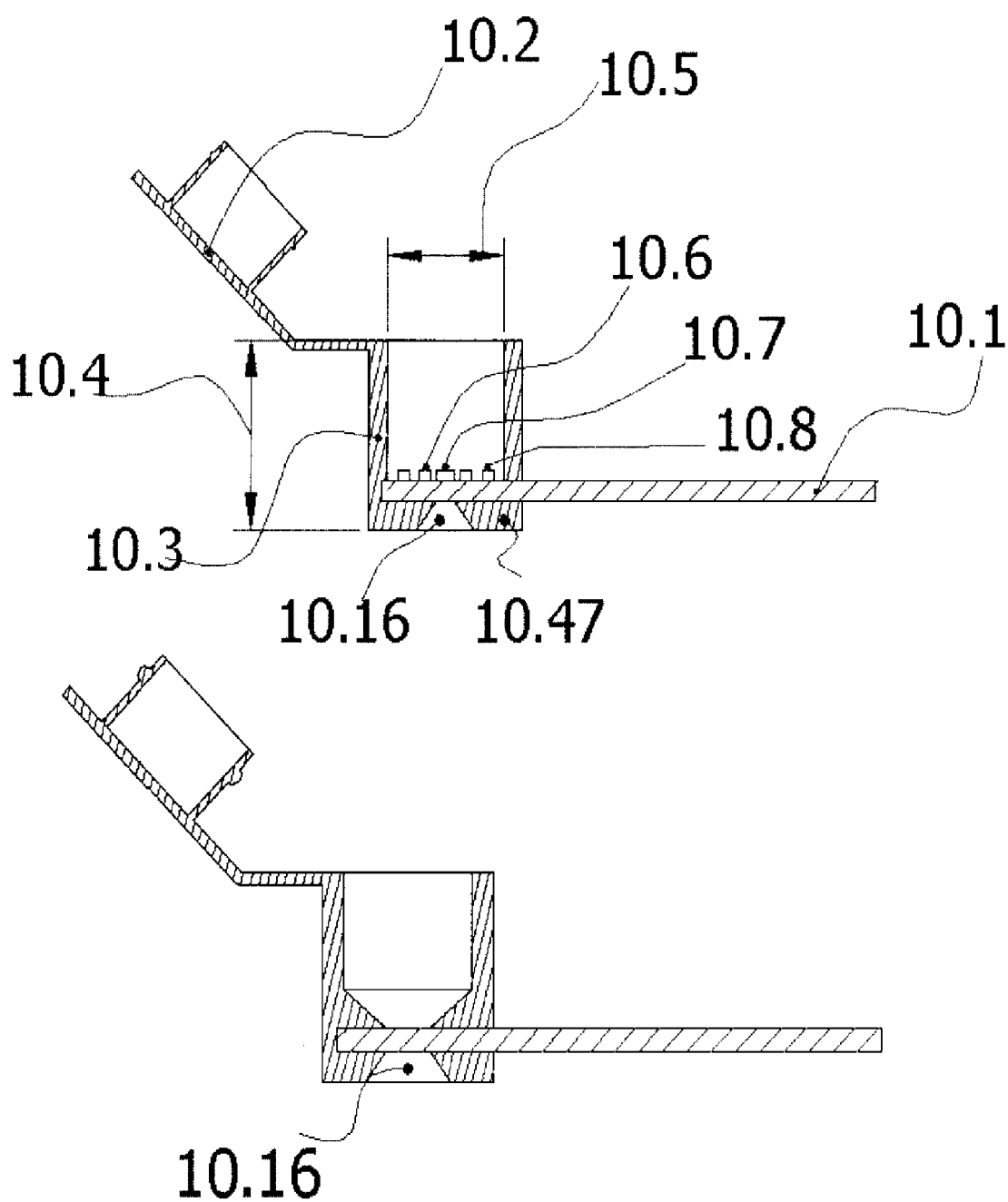
Obr. 9



20.01.09

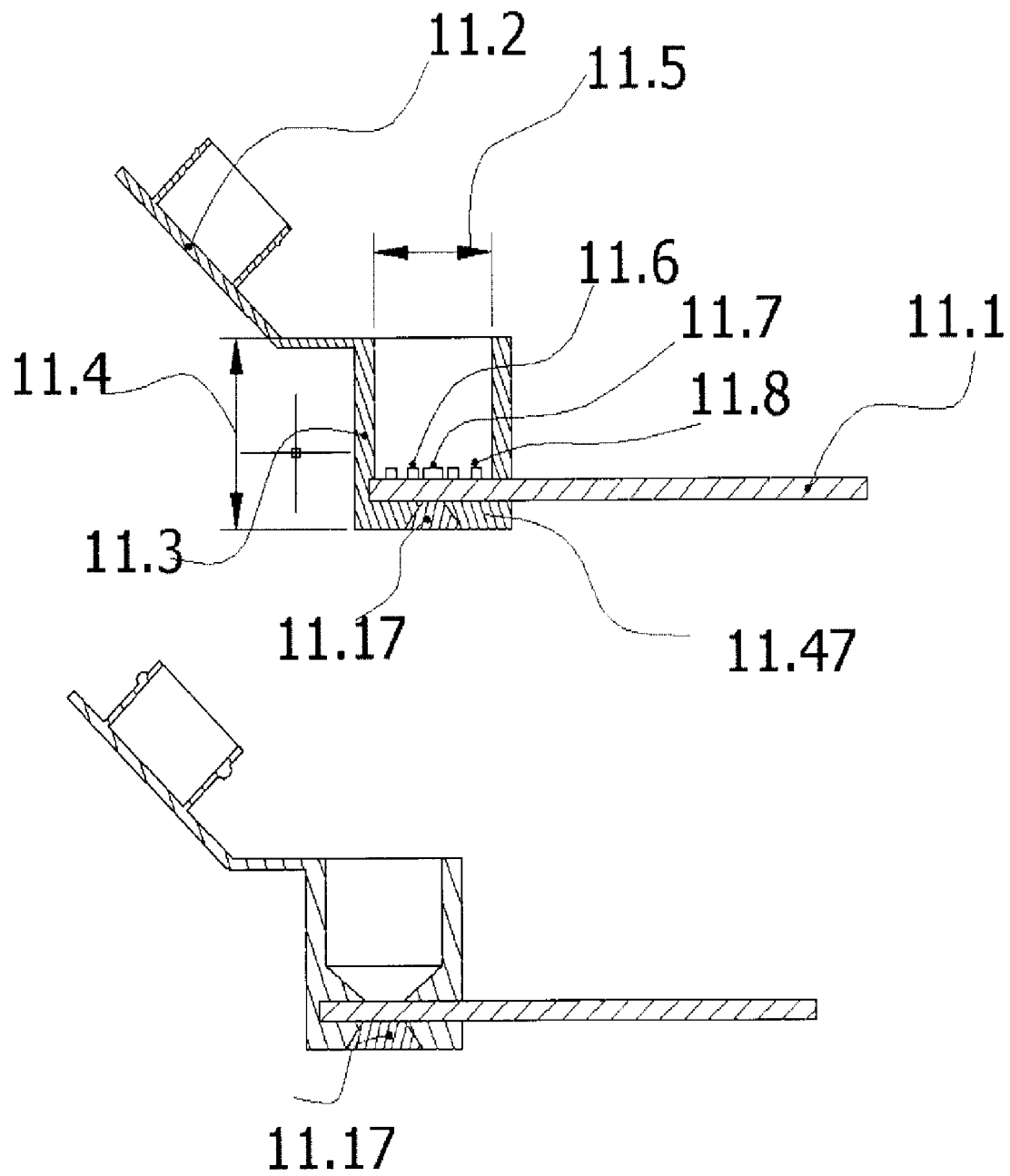
19/25 35

Obr. 10



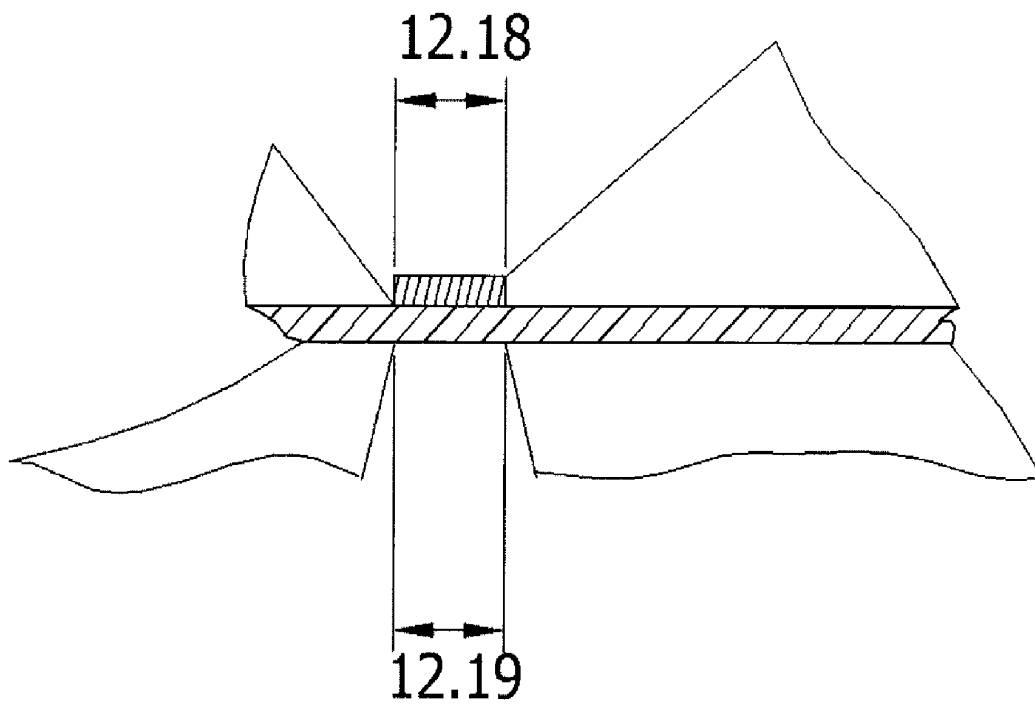
11/25 36

Obr. 11



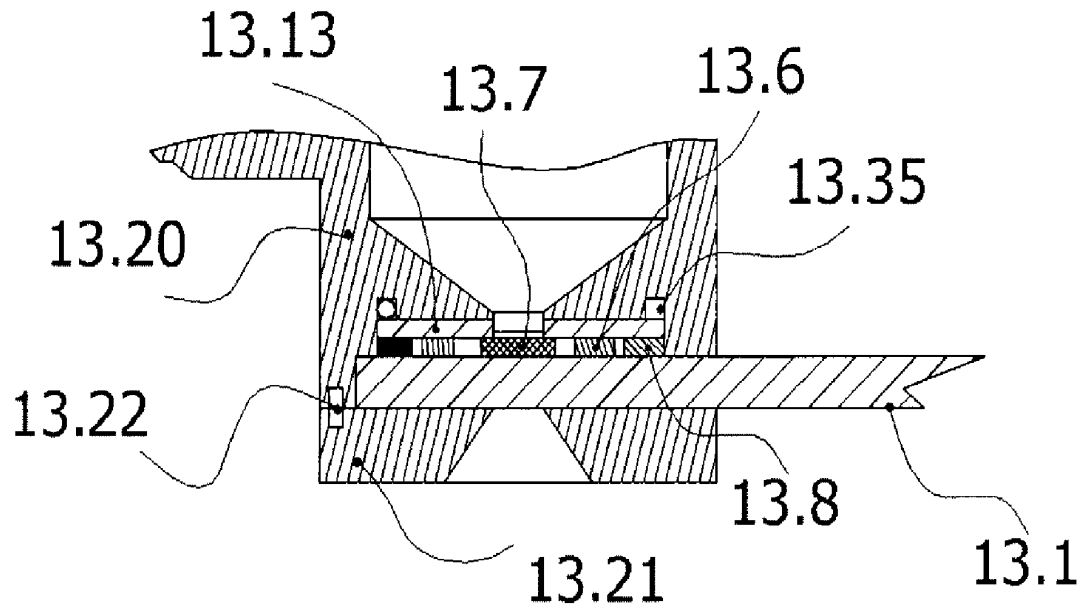
12/25 B7

Obr. 12



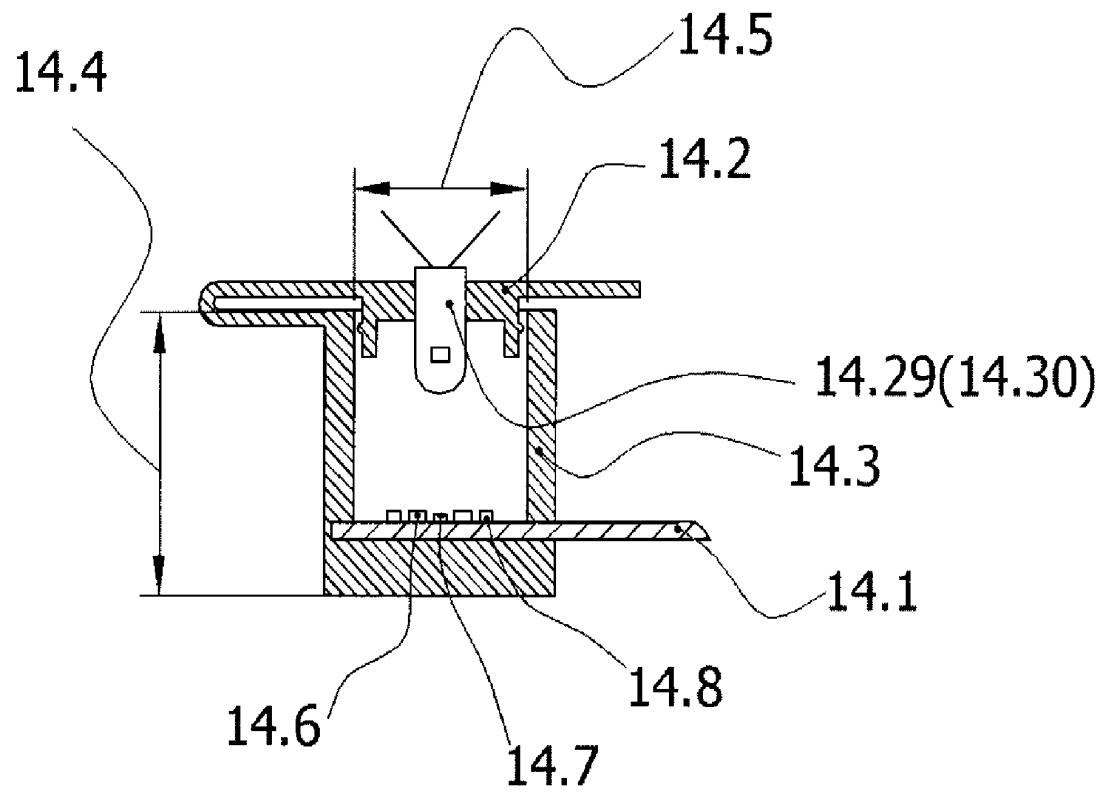
13/25 48

Obr. 13



14/25 89!

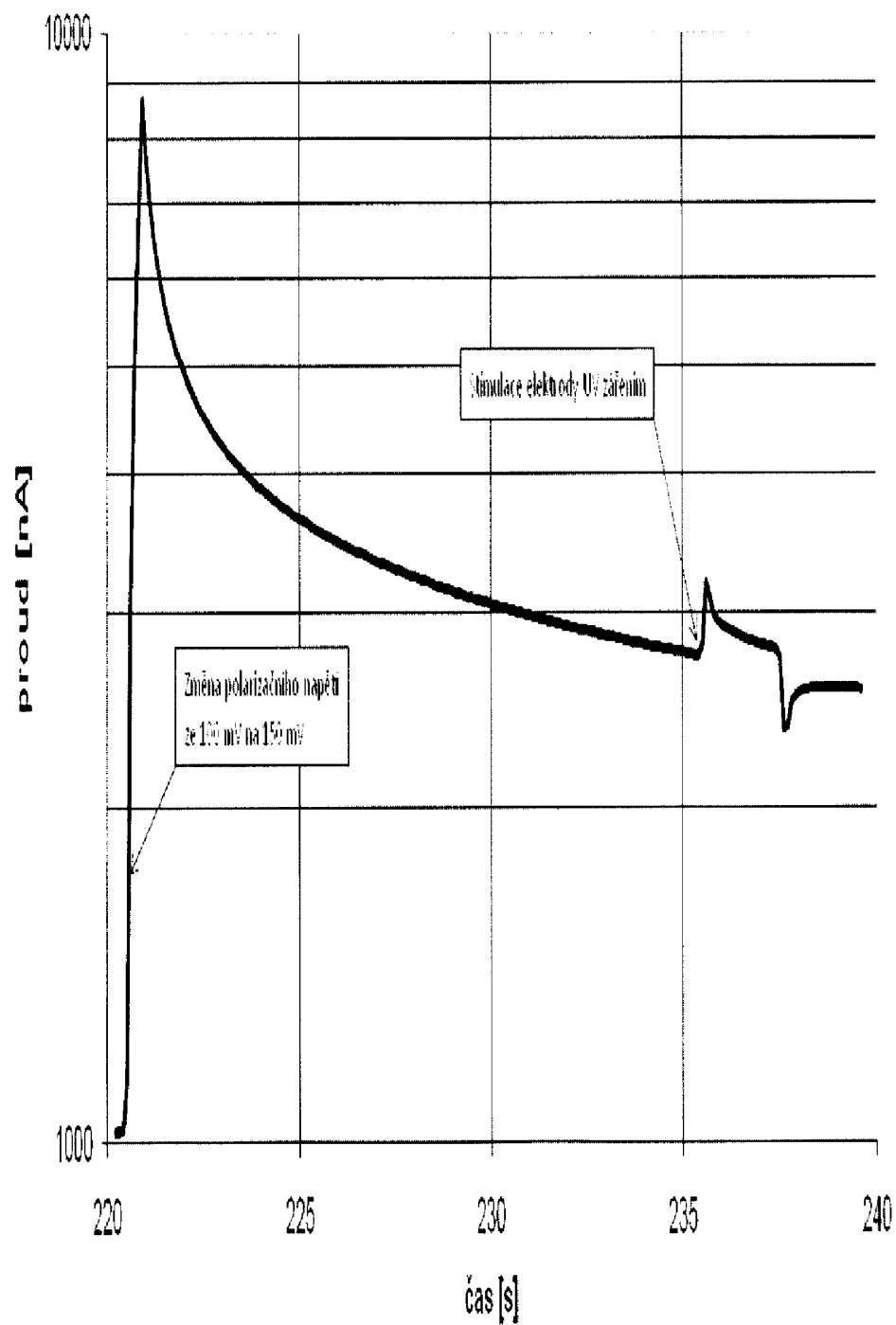
Obr. 14



18/25 Ad

Obr. 15

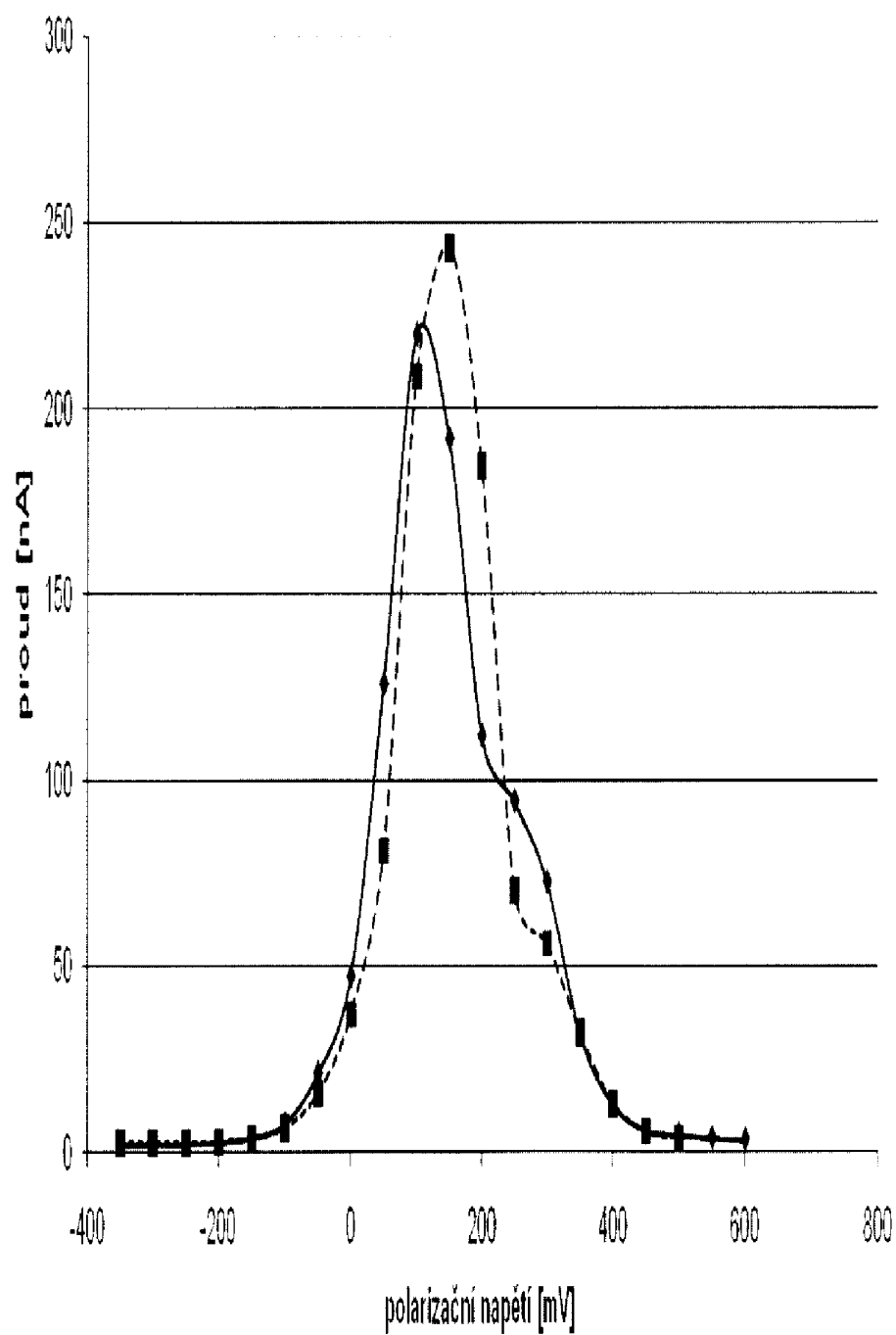
Příklad odezvy senzoru



16/25 AV

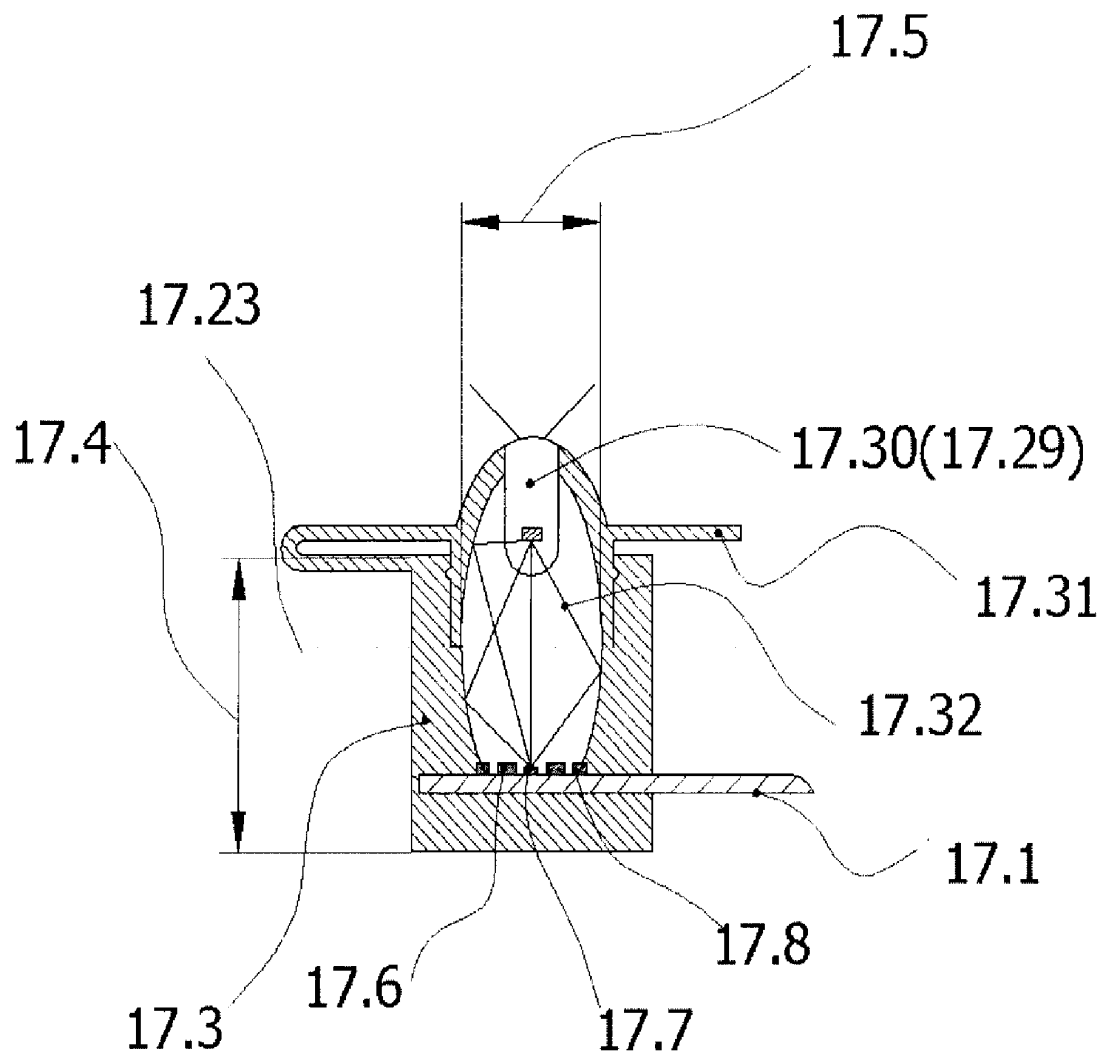
Obr. 16

Závislost odezvy na optické stimulaci



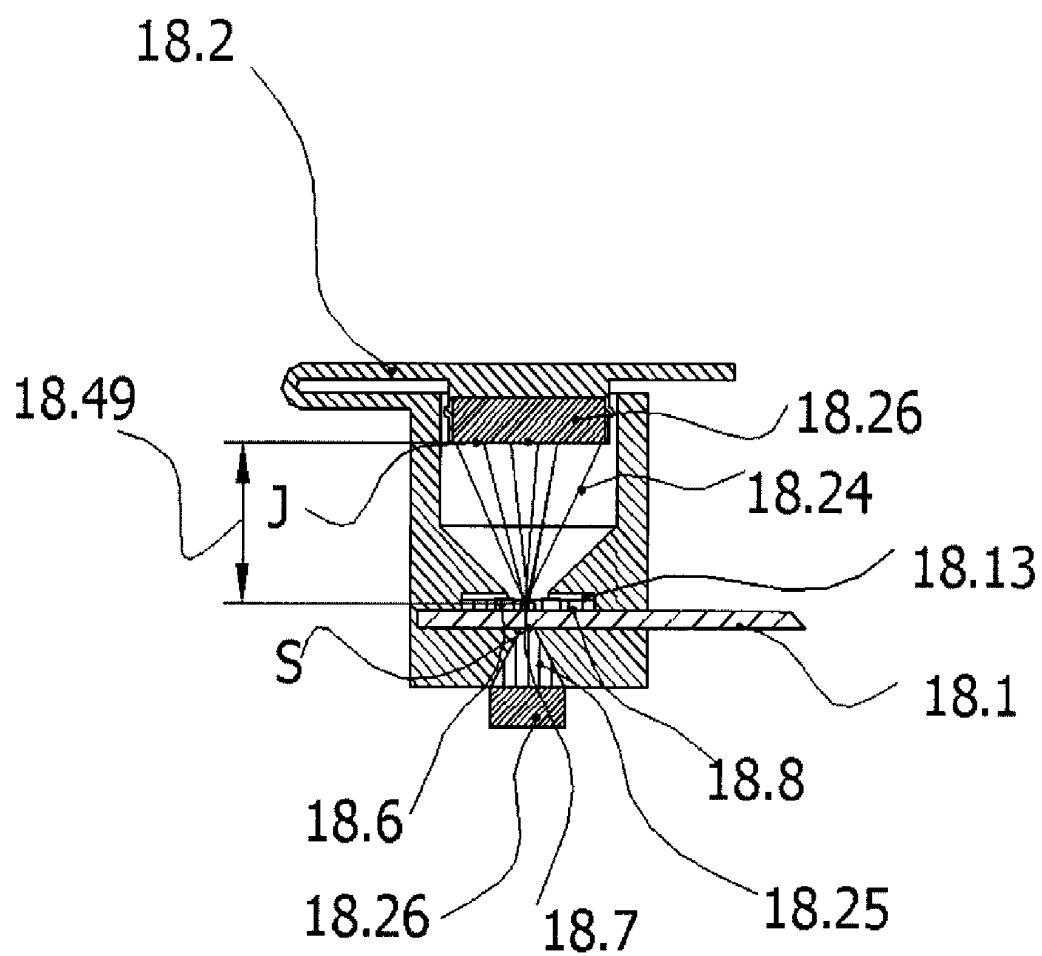
17/25 A21

Obr. 17



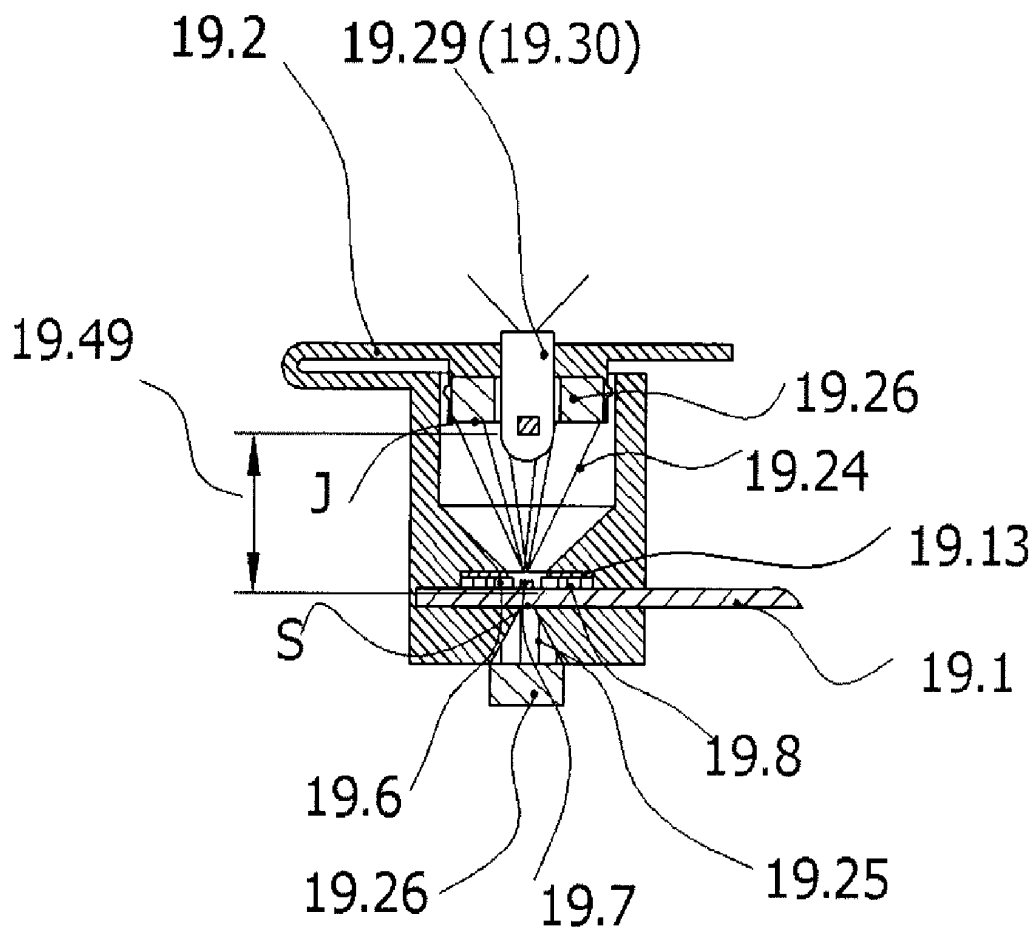
18/25 A3

Obr. 18



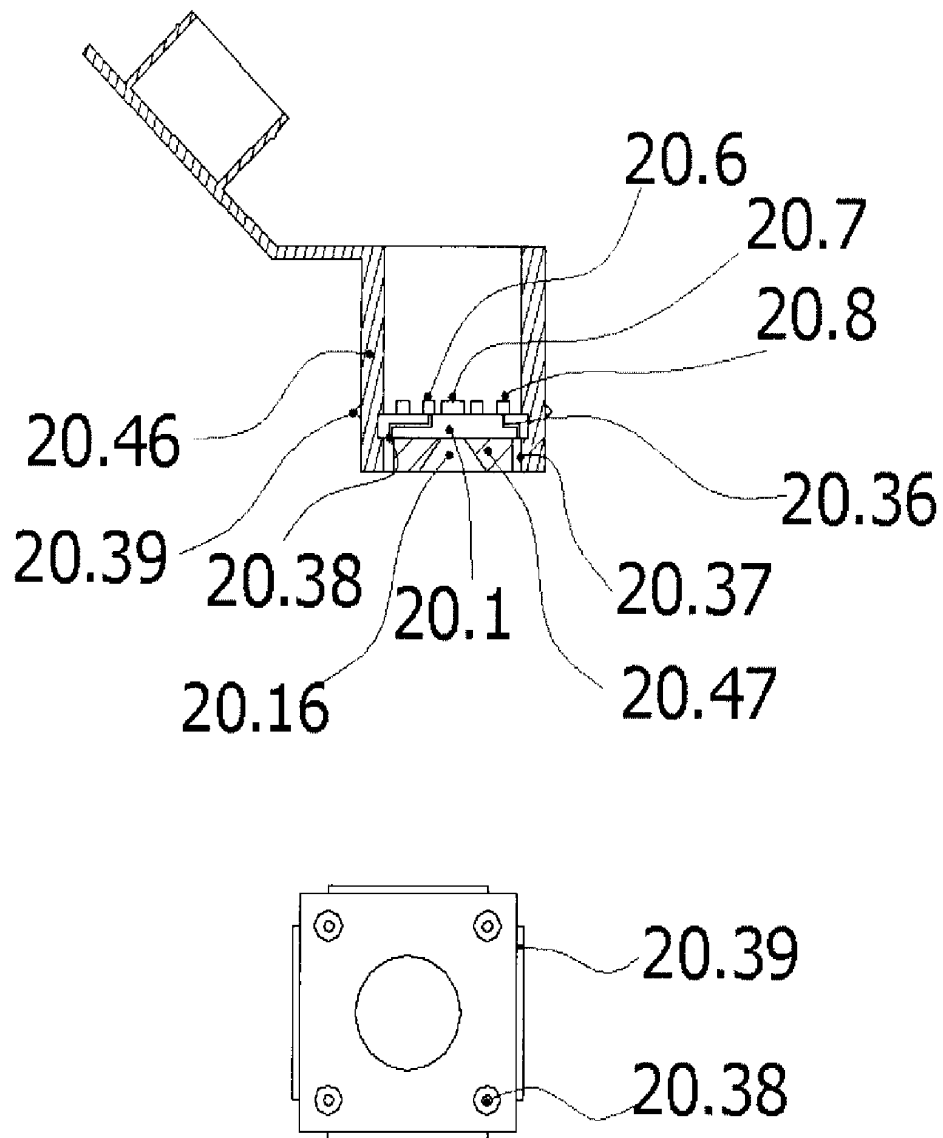
19/25 A4

Obr. 19



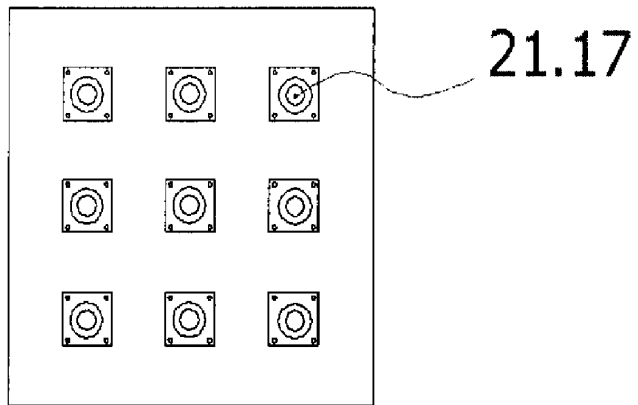
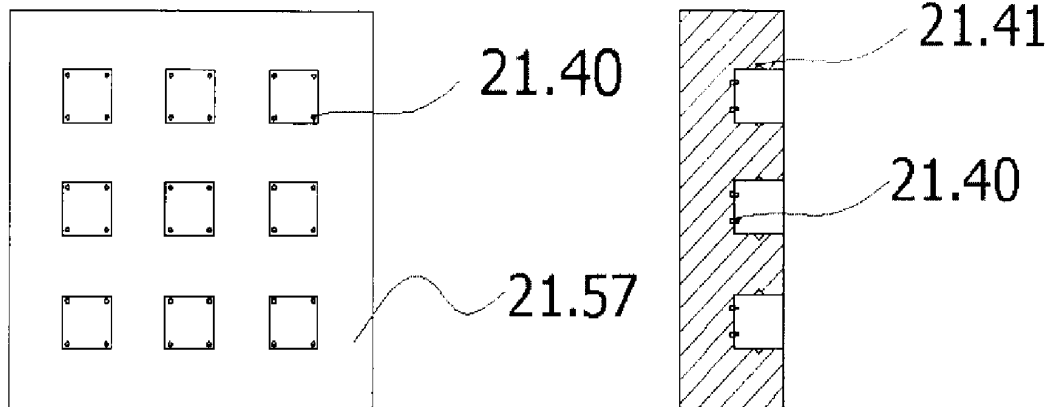
29/25 43

Obr. 20



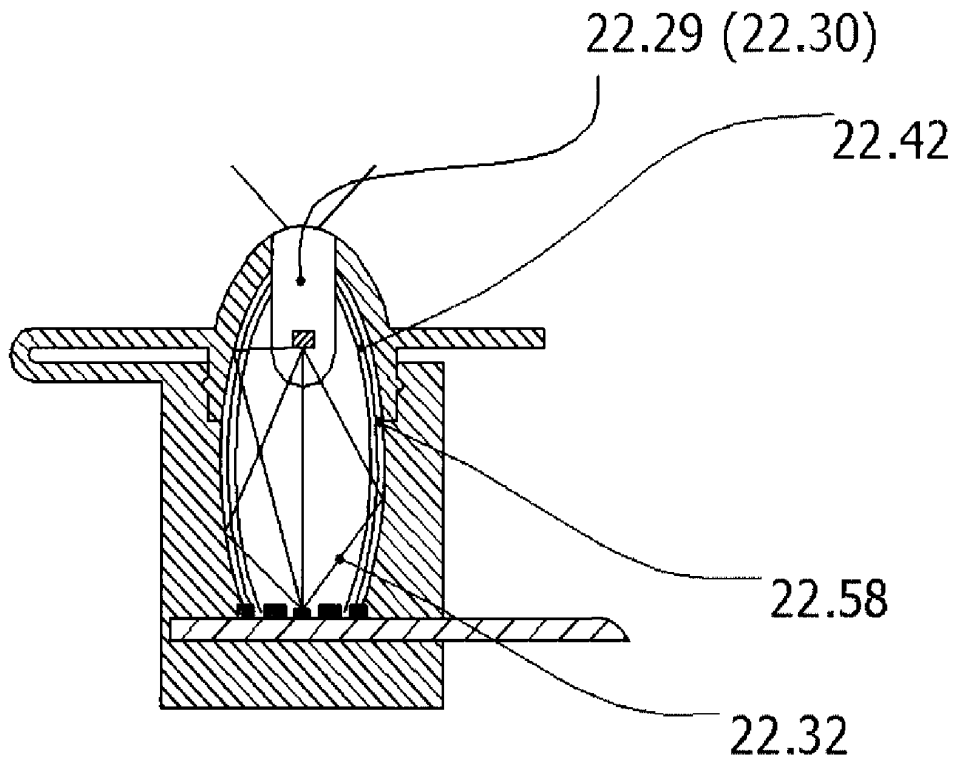
2/15 #6

Obr. 21



22/25 47!

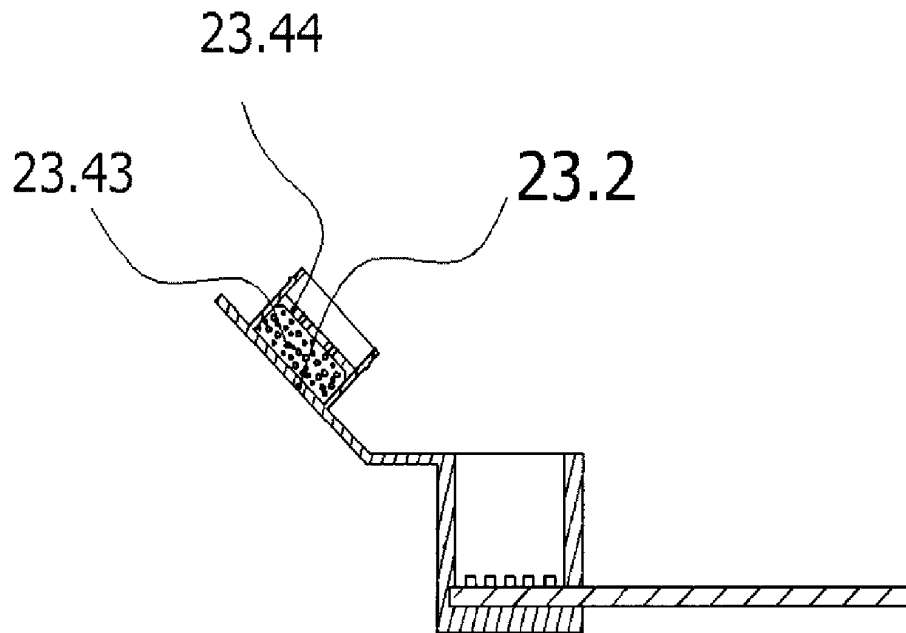
Obr. 22



20.01.09

23/25 148

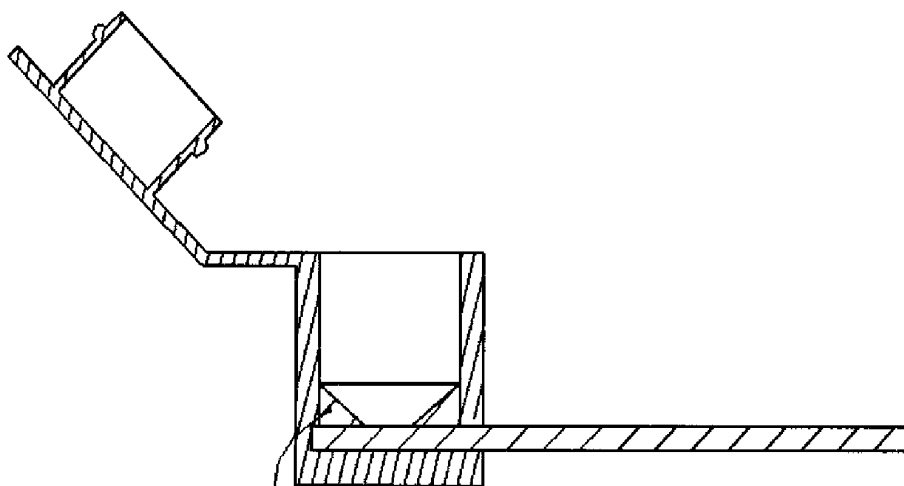
Obr. 23



20.01.09

24/25
149

Obr. 24



24.45

20.01.09

23/25
60'

Obr. 25

