

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

**Elektrochemické vlastnosti tištěných senzorů s chemicky
deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou
modifikovanou zlatými nanočásticemi**

Bc. Kateřina Petříková

Diplomová práce

2022

University of Pardubice
Faculty of chemical technology

**Electrochemical properties of screen-printed sensors with
chemically deposited boron-doped diamond electrode
modified by gold nanoparticles**

Bc. Kateřina Petříková

Diploma thesis

2022

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Kateřina Petříková**
Osobní číslo: **C20541**
Studijní program: **N0711A130013 Chemické a procesní inženýrství**
Specializace: **Ochrana životního prostředí**
Téma práce: **Elektrochemické vlastnosti tištěných senzorů s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi**
Zadávající katedra: **Ústav environmentálního a chemického inženýrství**

Zásady pro vypracování

1. Popište stručně princip voltametrie. Zpracujte literární rešerši týkající se problematiky pracovních elektrod ve voltametrii. Zaměřte se na borem dopovanou diamantovou elektrodu (BDDE), její vlastnosti a možnosti využití. Vypracujte přehled modifikací povrchu této elektrody popsanych v odborné literatuře. Pozornost věnujte rovněž tištěným senzorům.
2. V rámci experimentální části proveďte studii elektrochemických vlastností nových laboratorně připravených tištěných senzorů s BDDE modifikovanou zlatými nanočásticemi s využitím vybraných redoxních systémů. Dosažené výsledky porovnejte s daty získanými pro klasickou BDDE ve standardním tříelektrodovém uspořádání elektrochemického článku a tištěný senzor s BDDE bez modifikace povrchu.
3. Ověřte aplikační možnosti testovaných senzorů při analýze vybraných biologicky aktivních látek v modelových roztocích, vypočtete základní statistické parametry a porovnejte jejich citlivost, případně selektivitu.
4. Diplomovou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019 „Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací“ v platném znění.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Renáta Šelešovská, Ph.D.**
Ústav environmentálního a chemického inženýrství
Konzultant diplomové práce: **MSc. Oleksandr Matvieiev**
Ústav environmentálního a chemického inženýrství
Datum zadání diplomové práce: **25. února 2022**
Termín odevzdání diplomové práce: **6. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Petr Mikulášek, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 25. února 2022

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne

Bc. Kateřina Petříková

Poděkování

Velké poděkování patří především doc. Ing. Renátě Šelešovské, Ph.D. za odbornou pomoc, cenné rady, ochotu a trpělivost při vzniku této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat svému konzultantovi MSc. Oleksandru Matvieievovi za pomoc při experimentální části práce. Poděkování patří i skupině Dr. Vojse ze Slovenské technické univerzity v Bratislavě za spolupráci a dodání tištěných senzorů.

Také velice děkuji rodině a všem, kteří mě během studia podporovali.

Tato diplomová práce byla vypracována s finanční podporou Grantové agentury České republiky, projekt č. 20-01589S.

Anotace

Cílem této diplomové práce bylo studium elektrochemických vlastností tištěných senzorů (SPE) s elektrochemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou (BDDE), jejíž povrch byl modifikován zlatými nanočásticemi. Teoretická část je zaměřena na historii voltametrie, její princip a princip voltametrických metod. Následující kapitoly představují pracovní elektrody nejčastěji používané ve voltametrii a charakterizují BDDE včetně přehledu možných modifikací jejího povrchu. Experimentální část je pak zaměřena na studium elektrochemických vlastností testovaných senzorů, konkrétně nemodifikované BDDE v klasickém uspořádání nebo jako součásti SPE, a tištěné senzory s povrchem BDDE modifikovaným zlatými nanočásticemi, a to fyzikální či elektrochemickou depozicí. Dále byla vyvinuta metoda stanovení dopaminu s využitím square-wave voltametrie, která byla aplikována při analýze dopaminu s využitím všech testovaných senzorů.

Klíčová slova

Voltametrie, borem dopovaná diamantová elektroda, tištěné senzory, modifikace, zlaté nanočástice, elektrochemické vlastnosti, dopamin.

Annotation

The aim of this diploma thesis was to study the electrochemical properties of screen-printed sensors (SPE) with electrochemically deposited boron-doped diamond electrode (BDDE), the surface of which was modified with gold nanoparticles. The theoretical part is focused on the history of voltammetry, its principle and the principle of voltammetric methods. The following chapter summarizes the working electrodes most often used in voltammetry and characterizes the BDDE, including an overview of possible modifications of its surface. The experimental part is focused on the study of electrochemical properties of tested sensors, namely unmodified BDDE in a classical arrangement or as part of SPE, and printed sensors with BDDE modified with gold nanoparticles, either by physical or electrochemical deposition. Furthermore, the method of dopamine determination using square-wave voltammetry was developed, which was applied in dopamine analysis using all tested sensors.

Key words

Voltammetry, boron-doped diamond electrode, screen-printed electrodes, modification, gold nanoparticles, electrochemical properties, dopamine.

Obsah

1. Úvod	11
2. Teoretická část	12
2.1. Voltametrie	12
2.1.1. Voltametrické metody	15
2.1.2. Pracovní elektrody ve voltametrii	18
2.1.3. Borem dopovaná diamantová elektroda	23
2.1.4. Modifikace borem dopovaných diamantových elektrod	25
2.2. Dopamin	27
3. Experimentální část	32
3.1. Přístrojové vybavení	32
3.2. Použité chemikálie	33
3.3. Pracovní postupy	34
3.3.1. Příprava pracovních elektrod	34
3.3.2. Studium elektrochemických vlastností s využitím cyklické voltametrie	35
3.3.3. Stanovení dopaminu s využitím testovaných senzorů	35
4. Výsledky a diskuse	37
4.1. Elektrochemická charakterizace testovaných senzorů	37
4.1.1. Elektrochemické vlastnosti BDDE a SP/BDDE – $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$	39
4.1.2. Elektrochemické vlastnosti testovaných senzorů – $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$	44
4.1.3. Elektrochemické vlastnosti testovaných senzorů – dopamin	50
4.2. Optimalizace podmínek stanovení dopaminu s využitím BDDE	57
4.2.1. Voltametrické chování dopaminu v závislosti na pH	58
4.2.2. Vývoj metody stanovení dopaminu	59
4.3. Aplikace modifikovaných senzorů při analýze dopaminu	65
4.3.1. Využitelný potenciálový rozsah modifikovaných senzorů	65
4.3.2. Koncentrační závislosti dopaminu při optimalizovaných podmínkách	66
4.3.3. Měření při nízkých rychlostech polarizace	73
4.4. Simultánní stanovení dopaminu a vybraných bioaktivních látek	79
5. Závěr	85
Seznam literatury	87

Seznam symbolů a zkratek

5-HT	Serotonin
<i>A</i>	Amplituda [mV]
AA	Kyselina askorbová
AB	Amoniakální pufr
Au/p-BDDE	Porózní BDDE modifikovaná zlatými nanočásticemi
AuED-SP/BDDE	Tištěná BDDE elektrochemicky deponovaná zlatými částicemi
AuNP-BDDE	BDDE modifikovaná zlatými nanočásticemi
AuNPs	Zlaté nanočástice
Au-SP/BDDE	Tištěná BDDE modifikovaná zlatými částicemi
BAC	Biologicky aktivní látky
BDDE	Elektroda s borem dopovaným diamantem
BDD-SnHCF-BDD	BDD modifikovaný hexakynoželezitanem cínatým
BiNP-BDDE	BDDE modifikovaná nanočásticemi bismutu
<i>C</i>	Integrační kapacita elektrody [F]
<i>c</i>	Koncentrace [mol L ⁻¹]
<i>C'</i>	Specifická kapacita [F (cm ²) ⁻¹]
<i>C</i> ₀	Konstantní koncentrace na povrchu elektrody [mol L ⁻¹]
CB-Nafion/p-BDD	Sazemi a Nafionem modifikovaný porézní BDD
CE, Aux	Pomocná elektroda
<i>c</i> _{ox}	Koncentrace oxidované formy stanovovaného analytu [mol L ⁻¹]
CPE	Carbon paste electrode, uhlíková pastová elektroda
CPT-BDD	Katodicky předupravený BDD
<i>c</i> _{red}	Koncentrace redukované formy stanovovaného analytu [mol L ⁻¹]
CV	Cyklická voltametrie
CVD	Chemical vapor deposition, chemická parní depozice
CYS	Cysteamin
<i>D</i>	Difusní koeficient [cm ² s ⁻¹]
DA	Dopamin
($\delta c/\delta x$) _{x=0}	Koncentrační gradient
DCV	Stejnosměrná voltametrie
DME	Dropping mercury electrode, kapající rtuťová elektroda
$\delta N/\delta t$	Počet molů depolarizátoru
DNA	Deribonukleová kyselina
DPV	Diferenčně pulzní voltametrie
<i>E</i>	Elektrodový potenciál [V]
<i>E</i> [*]	Elektrodový potenciál odkazující se na elektrokapilární nulu [V]
<i>E</i> ⁰	Standardní elektrodový potenciál [V]
<i>E</i> _{1/2}	Půlvlnový potenciál [V]
<i>E</i> _m	Potenciál elektrody bez náboje [V]
<i>E</i> _p	Potenciál píku [V]
<i>F</i>	Faradayova konstanta (96 500 C mol ⁻¹)
<i>f</i>	Frekvence [Hz]
GCE	Glassy carbon electrode, elektroda ze skelného uhlíku
GO _x	Glukózooxidázu
HMDE	Hanging mercury drop electrode, visící rtuťová kapková elektroda
<i>I</i>	Proud [A]

I_c	Nabíjecí, kapacitní proud [A]
I_d	Difúzní, faradický proud [A]
I_k	Kinetický proud [A]
I_{lim}	Limitní difúzní proud [A]
I_{pa}	Anodický proud [A]
I_{pc}	Katodický proud [A]
k_{app}^0	Zdánlivá rychlostní konstanta přenosu náboje [cm s^{-1}]
LOD	Limit detekce
m	Množství přeměněné látky [g]
m	Výtoková rychlost
M	Molekulová hmotnost [g mol^{-1}]
MeNP	Kovové nanočástice
MFE	Mercury film electrode, rtuťová filmová elektroda
MLT	Melatonin
Nafion/MWCNT-BDUNCD	Nafionem dopované víceštěnné uhlíkové nanotrubičky na borem dopovaném ultrananokrystalickém diamantu
PA	Paracetamol
p.a.	Per analysis, určeno pro analýzu
pAu-SP/BDDE	Tištěná BDDE s porézním povrchem modifikovaným zlatými částicemi
PBDDE/Ta	Porózní BDDE se substrátem z Ta
PBS	Fosfátový pufr
PtNP	Platinové nanočástice
PVC	Polyvinyl chlorid
Q	Prošlý náboj [C]
q	Okamžitý povrch kapající rtuťové elektrody
R	Univerzální plynová konstanta ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)
RE, Ref	Referenční elektroda
SEM	Scanning electron microscope, Rastrovací elektronový mikroskop
SMDE	Static mercury drop electrode, statická rtuťová kapková elektroda
SnNP	Cínové nanočástice
SP/BDDE	Tištěná BDDE
SPE	Screen-printed electrode, tištěná elektroda
SWV	Square wave voltametrie
T	Teplota [K]
t	Doba kapky [s]
TRP	Tryptofan
TYR	Tyrosin
UA	Kyselina močová
V	Voltmetr
v	Rychlost polarizace [V s^{-1}]
Vit. B6	Vitamin B6
WE, Work	Pracovní elektroda
x	Vzdálenost [mm]
z	Počet vyměněných elektronů potřebných k reakci
α	Koeficient přenosu náboje
γ	Poměr difusních koeficientů
ΔE_p	Potenciálový rozdíl [V]
ψ	Míra reversibility/ireversibility elektrodové reakce

1. Úvod

Vývoj nových systémů pro analýzu biologicky aktivních látek (BAC) a jejich metabolitů, důležitých z hlediska lékařského, zemědělského, ekologického nebo potravinářského, je jedním z nejdůležitějších trendů v moderní analytické chemii. V současnosti se pro tyto účely obvykle používají vysoce sofistikované, drahé, časově náročné a pracné spektrometrické a separační metody. Jejich vysoké investiční a provozní náklady však komplikují jejich použití pro účely rozsáhlého monitorování a screeningu a případně pro aplikace v terénu. Vzhledem k tomu, že řada těchto látek je elektroaktivních, elektrochemické metody mohou být dobrou alternativou. Jejich hlavními výhodami jsou levnější technika a nízké provozní náklady, jednoduchost ovládání, přenosnost a snadná miniaturizace. Díky tomu lze elektrochemické metody využívat pro analýzy v terénu nebo k tzv. point-of-care testování, umožňujícím analýzy „v místě péče“ například přímo v ordinacích lékařů při terapeutickém monitorování hladiny léčiv a jejich metabolitů v krvi/moči pacientů. Obecně tento pojem zahrnuje možnost analýzy v místě odběru vzorku bez nutnosti transportu do laboratoří (konkrétně v oblasti medicíny, toxikologie, ochrany životního prostředí aj.). Tyto metody poskytují výsledky velmi rychle a z velmi malého objemu vzorku. Jde tedy o vývoj jednoduchých senzorů a jednoduchých metod, které nevyžadují obsluhu kvalifikovaným analytickým chemikem.

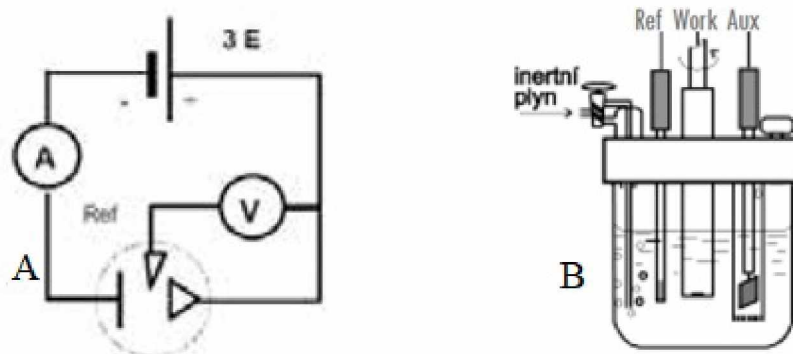
Tištěné senzory představují jednoduché řešení miniaturizace elektrochemické analýzy. Výhodou je především možnost jednoduché a levné výroby, kdy lze za krátkou dobu vyprodukovat velké množství senzorů libovolných tvarů a uspořádání elektrochemického článku, což umožňuje jejich využití jako jednorázových senzorů. Dále je možné provádět analýzy ve velmi malých objemech vzorku (50-100 μ l). Podmínkou pro jednorázové senzory je velmi dobrá opakovatelnost jejich přípravy. Rozhodující pro výběr tištěného senzoru pro konkrétní aplikaci je vhodná pracovní elektroda. Další možností, jak zvýšit citlivost nebo selektivitu elektrochemických metod je modifikace povrchů běžně používaných elektrod např. nanočásticemi kovů a jejich oxidů, uhlíkovými nanomateriály, organickými molekulami nebo polymery, či biomolekulami.

Předmětem této práce je studium elektrochemických vlastností nových tištěných senzorů s elektrochemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi a jejich aplikace při stanovení neurotransmiteru dopaminu.

2. Teoretická část

2.1. Voltametrie

Voltametrie patří mezi elektroanalytické metody a je založena na měření proudu v závislosti na potenciálu vkládaném mezi pracovní a referentní elektrodu. Proudová odezva je založena na elektrodových dějích zahrnujících především přenos náboje mezi elektrodou a analyzovanou látkou. Elektrochemický článek se obvykle skládá z pracovní, pomocné a referentní elektrody (Obrázek 2.1A), kdy proud protéká mezi pracovní a pomocnou elektrodou, zatímco potenciál je měřen mezi elektrodou pracovní a referentní. Toto uspořádání umožňuje přesné měření potenciálu pracovní elektrody, protože dochází k eliminaci ztrát vkládaného napětí při průchodu proudu na odporu analyzovaného roztoku [1]. Elektrody jsou ponořeny do roztoku základního elektrolytu, který zajišťuje vodivost prostředí a umožňuje průchod proudu. Do roztoku může být přiveden inertní plyn, který slouží k odstranění rozpuštěného kyslíku, který by mohl rušit stanovení (Obrázek 2.1B).



Obrázek 2.1 Schéma 3-elektrodového zapojení článku (A), reálné uspořádání elektrochemického článku ve voltametrické nádobce (B) [2]; A – ampérmetr, V – voltmetr, Ref – referentní elektroda, Work – pracovní elektroda, Aux – pomocná elektroda.

Voltametrie byla odvozena od polarografie, za jejíž objev získal v roce 1959 Jaroslav Heyrovský Nobelovu cenu. Rozdíl mezi těmito metodami je zejména v použité pracovní elektrodě. Zatímco v polarografii se využívala kapající rtuťová elektroda (DME, dropping mercury electrode), která se během měření periodicky obnovuje, ve voltametrii se používají stacionární elektrody, které mají neměnný povrch. To má velkou výhodu z hlediska manipulace s elektrodami, ale současně může docházet k nežádoucí pasivaci povrchu elektrody [2]. Obecně platí, že pracovní elektroda musí být polarizovatelná, tedy měnit svůj potenciál v reakci na

protékající proud. Jako referentní elektrodu je možné použít tzv. elektrodu II. druhu, která je nepolarizovatelná. Tyto elektrody mají konstantní potenciál. Ten je obvykle známý a nemění se s procházejícím proudem. Nejčastěji se používají argentchloridová (Ag/AgCl/KCl(sat.)) nebo saturovaná kalomelová elektroda (Hg/Hg₂Cl₂/KCl(sat.)). Jako pomocná elektroda se nejčastěji používá platinový drátek a opět je nepolarizovatelná [3].

Oxidační a redukční procesy, probíhající mezi pracovní elektrodou a měřeným roztokem, jsou řízeny Faradayovým zákonem (1) a mohou být popsány Nernstovou rovnicí (2):

$$m = \frac{Q M}{z F}, \quad (1)$$

$$E = E^0 + 2,303 \frac{RT}{zF} \log \frac{c_{\text{ox}}}{c_{\text{red}}}, \quad (2)$$

kde m je množství přeměněné látky [g], Q je prošlý náboj [C], M je molekulová hmotnost [g mol⁻¹], z značí počet vyměněných elektronů potřebných k reakci, F je Faradayova konstanta (96500 C mol⁻¹), E je elektrodový potenciál [V], E^0 je standardní elektrodový potenciál [V], c_{ox} a c_{red} znázorňují koncentraci oxidované a redukované formy stanovovaného analytu [mol L⁻¹], R je univerzální plynová konstanta (8,314 J K⁻¹ mol⁻¹) a T je teplota v kelvinech (teplota ve °C + 273,15).

Během měření se na pracovní elektrodu vkládá potenciál, který se s časem mění, obvykle lineárně stoupá nebo klesá, a sleduje se proudová odezva. Pokud je v roztoku přítomna látka, která se v daném rozsahu potenciálů oxiduje nebo redukuje, dojde k depolarizaci pracovní elektrody, tzn. že proběhne redoxní reakce, v systému dojde k výměně elektronů a začne protékat proud. Výsledkem je záznam závislosti proudu na potenciálu (I-E křivka), tzv. voltametrická křivka, resp. voltamogram. Výsledná proudová odezva je tvořena různými složkami:

Nabíjecí proud (I_c , kapacitní proud) se u stacionárních elektrod prakticky blíží nule. U kapajících rtuťových elektrod je třeba každou kapku nabít na požadovaný potenciál. Dochází ke kontinuálnímu průchodu nabíjecího proudu, který je funkcí rychlosti vytváření povrchu. Pro nabití rtuti na potřebný potenciál je třeba dodat určitý náboj, aby se vytvořila elektrická dvojvrstva na rozhraní rtuť-roztok. Tato dvojvrstva je tvořena z jedné vrstvy nábojů na povrchu kovové elektrody a z druhé vrstvy v roztoku v bezprostřední blízkosti elektrody. Náboje v této vrstvě jsou opačné než náboje na povrchu elektrody. Ionty se mohou přiblížit k elektrodě na vzdálenost odpovídající jejich rozměrům. Dvojvrstva na elektrodě se tak chová jako

kondenzátor, a proto je nutný určitý proud k nabití kapky na požadovaný potenciál. Rovnici (3) pro výpočet nabíjecího proudu na kapající rtuťové elektrodě odvodil D. Ilkovič v roce 1936 [4]:

$$I_c = \frac{dQ}{dt} = E^* \frac{dC}{dt}, \quad (3)$$

$$E^* = E - E_m, \quad (4)$$

kde Q je prošlý náboj, t je doba kapky, E^* je elektrodový potenciál odkazující se na elektrokapilární nulu, který lze vypočítat ze vztahu (4), kde E je potenciál elektrody a E_m je potenciál elektrody bez náboje (obě hodnoty se vztahují na stejnou referenční elektrodu), C je integrální kapacita elektrody, která se mění s růstem kapky. Zavedením specifické kapacity C' , tj. kapacity na cm^2 , získáme vztah (5), ze kterého vyplývá, že okamžitý nabíjecí proud při konstantním potenciálu dosáhne maxima na začátku tvorby kapky a minima při pádu kapky [4].

$$i_c = E^* \cdot C' \frac{dq}{dt} = \frac{2}{3} \cdot 0,85 E^* \cdot C' \cdot m^{2/3} \cdot t^{-1/3}, \quad (5)$$

kde q je okamžitý povrch kapající rtuťové elektrody ($q = 0,85 \cdot m^{2/3} \cdot t^{2/3}$) a m je výtoková rychlost.

Difúzní proud (I_d , faradaický proud) je řízen pouze difúzí. Na stacionárních elektrodách dochází především k lineární difúzi, což je spontánní proces vedoucí k vyrovnání koncentrací ve směru koncentračního gradientu. Pokud se koncentrační gradient vyskytuje v roztoku, rozpuštěná látka se pohybuje z prostoru o vyšší koncentraci do prostoru o nižší koncentraci. Koncentrace depolarizátoru klesá ve směru kolmém k elektrodě v důsledku elektrochemických změn na elektrodě. I_d , vyjádřený vztahem (6) je určen koncentračním gradientem na povrchu elektrody, který je závislý na čase [4]:

$$I_d = nF \frac{dN}{dt} = zFqD \left(\frac{\delta c}{\delta x} \right)_{x=0}, \quad (6)$$

kde $\frac{dN}{dt}$ je počet molů depolarizátoru, kterého dosáhne elektroda za jednotku času a podléhá elektrochemické změně, q je povrch elektrody, x vzdálenost, D je difúzní koeficient, který udává počet molů látky, která projde difúzí jednotkovou plochou při koncentračním gradientu za jednotku času (10^{-6} – 10^{-5} $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) a $\left(\frac{\delta c}{\delta x} \right)_{x=0}$ je koncentrační gradient. Kombinací 2. Fickova zákona, rovnice pro difúzi a konvekci a rovnice pro výpočet koncentračního gradientu byla odvozena Ilkovičova rovnice pro proud vedený difúzí (9), kde c je koncentrace v objemu vzorku a c_0 je konstantní koncentrace na povrchu elektrody. Dalšími úpravami byla tato rovnice převedena do tvaru (10) [4].

$$I_d = nFqD \frac{c-c_0}{\left(\sqrt{\frac{3}{7}\pi \cdot Dt}\right)}, \quad (9)$$

$$I_d = 0,732nF(c - c_0) \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6}. \quad (10)$$

Kinetický proud (I_k) je pozorován např. při tvorbě redukovatelných, resp. oxidovatelných elektroaktivních částic v okolí elektrody z elektroinaktivní formy při daném potenciálu. Rychlost této reakce je řízena polarografickým proudem. Kinetický proud je úměrný koncentraci depolarizátoru a výrazně se zvyšuje s nárůstem teploty [5].

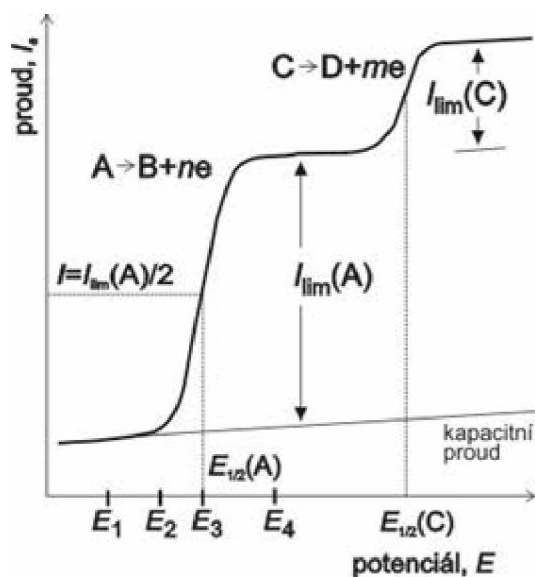
Adsorpční proud vzniká adsorpcí depolarizátoru na povrch elektrody. Adsorpční proudy jsou pozorovány na I-E křivkách, kdy se adsorpční procesy projevují samostatnou vlnou při potenciálech buď kladnějších nebo zápornějších než vlna pro redukci nebo oxidaci neadsorbovaných sloučenin. V některých případech může adsorbovaná vrstva bránit dalším elektrodovým procesům. Adsorpční proudy jsou nejčastěji pozorovány u organických látek s vysokou molekulovou hmotností [5].

Katalytické proudy vznikají přidáním látky působící jako katalyzátor. Tato látka způsobí posun v redukci depolarizátoru ke kladnějším potenciálům nebo v případě oxidace k zápornějším hodnotám. Nejběžnějším typem takové reakce je katalytický vývoj vodíku, který představuje katalytické snížení vodíkového přepětí. Katalytické vlny se vyznačují nelineární závislostí na koncentraci katalyzátoru, jsou funkcí pH [5].

2.1.1. Voltametrické metody

2.1.1.1 Stejnoseměrná voltametrie (DCV)

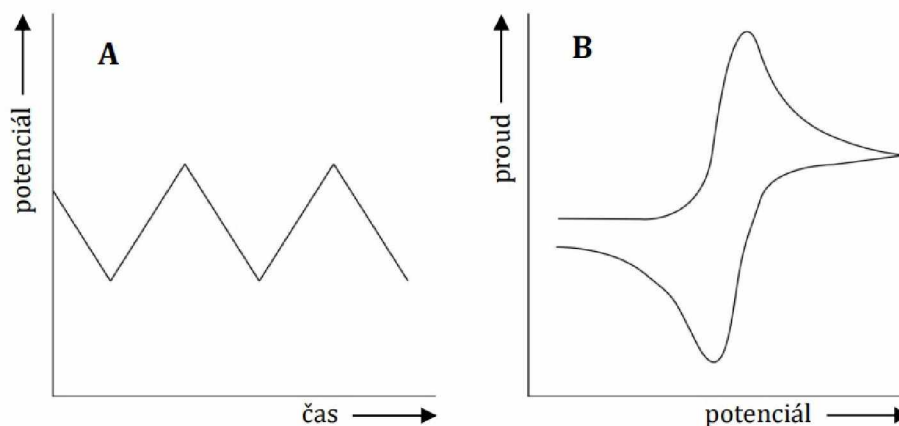
DCV je základní voltametrickou metodou. Na elektrody se vkládá potenciál, který lineárně roste (anodický) nebo klesá (katodický) v závislosti na čase. Přítomné elektroaktivní látky v roztoku se buď oxidují nebo redukují. Výsledkem je polarizační křivka, jejíž tvar je uveden na Obrázku 2.2 [6]. Polarizační křivka má tvar vlny. Její velikost a zároveň i kvantitu udává limitní difuzní proud (I_{lim}), kvalitativním údajem je půlvlnový potenciál $E_{1/2}$. Pomocí DCV lze stanovit organické i anorganické látky. Rozlišit lze látky, které se liší hodnotou $E_{1/2}$ minimálně o 200 mV. Limity detekce (LOD) této metody se pohybují v řádu 10^{-5} mol L⁻¹ [6].



Obrázek 2.2 Voltametrická vlna získaná pomocí DCV [6]; I – proud, E – potenciál, I_{lim} – limitní proud, $E_{1/2}$ – půlvlnový potenciál.

2.1.1.2 Cyklická voltametrie (CV)

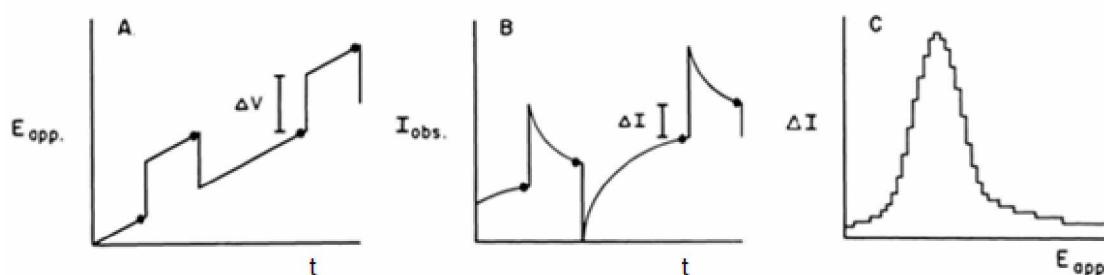
Při cyklické voltametrii se vkládá potenciál, jehož závislost na čase má tvar trojúhelníku, tzn. že nejprve lineárně roste a poté klesá nebo naopak. Když potenciál dosáhne specifikované hodnoty směr se obrátí a potenciál se vrátí na svou počáteční hodnotu (Obrázek 2.3A). Při skenování anodického proudu dochází k nahromadění reakčního (oxidačního) produktu blízko povrchu elektrody. Při zpětném skenování katodického proudu může docházet k redukcí tohoto produktu [7]. Děj může probíhat i opačně, kdy dochází k redukcí analyzované látky a poté k následné oxidaci redukčního produktu. Výsledkem je cyklický voltamogram, jehož tvar je uveden na Obrázku 2.3B. Tato metoda se příliš nevyužívá pro stanovení látek, ale spíše při studiu elektrochemického chování látek, reversibility systému nebo zkoumání oxidačních a redukčních mechanismů.



Obrázek 2.3 Závislost potenciálu vkládaného na elektrody na čase (A) a výsledný cyklický voltamogram (B) [8]

2.1.1.3 Diferenčně pulzní voltametrie (DPV)

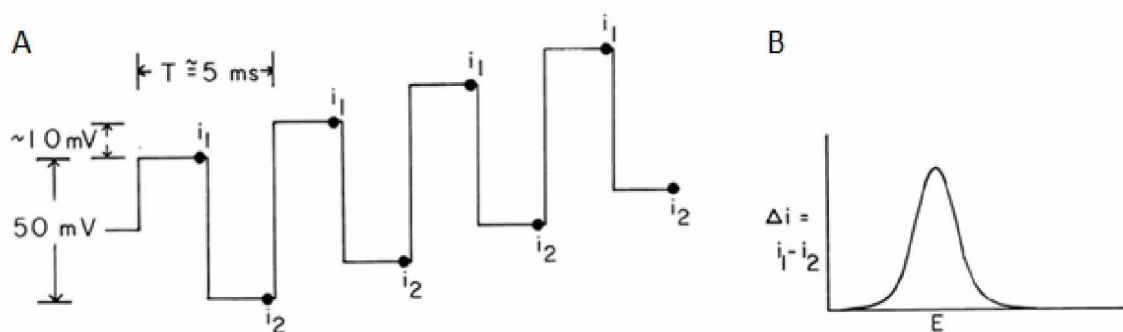
DPV je široce používaná elektrochemická metoda pro stanovení koncentrace oxidovatelných nebo redukovatelných látek v roztoku. Tato metoda byla vyvinuta ve snaze eliminovat vliv nabíjecího proudu a vyjádřit signál ve snadněji kvantifikovatelné formě. Tvar vkládaného potenciálu v závislosti na čase je uveden na Obrázku 2.4A. Jedná se o pomalu rostoucí rampu, na kterou jsou vkládány malé napěťové pulzy. Výsledný proud je odečítán ve dvou bodech vzhledem ke každému malému pulzu, a to těsně před vložením pulzu a těsně před koncem pulzu (Obrázek 2.4B). Údaje jsou vyjádřeny jako rozdíl mezi těmito dvěma proudy čímž vznikne DPV voltamogram, jehož tvar je uveden na obrázku 2.4C [7]. Sloučeniny, které se oxidují nebo redukují při různých potenciálech se projeví jako samostatné píky, pokud se jejich oxidační potenciály liší minimálně o 50 mV. Ve srovnání s DCV jsou rovněž dosahovány nižší hodnoty *LOD*, konkrétně v řádu 10^{-8} mol L⁻¹ [7].



Obrázek 2.4 Závislost vkládaného potenciálu na čase (A), odečítání proudu ve dvou bodech: před vložením pulzu a na jeho konci (B) a výsledný DP voltamogram (C) [7].

2.1.1.4 Square wave voltametrie (SWV)

Tvar vkládaného potenciálu u SWV je uveden na obrázku 2.5. SWV je metoda podobná DPV, ale je u ní eliminována relativně dlouhá doba mezi pulzy. Podstatou potenciálové rampy je střídavé napětí modulované jako pravoúhlé segmenty [9, 10]. Proud se vzorkuje na konci pozitivního segmentu jako dopředný proud a na začátku následujícího, opačně orientovaného segmentu, jako zpětný proud. Proveďte se diference a získaný konečný signál, diferenční proud, se pak registruje v závislosti na potenciálu [11]. Výsledná odezva má tvar symetrického píku. SWV obvykle umožňuje dosažení o něco nižších hodnot *LOD* než výše zmíněná DPV [7].



Obrázek 2.5 Průběh potenciálu vkládaného na elektrody při SWV s vyznačeným vzorkováním proudu (A) a výsledný SW voltamogram (B) [7].

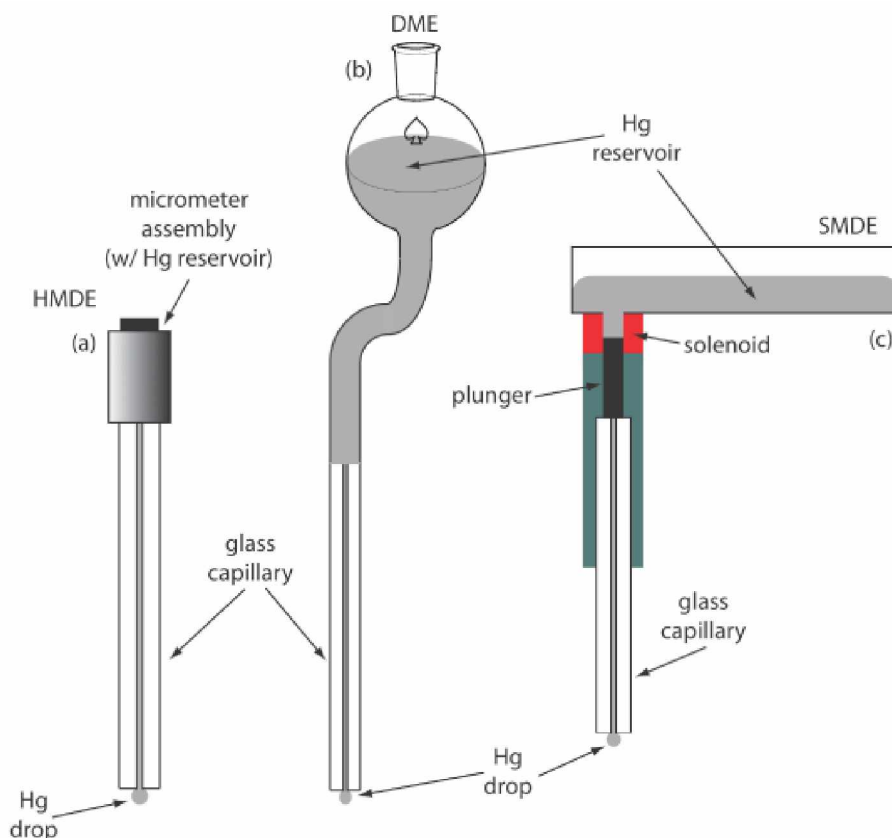
2.1.2. Pracovní elektrody ve voltametii

Pracovní elektrody ve voltametii mají stacionární, neměnný povrch. Výběr materiálu záleží na potřebném využitelném potenciálovém rozsahu, protože každý materiál nabízí jiný. Pracovní elektroda by měla poskytovat reprodukovatelné výsledky a velký poměr signál/šum. Ideální pracovní elektroda má povrch z velmi čistého kovu, nejčastěji se používá rtuť a další ušlechtilé kovy (platina, zlato, ruthenium aj.), nebo různé formy uhlíku. Pevné elektrody jsou obvykle zapracované do inertního materiálu jako je teflon, sklo nebo epoxidová pryskyřice [12].

2.1.2.1 Rtuťové elektrody

Rtuť vykazuje velmi široký využitelný potenciálový rozsah, a to zejména v oblasti negativních potenciálů, má vysoké přepětí vodíku. Proto je vhodná zejména pro stanovení redukovatelných látek. Rtuťové elektrody poskytují velmi dobře opakovatelné výsledky, protože měření probíhá na rtuťové kapce, kterou lze v průběhu měření nebo mezi jednotlivými měřeními reprodukovatelně obnovovat. Dalšími výhodami je velmi hladký povrch rtuti, geometrická plocha elektrody se rovná elektroaktivní, rtuť tvoří amalgámy s řadou kovů, což lze využít k nahromadění, akumulaci analytu na povrchu elektrody [12]. Nevýhodou rtuťových elektrod je anodické rozpouštění rtuti již při relativně nízkých pozitivních potenciálech. Nedají se proto obvykle použít pro analýzu oxidovatelných látek, tedy v oblasti pozitivních potenciálů. Další velkou nevýhodou je toxicita rtuti. Elementární rtuť je těkavá tudíž se velmi snadno vypařuje a dostává se do prostředí. Její toxicita pro člověka závisí na reakci rtuťnatého kationtu se skupinami $-SH$ v biomolekulách. Tímto dochází ke změně propustnosti buněčných membrán a poškození buněčných enzymů. Rtuť a její sloučeniny mohou působit díky své toxicitě akutní i chronické otravy, proto je velkým zájmem eliminovat její použití a emisi do prostředí [13].

V polarografii se využívala již zmíněná DME (Obrázek 2.6b), jejíž výhodou bylo zejména pravidelné obnovování rtuťové kapky v průběhu měření, které eliminovalo jakoukoli pasivaci povrchu. Naopak nevýhodou byla velká spotřeba rtuti. Pro voltametrii se používají rtuťové elektrody s visící kapkou, jako je visící rtuťová kapková elektroda (HMDE, hanging mercury drop electrode, Obrázek 2.6a) nebo statická rtuťová kapková elektroda (SMDE, static mercury drop electrode, Obrázek 2.6c) nebo rtuťové filmové elektrody (MFE, mercury film electrode). HMDE se liší od DME tím, že se kapka rtuti neobnovuje během experimentu, ale až po jeho skončení. To vede k významnému snížení spotřeby rtuti, ale současně se zvyšuje riziko pasivace povrchu vlivem adsorpce. SMDE může sloužit jako DME, kdy je její výhodou kontrolovaná velikost kapky a řízené odkapávání v předem nastavených intervalech. Na druhou stranu může být aplikována i jako HMDE. MFE se připravují elektrochemicky vyloučením tenké vrstvy rtuti na ušlechtilý, vodivý a inertní substrát, kterým mohou být kovy jako je zlato, stříbro, platina a měď, nebo uhlíkové povrchy. MFE se dají použít při velmi nízkém potenciálu, kde mohou být HMDE již méně stabilní [12].



Obrázek 2.6 Schéma základních variant rtuťových elektrod: a) HMDE, b) DME, c) SMDE [14]

2.1.2.2 Elektrody z ušlechtilých kovů

Elektrody z ušlechtilých kovů mají širokou využitelnost v elektrochemii díky své inertnosti a katalytickým schopnostem. Vzhledem k vysoké konduktivitě a nízkému pozadí jsou tyto elektrody často využívány pro studium kinetické energie a stanovení termodynamických vlastností [15]. Díky své vysoké vodivosti usnadňují transport elektronů. První elektrodou použitou v elektroanalýze byla elektroda stříbrná, která má ale velmi úzký potenciálový rozsah. V současné době jsou nejvíce používanými elektrodami této skupiny elektrody ze zlata, platiny, bismutu, paladia, ruthenia, mědi a rhodia [16]. Poskytují nízký šum a mají vhodný povrch pro elektrochemické reakce. Mají široký potenciálový rozsah a jsou využitelné pro mnoho aplikací. Výhodou je také jejich jednoduchá konstrukce a snadné leštění povrchu. Tyto elektrody je také možné modifikovat různými technikami za účelem zlepšení vlastností elektrod. Elektrody z ušlechtilých kovů se často používají ve formě krátkých drátků nebo diskových elektrod [17]. Nevýhodou těchto elektrod je omezení použití kvůli nízkému přepětí vodíku. Nevýhodou je i to, že dochází k rozpouštění kovů a vzniku vrstev jejich oxidů. Ve vodných roztocích jsou katodické rozsahy omezeny mezi $-0,2$ až $-0,5$ V v závislosti na pH. Při použití stripovacích technik je třeba zohlednit interakci materiálu elektrody s kovy obsaženými v analytu. Pro pevné elektrody obecně platí velké riziko pasivace povrchu a s tím spojená nutnost čištění/regenerace (mechanická, elektrochemická), což vede k horší opakovatelnosti měření [17].

Nejvíce používanými elektrodami z ušlechtilých kovů jsou elektrody z platiny a zlata. Mají relativně velký anodický rozsah a příznivou kinetiku přenosu elektronů. Naopak v porovnání se rtuťí mají limitovaný katodický rozsah ve vodných elektrolytech. Velkou platinových elektrod vynikající odolnost proti korozi a vysoká katalytická aktivita pro širokou škálu reakcí, ale její použití je omezeno pouze na kladné potenciály. Používají se především pro stanovení obtížně oxidovatelných organických látek. Zlaté elektrody jsou více inertní než elektrody platinové, tudíž jsou méně náchylné k tvorbě stabilních oxidů na povrchu. Nelze je však používat v elektrolytech obsahujících chloridy, kde by docházelo k oxidaci zlata [17].

Elektrody z ostatních ušlechtilých kovů jako je ruthenium, stříbro, měď, nikl, kadmium, cín, indium a bismut se používají pro speciální aplikace [17]. Např. stříbro se používá jako substrát pro rtuťové filmy [18] a může být použito i jako elektroda pro stanovení málo rozpustných sloučenin [19]. Elektrody s bismutovým filmem se ukázaly jako vhodná alternativa ke rtuťovým elektrodám používaným pro rozpouštěcí voltametrické techniky [20].

2.1.2.3 Uhlíkové elektrody

Elektrod na bázi uhlíku je velké množství. Jedná se především o elektrody ze skelného uhlíku (GCE, glassy carbon electrode), grafitové elektrody, pyrolytický uhlík, elektrody z uhlíkové pasty (CPE, carbon paste electrode) nebo různé uhlíkové nanomateriály (nanočástice, nanovlákná, nanotrubičky aj.). Vlastnosti jednotlivých uhlíkových elektrod se mohou značně lišit. V různých formách může mít uhlík velice rozdílnou vodivost, stabilitu, porozitu a tvrdost. Například diamant je nejtvrďší známou formou uhlíku, zatímco grafit je nejměkčí. Uhlík má velmi vysokou povrchovou aktivitu, což vysvětluje jeho náchylnost vůči organickým sloučeninám. Elektrody na bázi uhlíku mají různý využitelný potenciálový rozsah. Potenciálové okno je obvykle v obou směrech širší než u kovových elektrod. Uhlíkové elektrody se hodí pro analýzu velkého množství látek, jsou chemicky inertní, mají nízký šum pozadí, jsou levné a vhodné pro různé aplikace [12].

Nevýhodou pevných uhlíkových elektrod je opět velké riziko pasivace povrchu, tzv. elektrodová paměť a špatná obnovitelnost. Regenerace může být zajišťována elektrochemicky nebo mechanickým leštěním a broušením. Opakovatelnost měření je pak v porovnání se rtuťovými elektrodami s dokonale obnovitelnou kapkou horší. Výjimkou jsou pastové elektrody, které umožňují vytlačení a otření použité pasty, takže následující měření probíhá opět na čistém povrchu. Nevýhodou je rovněž malé přepětí vodíku na uhlíkových elektrodách, a tedy užší potenciálový rozsah v katodické oblasti. Naopak přepětí kyslíku je vyšší a na rozdíl od rtuťových elektrod jsou ty uhlíkové vhodné pro sledování zejména oxidačních reakcí [21].

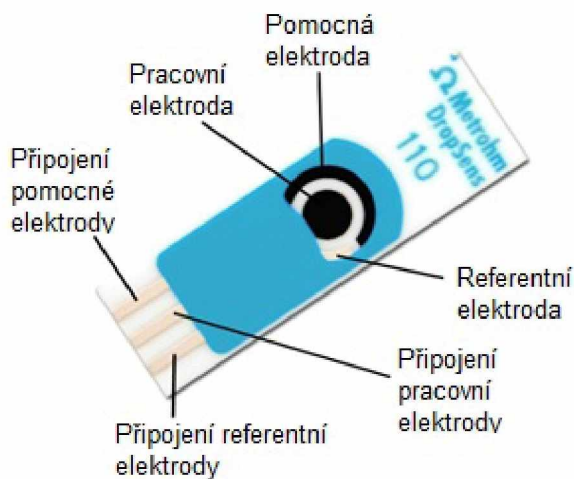
2.1.2.4 Nové trendy v oblasti pracovních elektrod

Jedním z hlavních trendů ve výzkumu v oblasti elektroanalytické chemie je vývoj nových elektrodových materiálů, jejich úprava a modifikace nebo vývoj celých senzorů a inovativních uspořádání elektrochemických cel. Cílem je zvýšení citlivosti a zejména selektivity stanovení biologicky aktivních látek významných jak z hlediska ochrany životního prostředí, tak z hlediska zdraví člověka (např. léčiva, pesticidy, polutanty apod.). Velkou výhodou elektroanalytických metod je možnost miniaturizace a využití v přenosných analyzátoch, což směřuje k vývoji tzv. point-of-care [22, 23] nástrojů umožňujících analýzy „v místě péče“ například přímo v ordinacích lékařů při terapeutickém monitorování hladiny léčiv a jejich metabolitů v krvi/moči pacientů. Obecně tento pojem zahrnuje možnost analýzy v místě odběru vzorku bez nutnosti transportu vzorků do laboratoří (konkrétně v oblasti medicíny, toxikologie,

ochrany životního prostředí aj.). V takovém případě jde o vývoj jednoduchých senzorů a jednoduchých metod, které nevyžadují obsluhu kvalifikovaným analytickým chemikem.

Pro zlepšení elektrochemických vlastností výše popsaných běžně používaných pracovních elektrod lze využít různé modifikace jejich povrchů. Povrch elektrody je obvykle modifikací obohacen o vodivý nebo polovodivý materiál. Cílem je zrychlení elektronových reakcí, aktivace chemických reakcí na povrchu elektrody, změna transportních vlastností na povrchu elektrody a zajištění selektivity měření. Modifikace mohou být realizovány chemisorpcí, kovalentní vazbou, nanášením polymerních směsí a filmů na povrch elektrody nebo smísením modifikující látky a materiálu elektrody [24]. Nejčastěji se využívají nanočástice kovů a jejich oxidů [25], uhlíkové nanomateriály (nanovlákná, nanotrubičky) [26], různé organické molekuly a polymery [27], ale i biomolekuly jako enzymy nebo DNA při přípravě biosenzorů [28, 29]. Výběr modifikace vždy záleží na konečné aplikaci elektrody.

Dalším novým trendem v oblasti pracovních elektrod jsou tištěné elektrody, resp. senzory (SPE, screen-printed electrode) [30]. Ty se vyrábí pomocí sítotisku, což je levná metoda pro konstrukci senzorů. Tištěné elektrody se začaly vyrábět zejména pro využití při analýzách mimo laboratoř s využitím přenosných terénních analyzátorů. SPE jsou připravovány pomocí různých inkoustů nanášených na povrch PVC nebo keramického substrátu. Volba inkoustu záleží na konečném použití senzoru. Pomocí sítotisku lze připravit celý elektrodový systém – referenční, pracovní i pomocnou elektrodu na jeden substrát (Obrázek 2.7) [31]. Výhodou SPE je zejména možnost levné výroby velkého počtu senzorů libovolných tvarů a parametrů jednotlivých elektrod, což umožňuje jejich využití jako jednorázových senzorů. Dále je možné provádět analýzy ve velmi malých objemech vzorku (50-100 μl), kdy lze kápnout kapku roztoku přímo na senzor. Podmínkou pro jednorázové senzory je velmi dobrá opakovatelnost jejich přípravy. Problémem těchto elektrod na jedno použití je kalibrace a následná likvidace [32]. Tištěné senzory nacházejí uplatnění zejména v oblasti monitorování škodlivých látek v životním prostředí [33, 34] nebo v medicínských a diagnostických aplikacích [32, 35]. Komerčně využívanými tištěnými biosenzory jsou osobní glukometry, které využívají diabetici. Tyto glukózové biosenzory mají na svém povrchu enzym glukózooxidázu. Pracují na principu oxidace glukózy na glukonolakton a následně na kyselinu glukonovou. Kyslík rozpuštěný v roztoku se redukuje na peroxid vodíku a následuje elektrochemická redukce na vodu nebo oxidace na kyslík [35].



Obrázek 2.7. Tištěný senzor (SPE) [36]

2.1.3. Borem dopovaná diamantová elektroda

Historie diamantových elektrod sahá do roku 1983, kdy se o přípravu diamantové elektrody pokusili japonští vědci z Institutu fyzikálního a chemického výzkumu v Saitamě. Tato elektroda měla širší potenciálové okno v katodické oblasti a nižší šum oproti skelnému uhlíku. Vodivá byla po iontové implantaci zinku [37]. Borem dopované diamantové elektrody (BDDE) byly v oblasti elektroanalytické chemie představeny na počátku devadesátých let dvacátého století [38, 39]. Samotný diamant se vyznačuje vysokou mechanickou a chemickou stabilitou. Je výborný přírodní izolátor, proto se pro elektroanalytické využití musí dopovat jinými prvky, nejčastěji borem. Uspořádání atomů v krystalické mřížce diamantu je prostřednictvím sp^3 -hybridizovaných orbitalů s dalšími 4 atomy. Tvoří se tak pravidelné tetraedry [40]. V závislosti na koncentraci atomů dopantu se liší morfologie, vodivost a elektrochemické vlastnosti elektrodového materiálu. Největší výhodou borem dopované diamantové elektrody (BDDE) je široké využitelné potenciálové okno (> 3 V v prostředí 0,1M H_2SO_4). Dále vykazuje malý proud pozadí, malý šum a vysoký poměr signál/šum. Povrch BDD má parafinický charakter, takže nedochází k adsorpci látek na povrchu, čímž jsou minimalizovány problémy s pasivací elektrody a lze je použít i v průtokových systémech [41-43].

Elektrody s borem dopovaným diamantem (BDDE) se vyrábějí metodou chemické depozice par (CVD, chemical vapor deposition) [44]. Nejběžnějšími technikami CVD jsou techniky asistované žhaveným vláknem a mikrovlnným ohřevem. K depozici filmu se používá směs metanu a vodíku, jako zdroj pro dopování diamantu borem se používá diboran, trimethylbor

nebo organické boritany v plynné fázi. Používají se i zdroje boru v pevné fázi jako je oxid boritý. Jako nosič nejčastěji slouží destička z křemíku, někdy také molybden nebo wolfram. Vznikají polykrystalické filmy diamantu dopovaného borem [45, 46]. Dopováním diamantu vysokou koncentrací boru lze zvýšit vodivost a získat tak polokovové chování diamantu [47]. Obecně lze říci, že s rostoucím obsahem B v plynné fázi roste obsah B i v syntetizovaném filmu. Obsah B v plynné fázi se vyjadřuje poměrem B/C. Pro ilustraci lze uvést příklad, kdy autoři uvádějí pro poměr B/C 1000 ppm koncentraci B v diamantovém filmu řádově 10^{20} cm^{-3} [48]. Podle koncentrace B lze BDD filmy rozdělit na polovodičové s koncentrací v rozsahu 10^{19} - $2 \times 10^{20} \text{ cm}^{-3}$ a filmy s kovovou vodivostí s koncentrací od 1 - $3 \times 10^{20} \text{ cm}^{-3}$ [49].

Elektrochemické vlastnosti elektrod jsou silně ovlivněny složením, resp. terminací povrchu. Je známo, že povrch diamantu je elektrochemicky oxidován v oblasti potenciálu vývoje kyslíku a vlastnosti elektrody se tak významně mění. To je způsobeno přeměnou vodíkem(H)-terminovaného povrchu, který je původní z výroby elektrody díky vodíkovému prostředí při CVD, na kyslíkem(O)-terminovaný povrch. Tomuto procesu oxidace se dá zabránit předúpravou elektrody zahříváním ve vakuové komoře. To brání adsorpci vody, kontaminaci povrchu elektrody, a tedy její oxidaci [50]. V elektroanalýze se častěji využívá oxidovaný, tedy O-terminovaný povrch, kdy se na povrchu BDD vyskytují zejména etherové vazby C-OH, C=O a (COOH) funkčních skupin. Nicméně H-terminovaný povrch může poskytovat větší voltametrické odezvy pro některé organické látky [49].

Před samotnou předúpravou povrchu BDDE je vhodné elektrodu očistit v organickém rozpouštědle (acetonitril, isopropanol) v ultrazvukové lázni po dobu alespoň 5 minut. Poté následuje samotná anodická nebo katodická předúprava. Anodická předúprava se provádí při potenciálu větším než +2,0 V nebo při vysoké proudové hustotě, kdy je povrch BDDE obohacen atomy kyslíku, což umožňuje stabilizovat povrchové vlastnosti elektrody. V případě katodické předúpravy se používá polarizace při potenciálu menším než -2,0 V nebo vysoká hustota katodového proudu. Někteří autoři používají pro předúpravu povrchu BDDE cyklickou voltametrii, která umožňuje stabilizovat její povrchové vlastnosti. Typicky se taková úprava provádí v používaném základním elektrolytu v širokém rozsahu potenciálů od -(2-1) V do +(2-2,5) V [51-53]. Mechanická předúprava leštěním je další možností. Ta vede k vyšší rychlosti anodových procesů. Tento typ předúpravy však není stabilní v čase a proudová hustota v následujícím cyklu je menší než v prvním [54]. Dalším způsobem aktivace povrchu elektrody je aktivace vodní parou [55].

Díky svým výjimečným elektrochemickým vlastnostem je využití BDDE v elektroanalytické chemii velmi rozšířené. Používá se např. při analýze organických látek, analýze léčiv, analýze environmentálních polutantů a dalších [54, 56]. V konkrétních aplikacích byla BDDE použita např. při studiu elektrochemického chování imunosupresiva rapamycinu [57], při stanovení tricyklického antidepresiva imipraminu v komerčních farmaceutických formulacích [58] nebo pro stanovení β -adrenergických agonistů, které se používají při léčbě astmatu a nelegálně se používají jako přísady do krmiv pro zvířata [59]. BDDE lze také využít v biomedicínských aplikacích v tělních tekutinách např. pro analýzy v moči nebo v krevní plazmě [60].

2.1.4. Modifikace borem dopovaných diamantových elektrod

Současné požadavky kladené na analytické metody jsou vedeny snahou o co nejlepší citlivost a selektivitu používaných technik. Modifikace běžně používaných pracovních elektrod může být jedním z perspektivních směrů výzkumu v oblasti elektroanalýzy. Je známo několik způsobů modifikací povrchů elektrod, např. elektrochemická, chemická, fotochemická nebo fyzikální [61]. Vazba organických funkčních skupin nebo biomolekul a elektrochemická depozice kovů nebo jejich oxidů jsou nejčastěji používané postupy. Stejně jako u jiných pracovních elektrod lze k modifikaci BDDE použít také různé typy uhlíkových nanomateriálů. Vzhledem k biokompatibilitě diamantu je rovněž výhodné jeho použití pro tzv. *in vivo* senzory. Proto jsou BDDE také modifikovány různými enzymy pro lékařské a diagnostické aplikace. Přehled možných postupů modifikace, používaných modifikátorů a následných aplikací modifikovaných BDDE v elektroanalýze představuje práce [62].

Velmi pohodlnou a atraktivní technikou pro úpravu povrchu elektrod je elektrodepozice kovů nebo oxidů kovů. Elektrodepozice probíhá v depozičním roztoku a lze ovlivnit dobu depozice, depoziční potenciál nebo koncentraci kovových iontů v elektrolytu. Oproti elektrodepozici je iontová implantace kovů komplikovaný proces náročný na instrumentaci a podmínky, ale vytváří jednotnější a trvanlivější modifikaci elektrody kovovými nanočásticemi (MeNP, Me – příslušný kov) [63]. Dalším způsobem modifikace je fyzikální depozice, která zahrnuje kapkové lití, nanášení sprejem, ponoření, odstředivé potahování, sítotisk, naprašování nebo ozařování iontovým a elektronovým paprskem. Pomocí jednotlivých metod lze získat jiné vlastnosti modifikovaného povrchu i jiné ceny [25]. Pro modifikaci povrchů BDDE se používají kovy jako např. zlato, paladium, měď, zinek, cín, bismut, kobalt [25], nikl [64], platina [65] nebo kombinace kovů např. platiny a cínu [66] nebo paladia a cínu [67]. Mezi konkrétní příklady využití modifikovaných BDDE patří např. stanovení Se^{4+} s využitím AuNP-BDDE

[68] nebo stanovení kadmia a olova s využitím BiNP-BDDE [69]. Kombinace PtNP spolu s hemoglobinem se používá k výrobě akrylamidových biosenzorů [65]. Modifikace niklem byla úspěšně použita při stanovení tetracyklinů [64] a kombinaci PtNP a SnNP lze použít při oxidaci ethanolu [66] stejně jako modifikaci pomocí paladia a cínu [67].

BDDE vykazuje vodivost sp^3 , ale jeho modifikací sloučeninami uhlíku je možné získat kombinovanou vodivost sp^2 a sp^3 . Taková modifikační činidla obvykle zahrnují různé alotropní modifikace uhlíku, konkrétně grafen, uhlíkové nanotrubičky a další uhlíkové materiály [70, 71]. Uhlíkové materiály vykazují vynikající vlastnosti, jako je velký povrch, vysoká elektrická vodivost, mobilita elektronů při pokojové teplotě, flexibilita a mechanická odolnost, díky čemuž jsou obzvláště atraktivní v oblasti senzorů. Příkladem využití BDDE modifikovaných grafenem je stanovení pesticidů karbarylu a paraquatu [72] nebo kovových iontů [73]. Často se k modifikaci elektrod využívají také vícestěnné uhlíkové nanotrubičky (MWCNT, multiwall carbon nanotube), konkrétně MWCNT/Nafion-BDDE byla využita pro stanovení léčiva ciprofloxacinu nebo MWCNT/Tyrosináza-BDDE [74] pro stanovení bisfenolu A [75].

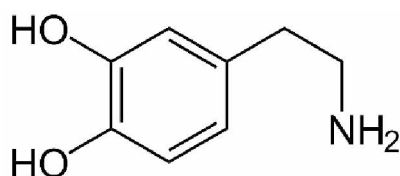
Další možností modifikace je nanosení polymerních materiálů a organických molekul na povrch BDDE. Existuje řada způsobů, jak získat takto upravené elektrody. Například je možné inkorporovat vhodný modifikátor do polymerního filmu pokrývajícího elektrodu. Lze využít kovalentní (chemickou) vazbu modifikátoru na povrchu elektrody. V tomto případě je důležité vybrat vhodnou funkční skupinu použitého modifikátoru. Další možností je fyzikální adsorpce nebo spontánní chemisorpce [76, 3]. Nejjednodušším příkladem využití polymeru je modifikace BDDE Nafionem [77, 78]. Povrch BDDE lze také modifikovat elektropolymerizací, kdy modifikátorem může být např. poly-L-arginin [79], poly-L-lysin [80] nebo polyanilin [81]. Konkrétním příkladem je modifikace polyfenol-polyvinylchloridovou membránou, která poskytuje stabilní a selektivní odezvu pro kadmium, olovo a nikl [82]. Další možností je aplikace polypyrolu, který tvoří kovalentní vazby s diamantem. Tato elektroda byla použita pro stanovení teofylinu [83].

BDDE je také velmi slibným materiálem pro konstrukci biosenzorů, kdy povrch BDDE je modifikován pomocí biomolekul, konkrétněji modifikace enzymy nebo DNA. Biomolekuly mohou být kovalentně vázány na povrchu elektrody. Bylo zjištěno, že organické funkční skupiny, jako jsou aminoskupiny a karboxylové skupiny, zavedené kovalentní modifikací mohou sloužit k imobilizaci biomolekul, včetně DNA a enzymů, na povrchu diamantu [84]. Nejběžnějším enzymem pro přípravu biosenzorů na bázi modifikovaných BDDE je glukózooxidáza (GOx). Tyto biosenzory se využívají pro stanovení glukózy [85, 86]. BDDE

s imobilizovanou DNA byly použity jako biosenzory hybridizace [87, 88] nebo při analýze látek poškozujících DNA [89]. Dalším z příkladů biosenzorů je BDDE modifikovaná enzymem tyrozinázou. Tento senzor se používá pro detekci fenolických látek [90].

2.2. Dopamin

Dopamin (4-(2-aminoethyl)benzen-1,2-diol [91], CAS: 51-61-6, DA), jehož strukturní vzorec je uvedený na Obrázku 2.8, je neurotransmitter patřící do skupiny fenylethylenaminů. Ve formě hydrochloridu tvoří bezbarvé monocyklické krystaly [92]. Jeho klíčovou roli neurotransmiteru poprvé popsal v roce 1957 Arvid Carlsson, který za to v roce 2000 získal Nobelovu cenu [93].



Obrázek 2.8 Struktura Dopaminu [91]

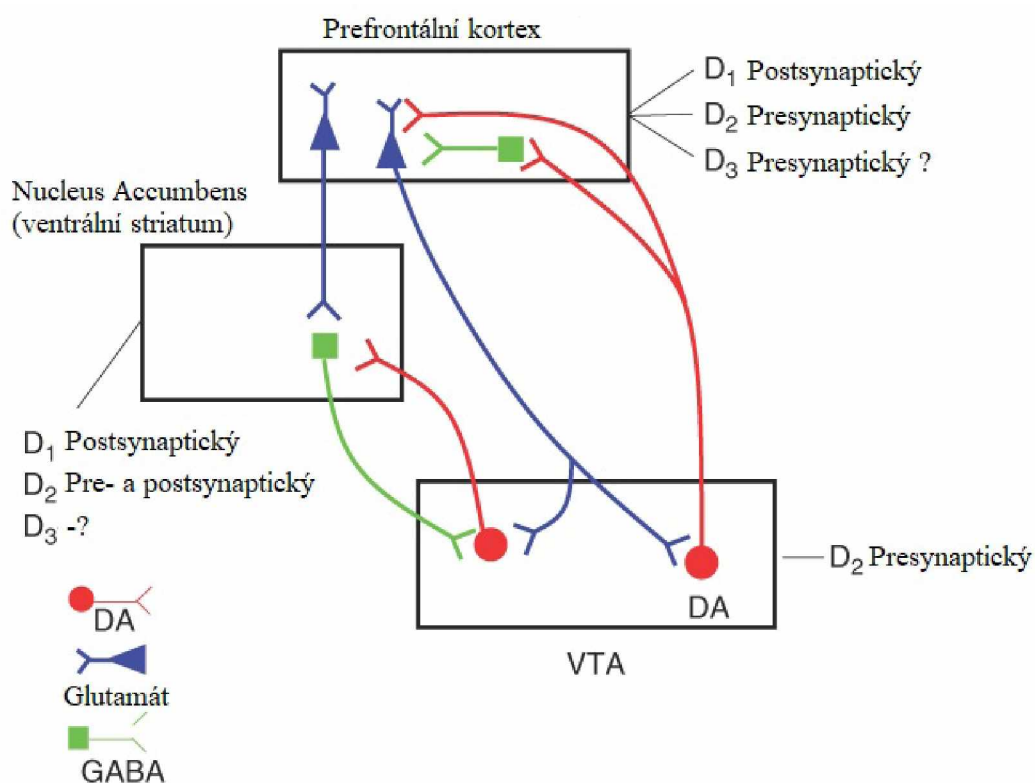
Hlavní role DA spočívá ve schopnosti učení se, pamatování si a ovlivnění kognitivních funkcí a motorického chování. DA se váže na dopaminové receptory D₁, D₂, D₃, D₄ a D₅, které přenášejí jeho účinek. Uvolňuje se ve středním mozku v substantia nigra a jeho regulace probíhá v bazálních gangliích. DA působí prostřednictvím tří hlavních cest středního mozku:

- dopaminergní cesty k dorsálnímu striatu,
- dopaminergní cesty k ventrálnímu striatu,
- dopaminergní cesty k prefrontálnímu kortexu.

Působení skrze tyto cesty má velký vliv na lidské chování. První cesta má vliv na motorické chování, druhá na motivaci, učení a schopnost mít radost, což může vést k závislostem na látkách podporujících tuto cestu. Třetí cesta ovlivňuje pracovní paměť a kognitivní chování, v tomto případě dopamin působí přes D₁ receptory. Poškození všech těchto cest vede k duševním chorobám jako je schizofrenie, ADHD nebo Parkinsonova choroba [94].

Zjednodušené znázornění spojení těchto cest je uvedeno na Obrázku 2.9. Schizofrenie vzniká zvýšeným množstvím DA, jedná se o poruchu druhé cesty středního mozku tedy o poruchu dopaminergní cesty k ventrálnímu striatu. Schizofrenní účinky má i látka amfetamin, pomocí které byla vyvinuta léčba schizofrenie za použití haloperidolu, který působí jako antagonist na dopaminové receptory. ADHD je způsobené špatnou regulací DA. Častěji se toto onemocnění

objevuje u dětí než u dospělých [95]. Parkinsonova choroba je neurodegenerativní onemocnění, které je způsobeno smrtí dopaminergních neuronů v substantia nigra, čímž vzniká deficit DA. Toto onemocnění se projevuje nejčastěji u lidí od 55 let a výše. Vysoké procento tohoto onemocnění vniká dědičně. Symptomy této nemoci jsou třes v klidu, ztuhlost, pomalost, poruchy řeči apod. K léčbě, respektive potlačení symptomů se používá L-DOPA jako prekurzor DA [95]. Dopamin má také velký vliv na kardiovaskulární systém [96].

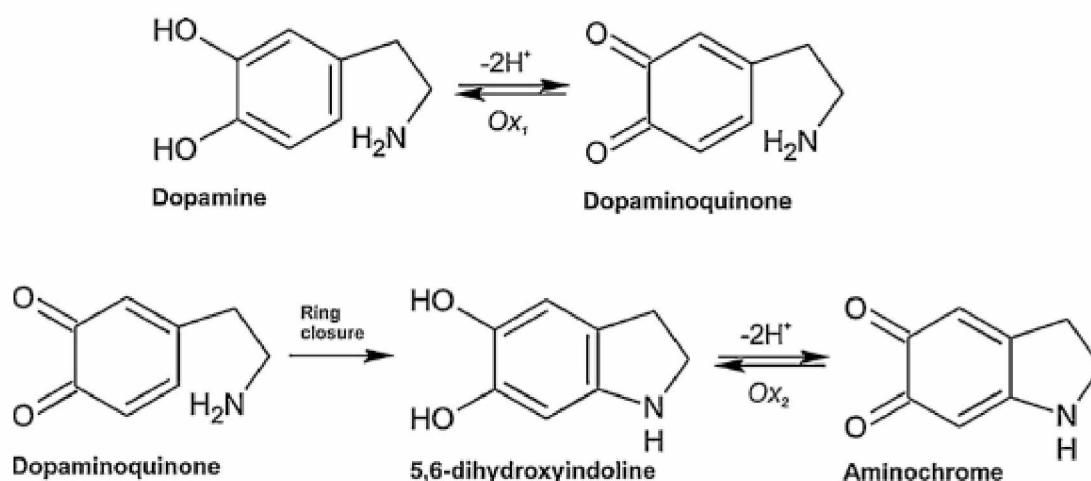


Obrázek 2.9 Zjednodušený diagram nervové dráhy spojující prefrontální kortex, nukleus accumbens a ventrální tegmentální oblast (VTA). Na této dráze se podílejí 3 neurotransmitery: DA, glutamát, GABA. Pozitivní projevy schizofrenie mohou být redukovány antagonistou na postsynaptických D₂ receptorech v nukleus accumbens. Negativní a kognitivní symptomy jsou spojeny se sníženou funkcí DA v prefrontálním kortexu. Agonisté na D₁ receptorech mohou zvyšovat funkci glutamátu a antagonisté D₂ a D₃ receptorů můžou také zvýšit funkci glutamátu inhibicí GABA [97].

Přesné a rychlé stanovení DA je klíčové pro diagnostiku nejen výše uvedených onemocnění. Metod stanovení DA je celá řada. Použity byly například enzymové testy [98], kapalinová chromatografie a hmotnostní spektrometrie [99], kapilární elektroforéza [100] nebo spektrofotometrické metody [101]. Vlastní analýze vždy předchází proces předúpravy vzorku, což znamená další prodloužení doby analýzy a možné zanesení chyby.

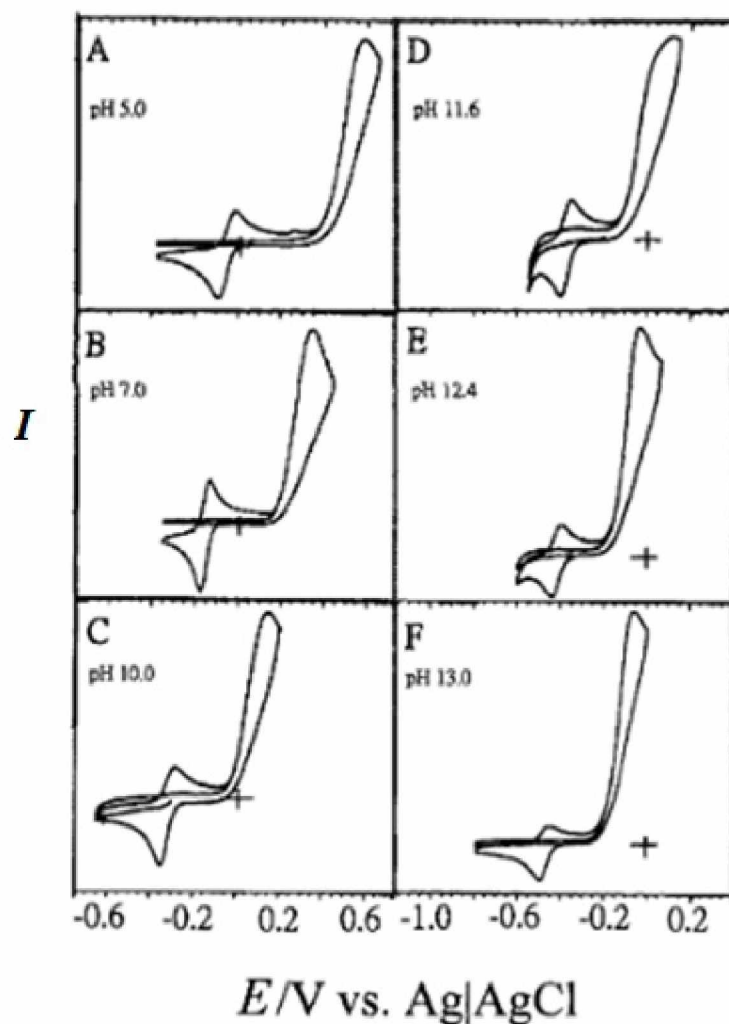
Voltametrické metody představují jednoduchou, rychlou, levnou a citlivou alternativu k výše uvedeným technikám. Vzhledem k tomu, že DA je elektrochemicky aktivní, mohou být tyto

metody použity pro jeho stanovení. Mechanismus elektrochemické oxidace DA byl popsán v literatuře [102] a je znázorněn na Obrázku 2.10. Elektrochemická oxidace DA ve vodném prostředí zahrnuje dva dvou-elektronové oxidační procesy. V prvním kroku vzniká dopaminochinon, který lze zpětně redukovat na dopamin. Deprotonací dopaminochinonu pak dojde k cyklizační reakci a vzniká 5,6-dihydroxyindolin, který je snáze oxidovatelný než DA a probíhá opět dvou-elektronová oxidace za vzniku aminochromu [103].



Obrázek 2.10 Mechanismus elektrochemické oxidace dopaminu [102]

V literatuře byla popsána řada metod pro analýzu DA s využitím různých pracovních elektrod. Byla použita například elektroda ze skelného uhlíku. Na Obrázku 2.11 jsou uvedeny cyklické voltamogramy zaznamenané v závislosti na pH. V kyselém prostředí do pH 6 byl zaznamenán pouze jeden redoxní pár s anodickým píkem při potenciálu +0,7 V a katodickým píkem při potenciálu +0,2 V. V silně zásaditém vodném prostředí (pH = 10–13) byly pozorovány 2 redoxní páry s oxidačními píky při +0,2 a 0 V a redoxními při –0,2 a –0,6 V [104]. Další autoři použili pro voltametrické stanovení DA platinovou elektrodu modifikovanou deaktivovaným polythiofenovým filmem [105], nebo pastovou uhlíkovou elektrodu modifikovanou polyprolinem [106]. Elektrochemické studium DA je velmi časté nejen pro jeho význam jako neurotransmiteru, ale také proto, že patří mezi základní redoxní markery používané pro studium elektrochemických vlastností různých elektrodových materiálů díky reverzibilní redoxní reakci chinon/o-chinon [107].



Obrázek 2.9 Cyklické voltamogramy DA zaznamenané elektrodou ze skelného uhlíku ve vodných roztocích o pH 5 (A), 7 (B), 10 (C), 11.6 (D), 12.4 (E) a 13 (F) [104].

Vzhledem k výše popsaným výhodám představuje BDDE materiál, který byl v mnoha publikacích rovněž využit pro vývoj senzoru pro stanovení DA. Přehled různých nemodifikovaných i modifikovaných BDDE, voltametrických metod, matric, interferentů i detekčních limitů metod popsaných v literatuře je uveden v Tabulce 2.1. Pro stanovení DA byly nejčastěji použity pulsní techniky (DPV a SWV) a analýza probíhala v různém prostředí o různém pH. Je zřejmé, že BDDE poskytla většinou velmi nízký limit detekce. Různé modifikace povrchu BDDE zajistily zlepšení selektivity stanovení, to znamená, že DA bylo možné stanovit v přítomnosti různých interferentů přímo v biologických vzorcích jako je lidské sérum [108-115].

Tabulka 2.1 Přehled parametrů metod využívajících různé nemodifikované i modifikované BDDE pro stanovení dopaminu popsanych v literatuře.

elektroda	metoda	elektrolyt	typ vzorku	interferenty	LOD [mol L ⁻¹]	Cit.
PBDDE/Ta	DPV	PBS (pH 7)	sérum	Vit. B6	6,0×10 ⁻⁸	[108]
Au/p/BDDE	CV	0,1 mol L ⁻¹ HClO ₄	–	–	6,0×10 ⁻⁸	[109]
CB-Nation/ p-BDD	SWV	0,01 mol L ⁻¹ PBS	sérum	AA, UA	5,4×10 ⁻⁸	[110]
BDDE	DPV	0,025 mol L ⁻¹ AB	sérum	PA	1,9×10 ⁻⁸	[111]
18-BDD/Ta	DPV	PBS	sérum	MLT	1,0×10 ⁻⁷	[112]
CPT-BDD	MPA	0,05 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄	sérum,	CYS	1,1×10 ⁻⁸	[113]
	-FIA		řiční voda			
BDD-SnHCF	CV	0,1 mol L ⁻¹ KCl	–	–	8,0×10 ⁻⁹	[114]
Nafion/MWCNT -BDUNCD	DPV	PBS	sérum	5-HT, AA	1,0×10 ⁻⁹	[115]

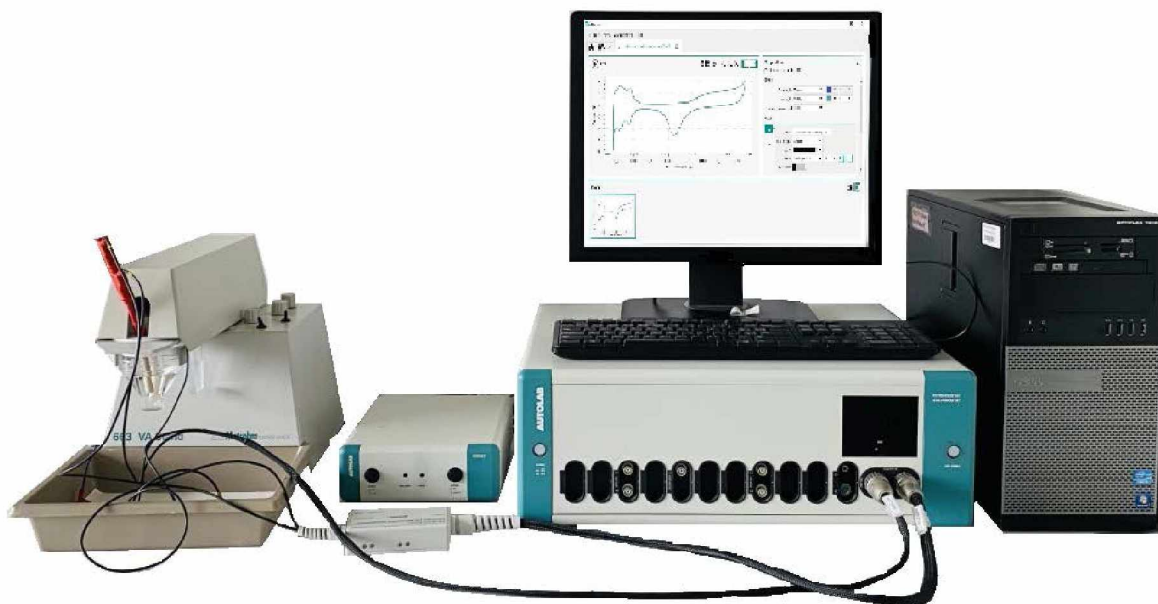
Zkratky: 5-HT – serotonin, AA – kyselina askorbová, AB – amoniakální pufr, Au/pBDDE – porózní BDDE modifikovaná zlatými nanočásticemi, BDD-SnHCF – BDD modifikovaný hexakvanoželezitanem cínatým, CB-Nafion/p-BDD – sazemi a Nafionem modifikovaný porózní diamant dopovaný borem, CPT-BDD – katodicky předupravený borem dopovaný diamant, CYS – cysteamin, MLT – melatonin, Nafion/MWCNT-BDUNCD – Nafionem dopované vícevětné uhlíkové nanotrubicce na borem dopovaném ultrananokrystalickém diamantu, PA – paracetamol, PBDDE/Ta – porózní BDDE se substrátem z Ta, PBS – fosfátový pufr, UA – kyselina močová.

Dopamin, jakožto látka vyskytující se v lidském organismu se v reálných vzorcích bude vyskytovat obvykle v přítomnosti dalších elektrochemicky aktivních látek. Příkladem může být paracetamol (PA) v případě, že pacient užívá analgetika tuto látku obsahující. Bylo zjištěno, že PA může mít neurodegenerativní účinek na DA, a proto je často potřeba jejich stanovení vedle sebe [111]. Kyselina askorbová je pro člověka nezbytný vitamín a byla zkoumána pro prevenci léčby běžného nachlazení, duševních chorob, neplodnosti i rakoviny. I v tomto případě je tedy dobré počítat s přítomností AA v reálných biologických vzorcích [116]. Stejně tak je třeba počítat při vývoji nových metod stanovení DA s koexistencí kyseliny močové (UA) [117]. Látek, které se mohou vyskytovat v biologických vzorcích je celá řada, a proto je třeba hledat selektivní metody jejich stanovení, resp. metody umožňující stanovení látek ve směsích. Jednou z možných cest je právě modifikace povrchu elektrod, a tedy příprava selektivních senzorů.

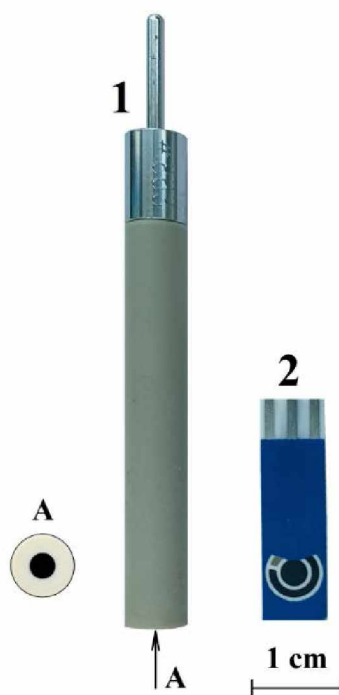
3. Experimentální část

3.1. Přístrojové vybavení

Pro voltametrické měření byl používán potenciostat Autolab PGSTAT 12 (Obrázek 3.1) od firmy Metrohm (Nizozemí), který byl ovládán pomocí softwaru Nova 2.1.5. V případě tříelektrodevého zapojení byla použita pracovní elektroda z borem dopovaného diamantu (Obrázek 3.2A, BDDE, BioLogic, France, pracovní plocha 7.07 mm^2 , B/C 1000 ppm), nasycená argentschloridová elektroda (Ag/AgCl/KCl(sat.)) sloužila jako referentní a platinový drátek byl použit jako pomocná elektroda (obě Monokrystaly, Turnov). Dále byly používány tištěné senzory s chemicky deponovanou BDDE (SP/BDDE) jako pracovní a pomocnou elektrodou a Ag/AgCl quazi-referentní elektrodou (Obrázek 3.2B, Slovenská technická univerzita (STU) v Bratislavě, skupina Dr. Vojse, pracovní plocha 7.07 mm^2). Tyto elektrody byly připraveny postupem popsáním v práci [118]. Testovány byly poprvé také SP/BDDE modifikované zlatými nanočásticemi (nAu-SP/BDDE) o různé velikosti ($n = 5, 15$ a 50 nm) a porézními nanočásticemi zlata (pAu-SP/BDDE), kdy modifikace byla realizována fyzikální depozicí Au s následným žiháním (STU). Pro porovnání byly používány i SP/BDDE modifikované zlatými nanočásticemi elektrochemickou depozicí (AuED-SP/BDDE).



Obrázek 3.1 Potenciostat Autolab PGSTAT 12 od firmy Metrohm



Obrázek 3.2 1 – BDDE, BioLogic a 2 – SP/BDDE

K měření pH byl používán pH-metr Fischer Scientific AB 150 (Fisher Scientific, Pardubice). K navažování látek a pro přípravu roztoků byly používány analytické váhy (Denver Instrument, New York) a ultrazvuková lázeň Bandelin SONOREX (Schalltec GmbH, Německo). K dávkování roztoků byly používány automatické pipety Fisherbrand (Fisher Scientific, Pardubice).

3.2. Použité chemikálie

Standardní roztok DA o koncentraci 1×10^{-3} mol L⁻¹ byl připravován navážením 0,019 g pevného hydrochloridu dopaminu (Sigma-Aldrich, Česká republika) a byl rozpouštěn ve 100 ml destilované vody v ultrazvukové lázni. Kvůli nestálosti dopaminu na světle byl roztok uchován v lednici bez přístupu světla a nový roztok byl připravován každý 3. den. Jako základní elektrolyt byl zpočátku používán roztok KCl o koncentraci 0,1 mol L⁻¹, připravený rozpuštěním pevného KCl (Ing. Petr Švec – PENTA, Praha) v destilované vodě. Dále byl používán Brittonův-Robinsonův pufr (BRB) v rozmezí pH 3–8. Kyselá složka BRB byla připravena smícháním H₃PO₄, H₃BO₃ a CH₃COOH na koncentraci 0,04 mol L⁻¹. Roztoky jednotlivých kyselin vznikly zředěním 85 % H₃PO₄, 99 % CH₃COOH a rozpuštěním práškové H₃BO₃ o čistotě p.a. (vše Ing. Petr Švec – PENTA, Praha). Zásaditá složka BRB byla připravena navážením pevného NaOH (Ing. Petr Švec – PENTA, Praha) a koncentrace roztoku byla

0,2 mol L⁻¹. Pro studium elektrochemických vlastností elektrod byly používány roztoky s komplexem železa (K₃[Fe(CN)₆]) a ruthenia ([Ru(NH₃)₆]Cl₃) (oba Sigma-Aldrich, Česká republika) o koncentraci 2,5 mmol L⁻¹, které byly připraveny v 0,1 mol L⁻¹ KCl. Roztoky pro interferenční studii byly vždy připraveny navážením pevné látky a rozpuštěním v destilované vodě v ultrazvukové lázni. Koncentrace zásobních roztoků byla 1×10⁻³ mol L⁻¹. Pro interferenční studie byly použity tyto látky: tyrosin (TYR), tryptofan (TRP) a paracetamol (PA) (všechny Sigma-Aldrich, Česká republika).

Pro čištění tištěných elektrod i BDDE byl používán acetonitril (Ing. Petr Švec – PENTA, Praha). K odstranění zlatých nanočástic byl používán roztok kyanidu draselného (0,1 mol L⁻¹, Sigma-Aldrich, Česká republika). Pro elektrochemickou depozici tištěných elektrod byl používán roztok H₂AuCl₄·4H₂O (Sigma-Aldrich, Česká republika) o koncentraci 1 mmol L⁻¹ v 0,1 mol L⁻¹ H₂SO₄ (Ing. Petr Švec – PENTA, Praha).

3.3. Pracovní postupy

3.3.1. Příprava pracovních elektrod

BDDE byla vždy na začátku práce aktivována 20 cyklickými voltamogramy v rozsahu potenciálů -1500 mV až +2200 mV. Aktivace probíhala v roztoku používaného základního elektrolytu. Před použitím jakéhokoli tištěného senzoru byly kontakty očištěny s využitím měkké pryže. V případě použití SP/BDDE bez modifikace byla také prováděna aktivace pomocí cyklických voltamogramů, ale bylo realizováno pouze 10 cyklů, a to ve stejném rozsahu potenciálů jako u BDDE v klasickém uspořádání.

Při práci s nAu-SP/BDDE nebyla zařazena aktivace povrchu s využitím cyklické voltametrie. Senzor byl před použitím opláchnut v acetonitrilu a na začátku každého měření byla vždy 3× změřena křivka základního elektrolytu, aby došlo k ustálení odezvy senzoru. Sensory bylo možné používat opakovaně, pokud neproběhlo rozpouštění zlata při vložení příliš pozitivních potenciálů (> 400 mV).

Elektrochemická depozice AuNPs na povrch SP/BDDE byla prováděna v roztoku H₂AuCl₄·4H₂O o koncentraci 1 mmol L⁻¹ v 0,1 mol L⁻¹ H₂SO₄ při potenciálu depozice (E_{dep}) -200 mV a době depozice (t_{dep}) 50 (ED1) a 100 (ED2) s. Depozice byla prováděna vždy na začátku pracovního dne na povrch opláchnutý acetonitrem a takto připravené senzory byly opět používány opakovaně, pokud byl dodržován maximální potenciál ≤ 400 mV. AuNPs byly po skončení práce odstraňovány z povrchu elektrody rozpouštěním v roztoku 0,1 mol L⁻¹ KCN

a poté byl senzor opláchnut acetonitrilem. Stejně jako v případě nAu-SP/BDDE nebyla zařazena aktivace povrchu, ale pouze 3× opakované měření v základním elektrolytu.

3.3.2. Studium elektrochemických vlastností s využitím cyklické voltametrie

Pro elektrochemickou charakterizaci testovaných senzorů byla použita cyklická voltametrie a jako první redoxní marker sloužil komplex $2,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v roztoku $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$. Na úvod bylo proměřeno 10 cyklických voltamogramů s využitím BDDE a SP/BDDE. Pro BDDE byl nastaven rozsah potenciálů od ($E_{\text{poč}}$) -1000 do (E_{obratu}) $+1500 \text{ mV}$ a pro SP/BDDE od -400 do $+700 \text{ mV}$, rychlost polarizace (ν) byla pro obě elektrody 100 mV s^{-1} . Závislosti na rychlosti polarizace byly pro oba senzory měřeny v rozsahu $25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$.

Dalším použitým redoxním systémem byl komplex $2,5 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ rozpuštěný také v roztoku $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$. Byly realizovány stejné experimenty jako pro komplex Fe, ale tentokrát i pro modifikované senzory. Parametry se opět lišily pro různé senzory. Pro měření opakovaných cyklických voltamogramů při rychlosti polarizace 100 mV s^{-1} byly následující: BDDE – $E_{\text{poč}} = -400 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = 300 \text{ mV}$; SP/BDDE – $E_{\text{poč}} = -500 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = 250 \text{ mV}$; Au-SP/BDDE – $E_{\text{poč}} = -500 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = 250 \text{ mV}$. Ve stejných rozsazích potenciálů pak byly měřeny i cyklické voltamogramy v závislosti na rychlosti polarizace ($\nu = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$).

Třetím použitým redoxním systémem byl dopamin. Byly měřeny cyklické voltamogramy $10 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ v prostředí BRB (pH 5,5). Potenciálový rozsah byl nastaven následovně: BDDE – $E_{\text{poč}} = -500 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = 1000 \text{ mV}$; SP/BDDE – $E_{\text{poč}} = -500 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = 1000 \text{ mV}$; Au-SP/BDDE – $E_{\text{poč}} = -500 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = 400 \text{ mV}$. V případě opakovaných měření byla použita rychlost polarizace 100 mV s^{-1} a závislost na rychlosti polarizace byla sledována v rozsahu $25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$. Pro AuED-SP/BDDE byly některé experimenty zopakovány při nižších rychlostech polarizace, konkrétně opakovaná měření při 5 mV s^{-1} a závislost na rychlosti polarizace v rozsahu $5\text{-}50 \text{ mV s}^{-1}$.

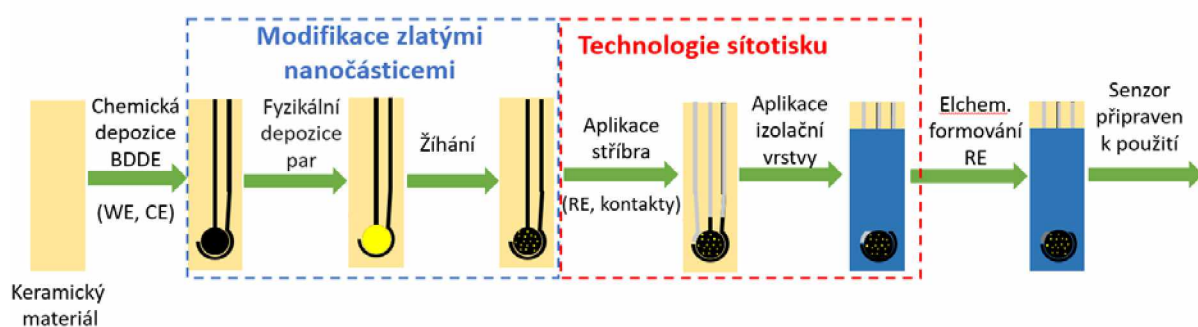
3.3.3. Stanovení dopaminu s využitím testovaných senzorů

Pro vývoj metody stanovení DA byly testovány diferenční pulzní (DPV) a square wave (SWV) voltametrie. Vhodným základním elektrolytem byl vybrán BRB o pH 5,5. Na úvod byly nastaveny následující parametry: DPV – $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, *výška pulzu* = $+50 \text{ mV}$ a *délka pulzu* = 50 ms ; SWV – $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, *amplituda* (A) = 50 mV a *frekvence* (f) = 25 Hz . Díky vyšší proudové odezvě DA a vyšší citlivosti byla pro další experimenty zvolena SWV a byly optimalizovány její parametry: $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$ a $f = 10 \text{ Hz}$. Optimalizovaná metoda

byla použita pro měření koncentračních závislostí DA na jednotlivých testovaných senzorech, lišila se opět ve využitých potenciálových rozsazích (BDDE – $E_{poč} = 0$ mV, *konečný potenciál* (E_{kon}) = 1500 mV; SP/BDDE – $E_{poč} = -500$ mV, $E_{kon} = 700$ mV; Au-SP/BDDE – $E_{poč} = -500$ mV, $E_{kon} = 400$ mV) a byly porovnány dosažené statistické parametry. Pro AuED-SP/BDDE byla měření pro porovnání opět realizována také při nižší hodnotě rychlosti polarizace ($v = 5$ mV s⁻¹).

4. Výsledky a diskuse

Cílem této práce bylo studium elektrochemických vlastností tištěných senzorů s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi (AuNPs) a jejich aplikace v elektroanalýze. Jako standard pro porovnání elektrochemických vlastností byla používána nemodifikovaná BDDE v klasickém tříelektrovém uspořádání článku s Ag/Ag/KCl(sat.) jako referentní elektrodou a platinovým drátkem jako pomocnou elektrodou. Vzhledem k tomu, že předmětem práce jsou zejména tištěné senzory, byla dále pro srovnání používána nemodifikovaná SP/BDDE [119], kde je součástí vedle pracovní a pomocné elektrody z BDD tzv. quazi-referentní Ag/AgCl elektroda. Testovány byly dva typy tištěných senzorů modifikovaných AuNPs. Konkrétně se jednalo o SP/BDDE modifikované přímo při výrobě procesem fyzikální depozice par a následným žiháním. Schéma přípravy takového tištěného senzoru je uvedeno na Obrázku 4.1. Takto byly připraveny senzory s různou velikostí nanočástic (5, 15 a 50 nm) a s porézními (p) Au nanočásticemi. Na Obrázku 4.2 jsou pro ilustraci uvedeny obrázky povrchu nemodifikované SP/BDDE a vybraných modifikovaných senzorů získaných pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Dále byly testovány SP/BDDE modifikované elektrochemickou depozicí AuNPs z roztoku $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ o koncentraci 1 mmol L^{-1} v $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, kdy byly na začátku používány 2 časy depozice 50 a 100 s při potenciálu -200 mV . Tyto podmínky byly převzaty z literatury [120].

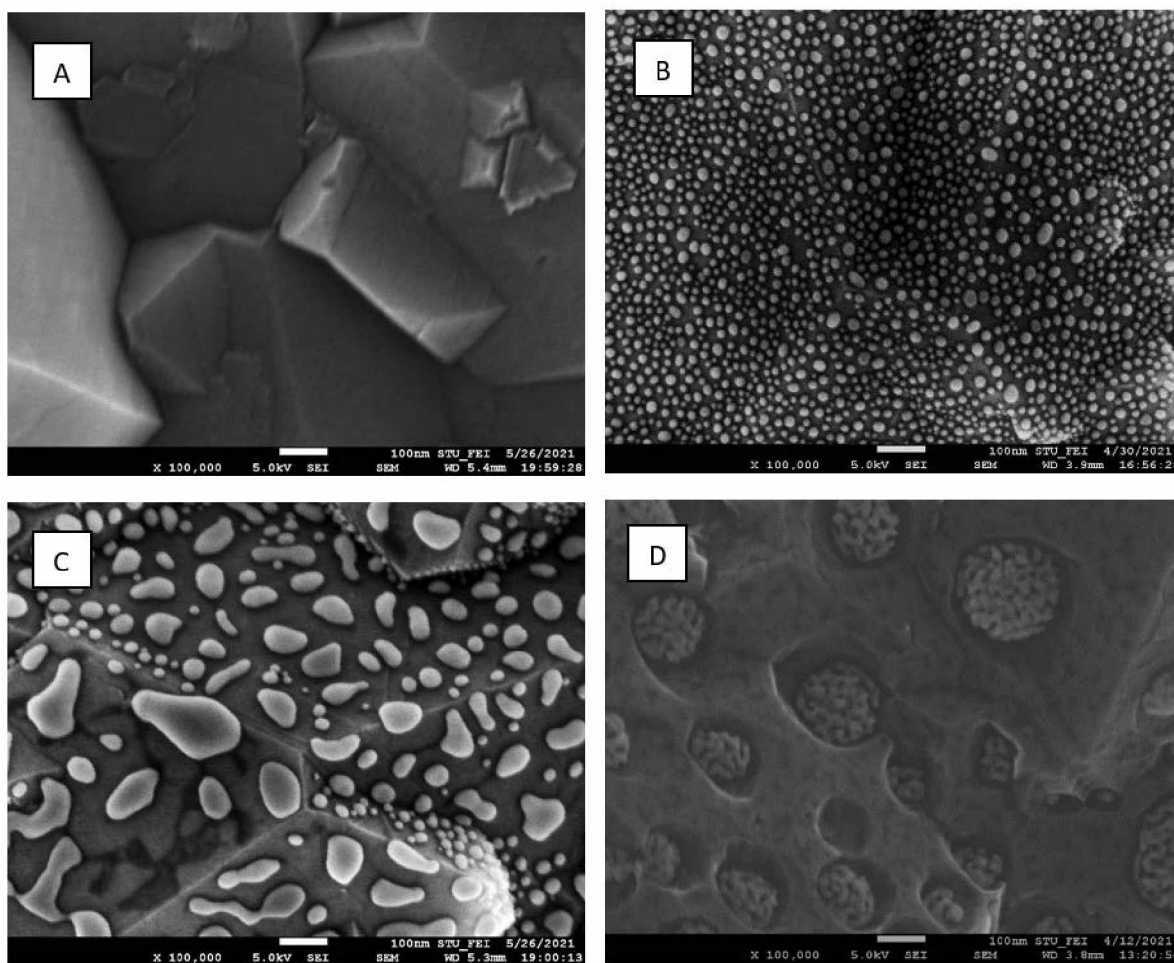


Obrázek 4.1 Proces výroby SP/BDDE modifikovaných AuNPs; WE – pracovní elektroda, CE – pomocná elektroda, RE – referentní elektroda

4.1. Elektrochemická charakterizace testovaných senzorů

Elektrochemické vlastnosti testovaných senzorů byly nejprve zkoumány pomocí CV. Jako redoxní systémy pro charakterizaci pracovních elektrod byly použity $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$,

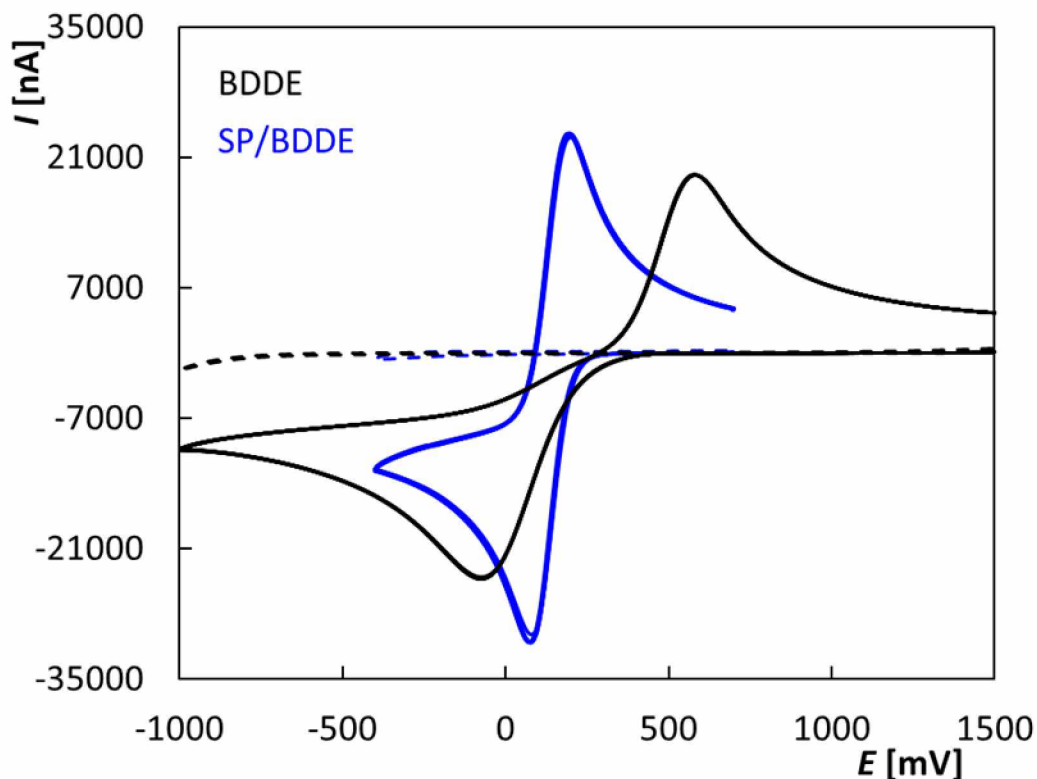
[Ru(NH₃)₆]Cl₃ a dopamin (DA). [Ru(NH₃)₆]Cl₃ patří do skupiny tzv. „outer-sphere“ redoxních markerů (reakce jsou řízené mechanismem vnější sféry), pro něž platí, že elektron je přenášen rychle skrz monovrstvu rozpouštědla a reaktanty, meziproducty ani producty reakce nevykazují silné interakce s povrchem elektrody. Přenos elektronu není ovlivněn materiálem elektrody, resp. jeho kvalitou. Na druhou stranu K₃[Fe(CN)₆] (v případě sp² uhlíkových a kovových elektrod patří mezi „outer-sphere“ markery) a DA patří do skupiny „inner-sphere“ redoxních markerů. Reaktanty, meziproducty a/nebo producty reakce silně interagují s povrchem elektrody, na který jsou často přímo adsorbovány. Přenos elektronu je silně ovlivněn stavem elektrodového povrchu – materiálem elektrody. Reakce běžící „inner-sphere“ mechanismem jsou zpravidla méně reversibilní než „outer-sphere“ reakce [107]. Vzhledem k tomu, že všechny použité pracovní elektrody měly stejnou velikost pracovního povrchu (geometrickou plochu) o průměru 3 mm, veškeré získané výsledky jsou prezentovány v jednotkách proudu a nebylo nutné je převádět na proudové hustoty.



Obrázek 4.2 SEM záznamy povrchu nemodifikované SP/BDDE (A), SP/BDDE modifikované nanočásticemi o velikosti 5 nm (5Au-SP/BDDE, B), 15 nm (15Au-SP/BDDE, C) a porézními AuNPs (pAu-SP/BDDE, D).

4.1.1. Elektrochemické vlastnosti BDDE a SP/BDDE – $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$

Na úvod experimentální části práce byly porovnány základní elektrochemické vlastnosti nemodifikovaných senzorů, konkrétně BDDE v klasickém uspořádání elektrochemického článku a SP/BDDE, s využitím $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. Nejprve bylo změřeno 10 cyklických voltamogramů komplexu Fe ($2,5 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ v roztoku $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$) na BDDE a SP/BDDE při rychlosti polarizace 100 mV s^{-1} . V celém následujícím textu práce budou ve všech obrázcích křivky zaznamenané na různých elektrodách a odpovídající závislosti rozlišovány barevně. Pro BDDE bude vždy použita černá barva a pro SP/BDDE modrá. Na Obrázku 4.3 jsou uvedeny získané voltamogramy, z nichž vyplývá, že měření je pro obě uspořádání velmi dobře opakovatelné. Parametry těchto křivek jsou shrnuty v Tabulce 1. Přestože byl poměr výšky anodického (I_{pa}) a katodického (I_{pc}) píku pro oba senzory roven 1, s využitím SP/BDDE byly získány vyšší proudové signály. Významný rozdíl byl zejména v rozdílu potenciálů anodického a katodického píku (ΔE_p), který byl mnohem menší pro SP/BDDE (121 mV) oproti BDDE ($642,7 \text{ mV}$). Tento výsledek svědčí o velmi dobrých elektrochemických vlastnostech tištěného senzoru. Velké rozdíly mohou být způsobeny tím, že komplex železa patří mezi redoxní markery citlivé na kvalitu povrchu elektrody.

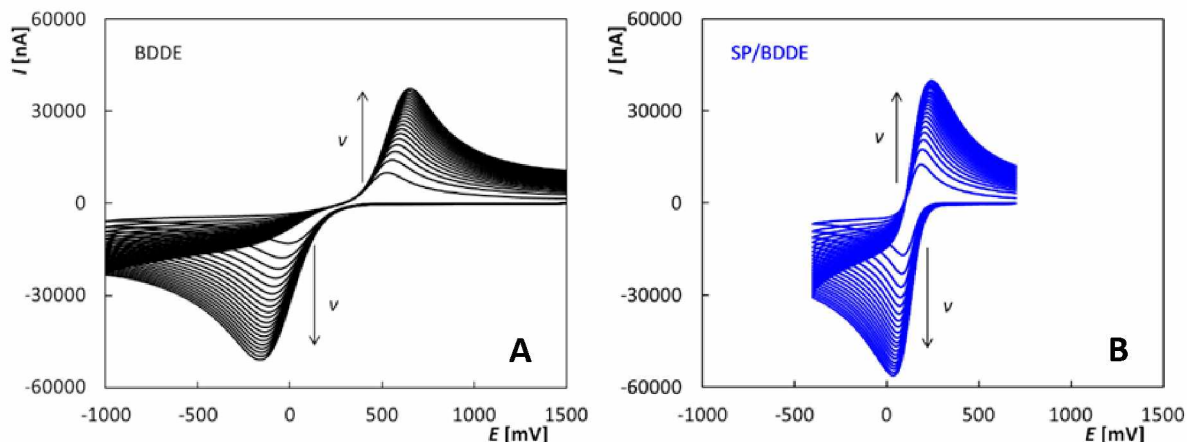


Obrázek 4.3 10 opakovaných cyklických voltamogramů $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ zaznamenaných na BDDE (černé křivky) a SP/BDDE (modré křivky); elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $c([\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Tabulka 1 Parametry cyklických voltamogramů redoxního markeru $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ zaznamenaných na BDDE a SP/BDDE (elektrolyt – 0,1 mol L⁻¹ KCl, $v = 100$ mV s⁻¹, $c([Fe(CN)_6]^{4-/3-}) = 2,5$ mmol L⁻¹).

Elektroda	I_{pa} [nA]	I_{pc} [nA]	I_{pa}/I_{pc}	E_{pa} [mV]	E_{pc} [mV]	ΔE_p [mV]
BDDE	20 797	-20 574	1,01	575,56	-67,14	642,70
SP/BDDE	27 053	-26 752	1,01	198,21	77,21	121,00

V následujícím kroku byly změřeny cyklické voltamogramy $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ v závislosti na rychlosti polarizace. Rozsah použitých rychlostí polarizace byl 25-500 mV. Naměřené křivky jsou uvedeny na Obrázku 4.4, v jehož popisku jsou uvedeny i konkrétní podmínky měření. Je vidět, že výška píku vždy rostla s rostoucí rychlostí polarizace, ale tento nárůst nebyl lineární, což je dokumentováno závislostmi I_p na rychlosti polarizace vyneseny na Obrázku 4.5A pro oba testované senzory. Naopak závislosti I_p na druhé odmocnině rychlosti polarizace rostly lineárně (Obrázek 4.5B), což svědčí o difuzně řízené elektrodové reakci. V Tabulce 2 jsou uvedeny směrnice rovnic odpovídajících těmto závislostem.



Obrázek 4.4 Cyklické voltamogramy $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ zaznamenané na BDDE (A) a SP/BDDE (B) v závislosti na rychlosti polarizace; elektrolyt – 0,1 mol L⁻¹ KCl, $c([Fe(CN)_6]^{4-/3-}) = 2,5$ mmol L⁻¹, $v = 25-500$ mV s⁻¹.

Z uvedených měření byla vypočtena rovněž hodnota zdánlivé rychlostní konstanty přenosu náboje (k_{app}^0) podle Nicholsona [121]. Použita byla měření pro rychlost polarizace 100 mV s⁻¹, odpovídající potenciálový rozdíl ΔE_p a rovnice (11):

$$\psi = \gamma^\alpha k_{app}^0 / \sqrt{\pi a D_o}, \quad (11)$$

kde γ je poměr difuzních koeficientů oxidační a redukční formy (podle literatury [122] se D_{ox} a D_{red} rovnají, pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ $7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$), α je koeficient přenosu náboje, $a = nFv/RT$ (kde n je počet vyměňovaných elektronů, v je rychlost polarizace, F je Faradayova konstanta, R je plynová konstanta, T je teplota), ψ je definováno rovnicí (11) a vyjadřuje míru reversibility, resp. ireversibility elektrodové reakce. V případě velkých hodnot ΔE_p byl pro vyhodnocení parametru ψ použit postup popsáný v práci [47]. Z Tabulky 2 vyplývá, že pro SP/BDDE byla vypočtena o 3 řády vyšší hodnota k_{app}^0 v porovnání s klasickou BDDE, což opět potvrzuje velmi dobré elektrochemické vlastnosti tištěného senzoru. Velké rozdíly jsou opět dány inner-sphere charakterem $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ redoxního systému.

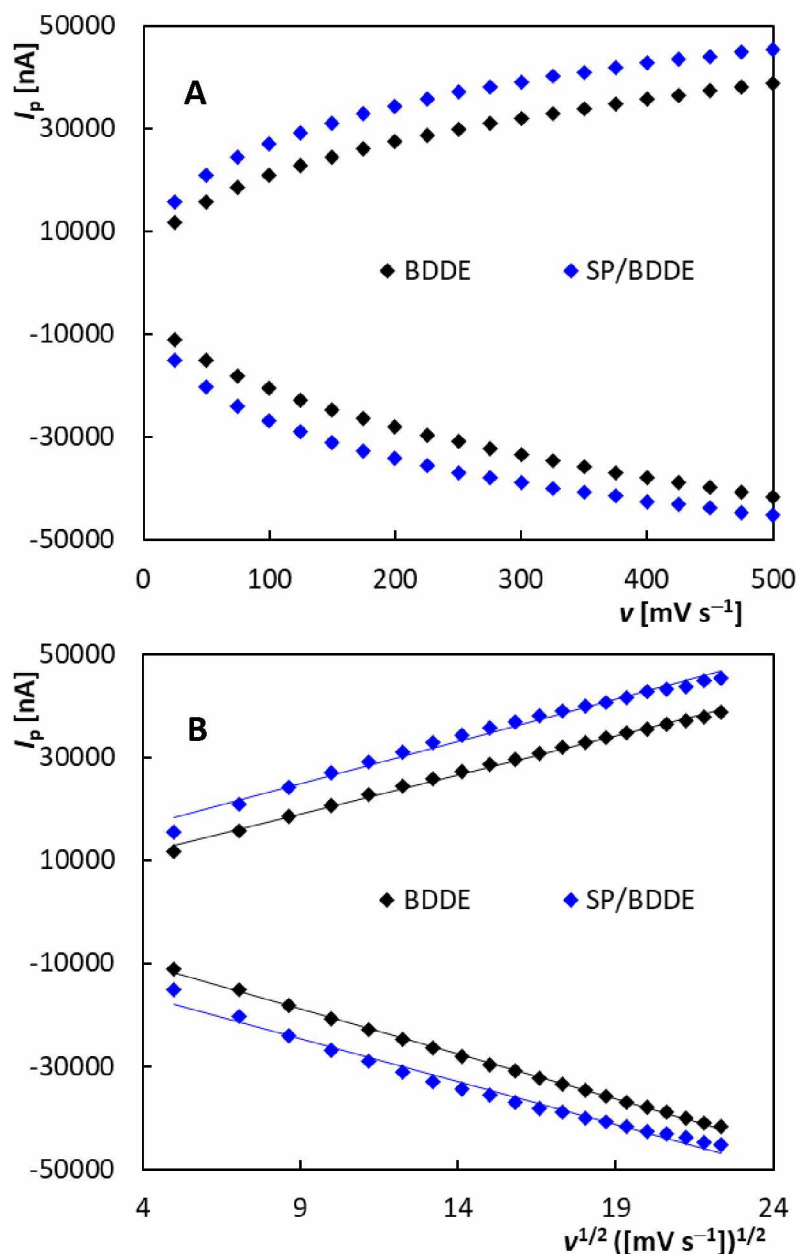
Tabulka 2 Statistické parametry závislosti výšky píků na odmocnině z rychlosti polarizace a zdánlivé rychlostní konstanty přenosu náboje (k_{app}^0) získané pro BDDE a SP/BDDE pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (elektrolyt – 0,1 mol L⁻¹ KCl, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c([\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$).

Elektroda	Směrnice (anodická) [nA s mV ⁻¹]	Směrnice (katodická) [nA mV ⁻¹]	ΔE_p^* [mV]	ψ	k_{app}^0 [cm s ⁻¹]
BDDE	(1522±21)	-(1747±13)	642,70	$1,62 \times 10^{-4}$	$1,56 \times 10^{-6}$
SP/BDDE	(1640±46)	-(1658±51)	121,00	0,136	$1,31 \times 10^{-3}$

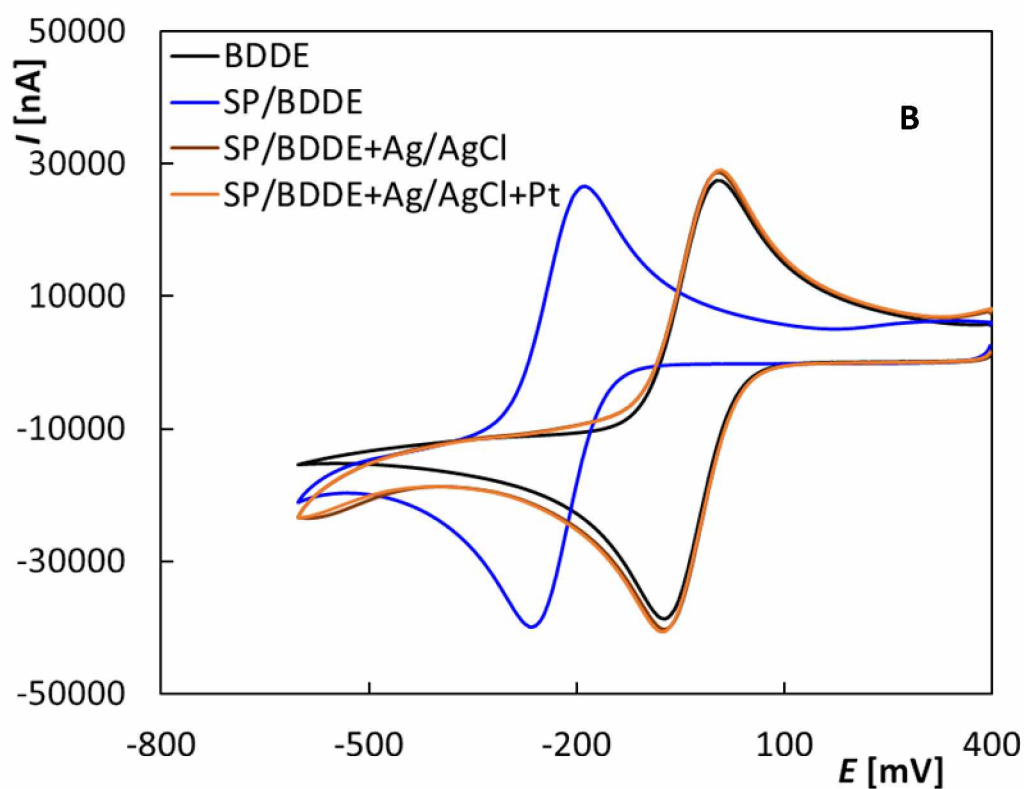
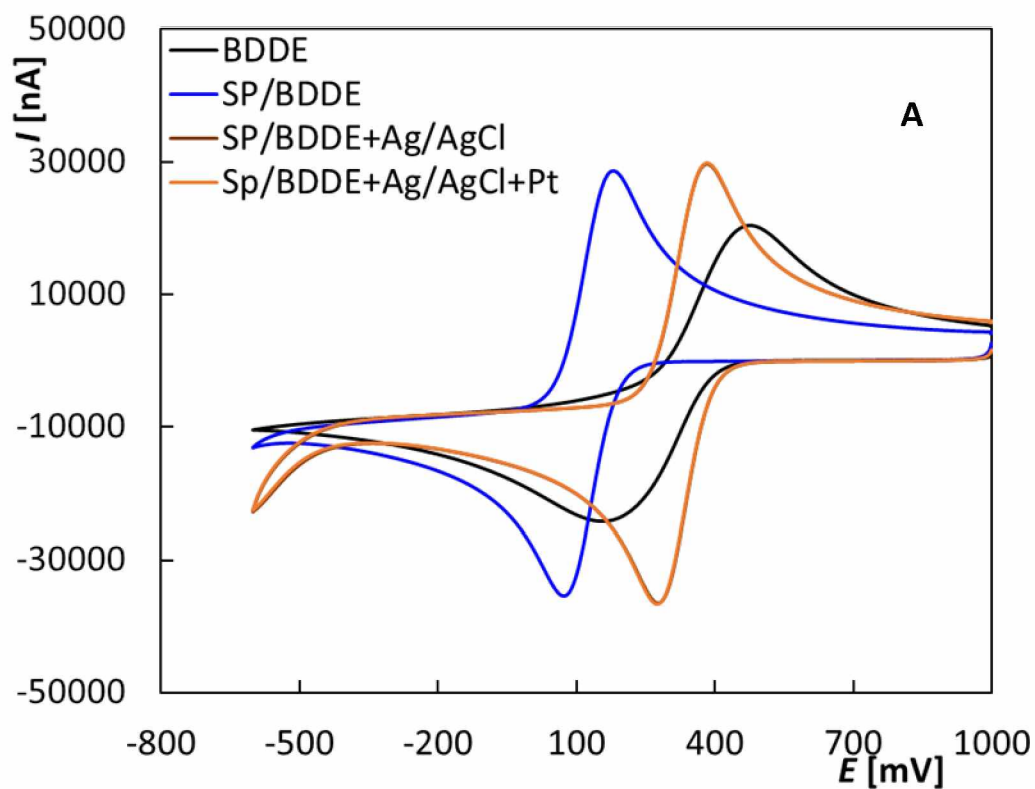
* rychlost polarizace 100 mV s⁻¹

Ze všech doposud uvedených obrázků voltametrických křivek vyplývá, že potenciály píků $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ zaznamenaných na SP/BDDE jsou posunuty k méně pozitivním potenciálům ve srovnání s BDDE. Na základě experimentů dokumentovaných na Obrázku 4.6 bylo potvrzeno, že potenciálový posun je způsoben použitou quazi-referentní elektrodou. Na Obrázku 4.6A jsou uvedeny cyklické voltamogramy $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ zaznamenané na BDDE v klasickém uspořádání článku s Ag/AgCl/KCl(sat.) referentní elektrodou (černá křivka) a na SP/BDDE (modrá křivka), kde je pozorován zmíněný posun potenciálu. Poté byla k tištěnému senzoru připojena externí referentní elektroda stejná jako v případě měření s BDDE a byla zaznamenána oranžová křivka. Z obrázku je zřejmé, že potenciálový posun byl výměnou referentní elektrody eliminován. Zapojení externí pomocné elektrody se na záznamu nijak neprojevílo.

Z popsaných experimentů vyplývá, že BDDE i SP/BDDE poskytují dobře opakovatelné signály pro Fe komplex a děje na obou elektrodách jsou řízeny difúzí. Z uvedených rozdílů potenciálů anodického a katodického píku ale vyplývá, že při použití SP/BDDE byla sledovaná reakce reverzibilnější než v případě BDDE. Navíc je také zřejmé, že proudové signály na BDDE jsou nižší. Lepší elektrochemické vlastnosti SP/BDDE potvrzuje i mnohem vyšší hodnota k^0_{app} , která svědčí o rychlejším přenosu náboje v případě tohoto senzoru v porovnání s BDDE.



Obrázek 4.5 Závislosti výšky piků $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ na rychlosti polarizace (A) a odmocnině z rychlosti polarizace (B) získané na BDDE a SP/BDDE; elektrolyt – $0,1 mol L^{-1} KCl$, $c([Fe(CN)_6]^{4-/3-}) = 2,5 mmol L^{-1}$, $v = 25-500 mV s^{-1}$.



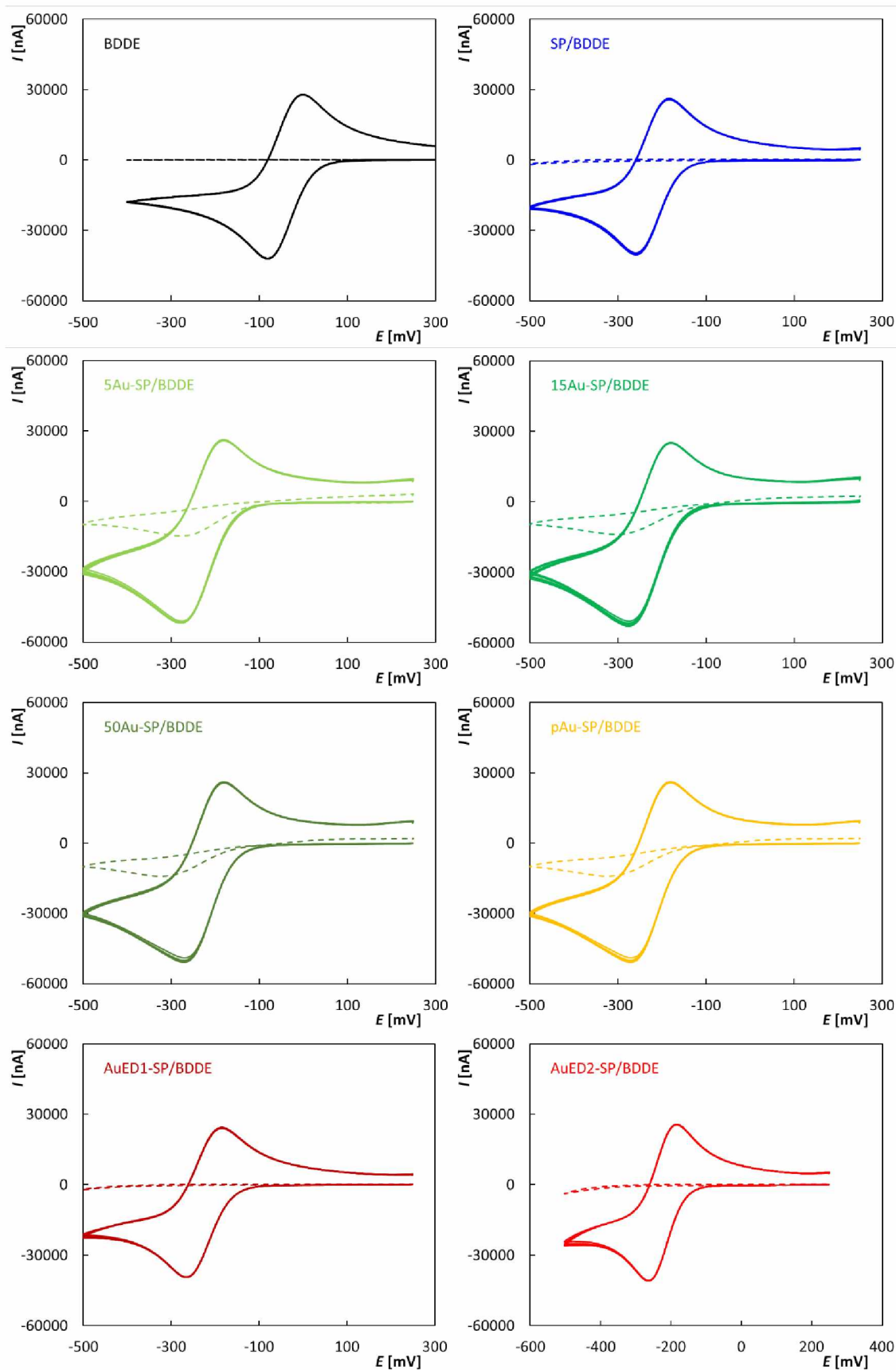
Obrázek 4.6 Cyklické voltamogramy $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (A) a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ (B) zaznamenané na BDDE a SP/BDDE s interní, resp. externí referenční a pomocnou elektrodou; elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $c([\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $c([\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

4.1.2. Elektrochemické vlastnosti testovaných senzorů – $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$

V dalším kroku byly porovnávány elektrochemické vlastnosti BDDE opět v klasickém tříelektrodovém uspořádání, SP/BDDE a Au-SP/BDDE senzorů nejprve pomocí outer-sphere redoxního markeru $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$. Au-SP/BDDE senzorů bylo testováno šest. Tři senzory modifikované zlatými nanočásticemi o velikosti 5, 15 a 50 nm (5Au-SP/BDDE, 15Au-SP/BDDE, 50Au-SP/BDDE), senzor modifikovaný porézními nanočásticemi zlata (pAu-SP/BDDE) a dva senzory modifikované elektrochemickou depozicí zlata za podmínek popsanych v experimentální části, kdy doba depozice byla 50 a 100 s (AuED1-SP/BDDE, AuED2-SP/BDDE). Nejprve bylo opět změřeno 10 cyklických voltamogramů komplexu Ru ($2,5 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ v roztoku $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$). Křivky zaznamenané s využitím Au-SP/BDDE jsou rozlišeny různými odstíny zelené barvy, pAu-SP/BDDE odpovídá barva žlutá a AuED-SP/BDDE červená. Na Obrázku 4.7 jsou uvedeny získané cyklické voltamogramy. Je zřejmé, že měření pro všechna uspořádání je velmi dobře opakovatelné. Parametry křivek jsou uvedeny v Tabulce 3, ze které lze vyčíst, že výšky píků jsou podobné pro všechny senzory, poměry výšek katodického a anodického píku se ve většině případů blíží 1 a rozdíly katodických a anodických potenciálů se blíží teoretické hodnotě 59 mV pro jednoelektronovou reversibilní reakci. Malé rozdíly jsou dány outer-sphere charakterem sledované reakce. Lze tedy říci, že všechny elektrody mají dobré elektrochemické vlastnosti.

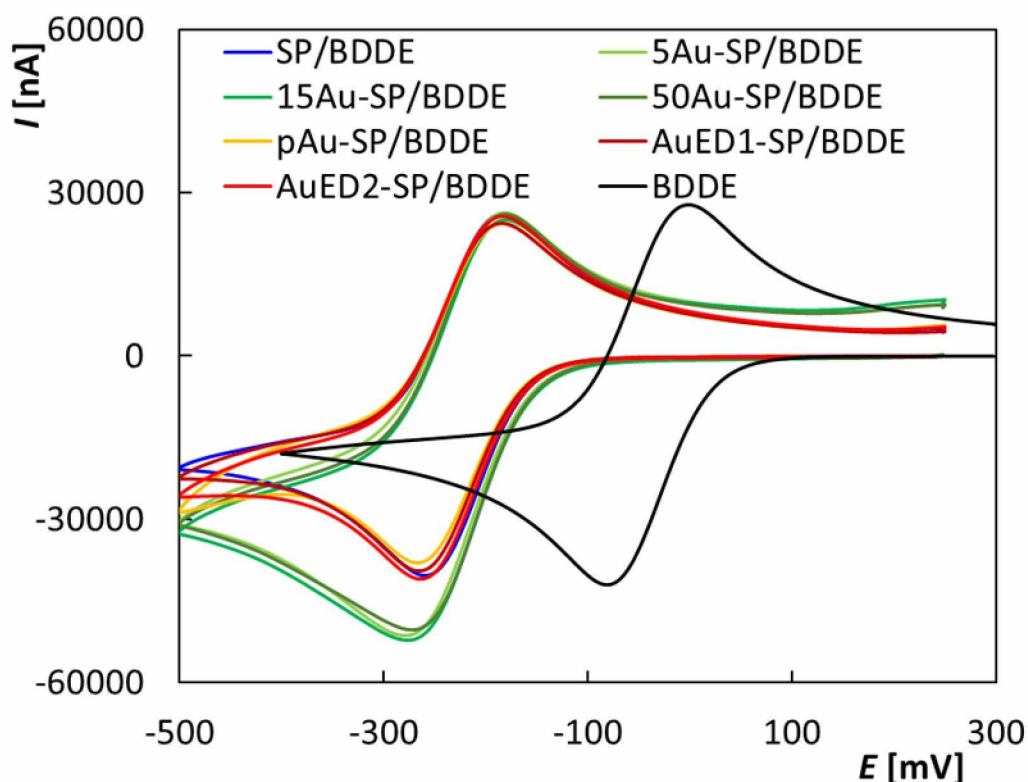
Tabulka 3 Parametry cyklických voltamogramů redoxního markeru $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$; elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c([\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$.

Elektroda	I_{pa} [nA mm ⁻²]	I_{pc} [nA mm ⁻²]	I_{pa}/I_{pc}	E_{pa} [mV]	E_{pc} [mV]	ΔE_p [mV]
BDDE	34 597	-35 647	0,97	-5,49	-78,89	73,40
SP/BDDE	35 186	-31 947	1,10	-184,48	-255,89	71,41
5Au-SP/BDDE	33 033	-37 014	0,89	-188,45	-269,78	81,33
15Au-SP/BDDE	32 409	-37 502	0,86	-184,48	-265,81	81,33
50 Au-SP/BDDE	33 207	-36 608	0,91	-184,48	-263,82	79,34
pAu-SP/BDDE	33 258	-26 654	1,26	-186,46	-259,86	73,40
AuED1-SP/BDDE	33 518	-30 057	1,12	-186,46	-259,89	73,40
AuED2-SP/BDDE	35 370	-29 088	1,22	-186,46	-257,87	71,41



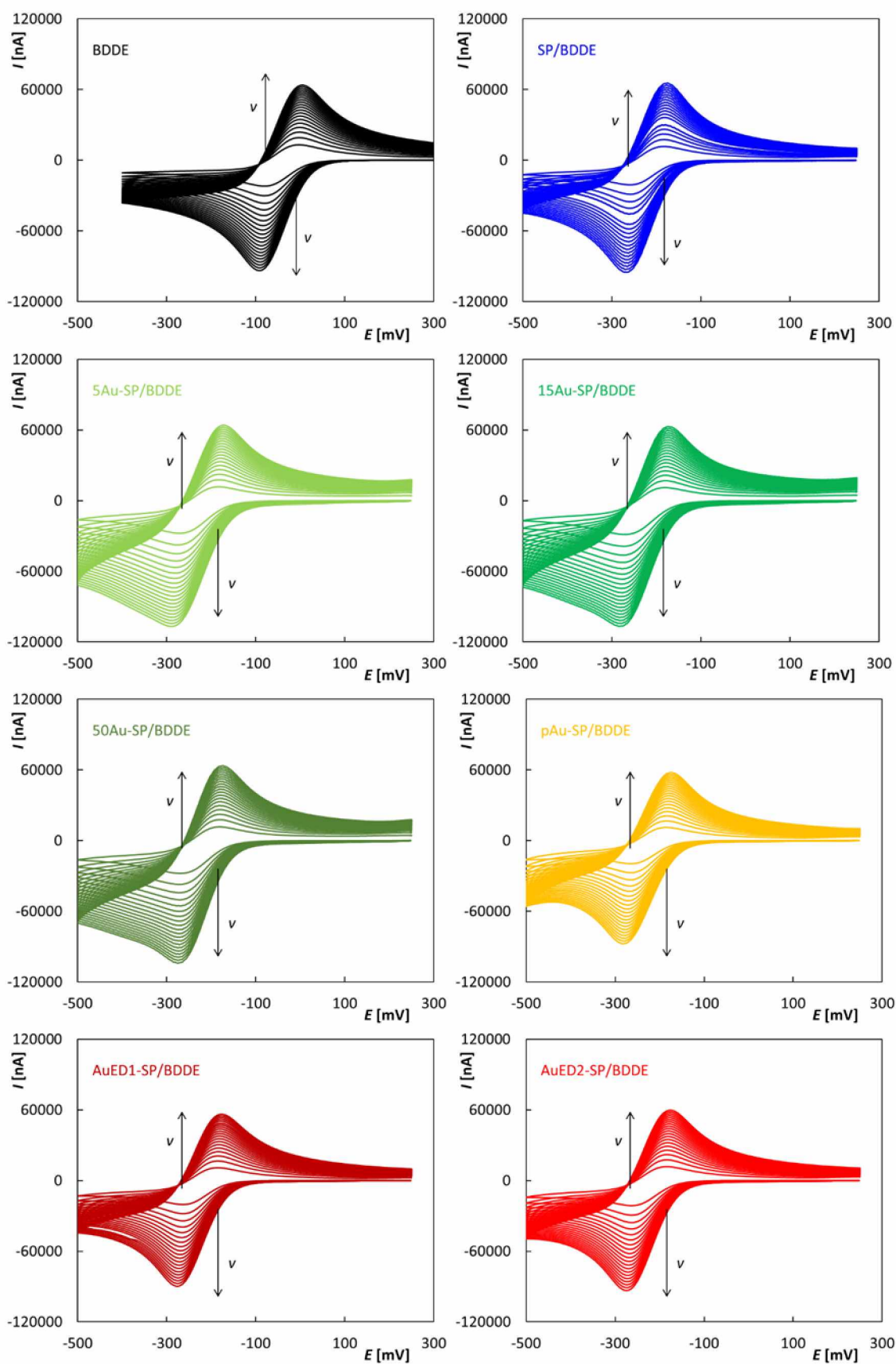
Obrázek 4.7 10 opakovaných cyklických voltamogramů $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ zaznamenaných na všech testovaných senzorech; elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $c([Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Na Obrázku 4.8 jsou srovnány vždy 10. voltamogramy zaznamenané na všech testovaných senzorech. Opět byl pozorován posun potenciálů k zápornějším hodnotám v případě tištěných senzorů. Stejně jako v případě komplexu Fe bylo experimentálně ověřeno (Obrázek 4.6B), že po zapojení externí Ag/AgCl/KCl(sat.) referentní elektrody k SPE byl tento posun eliminován. Dále je z Obrázku 4.8 vidět, že Au-SP/BDDE senzory poskytují větší katodický pík a mohly by být vhodnější pro sledování redukčních reakcí.

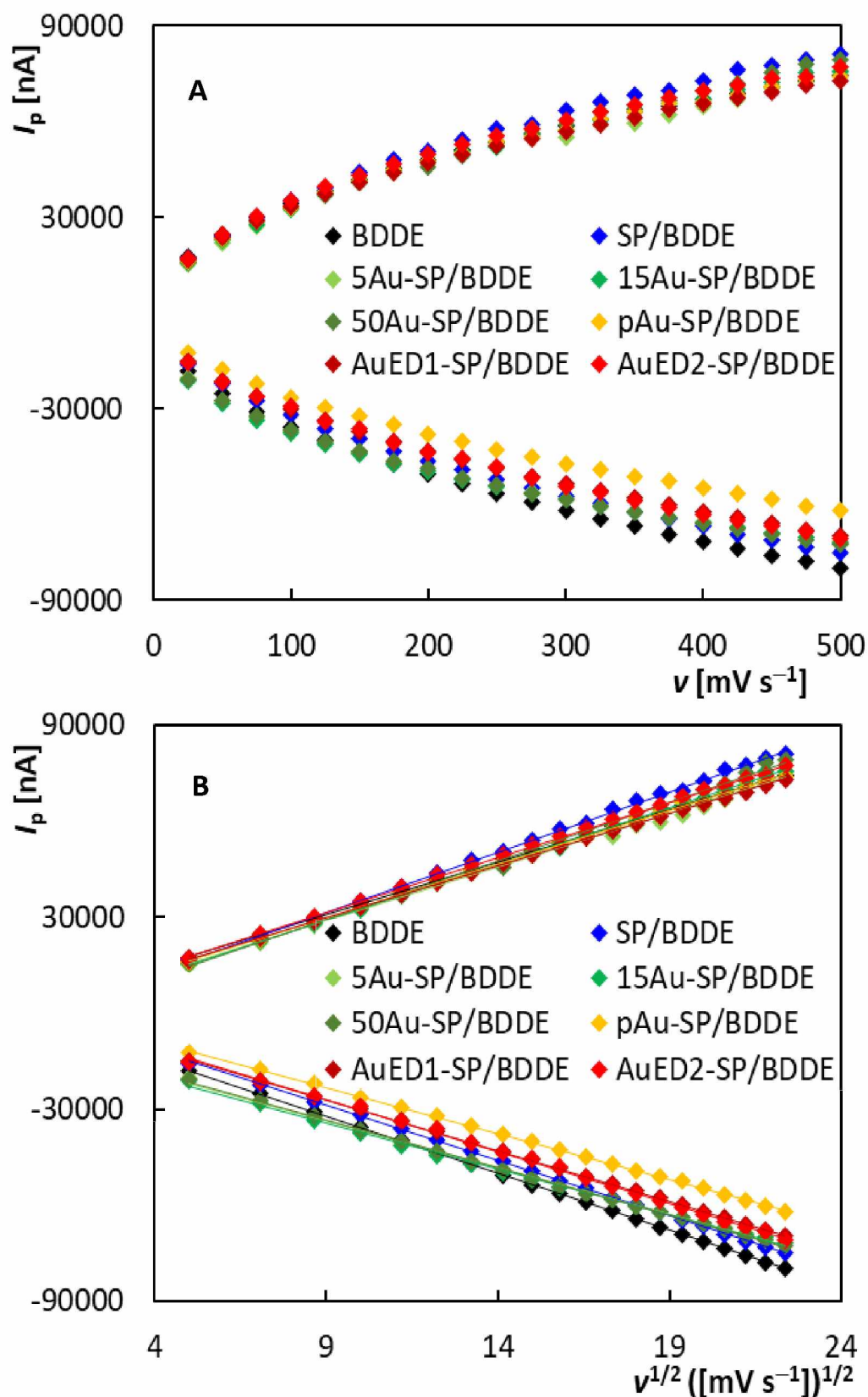


Obrázek 4.8 Cyklické voltamogramy $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ zaznamenané na všech testovaných senzorech; elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $c([Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Cyklické voltamogramy komplexu $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ zaznamenané v závislosti na rychlosti polarizace jsou uvedeny na Obrázku 4.9. Rychlost polarizace byla měněna v rozsahu $25 - 500 \text{ mV s}^{-1}$. Z obrázku je zřejmé, že výška píku s rychlostí polarizace rostla u všech testovaných senzorů, jak ale ukazuje Obrázek 4.10A, nárůst nebyl lineární. Naopak vynesené závislosti výšky píku na druhé odmocnině z rychlosti polarizace má pro všechny senzory průběh lineární, jak ukazuje Obrázek 4.10B a korelační koeficienty v Tabulce 4. Z těchto závislostí lze tedy usuzovat, že děje na jednotlivých elektrodách jsou řízeny i v tomto případě difúzí, což potvrzují hodnoty směrnic odpovídajících logaritmických závislostí uvedené v Tabulce 5, které se ve všech případech blíží teoretické hodnotě 0,5 pro difuzně řízenou reakci.



Obrázek 4.9 Cyklické voltamogramy $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ zaznamenané na všech testovaných senzorech v závislosti na rychlosti polarizace; elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $c([Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $v = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$.



Obrázek 4.10 Závislosti výšky píků $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ na rychlosti polarizace (A) a odmocnině z rychlosti polarizace (B) získané na všech testovaných senzorech; elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $c([\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, $v = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$.

Tabulka 4 Statistické parametry závislosti I_p na $v^{1/2}$ a hodnoty k_{app}^0 získané pro $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ (elektrolyt – 0,1 mol L⁻¹ KCl, $v = 100$ mV s⁻¹, $c([Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5$ mmol L⁻¹), * rychlost polarizace 100 mV s⁻¹.

Elektroda	Směrnice (anodická) [nA s mV ⁻¹]	Směrnice (katodická) [nA mV ⁻¹]	ΔE_p^* [mV]	Ψ	k_{app}^0 [cm s ⁻¹]
BDDE	3259±12	-(3566,2±4,0)	73,40	0,251	2,49×10 ⁻³
SP/BDDE	3751±25	-(3447±14)	71,41	0,258	2,56×10 ⁻³
5Au-SP/BDDE	3913±12	-(2904±30)	81,33	0,227	2,25×10 ⁻³
15Au-SP/BDDE	4004±33	-(2869±29)	81,33	0,227	2,25×10 ⁻³
50 Au-SP/BDDE	4026±51	-(2967±17)	79,34	0,233	2,31×10 ⁻³
pAu-SP/BDDE	3336±24	-(2862±12)	73,40	0,251	2,49×10 ⁻³
AuED1-SP/BDDE	3229±12	-(3171,2±9,5)	73,40	0,251	2,49×10 ⁻³
AuED2-SP/BDDE	3421±21	-(3233±30)	71,41	0,258	2,56×10 ⁻³

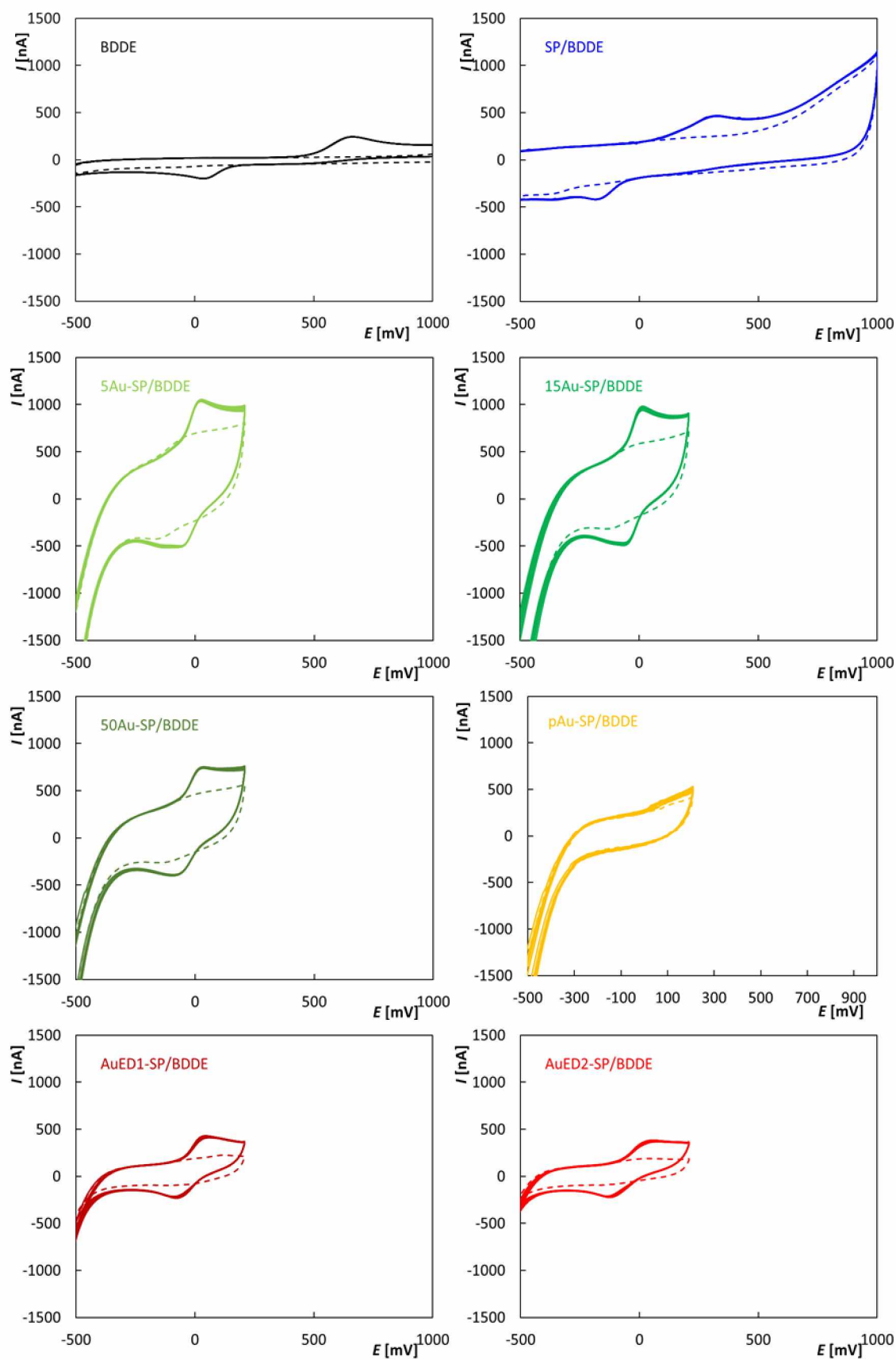
Tabulka 5 Statistické parametry logaritmických závislostí výšky piku $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ na rychlosti polarizace pro všechny testované senzory (elektrolyt – 0,1 mol L⁻¹ KCl, $v = 100$ mV s⁻¹, $c([Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5$ mmol L⁻¹).

Elektroda	I_p	Směrnice [nA s mV ⁻¹]	Úsek [nA]	r
BDDE	a	0,48±9,54×10 ⁻⁴	3,58±2,24×10 ⁻³	0,9999
	k	0,50±1,15×10 ⁻³	3,56±2,70×10 ⁻³	0,9999
SP/BDDE	a	0,53±2,84×10 ⁻³	3,50±6,60×10 ⁻³	0,9997
	k	0,52±1,88×10 ⁻³	3,46±4,40×10 ⁻³	0,9999
5Au-SP/BDDE	a	0,52±2,04×10 ⁻³	3,53±4,79×10 ⁻³	0,9999
	k	0,42±1,27×10 ⁻³	3,73±2,97×10 ⁻³	0,9999
15Au-SP/BDDE	a	0,53±3,57×10 ⁻³	3,51±8,37×10 ⁻³	0,9996
	k	0,41±9,52×10 ⁻⁴	3,76±2,23×10 ⁻³	0,9999
50Au-SP/BDDE	a	0,52±5,97×10 ⁻³	3,53±1,40×10 ⁻²	0,9988
	k	0,42±1,10×10 ⁻³	3,72±2,59×10 ⁻³	0,9999
pAu-SP/BDDE	a	0,50±3,01×10 ⁻³	3,25±7,05×10 ⁻³	0,9997
	k	0,54±1,68×10 ⁻³	3,35±3,94×10 ⁻³	0,9999
AuED1-SP/BDDE	a	0,49±1,59×10 ⁻³	3,54±3,73×10 ⁻³	0,9999
	k	0,52±1,50×10 ⁻³	3,45±3,52×10 ⁻³	0,9999
AuED2-SP/BDDE	a	0,49±2,41×10 ⁻³	3,56±5,66×10 ⁻³	0,9998
	k	0,52±5,39×10 ⁻³	3,45±1,26×10 ⁻²	0,9989

Stejně jako pro komplex Fe byly i pro $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ vypočteny hodnoty zdánlivé rychlostní konstanty a výsledky jsou uvedeny v Tabulce 4. Je zřejmé, že pro všechny testované senzory byly získány velice podobné hodnoty ($2,31 \times 10^{-3}$ – $2,56 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$), což je pravděpodobně dáno outer-sphere charakterem tohoto redoxního systému. Ze získaných výsledků lze říci, že všechny elektrody vykazují dobré elektrochemické vlastnosti, poskytují dobře opakovatelné reversibilní signály pro Ru komplex.

4.1.3. Elektrochemické vlastnosti testovaných senzorů – dopamin

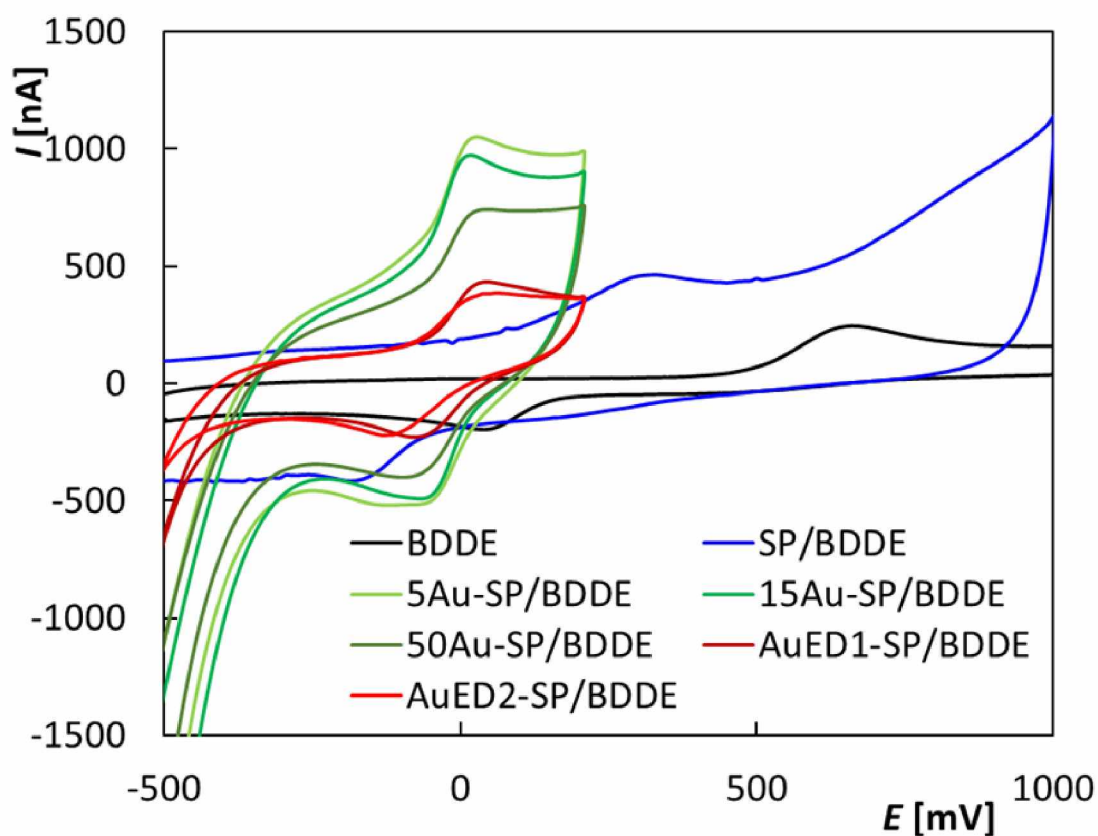
Následující experimenty byly zaměřeny na studium elektrochemických vlastností všech testovaných senzorů s využitím dopaminu (DA), který patří mezi inner-sphere redoxní systémy díky reverzibilní dvou-elektronové redoxní reakci chinon/o-chinon, která byla popsána v teoretické části práce. Na Obrázku 4.11 jsou uvedeny opakované cyklické voltamogramy dopaminu ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) v prostředí BRB (pH 5,5) pro všechny testované senzory. Je vidět, že na všech senzorech kromě pAu-SP/BDDE poskytl DA za daných podmínek dobře vyhodnotitelný oxidační a odpovídající redukční signál. Zaznamenané křivky byly velmi dobře opakovatelné. Na pAu-SP/BDDE nebyly pozorovány žádné významné signály odpovídající oxidaci a zpětné redukci DA. Na Obrázku 4.12 jsou pro srovnání uvedeny cyklické voltamogramy dopaminu zaznamenané na všech testovaných senzorech. Je vidět, že zejména tištěné senzory modifikované zlatými nanočásticemi fyzikální depozicí poskytují vyšší proudové odezvy DA. Vlivem quazi-referentní elektrody jsou půlvoltové potenciály dopaminu na všech SPE posunuty k zápornějším hodnotám potenciálů. Z parametrů těchto křivek uvedených v Tabulce 6 vyplývá, že nejmenší potenciálový rozdíl anodického a katodického píku DA byl získán pro 15Au-SP/BDDE s rozdílem potenciálů 60,43 mV. Obecně lze shrnout, že na senzorech modifikovaných AuNPs poskytoval DA mnohem reverzibilnější reakci (tj. menší ΔE_p) v porovnání s nemodifikovanou BDDE stejně jako SP/BDDE. Poměr výšek anodického a katodického píku se pro většinu testovaných senzorů pohyboval kolem hodnoty 1,5, tzn. že výška anodického píku byla větší než katodického.



Obrázek 4.11 10 opakovaných cyklických voltamogramů dopaminu zaznamenaných na všech testovaných senzorech; elektrolyt – BRB (pH 5,5); $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Tabulka 6 Parametry cyklických voltamogramů redoxního markeru dopaminu; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c(\text{DA}) = 10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Elektroda	I_{pa} [nA mm ⁻²]	I_{pc} [nA mm ⁻²]	I_{pa}/I_{pc}	E_{pa} [mV]	E_{pc} [mV]	ΔE_p [mV]
BDDE	207,70	-138,20	1,50	666,35	35,55	630,80
SP/BDDE	196,24	-189,21	1,04	319,21	-176,26	495,47
5Au-SP/BDDE	349,44	-219,25	1,59	17,09	-53,41	70,50
15Au-SP/BDDE	347,96	-278,47	1,25	7,02	-53,41	60,43
50 Au-SP/BDDE	204,46	-144,43	1,42	27,16	-63,48	90,64
pAu-SP/BDDE	–	–	–	–	–	–
AuED1-SP/BDDE	218,04	-155,28	1,40	37,23	-63,48	100,71
AuED2-SP/BDDE	192,26	-119,55	1,61	47,23	-103,76	150,99

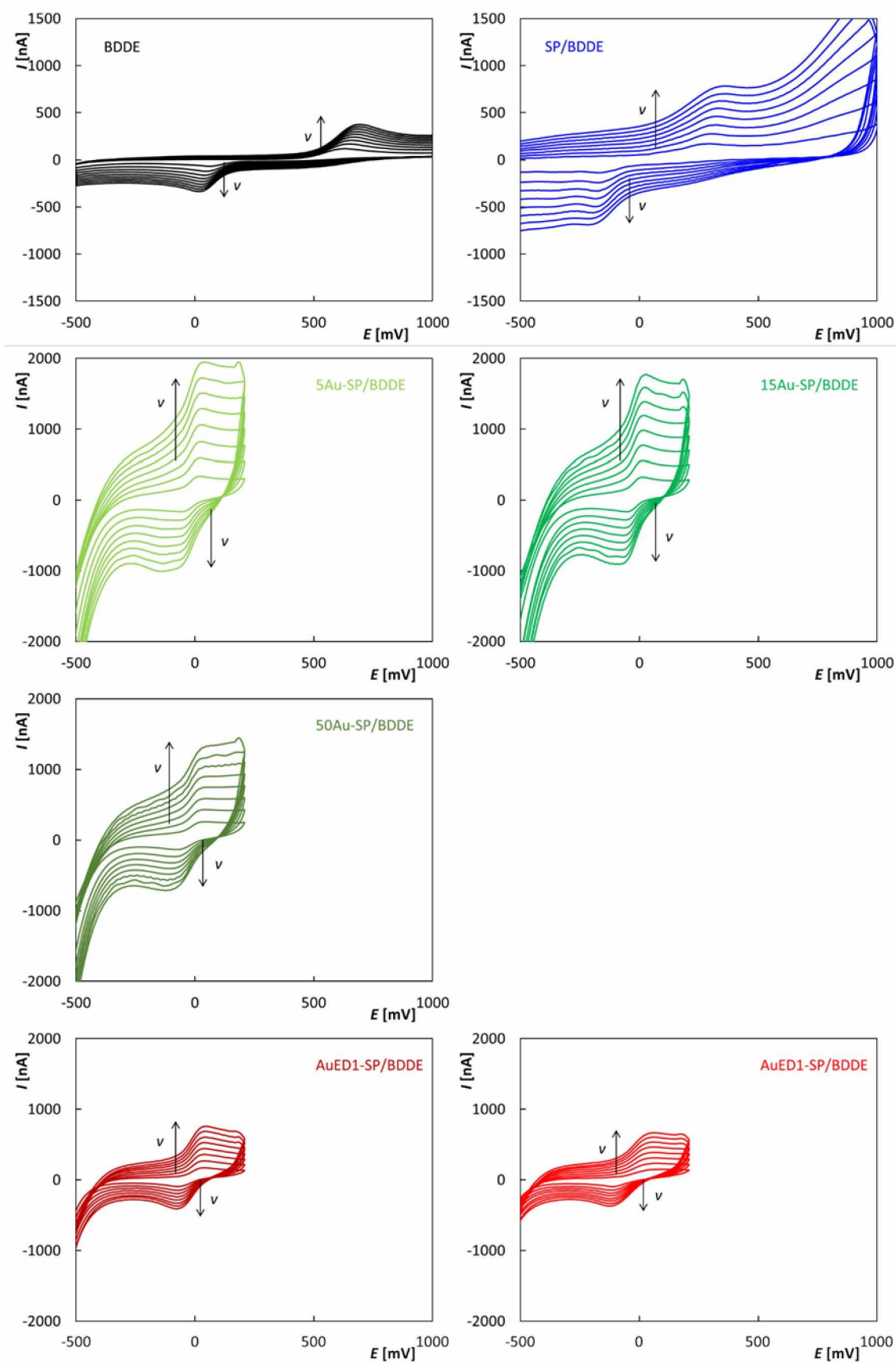


Obrázek 4.12 Cyklické voltamogramy dopaminu zaznamenané na všech testovaných senzorech; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

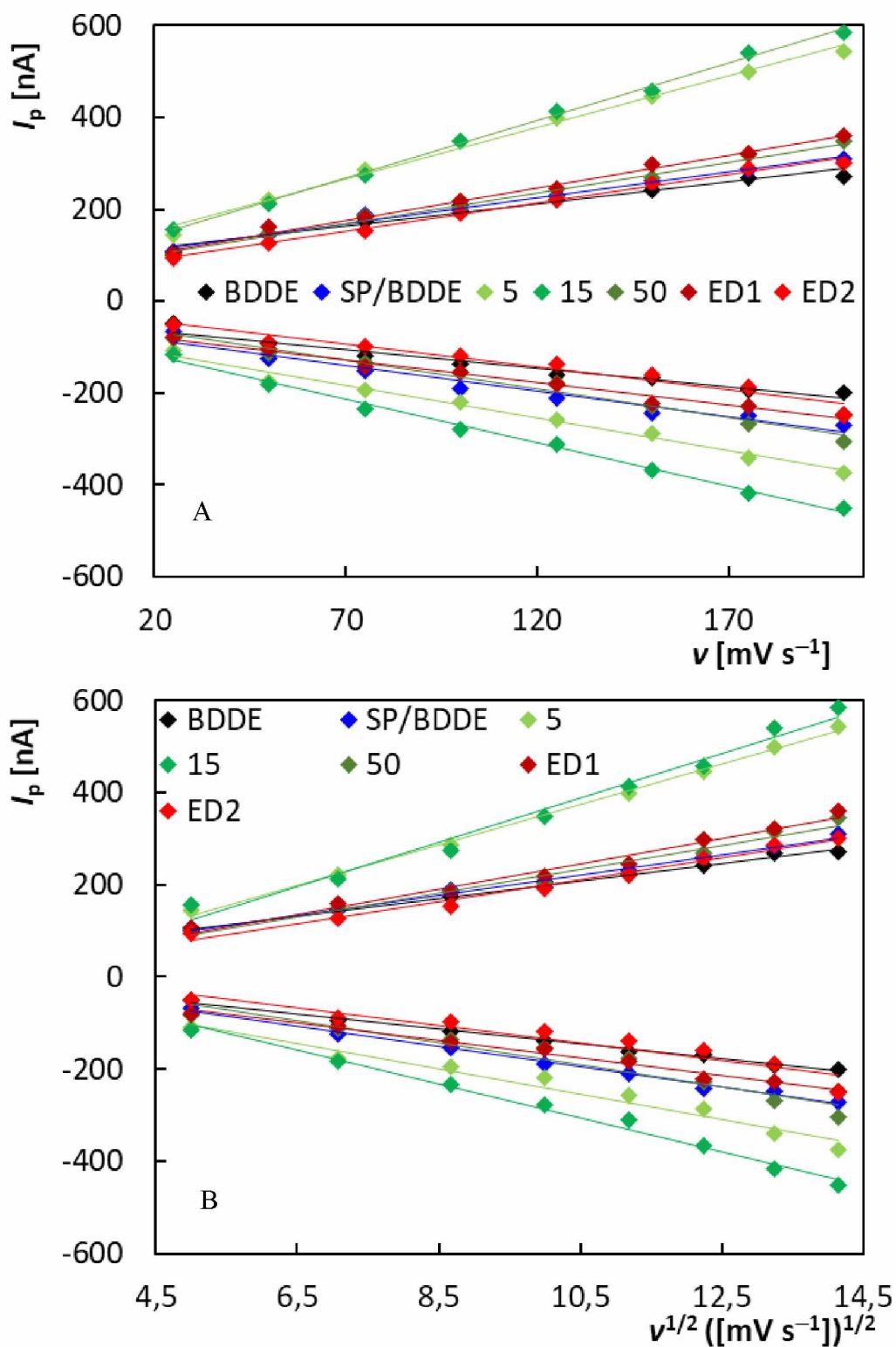
V následujícím kroku byl opět zkoumán vliv rychlosti polarizace na výšku, tvar a polohu píků DA. Rozsah použitých rychlostí polarizace byl od 25 do 200 mV s⁻¹. Cyklické voltamogramy zaznamenané na jednotlivých testovaných senzorech s výjimkou pAu-SP/BDDE, na níž nebyly za daných podmínek zaznamenány žádné píky DA, jsou uvedeny na Obrázku 4.13. Z něj je vidět, že píky DA rostly s rostoucí rychlostí polarizace, což dokumentuje Obrázek 4.14A, kde jsou vyneseny závislosti I_p na v . Lineární průběh těchto závislostí potvrzují i hodnoty korelačních koeficientů uvedené v Tabulce 7 spolu se směrnici rovnic příslušných závislostí pro anodický a katodický signál DA. Stejně tak vynesené závislosti výšek píků na druhé odmocnině z rychlosti polarizace, které jsou uvedeny na Obrázku 4.14B mají lineární průběh. Parametry těchto závislostí jsou uvedeny v Tabulce 8. Lze tedy říci, že sledované děje probíhající na elektrodách jsou ovlivněny jak difuzí, tak adsorpcí. Tyto závěry byly potvrzeny rovněž vynesením odpovídajících logaritmických závislostí, jejichž parametry jsou shrnuty v Tabulce 9. Hodnoty směrnice se ve většině případů sice blíží teoretické hodnotě 0,5 pro difuzně řízenou elektrodovou reakci, ale v některých případech se spíše pohybují mezi hodnotami 0,5 (pro difuzi) a 1 (pro adsorpci). V případě dopaminu tedy lze předpokládat difuzně řízenou elektrodovou reakci s možným vlivem adsorpce.

Tabulka 7 Statistické parametry závislosti výšky píků na rychlosti polarizace získané pro všechny testované senzory pro dopamin; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c(\text{DA}) = 10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Elektroda	Směrnice (anodická) [nA s mV ⁻¹]	Směrnice (katodická) [nA mV ⁻¹]	r (anodický)	r (katodický)
BDDE	$0,96 \pm 7,85 \times 10^{-2}$	$-(0,82 \pm 7,25 \times 10^{-2})$	0,9774	0,9736
SP/BDDE	$1,13 \pm 4,95 \times 10^{-2}$	$-(1,11 \pm 9,58 \times 10^{-2})$	0,9933	0,9749
5Au-SP/BDDE	$2,25 \pm 7,85 \times 10^{-2}$	$-(1,42 \pm 7,38 \times 10^{-2})$	0,9958	0,9907
15Au-SP/BDDE	$2,50 \pm 5,20 \times 10^{-2}$	$-(1,89 \pm 5,79 \times 10^{-2})$	0,9985	0,9967
50Au-SP/BDDE	$1,35 \pm 6,24 \times 10^{-2}$	$-(1,25 \pm 7,73 \times 10^{-2})$	0,9926	0,9869
pAu-SP/BDDE	–	–	–	–
AuED1-SP/BDDE	$1,41 \pm 4,93 \times 10^{-2}$	$-(0,98 \pm 5,51 \times 10^{-2})$	0,9958	0,9891
AuED2-SP/BDDE	$1,24 \pm 4,04 \times 10^{-2}$	$-(0,99 \pm 9,42 \times 10^{-2})$	0,9963	0,9699



Obrázek 4.13 Cyklické voltamogramy dopaminu zaznamenané na všech testovaných senzorech v závislosti na rychlosti polarizace; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 25\text{-}200 \text{ mV s}^{-1}$.



Obrázek 4.14 Závislosti výšky píků dopaminu na rychlosti polarizace (A) a odmocnině z rychlosti polarizace (B) získané na všech testovaných senzorech; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 25\text{-}200 \text{ mV s}^{-1}$.

Tabulka 8 Statistické parametry závislosti výšky píků na odmocnině z rychlosti polarizace získané pro všechny testované senzory pro dopamin; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c(\text{DA}) = 10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Elektroda	Směrnice (anodická) [nA s mV ⁻¹]	Směrnice (katodická) [nA mV ⁻¹]	<i>r</i> (anodický)	<i>r</i> (katodický)
BDDE	14,09±0,28	-(14,20±0,29)	0,9958	0,9949
SP/BDDE	10,88±0,21	-(16,26±0,49)	0,9925	0,9954
5Au-SP/BDDE	42,76±1,07	-(47,27±1,97)	0,9981	0,9801
15Au-SP/BDDE	41,38±0,63	-(48,37±1,72)	0,9881	0,9941
50Au-SP/BDDE	20,62±0,27	-(31,77±1,03)	0,9794	0,9575
pAu-SP/BDDE	–	–	–	–
AuED1-SP/BDDE	22,93±0,50	-(25,76±0,77)	0,9864	0,9898
AuED2-SP/BDDE	17,40±0,65	-(20,54±0,52)	0,9908	0,9413

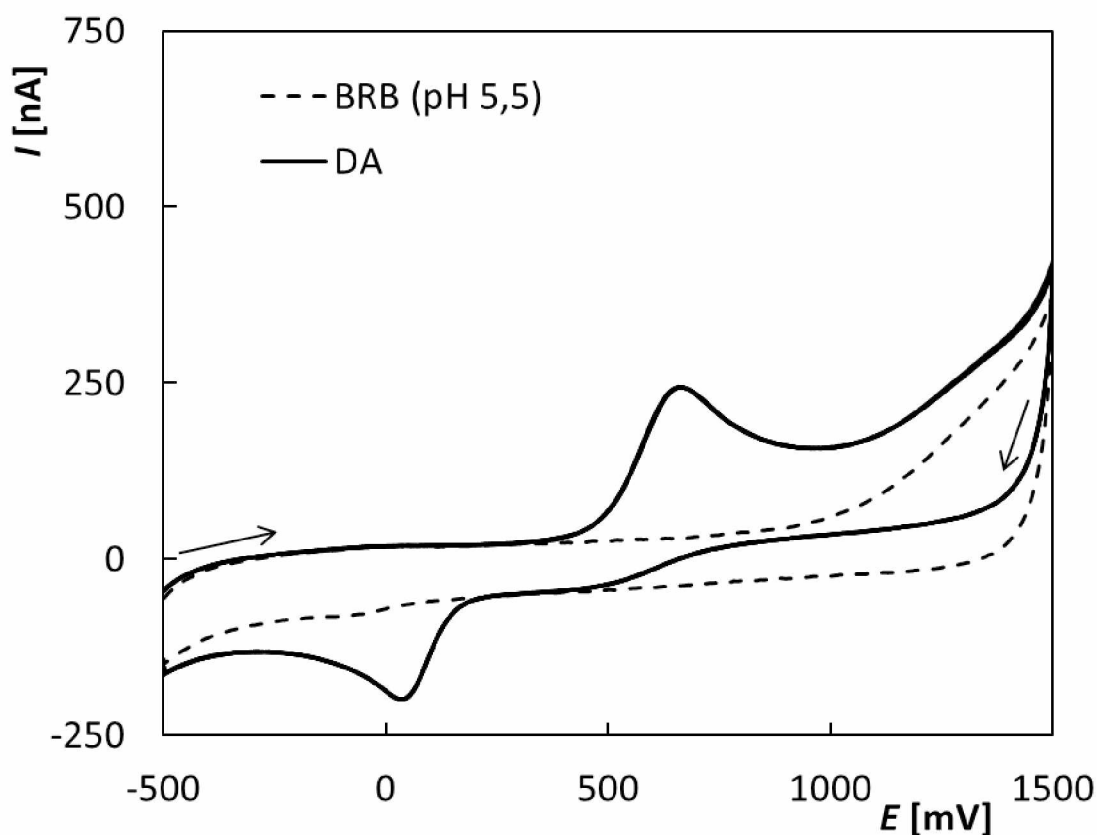
Tabulka 9 Statistické parametry logaritmických závislostí výšky píku dopaminu na rychlosti polarizace ($\log(I_p)$ – $\log(v)$); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c(\text{DA}) = 10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$.

Elektroda	<i>I_p</i>	Směrnice [nA s mV ⁻¹]	Úsek [nA]	<i>r</i>
BDDE	a	0,45±6,97×10 ⁻³	1,29±1,39×10 ⁻²	0,9992
	k	0,67±2,75×10 ⁻²	0,72±5,48×10 ⁻²	0,9941
SP/BDDE	a	0,46±7,12×10 ⁻³	1,15±1,42×10 ⁻²	0,9992
	k	0,62±2,02×10 ⁻²	0,91±4,03×10 ⁻²	0,9963
5Au-SP/BDDE	a	0,64±7,96×10 ⁻³	1,23±1,59×10 ⁻²	0,9995
	k	0,72±1,34×10 ⁻²	1,08±2,67×10 ⁻²	0,9988
15Au-SP/BDDE	a	0,62±9,61×10 ⁻³	1,30±1,92×10 ⁻²	0,9992
	k	0,71±1,17×10 ⁻²	1,12±2,33×10 ⁻²	0,9990
50Au-SP/BDDE	a	0,52±4,34×10 ⁻³	1,24±8,65×10 ⁻³	0,9998
	k	0,62±9,85×10 ⁻³	1,18±1,96×10 ⁻²	0,9991
pAu-SP/BDDE	a	–	–	–
	k	–	–	–
AuED1-SP/BDDE	a	0,58±7,66×10 ⁻³	1,13±1,53×10 ⁻²	0,9994
	k	0,60±1,17×10 ⁻²	1,14±2,33×10 ⁻²	0,9987
AuED2-SP/BDDE	a	0,64±1,58×10 ⁻²	0,85±3,15×10 ⁻²	0,9979
	k	0,56±1,27×10 ⁻²	1,15±2,53×10 ⁻²	0,9982

Závěrem lze říci, že i v případě analýzy DA poskytují testované senzory velmi dobré a opakovatelné výsledky, a mají tedy dobré elektrochemické vlastnosti. Výjimkou je pAu-SP/BDDE, kde nebyl za daných podmínek zaznamenán anodický ani katodický pík dopaminu. Z této sady experimentů na základě rozdílů potenciálů, výšek píků a poměrů výšek píků pak nejlépe vycházejí modifikované senzory 5Au-SP/BDDE a 15Au-SP/BDDE. Sledované reakce byly řízeny difuzí s možným vlivem adsorpce. Vzhledem ke špatným výsledkům získaným pro pAu-SP/BDDE byl prozatím tento senzor z dalších experimentů a studií vyřazen.

4.2. Optimalizace podmínek stanovení dopaminu s využitím BDDE

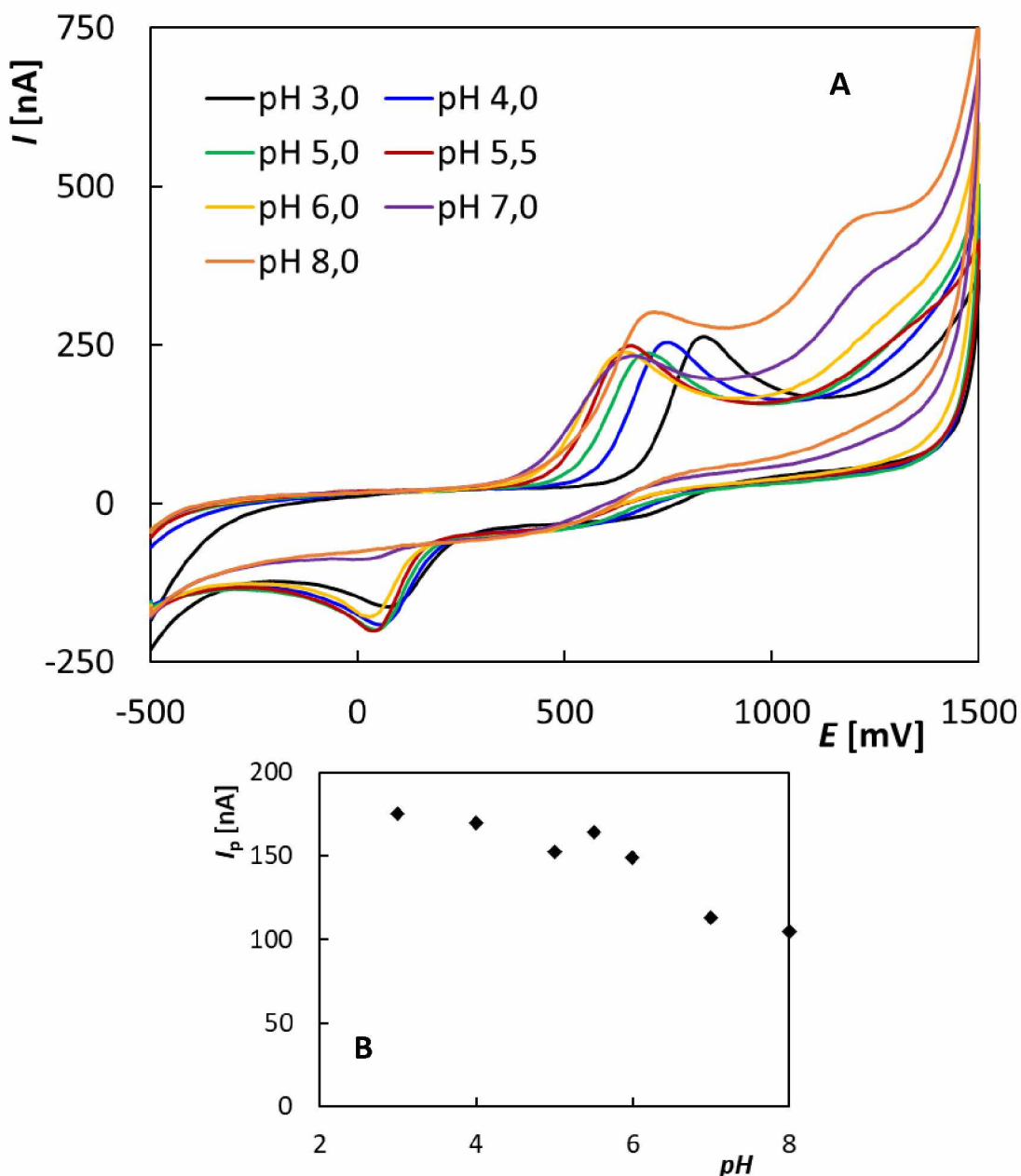
Na Obrázku 4.15 je uveden cyklický voltamogram dopaminu ($10 \mu\text{mol L}^{-1}$) zaznamenaný na BDDE v prostředí BRB o pH 5,5, a to při rychlosti polarizace 100 mV s^{-1} . Jak již bylo uvedeno výše, DA poskytuje na BDDE jeden dobře vyvinutý oxidační signál kolem potenciálu $+670 \text{ mV}$ a při zpětném skenu odpovídající redukční pík při potenciálu $+40 \text{ mV}$. Na základě rozdílu potenciálů mezi maximy oxidačního a redukčního píku ($\Delta E_p = 630 \text{ mV}$) lze říci, že se jedná o quazi-reverzibilní reakci. Z obrázku vyplývá, že opakovatelnost měření je velmi dobrá.



Obrázek 4.15 10 opakovaných cyklických voltamogramů DA zaznamenaných na BDDE; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

4.2.1. Voltametrické chování dopaminu v závislosti na pH

Složení základního elektrolytu a zejména hodnota pH významně ovlivňuje elektrochemické chování studovaných látek. Z tohoto důvodu bylo v následujícím kroku sledováno chování DA v závislosti na pH na BDDE. Byla sledována závislost výšky, tvaru a polohy píku na pH prostředí. Jako základní elektrolyt byl použit BRB v rozmezí pH 3-8. Koncentrace DA pro tyto experimenty byla $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ a použitou metodou byla CV. Na Obrázku 4.16A jsou uvedeny naměřené voltametrické křivky a na Obrázku 4.16B vynesena závislost výšky anodického píku DA na pH.



Obrázek 4.16 Cyklické voltamogramy DA zaznamenané na BDDE v závislosti na pH (A) a závislost výšky oxidačního píku na pH (B); elektrolyt BRB (pH 3-8), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Z těchto obrázků je zřejmé, že nejlépe vyvinutý oxidační pík poskytl DA na BDDE ve slabě kyselém prostředí (3-6). Při hodnotě pH 6 začal být na záznamu patrný druhý oxidační signál DA kolem potenciálu +1250 mV, který byl s rostoucím pH lépe vyvinutý. To odpovídá mechanismu oxidace DA popsanému v literatuře [103] a uvedenému na Obrázku 2.10.

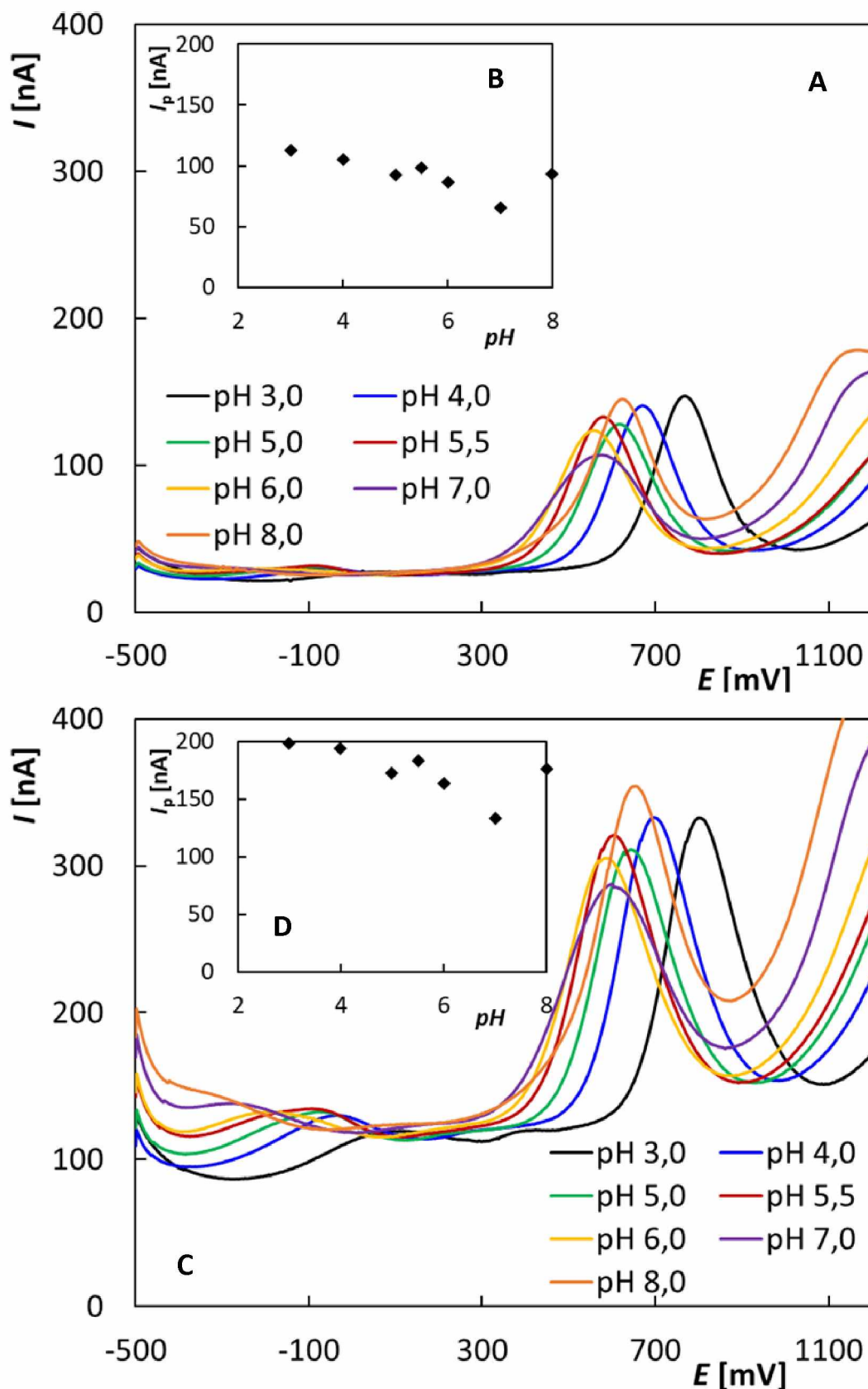
4.2.2. Vývoj metody stanovení dopaminu

Pro vývoj metody stanovení DA byly na začátku testovány diferenční pulzní (DPV) a square wave voltametrie (SWV). Tyto metody byly vybrány především kvůli jejich citlivosti. Pro analytické účely byl díky lepší vyhodnotitelnosti zvolen první oxidační signál DA a první krok byl zaměřen na volbu vhodného pH základního elektrolytu. Byly změřeny voltamogramy 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DA v prostředí BRB o pH 3-8 pomocí obou testovaných metod. Na Obrázku 4.17A jsou uvedeny zaznamenané DP voltamogramy a na Obrázku 4.17B je vynesena odpovídající závislost výšky píku DA na pH. SW voltamogramy opět s vynesenu závislostí výšky píku na pH jsou uvedeny na Obrázku 4.17C, resp. 4.17D. Z obrázků vyplývá, že výška i poloha oxidačního píku DA je závislá na pH základního elektrolytu. S rostoucí hodnotou pH se pík posouvá směrem k méně pozitivním potenciálům, což svědčí o snazším průběhu elektrodové reakce. Nejvyšší proudová odezva byla pozorována v slabě kyselém prostředí. Pro stanovení DA byl jako vhodné prostředí zvolen BRB o pH 5,5, protože pík byl dostatečně vysoký a současně se toto prostředí blíží fyziologickému.

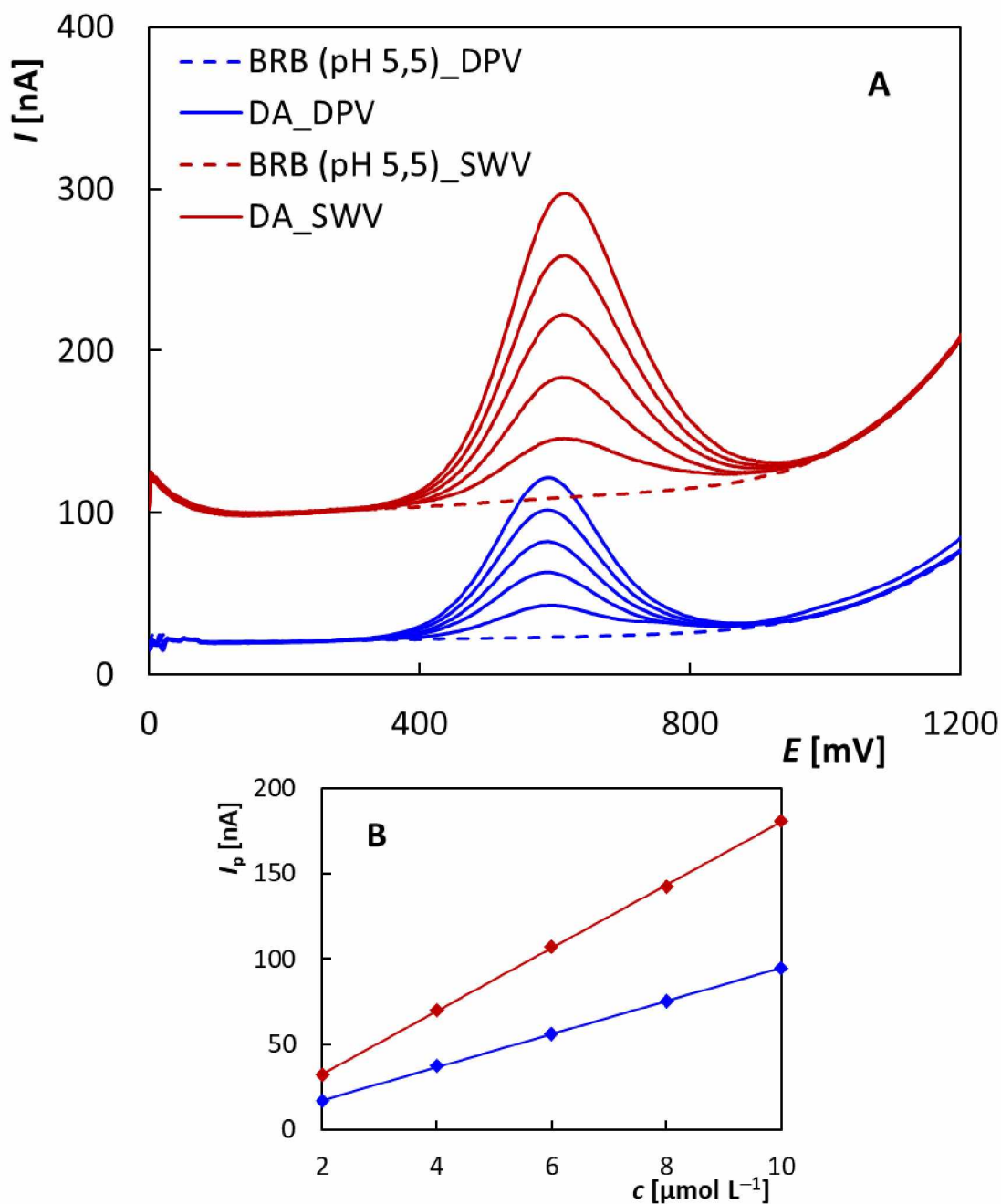
Pro porovnání metod DPV a SWV byly pomocí BDDE změřeny koncentrační závislosti DA v rozsahu 2-10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a byly vyneseny závislosti výšky píku na koncentraci. Výsledné voltametrické křivky jsou uvedeny na Obrázku 4.18A. Je zřejmé, že SWV poskytuje výrazně vyšší proudové odezvy v porovnání s DPV. Tuto skutečnost potvrzují i koncentrační závislosti vynesené na Obrázku 4.18B. Hodnota směrnice (18,53±0,11) pro závislost zaznamenanou s využitím SWV (rovnice (12)) je dvojnásobná oproti hodnotě (9,74±7,75×10⁻²) získané pro DPV (rovnice (13)). Z těchto důvodů byla pro stanovení DA vybrána jako vhodnější metoda SWV.

$$I_p[\text{nA}] = (18,53 \pm 0,11) c[\mu\text{mol L}^{-1}] - (4,74 \pm 0,76), r = 0,9999 \quad (12)$$

$$I_p[\text{nA}] = (9,741 \pm 0,078) c[\mu\text{mol L}^{-1}] - (2,29 \pm 0,51), r = 0,9999 \quad (13)$$



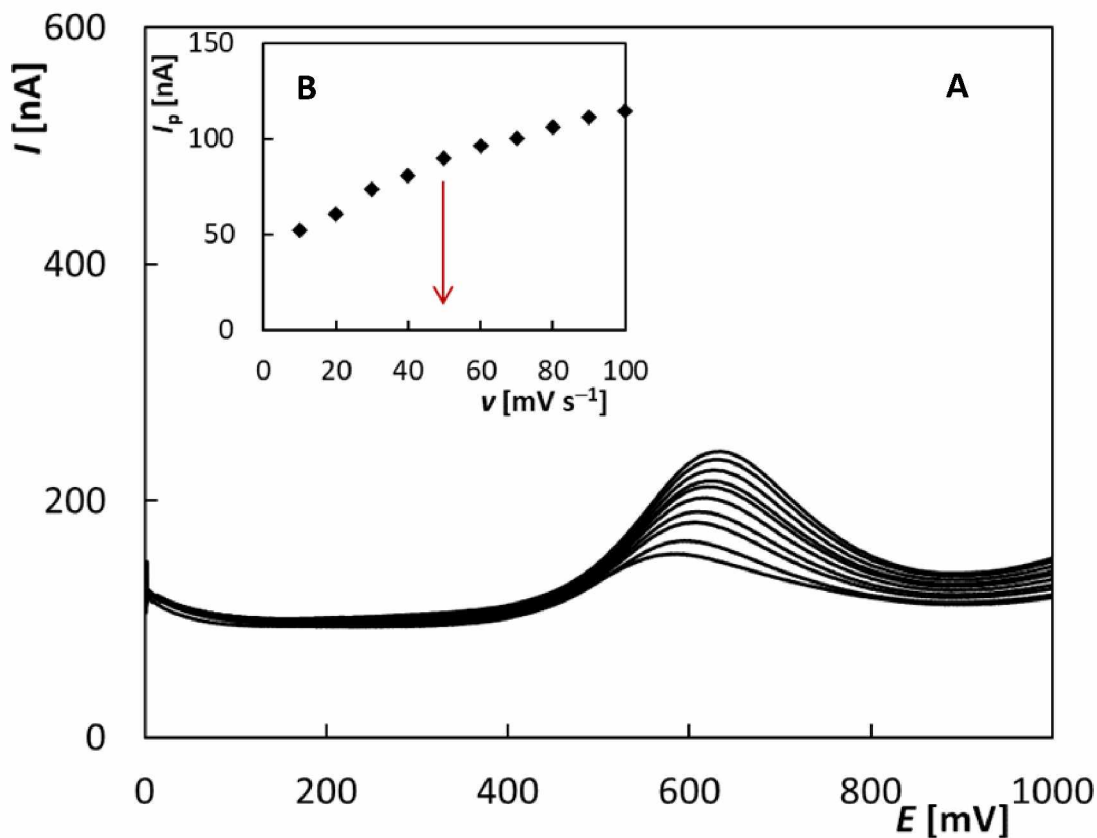
Obrázek 4.17 DP voltamogramy DA zaznamenané na BDDE v závislosti na pH (A) a odpovídající závislost I_p na pH (B); SW voltamogramy DA zaznamenané v závislosti na pH (C) a odpovídající závislost I_p na pH (D); elektrolyt – BRB (pH 3-8), $c(DA) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, DPV: $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, výška pulzu = +50 mV, doba pulzu = 50 ms; SWV: $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, amplituda = 50 mV, $f = 25 \text{ Hz}$.



Obrázek 4.18 Porovnání DP a SW voltametričeských křivek DA zaznamenaných na BDDE v závislosti na koncentraci (A) a odpovídající závislosti I_p na $c(\text{DA})$; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 2\text{--}10 \mu\text{mol L}^{-1}$, DPV: $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, výška pulzu = +50 mV, doba pulzu = 50 ms; SWV: $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, amplituda = 50 mV, $f = 25 \text{ Hz}$.

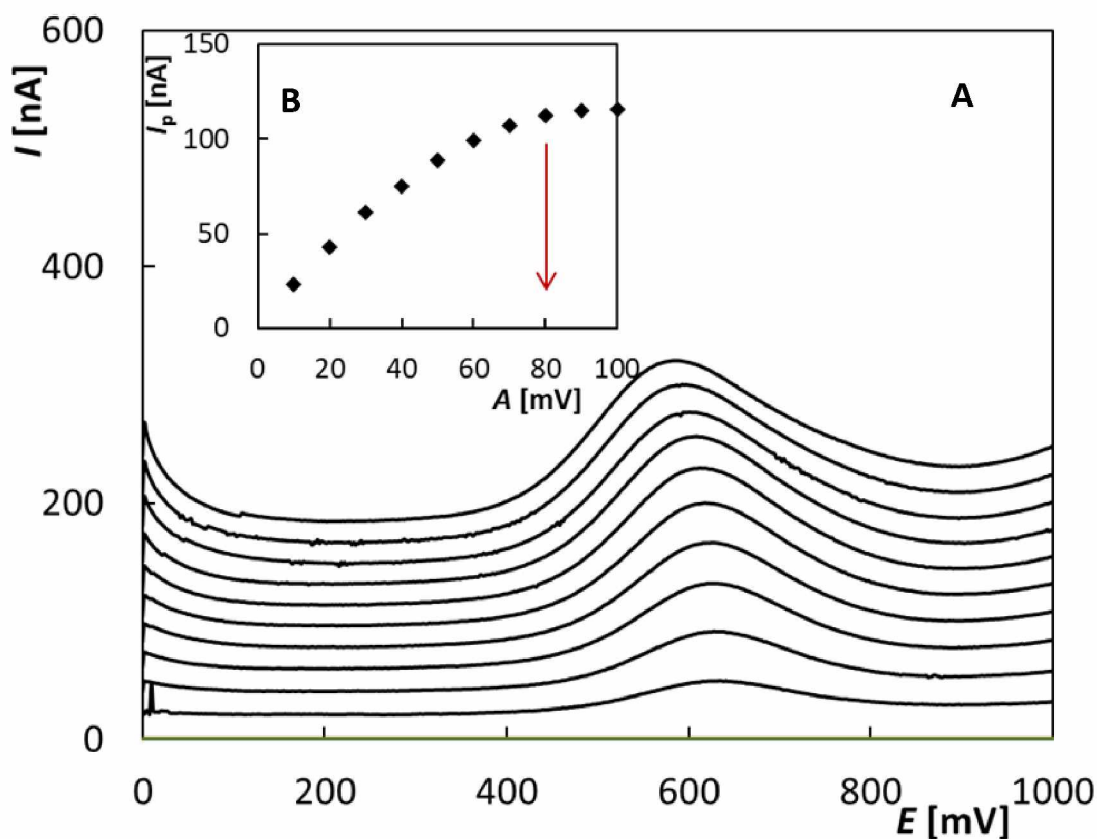
V rámci vývoje metody stanovení DA byly optimalizovány základní parametry SWV jako rychlost polarizace, amplituda (A) a frekvence (f). Měření probíhalo vždy v prostředí BRB (pH 5,5) a koncentrace DA byla $5 \mu\text{mol L}^{-1}$. Prvním testovaným parametrem byla rychlost polarizace. Na Obrázku 4.19 jsou uvedeny SW voltamogramy zaznamenané v rozsahu rychlostí 10-100 mV s^{-1} , kdy ostatní parametry byly udržovány konstantní ($A = 50 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$).

Z voltamogramů i vložené závislosti výšky píku na rychlosti polarizace (Obr. 4.19B) je evidentní, že výška píku s rostoucí rychlostí rostla. Jako nejvhodnější byla zvolena rychlost 50 mV s^{-1} , protože při dalším zvyšování rychlosti se již nárůst proudové odezvy zpomalil.



Obrázek 4.19 SW voltamogramy DA zaznamenané na BDDE v závislosti na rychlosti polarizace (A) a odpovídající závislost I_p na v (B); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 10\text{-}100 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 50 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$.

Dalším optimalizovaným parametrem byla amplituda. Její hodnota byla měněna v rozsahu od 10 do 100 mV ($v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $f = 25 \text{ Hz}$). Na Obrázku 4.20A jsou uvedeny SW voltamogramy zaznamenané na BDDE v závislosti na amplitudě pulzu a Obrázek 4.20B představuje odpovídající závislost výšky píku na amplitudě. Z obrázku je vidět, že výška píku narůstala s rostoucí hodnotou amplitudy, současně ale docházelo také k rozšiřování píku, což zhoršuje jeho vyhodnotitelnost. Pro další měření byla zvolena hodnota amplitudy 80 mV.

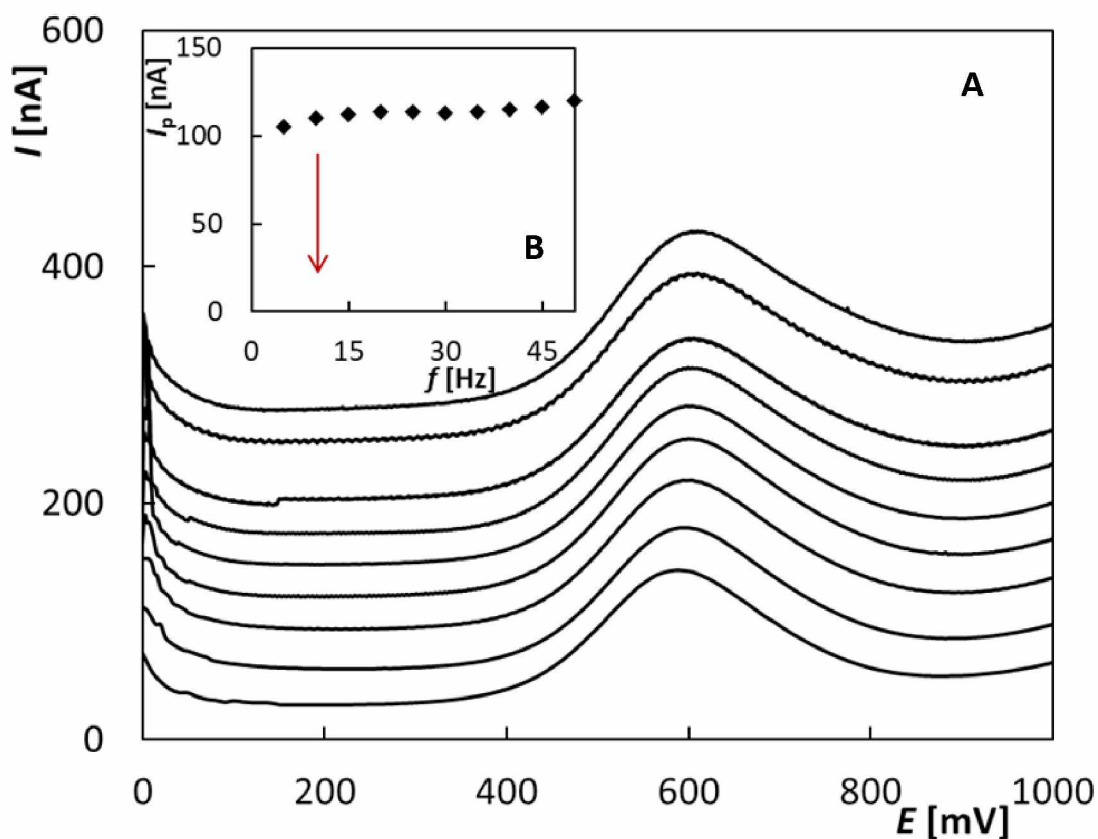


Obrázek 4.20 SW voltamogramy DA zaznamenané na BDDE v závislosti na amplitudě (A) a odpovídající závislosti I_p na A (B); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 10\text{--}100 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$.

Posledním krokem optimalizace bylo určení vhodné frekvence. Ta byla testována v rozsahu 5–50 Hz ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$). Na Obrázku 4.21A jsou znázorněny získané SW voltamogramy a na Obrázku 4.21B je vynesena závislost výšky píku na frekvenci. V tomto případě se výška píku DA příliš neměnila, ale s rostoucí frekvencí docházelo k jeho rozšiřování. Proto byla pro další měření vybrána jako optimální hodnota frekvence 10 Hz. Optimalizované parametry SWV jsou shrnuty v Tabulce 10.

Tabulka 10 Optimalizované parametry SWV pro stanovení DA s využitím BDDE.

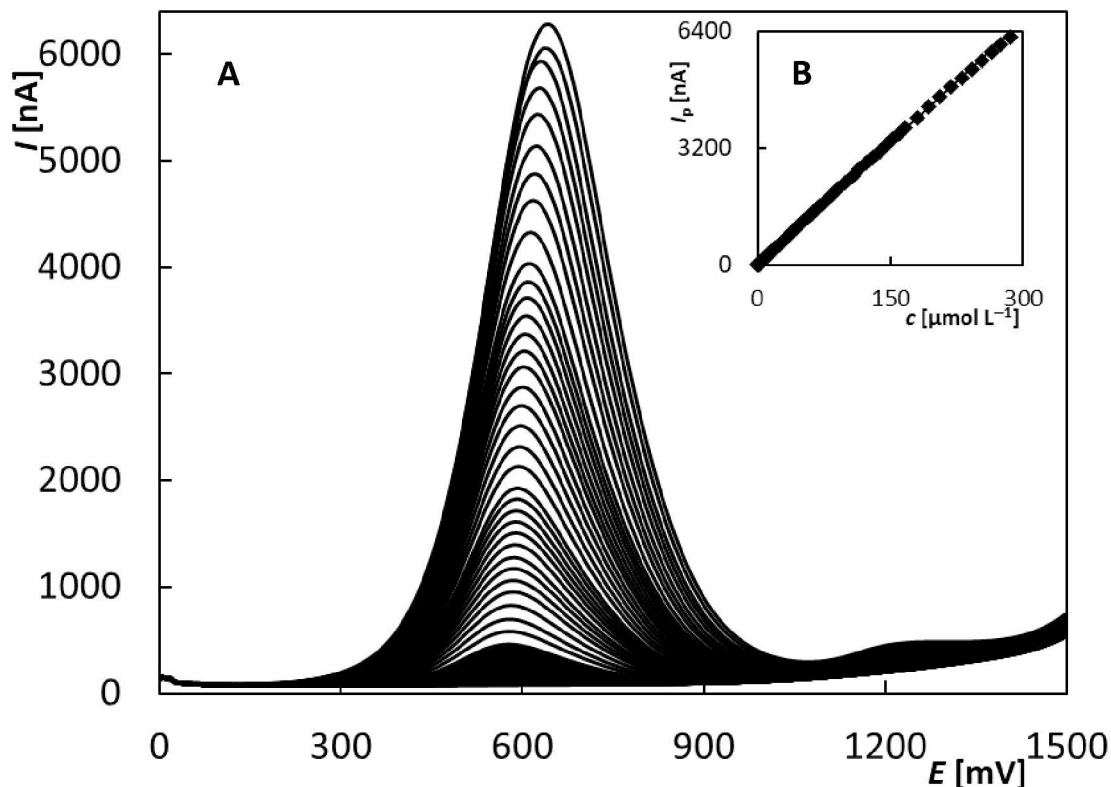
Parametr	BDDE
ν [mV s^{-1}]	50
A [mV]	80
f [Hz]	10



Obrázek 4.21 SW voltamogramy DA zaznamenané na BDDE v závislosti na frekvenci (A) a odpovídající závislost I_p na f (B); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 5\text{-}50 \text{ Hz}$.

Vyvinutá metoda byla použita při analýze modelových roztoků DA, kdy byla změřena koncentrační závislosti DA s využitím SWV s optimalizovanými parametry v kombinaci s BDDE v klasickém uspořádání elektrochemického článku. Na Obrázku 4.22A jsou uvedeny SW voltamogramy zaznamenané v celém využitelném koncentračním rozsahu (LDR), který byl získán v rozmezí od 0,2 do 286 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Zároveň na Obrázku 4.22B je uvedena závislost výšky píku na koncentraci, která je lineární a může být popsána následující rovnicí (14) s příslušným korelačním koeficientem. Na závěr této části práce byl vypočten detekční limit (LOD) pro stanovení DA s využitím BDDE, jehož hodnota je 0,141 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

$$I_p[\text{nA}] = (25,53 \pm 0,13) c[\mu\text{mol L}^{-1}] + (7,41 \pm 1,20), r = 0,9998 \quad (14)$$



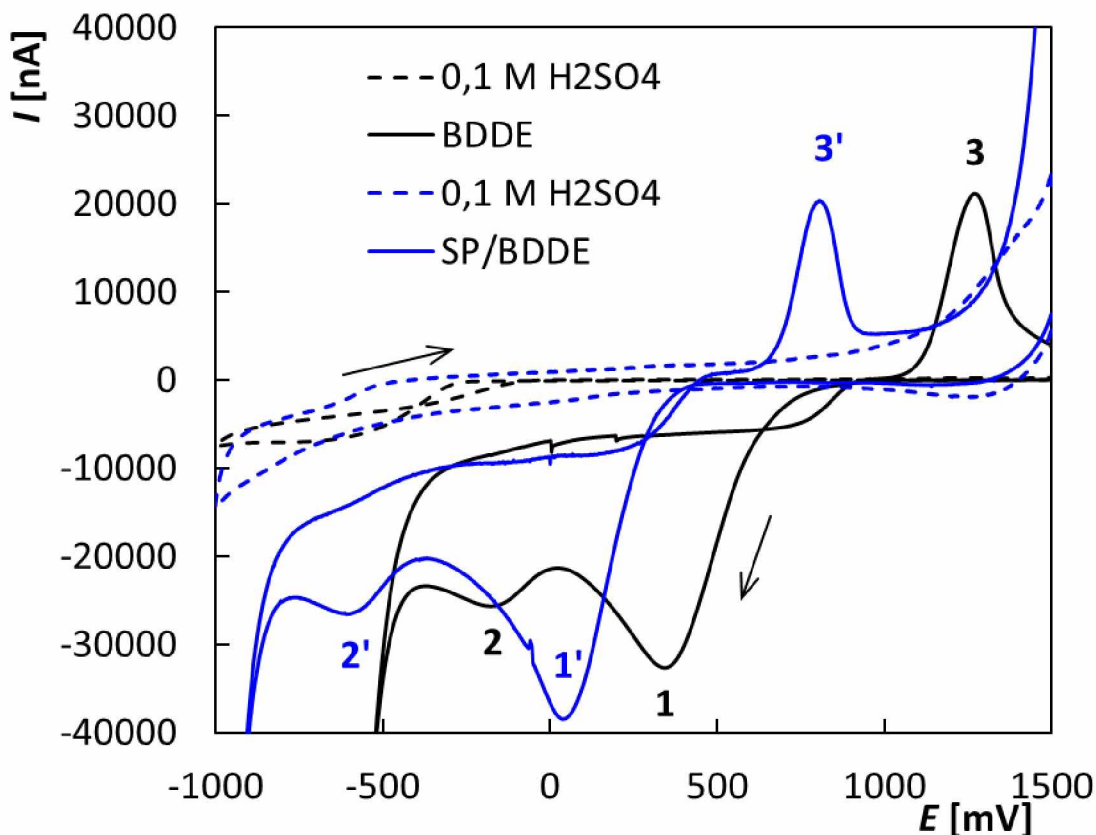
Obrázek 4.22 SW voltamogramy DA zaznamenané na BDDE v závislosti na koncentraci (A) a odpovídající závislost I_p na $c(\text{DA})$ (B); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 0,2\text{--}286 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.

4.3. Aplikace modifikovaných senzorů při analýze dopaminu

4.3.1. Využitelný potenciálový rozsah modifikovaných senzorů

Vzhledem k tomu, že zlato je možné elektrochemicky oxidovat a poté zpětně redukovat, je třeba před vlastní aplikací senzorů modifikovaných zlatými nanočásticemi určit využitelný potenciálový rozsah v anodické oblasti. Proto byl změřen cyklický voltamogram v roztoku zlata, který byl v této práci využíván při elektrochemické modifikaci povrchů elektrod AuNPs, konkrétně v roztoku $1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H AuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ v $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$, a to s využitím BDDE i SP/BDDE. Z Obrázku 4.23 je vidět, že Au vyloučené redukcí na povrchu elektrody se při zpětném skenu oxiduje/rozpouští (pík 3 (BDDE), resp. 3' (SP/BDDE)) zpět do roztoku. Potenciál rozpouštění se liší v závislosti na použité elektrodě, kdy na tištěných senzorech je posunut k méně pozitivním potenciálům vlivem použité quazi-referentní elektrody. Z toho vyplývá, že i potenciálové okno tištěných senzorů modifikovaných zlatými nanočásticemi je posunuto ve stejném směru a je tedy omezeno u méně pozitivních potenciálů v porovnání

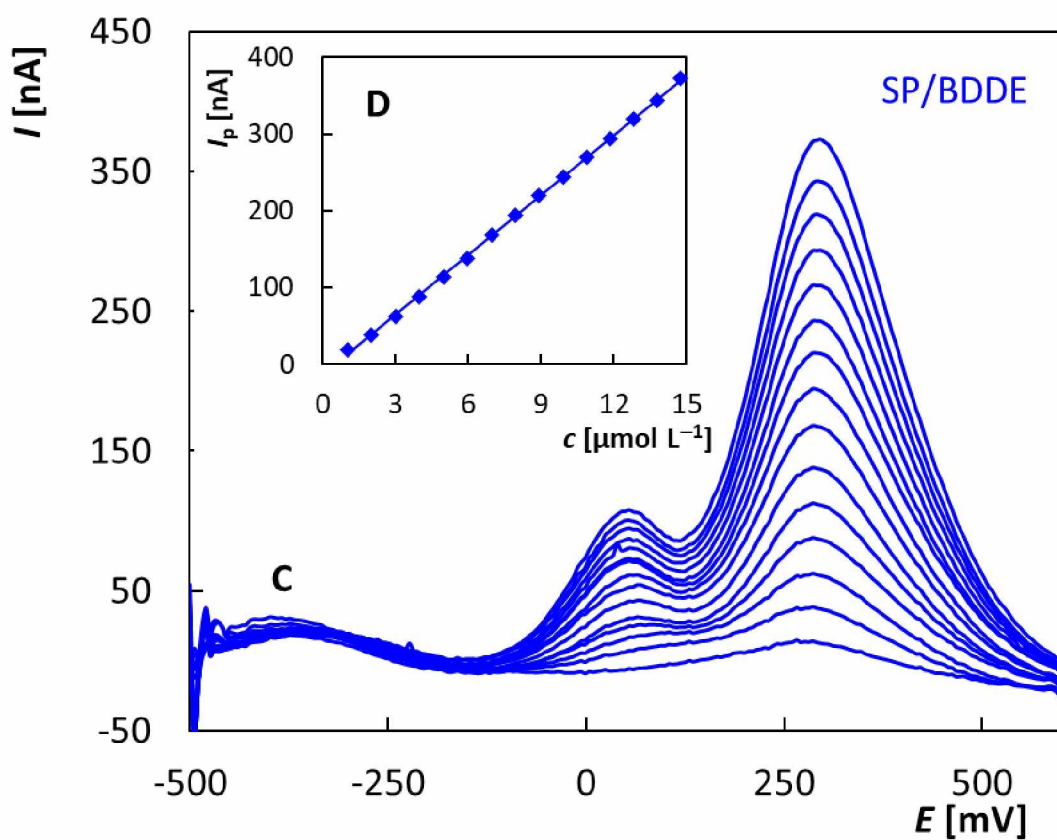
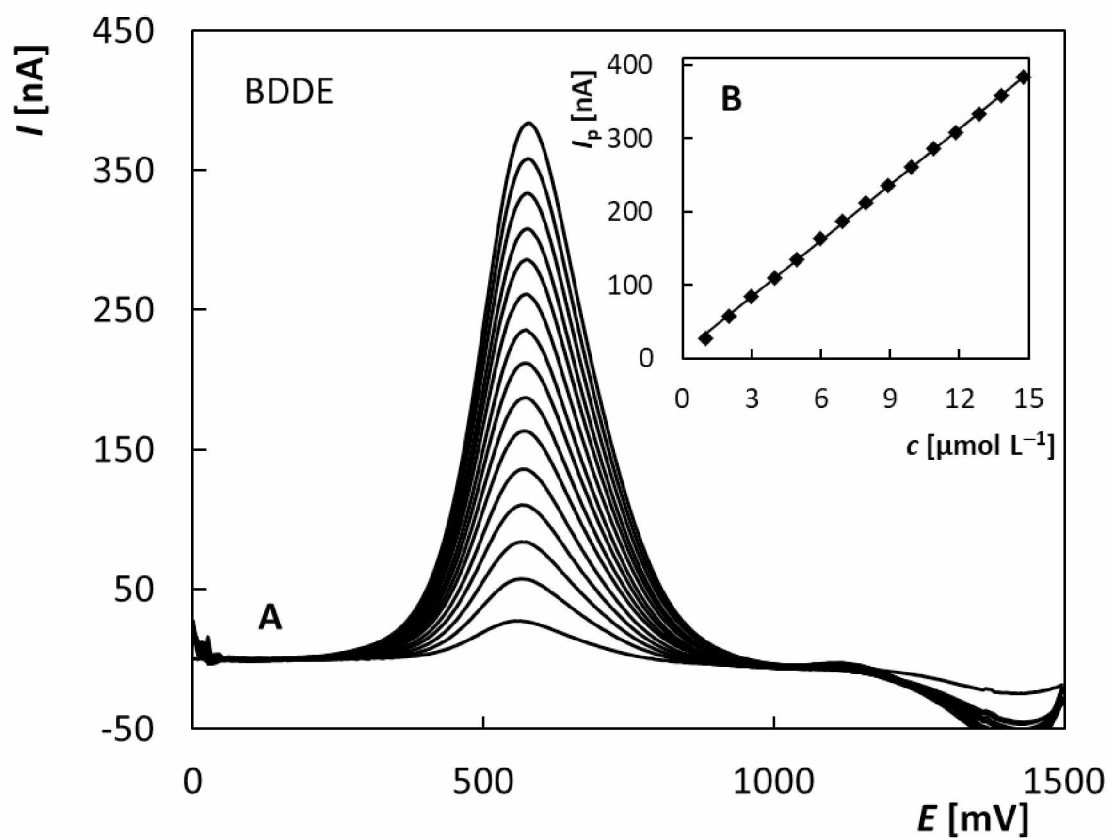
s modifikovanou BDDE. Konečný potenciál (E_{kon}) byl proto u Au-SP/BDDE nastaven vždy na hodnotu maximálně +400 mV.



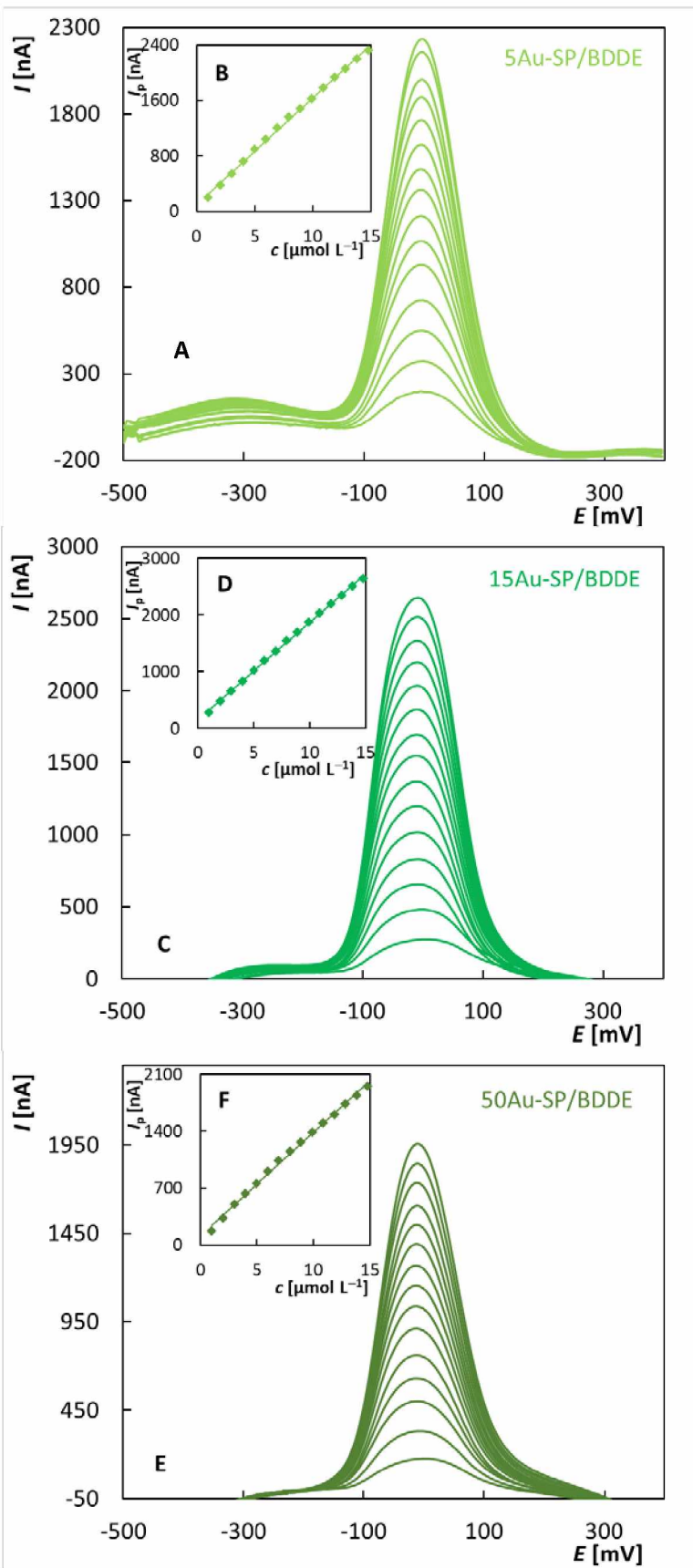
Obrázek 4.23 Cyklické voltamogramy zaznamenané na BDDE a SP/BDDE v roztoku $1 \text{ mmol L}^{-1} \text{ H AuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ v $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$; $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

4.3.2. Koncentrační závislosti dopaminu při optimalizovaných podmínkách

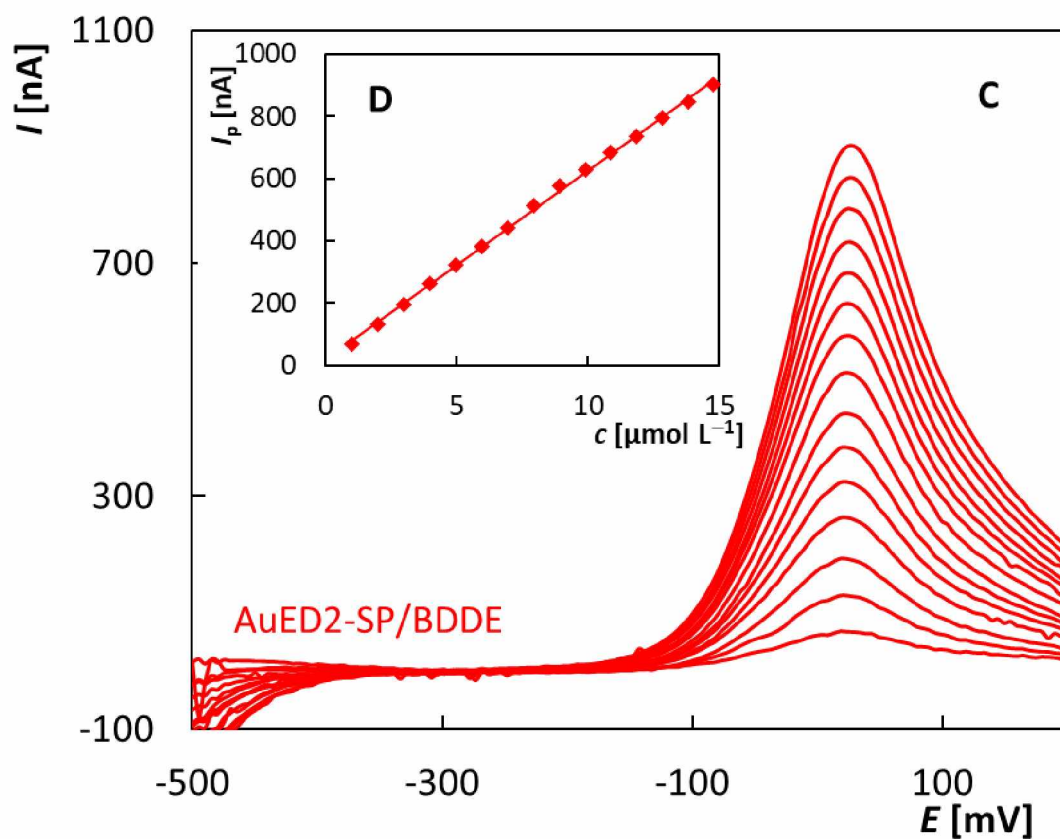
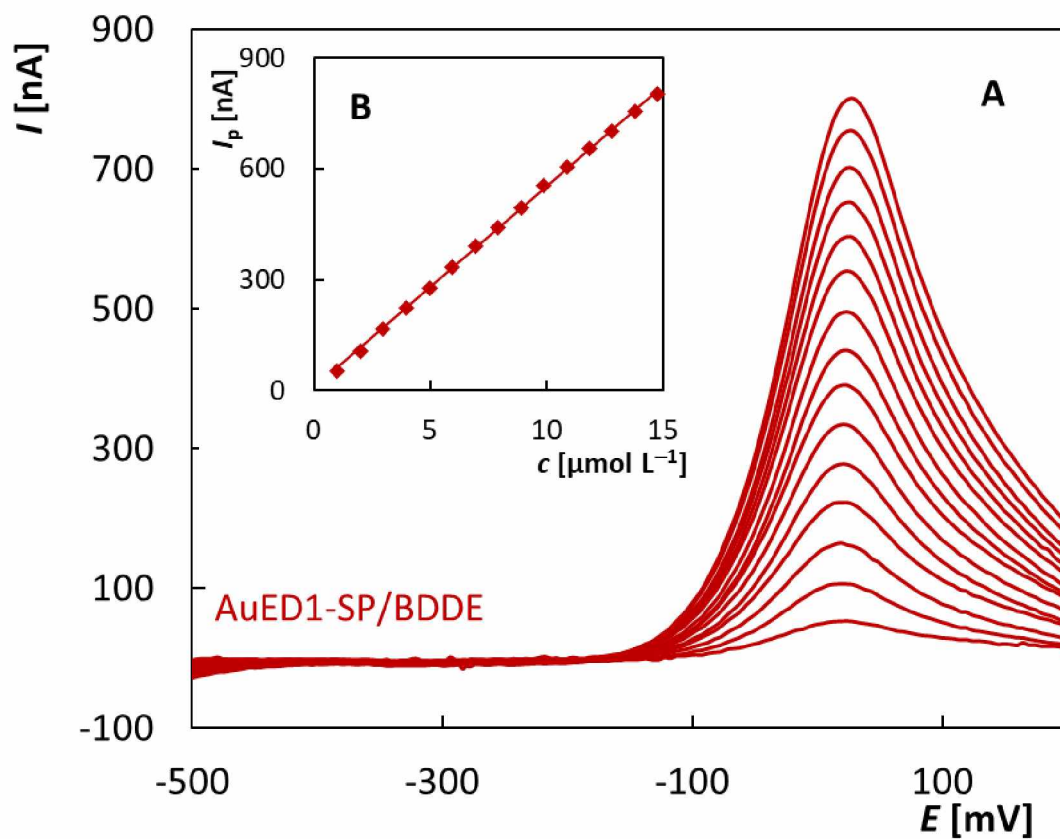
Vyvinutá metoda byla použita pro změření koncentračních závislostí DA na všech testovaných senzorech. Pro porovnání parametrů jednotlivých elektrod byl využit rozsah koncentrací $1\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$. Měření probíhala v prostředí BRB o pH 5,5 a použitou metodou byla SWV s optimalizovanými parametry. Na následujících obrázcích jsou uvedeny naměřené voltametrické křivky vždy spolu s vynesenu koncentrační závislostí. Na Obrázku 4.24 jsou uvedeny křivky pro nemodifikované BDDE a SP/BDDE. Obrázek 4.25 zaznamenává voltamogramy pro fyzikální depozici modifikované elektrody s různou velikostí AuNPs (5Au-SP/BDDE, 15Au-SP/BDDE a 50Au-SP/BDDE) a Obrázek 4.26 představuje voltametrické křivky získané s využitím senzorů s elektrochemicky deponovanými AuNPs (AuED1-SP/BDDE a AuED2-SP/BDDE). Na Obrázku 4.27 jsou pro lepší porovnání uvedeny koncentrační závislosti pro všechny testované senzory.



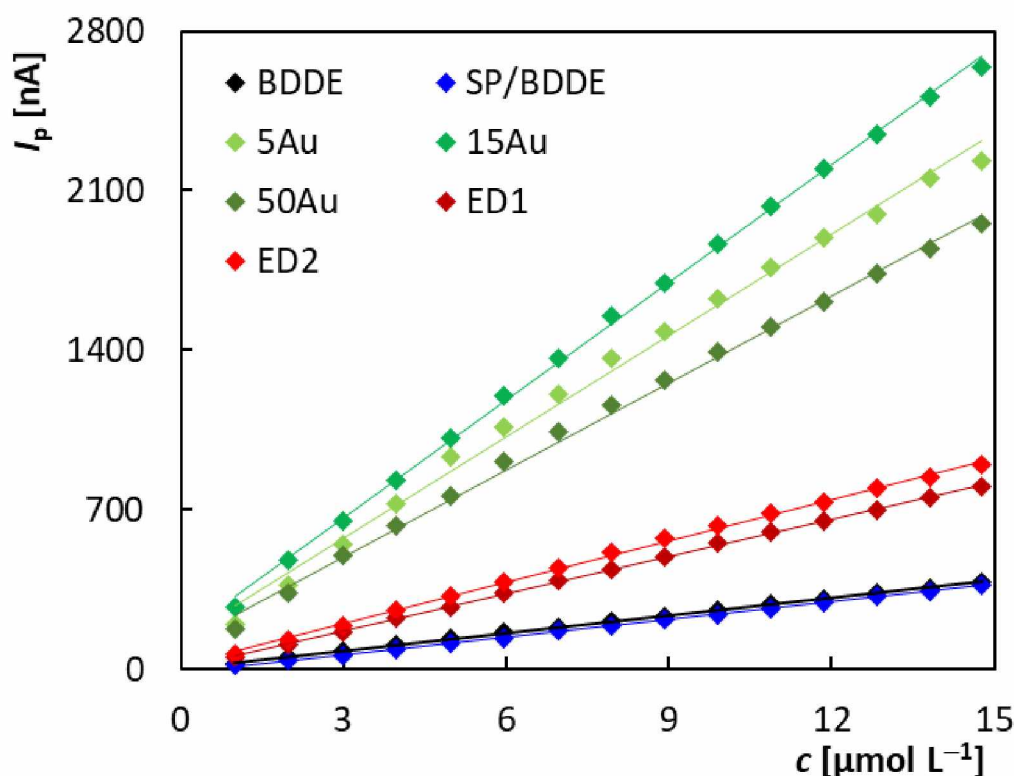
Obrázek 4.24 SW voltamogramy DA zaznamenané na BDDE (A) a SP/BDDE (C) v závislosti na koncentraci (křivky po odečtu základního elektrolytu) a odpovídající závislosti I_p na c (B, D); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.



Obrázek 4.25 SW voltamogramy DA zaznamenané na Au-SP/BDD senzorech (A, C, E) v závislosti na koncentraci (křivky po odečtu základního elektrolytu) a odpovídající závislosti I_p na c (B, D, F); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.



Obrázek 4.26 SW voltamogramy DA zaznamenané na AuED-SP/BDDE senzorech (A, C) v závislosti na koncentraci (křivky po odečtu základního elektrolytu) a odpovídající závislosti I_p na c (B, D); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.



Obrázek 4.27 Koncentrační závislosti získané pro všechny testované senzory; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.

Z uvedených obrázků je vidět, že výška píku DA na všech testovaných elektrodách ve zvoleném rozsahu koncentrací rostla a tento nárůst byl lineární, což dokumentují závislosti I_p na c vložené v jednotlivých obrázcích. Z Obrázku 4.27 je však zřejmé, že se významně lišila citlivost jednotlivých typů použitých senzorů. Statistické parametry získaných koncentračních závislostí i korelační koeficienty jsou uvedené v Tabulce 11. Nejvyšší proudovou odezvu DA poskytují tištěné senzory modifikované zlatem fyzikální depozicí, zejména 5Au-SP/BDDE a 15Au-SP/BDDE. Tyto elektrody rovněž vykazují nejvyšší citlivost, která je dána hodnotou směrnice ($172,1 \pm 1,5$ pro 15Au-SP/BDDE) koncentračních závislostí. Na druhou stranu byla u těchto senzorů pozorována výrazně větší hodnota úseku a horší korelační koeficient. To vedlo ve výsledku k vyšším vypočteným hodnotám LOD v porovnání s nemodifikovanými senzory. Nižší hodnoty proudové odezvy a současně nižší citlivost poskytly senzory s elektrochemicky deponovanými AuNPs. Citlivost těchto senzorů ale byla stále více než $2 \times$ vyšší než v případě nemodifikovaných BDDE a SP/BDDE. Korelační koeficienty koncentračních závislostí i hodnoty LOD získané pro tyto senzory byly srovnatelné s nemodifikovanými elektrodami.

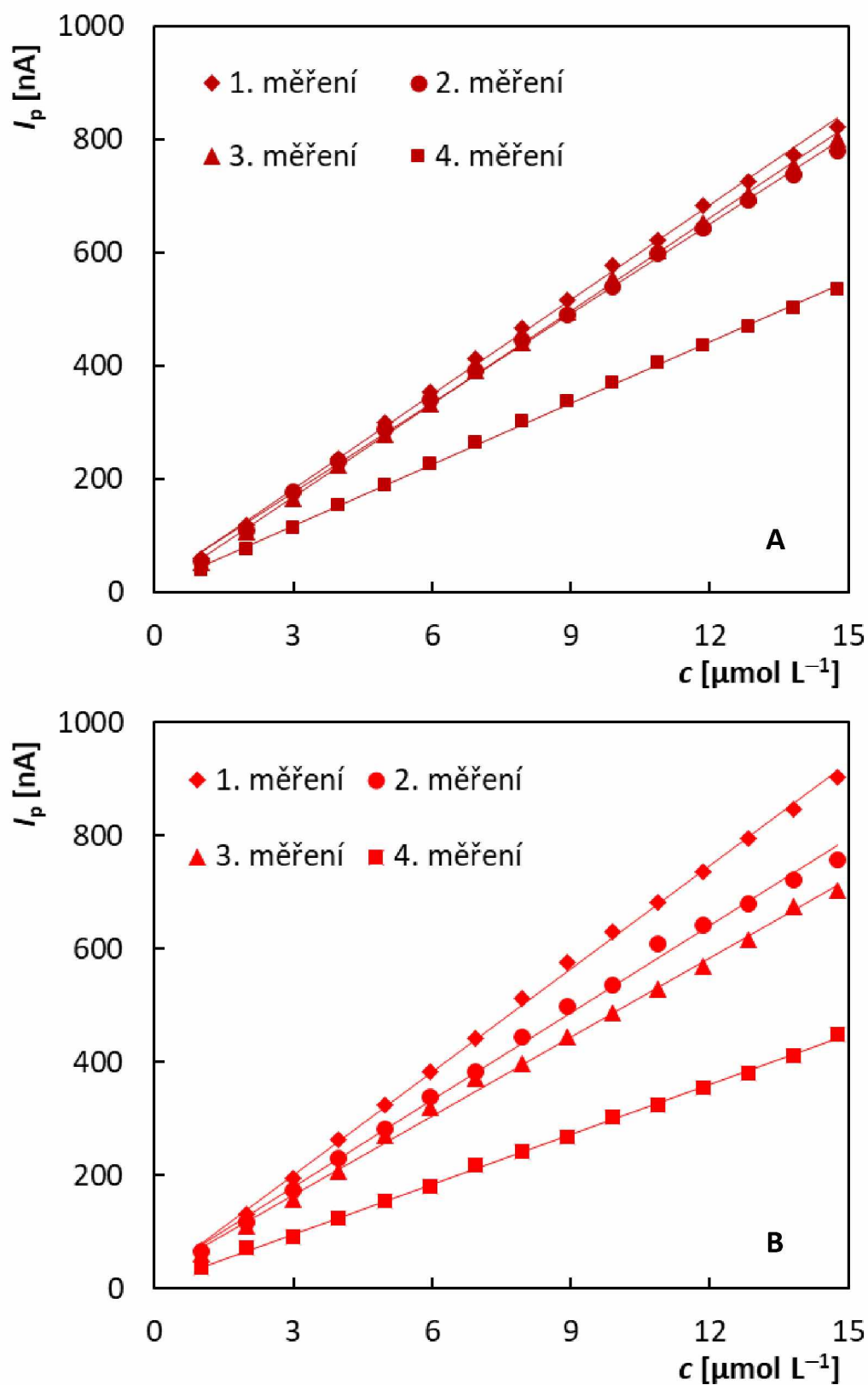
Obecně lze shrnout, že senzory modifikované zlatými nanočásticemi jsou pro DA citlivější než elektrody nemodifikované.

Tabulka 11 Statistické parametry závislosti výšky piku na koncentraci DA získané na všech testovaných senzorech; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.

Elektroda	Směrnice [nA L μmol^{-1}]	Úsek [nA]	r	LOD [mol L $^{-1}$]
BDDE	25,53±0,13	7,4±1,2	0,9998	0,14
SP/BDDE	25,91±0,17	-(12,9±1,5)	0,9997	0,17
5Au-SP/BDDE	147,8±3,1	133±27	0,9969	0,57
15Au-SP/BDDE	172,1±1,5	148±13	0,9985	0,23
50 Au-SP/BDDE	127,1±1,9	116±17	0,9984	0,41
AuED1-SP/BDDE	54,60±0,33	4,7±3,0	0,9997	0,16
AuED2-SP/BDDE	60,70±0,57	18,4±5,1	0,9994	0,25

Následně byla testována opakovatelnost měření na tištěných senzorech po jedné elektrochemické depozici AuNPs na povrchu. Nejprve byla na AuED1-SP/BDDE i AuED2-SP/BDDE provedena v jednom dni 3 opakovaná měření koncentračních závislostí ve stejném rozsahu a za stejných podmínek jako v předchozích experimentech. Následující den byly tyto koncentrační závislosti změřené znova, a to bez jakékoli regenerace nebo nové modifikace povrchu. Získané koncentrační závislosti jsou uvedeny na Obrázku 4.28 a odpovídající statistické parametry shrnuje Tabulka 12. Je zřejmé, že měření provedená na AuED1-SP/BDDE v jeden den poskytly velmi dobře opakovatelné výsledky a nedocházelo k poklesu odezvy elektrody ani hodnoty směrnice odpovídající rovnice přímky. V případě AuED2-SP/BDDE se směrnice zaznamenaných závislostí postupně snižovala, docházelo tedy k poklesu citlivosti měření a povrch pravděpodobně byl méně stabilní. Druhý den poskytly oba senzory výsledky s výrazně nižší proudovou odezvou a nižší hodnotou směrnice pro stejnou koncentrační závislost. Z toho vyplývá, že tyto senzory je vhodné nově modifikovat zlatými nanočásticemi vždy před začátkem experimentu. V případě AuED1-SP/BDDE pak bylo možné používat tento senzor během jednoho dne opakovaně s dobrou opakovatelností dosažených výsledků, čehož bylo využito v dalších experimentech. Podobné studie byly realizovány i pro nAu-SP/BDDE

a rovněž byl pozorován pokles odezvy v závislosti na čase a množství odvedených měření. Možnost obnovy povrchu je však na rozdíl od AuED-SP/BDDE značně omezená.



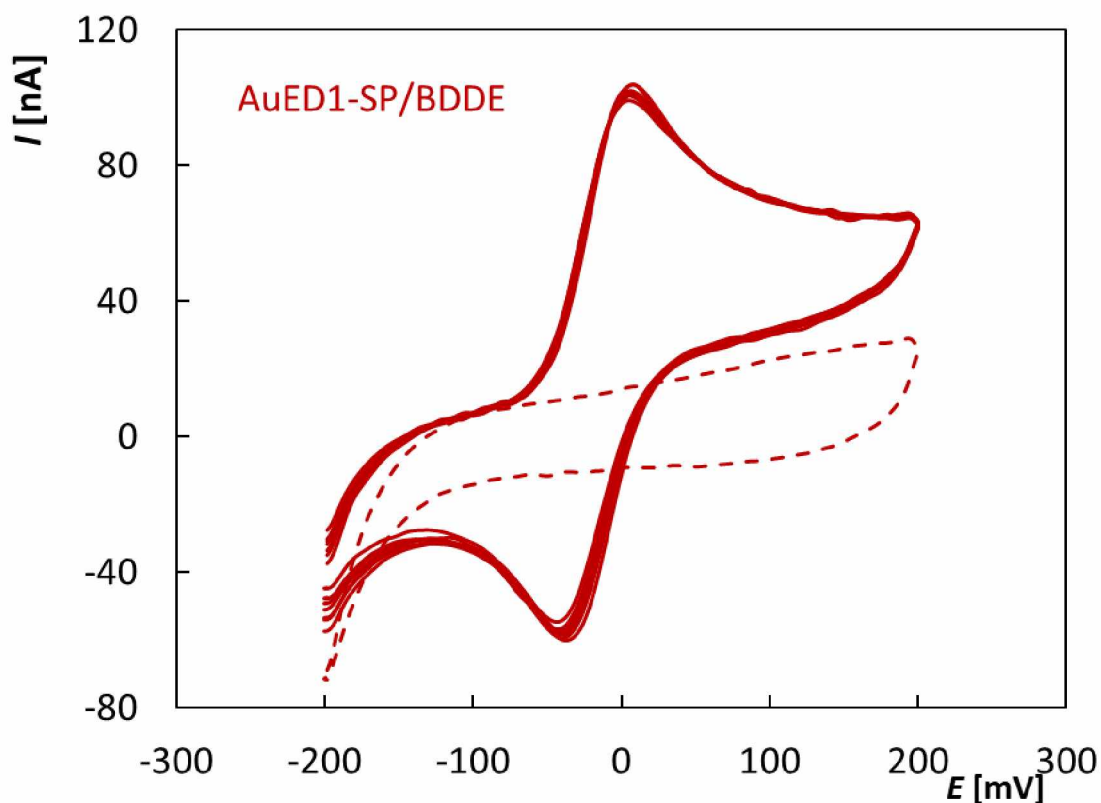
Obrázek 4.28 Opakované koncentrační závislosti DA zaznamenané na AuED1-SP/BDDE (A) a AuED2-SP/BDDE (B); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.

Tabulka 12 Statistické parametry závislosti výšky píku na koncentraci DA získané při opakovaném měření na AuED1-SP/BDDE a AuED2-SP/BDDE; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{--}15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.

	Směrnice [nA L μmol^{-1}]	Úsek [nA]	r
AuED1-SP/BDDE			
1. měření	55,58±0,55	15,8±5,0	0,9993
2. měření	52,54±0,57	18,8±5,1	0,9992
3. měření	54,60±0,33	4,7±3,0	0,9997
4. měření	36,03±0,30	9,1±2,7	0,9995
AuED2-SP/BDDE			
1. měření	60,70±0,57	18,4±5,1	0,9994
2. měření	51,27±0,81	25,5±7,3	0,9983
3. měření	46,45±0,63	26,4±5,7	0,9987
4. měření	29,39±0,24	7,9±2,2	0,9995

4.3.3. Měření při nízkých rychlostech polarizace

Na základě provedené literární rešerše bylo zjištěno, že při měření s elektrodami se strukturovaným povrchem může hrát velkou roli použitá rychlost polarizace. Při malých rychlostech polarizace mohou být využita všechna elektroaktivní centra včetně těch uvnitř strukturovaného materiálu, která se při vyšších rychlostech do probíhajících redoxních reakcí nezapojí [123]. Proto byl v následujících experimentech testován vliv nízkých rychlostí polarizace na tvar a výšku voltametrických signálů DA. Použita byla vzhledem k lepším doposud získaným výsledkům AuED1-SP/BDDE. Nejprve bylo změřeno 10 cyklických voltamogramů DA v prostředí BRB o pH 5,5 při rychlosti polarizace 5 mV s^{-1} . Na Obrázku 4.29 je vidět, že díky pomalejší rychlosti polarizace mají CV voltamogramy lepší tvar, píky jsou lépe vyvinuté v porovnání s Obr. 4.11. O lepší reversibilitě systému svědčí hodnota poměru $I_{\text{pa}}/I_{\text{pc}}$ (1,1), která se blíží teoretické hodnotě 1 a v porovnání s hodnotami v Tabulce 6 pro vyšší rychlosti je výrazně menší. Rozdíl potenciálů ΔE_p (38,13 mV) je při aplikaci nižší rychlosti polarizace opět výrazně menší v porovnání s hodnotou z Tabulky 6 a svědčí o vlivu kinetiky na sledovanou reakci.



Obrázek 4.29 Opakované cyklické voltamogramy DA zaznamenané na AuED1-SP/BDDE; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$.

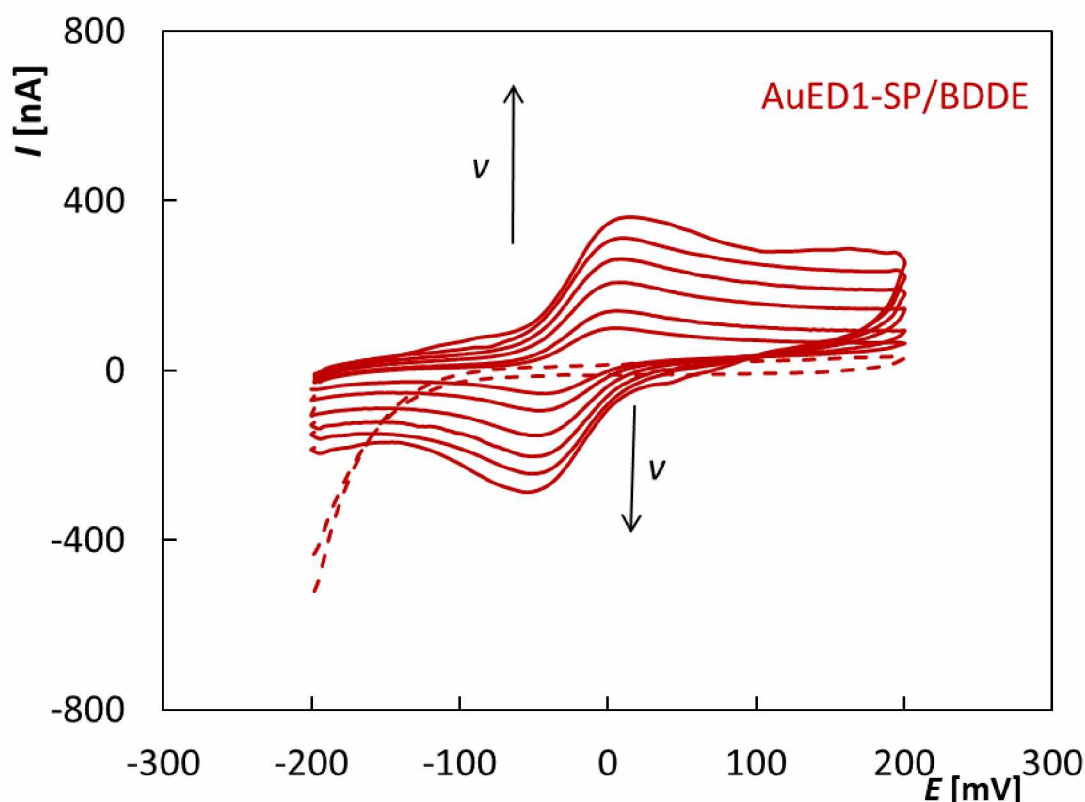
Dále byly zaznamenány cyklické voltamogramy DA v závislosti na rychlosti polarizace. Křivky jsou uvedeny na Obrázku 4.30. Rozsah rychlostí polarizace byl $5\text{-}50 \text{ mV s}^{-1}$. Je vidět, že výška anodického i katodického píku rostla s rostoucí rychlostí polarizace, ale tento nárůst nebyl zcela lineární, i když se lineárnímu průběhu blížil (Obrázek 4.31A). Současně byly vyneseny také závislosti výšek píků na odmocnině z rychlosti polarizace (Obrázek 4.31B) a odpovídající logaritmické závislosti, které lineární jsou (rovnice (15, 16) pro závislosti I_{pa} a I_{pk} na $v^{1/2}$ a (17, 18) pro logaritmické závislosti $\log(I_{\text{pa,k}})$ na $\log(v)$). Difuzně řízenou elektrodovou reakci potvrzují hodnoty směrnic uvedených logaritmických závislostí, které se blíží teoretické hodnotě 0,5.

$$I_{\text{p}}[\text{nA}] = (28,14 \pm 1,29) (v[\text{mV s}^{-1}])^{1/2} + (13,72 \pm 6,55), r = 0,9948 \quad (15)$$

$$I_{\text{p}}[\text{nA}] = -(28,91 \pm 1,30) (v[\text{mV s}^{-1}])^{1/2} + (3,02 \pm 6,61), r = 0,9949 \quad (16)$$

$$\log(I_{\text{p}}[\text{nA}]) = (0,45 \pm 0,017) \log(v[\text{mV s}^{-1}]) + (1,57 \pm 0,023), r = 0,9962 \quad (17)$$

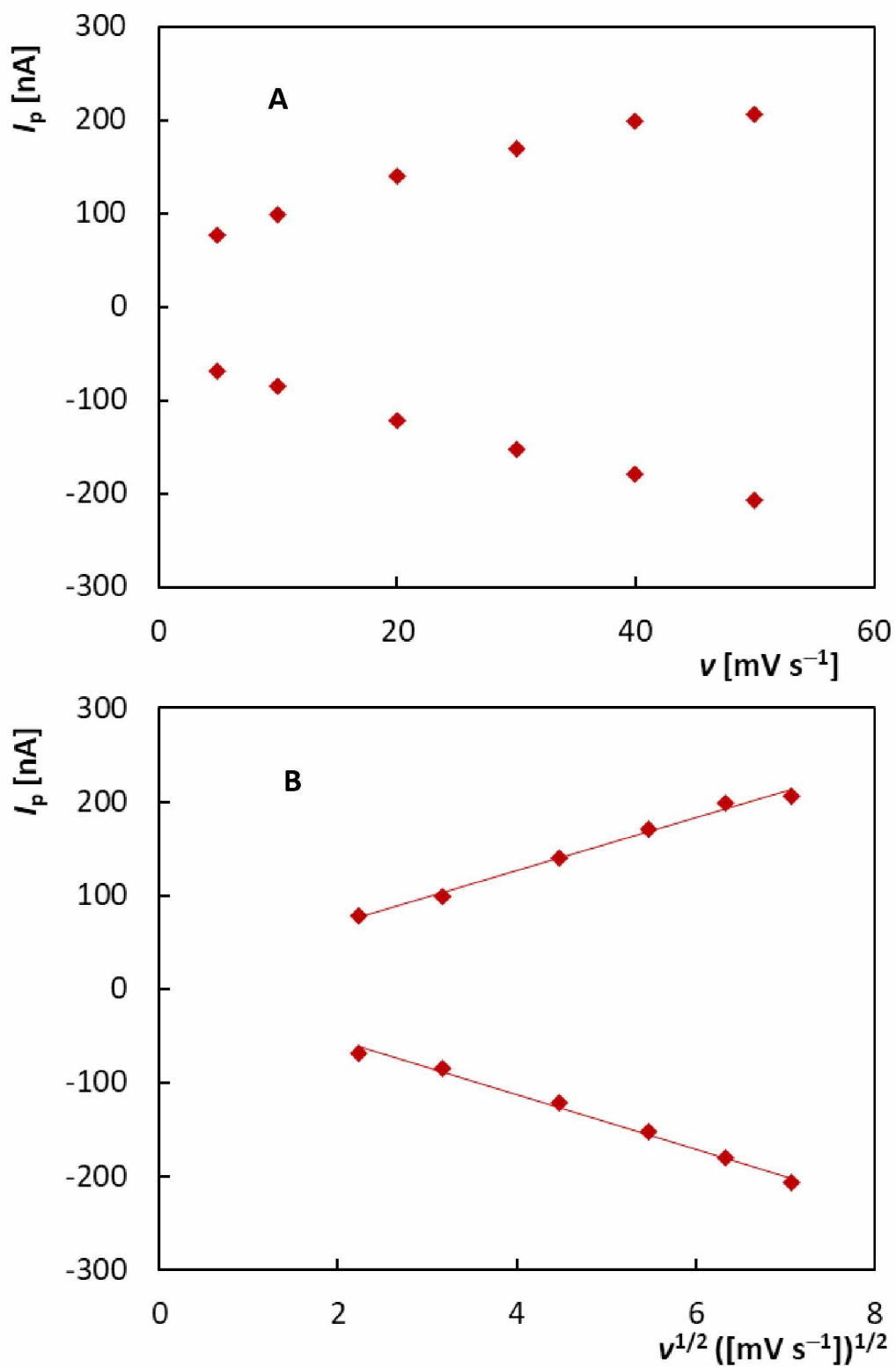
$$\log(I_{\text{p}}[\text{nA}]) = (0,49 \pm 0,028) \log(v[\text{mV s}^{-1}]) + (1,47 \pm 0,037), r = 0,9922 \quad (18)$$



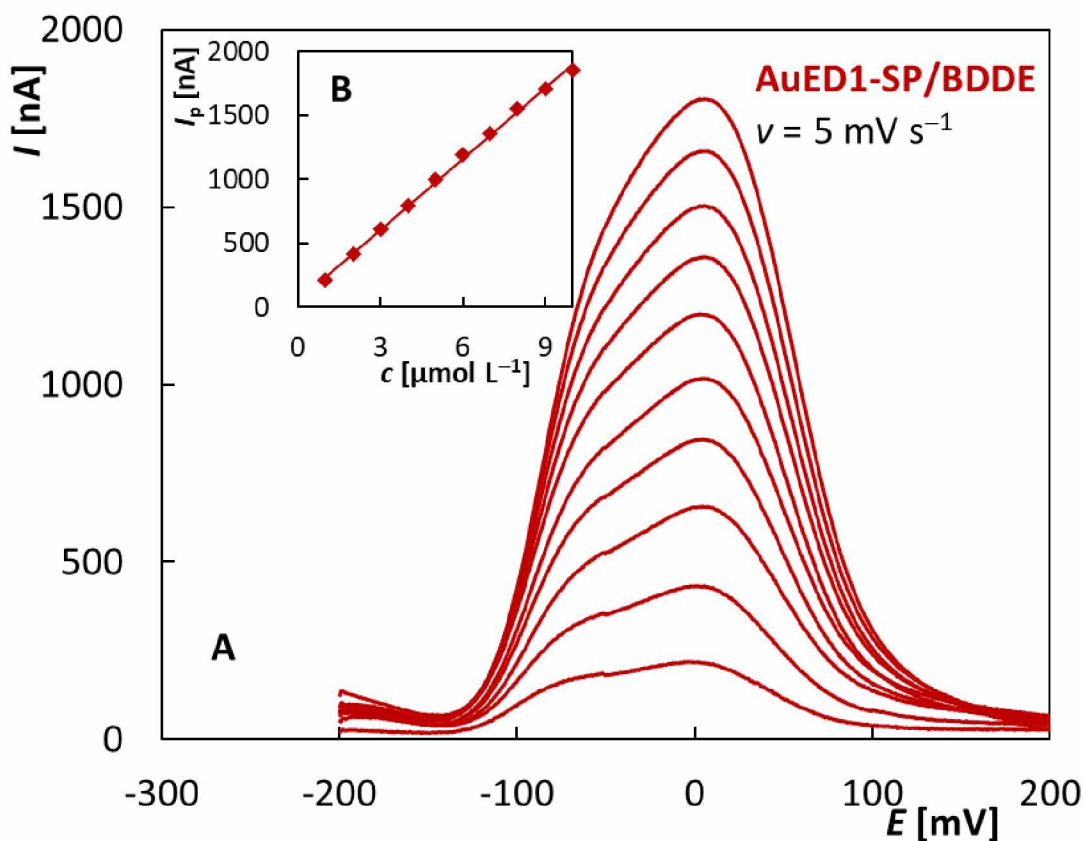
Obrázek 4.30 Cyklické voltamogramy DA zaznamenané na AuED1-SP/BDDE v závislosti na rychlosti polarizace; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 5\text{-}50 \text{ mV s}^{-1}$.

Posledním experimentem s využitím nízkých rychlostí polarizace bylo proměření koncentrační závislosti pro DA pomocí SWV s optimalizovanými parametry amplitudou a frekvencí, ale při rychlosti polarizace 5 mV s^{-1} . Získané SW voltametrické křivky pro koncentraci DA v rozsahu $1\text{-}10 \mu\text{mol L}^{-1}$ jsou uvedeny na Obrázku 4.32A a vynesená koncentrační závislost na Obrázku 4.32B. Je evidentní, že i v tomto případě byla získána lineární koncentrační závislost. V porovnání s výsledky dosaženými pro AuED1-SP/BDDE při vyšší rychlosti polarizace (50 mV s^{-1}) bylo po jejím snížení dosaženo mnohem vyšší citlivosti pro stanovení DA. Tuto skutečnost dokumentuje Obrázek 4.33, kde je k závislostem uvedeným pro všechny testované senzory na Obrázku 4.27 přidána koncentrační závislost získaná na AuED1-SP/BDDE při rychlosti polarizace 5 mV s^{-1} , která může být popsána rovnicí (19) s příslušným korelačním koeficientem. Hodnota směrnice této závislosti ($190,42 \pm 1,97$) je $3,5\times$ vyšší než v případě vyšších rychlostí pro stejný senzor a co je důležité, je vyšší také než směrnice získaná pro 15Au-SP/BDDE (Tabulka 11).

$$I_p[\text{nA}] = (190,42 \pm 1,97) c[\mu\text{mol L}^{-1}] + (35,47 \pm 11,03), r = 0,9996 \quad (19)$$

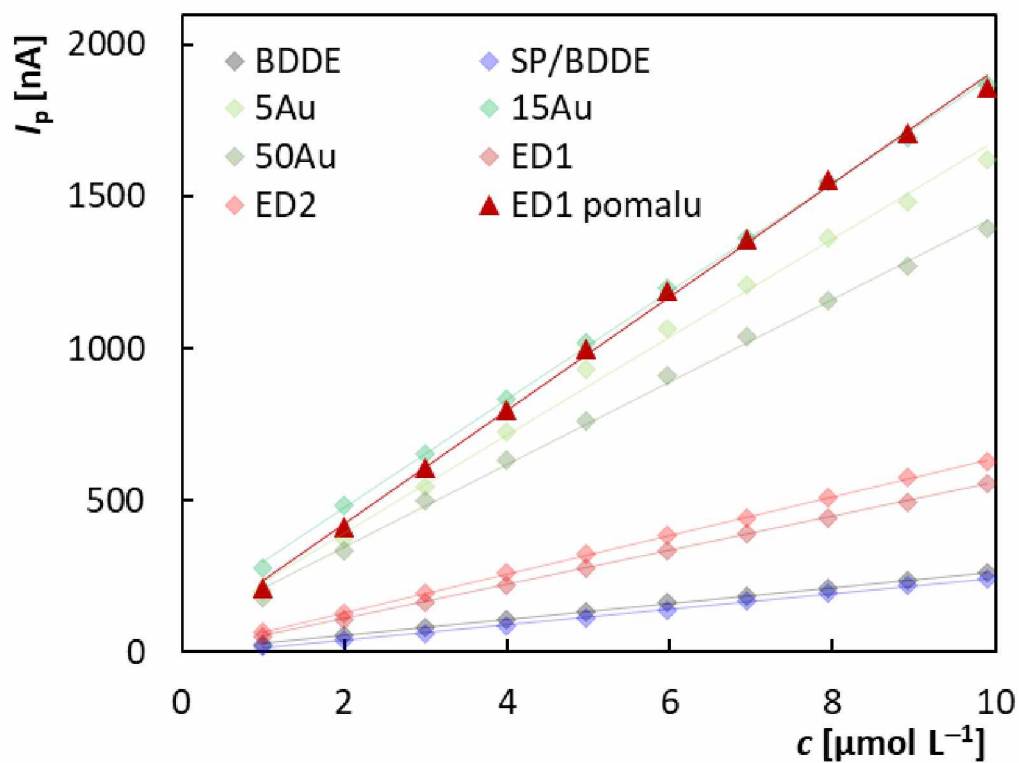


Obrázek 4.31 Závislosti výšky píků dopaminu na rychlosti polarizace (A) a odmocnině z rychlosti polarizace (B) získané na AuED1-SP/BDDE při nižších rychlostech polarizace; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 5\text{-}50 \text{ mV s}^{-1}$.

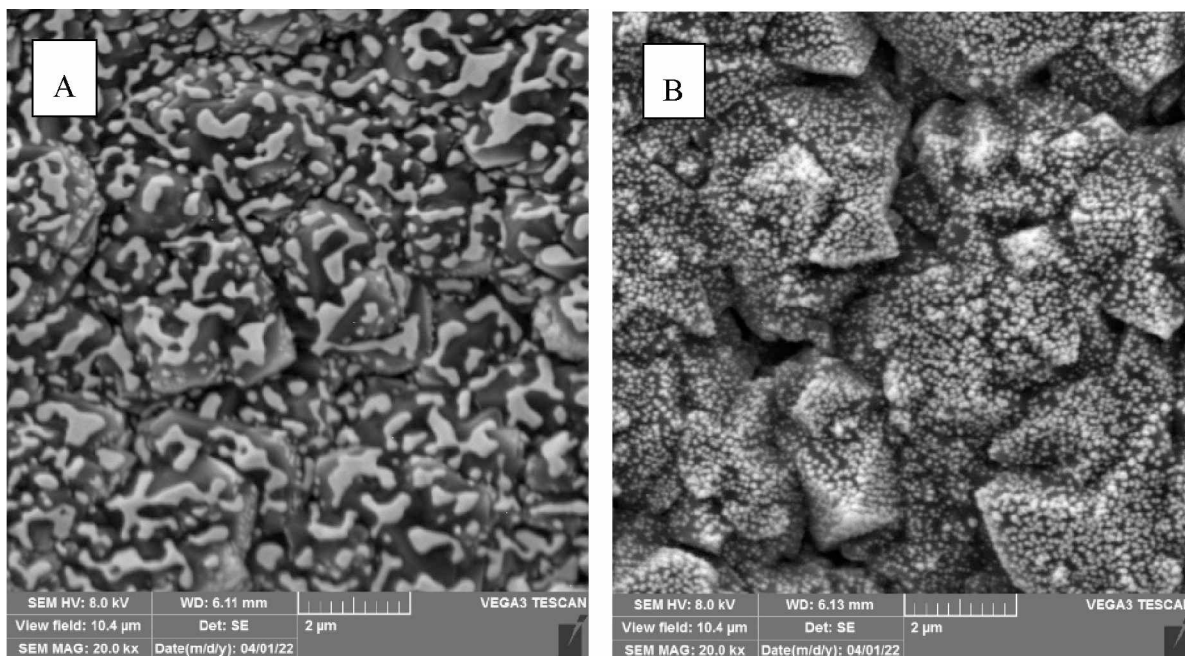


Obrázek 4.32 SW voltamogramy DA zaznamenané na AuED1-SP/BDDE v závislosti na koncentraci (po odečtu základního elektrolytu) (A) a odpovídající závislost výšky píku na koncentraci (B); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{-}10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$.

Je zřejmé, že díky snížení rychlosti polarizace v případě tištěných senzorů s elektrochemicky modifikovaným povrchem jsou získané výsledky srovnatelné nebo lepší, než pro 15Au-SP/BDDE senzor. V neposlední řadě je třeba zmínit, že u senzorů modifikovaných fyzikální depozicí se efekt nižší rychlosti polarizace neprojevil a ke zlepšení citlivosti nedošlo. Možným vysvětlením je to, že velikost nanočástic zlata po elektrochemické depozici je menší než po fyzikální depozici a povrch elektrody je tak více strukturovaný, elektroaktivní centra jsou hůře dostupná, jak je vidět na Obrázku 4.34, a vliv rychlosti polarizace je tak u těchto elektrod významnější. Vzhledem k těmto výsledkům se tak tištěné senzory s elektrochemicky deponovanými nanočásticemi Au zdají být pro další využití perspektivnější než senzory s fyzikálně deponovanými AuNPs, protože citlivost je po optimalizaci podmínek srovnatelná a výhodou je možnost každodenní regenerace povrchu, resp. opakované depozice nanočástic.



Obrázek 4.33 Koncentrační závislosti DA získané pro všechny testované senzory (Obr. 4.27) s přidanou závislostí získanou na AuED1-SP/BDDE při nízké rychlosti polarizace; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 1\text{--}10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ a 5 mV s^{-1} (AuED1-SP/BDDE).

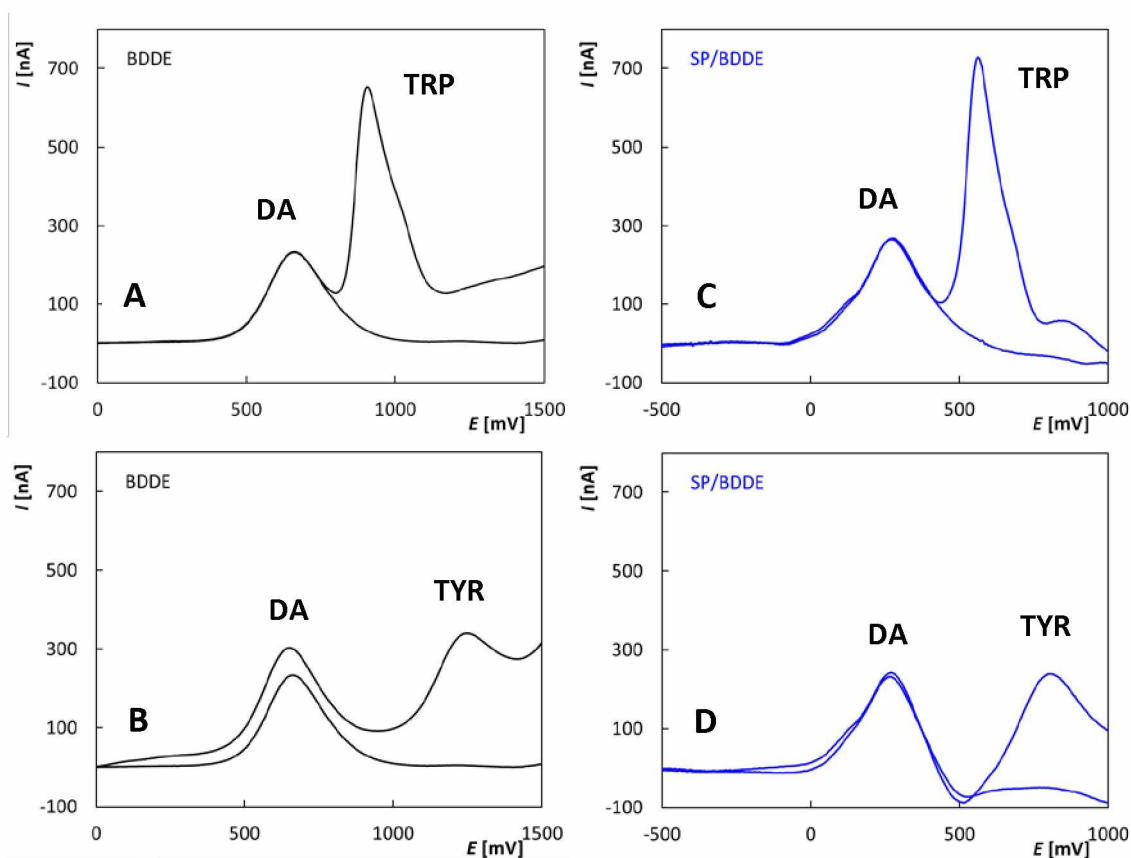


Obrázek 4.34 SEM záznamy povrchu 50Au-SP/BDDE a AuED-SP/BDDE.

4.4. Simultánní stanovení dopaminu a vybraných bioaktivních látek

Poslední kapitola byla zaměřena na možnosti stanovení dopaminu vedle dalších biologicky aktivních látek, které se mohou v praxi vyskytovat ve stejných vzorcích. Měření probíhalo s využitím SWV s optimalizovanými podmínkami v prostředí BRB o pH 5,5. Jako potenciální interferenty byly studovány tyrosin (TYR), tryptofan (TRP) a paracetamol (PA).

Na Obrázku 4.35 jsou uvedeny SW voltametrické křivky DA zaznamenané na BDDE a SP/BDDE před a po přidavku TRP (Obrázek 4.35A,C) a TYR (Obrázek 4.35B, D). Koncentrace všech látek v roztoku byla $10 \mu\text{mol L}^{-1}$. Pro TRP a TYR byly zaznamenány píky při potenciálech o 300-500 mV pozitivněji, než byla proudová odezva DA, a byly dostatečně oddělené pro případné stanovení. Zatímco TRP poskytoval při stejné koncentraci přibližně trojnásobnou proudovou odezvu než DA, výška píků TYR a DA byla srovnatelná. S využitím senzorů modifikovaných zlatými nanočásticemi nebylo možné zaznamenat píky TRP a TYR, protože jejich oxidace probíhá mimo využitelné potenciálové okno ($E_p > 400 \text{ mV}$). Na druhou stranu tak ale ani jejich přítomnost neruší stanovení DA na těchto senzorech.



Obrázek 4.35 SW voltamogramy DA zaznamenané na BDDE po přidavku TRP (A) a TYR (B) a na SP/BDDE rovněž po přidavku TRP (C) a TYR (D) (křivky po odečtu základního elektrolytu); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $c(\text{interferent}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Jako příklad možnosti stanovení uvedených látek vedle sebe byl zvolen TRP. Byly změřeny koncentrační závislosti DA v přítomnosti TRP a naopak s využitím DBBE i SP/BDDE. Použitý koncentrační rozsah byl v rozmezí 1-10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a koncentrace druhé látky byla konstantní (5 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Na Obrázku 4.36 jsou uvedeny koncentrační závislosti pro DA a TRP získané na BDDE. Z vložených závislostí je vidět, že I_p roste pro obě látky lineárně. Závislosti pro TRP a DA lze popsat rovnicemi (20) a (21). Stejně experimenty s TRP byly provedeny i na SP/BDDE (Obrázek 4.37). I v tomto případě byly píky DA a TRP dobře oddělitelné a rostly v závislosti na koncentraci lineárně (rovnice 22 (TPR) a 23 (DA)).

$$I_p[\text{nA}] = (51,14 \pm 0,15) c[\mu\text{mol L}^{-1}] - (3,66 \pm 0,92), r = 0,9999 \quad (20)$$

$$I_p[\text{nA}] = (22,19 \pm 0,12) c[\mu\text{mol L}^{-1}] + (0,47 \pm 0,74), r = 0,9999 \quad (21)$$

$$I_p[\text{nA}] = (64,10 \pm 0,18) c[\mu\text{mol L}^{-1}] + (3,94 \pm 1,10), r = 0,9999 \quad (22)$$

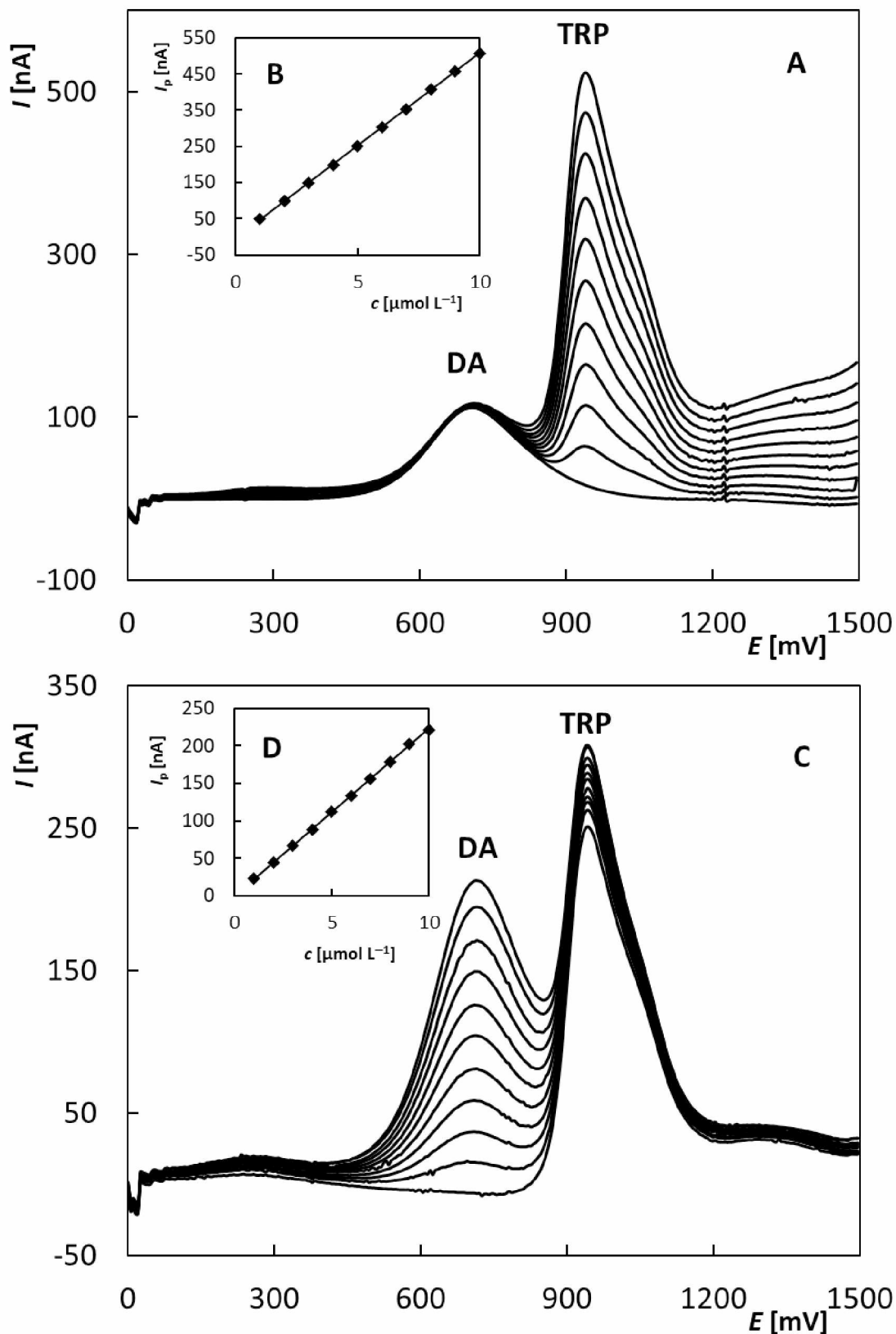
$$I_p[\text{nA}] = (26,53 \pm 0,15) c[\mu\text{mol L}^{-1}] + (0,78 \pm 0,91), r = 0,9999 \quad (23)$$

Jako příklad aplikace, kde je výhodné použít senzory modifikované zlatými nanočásticemi lze uvést stanovení DA vedle paracetamolu (PA), pro které byly použity AuED1-SP/BDDE a AuED2-SP/BDDE. Na Obrázku 4.38A jsou uvedeny křivky pro DA v přítomnosti PA zaznamenané na AuED2-SP/BDDE (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Je vidět, že píky DA a PA jsou dobře oddělené. Rozdíl potenciálů píků obou látek se pohybuje kolem 400 mV, což je dostatečné pro jejich stanovení ve směsi. Pro srovnání je uveden rovněž Obrázek 4.38B, kde byly změřené totožné SW voltamogramy pro DA a PA na nemodifikované BDDE. Z obrázku je vidět, že na nemodifikovaných elektrodách tyto dvě látky nelze rozlišit, po přidavku PA do roztoku obsahujícího DA došlo k nárůstu původního píku odpovídajícího oxidaci DA.

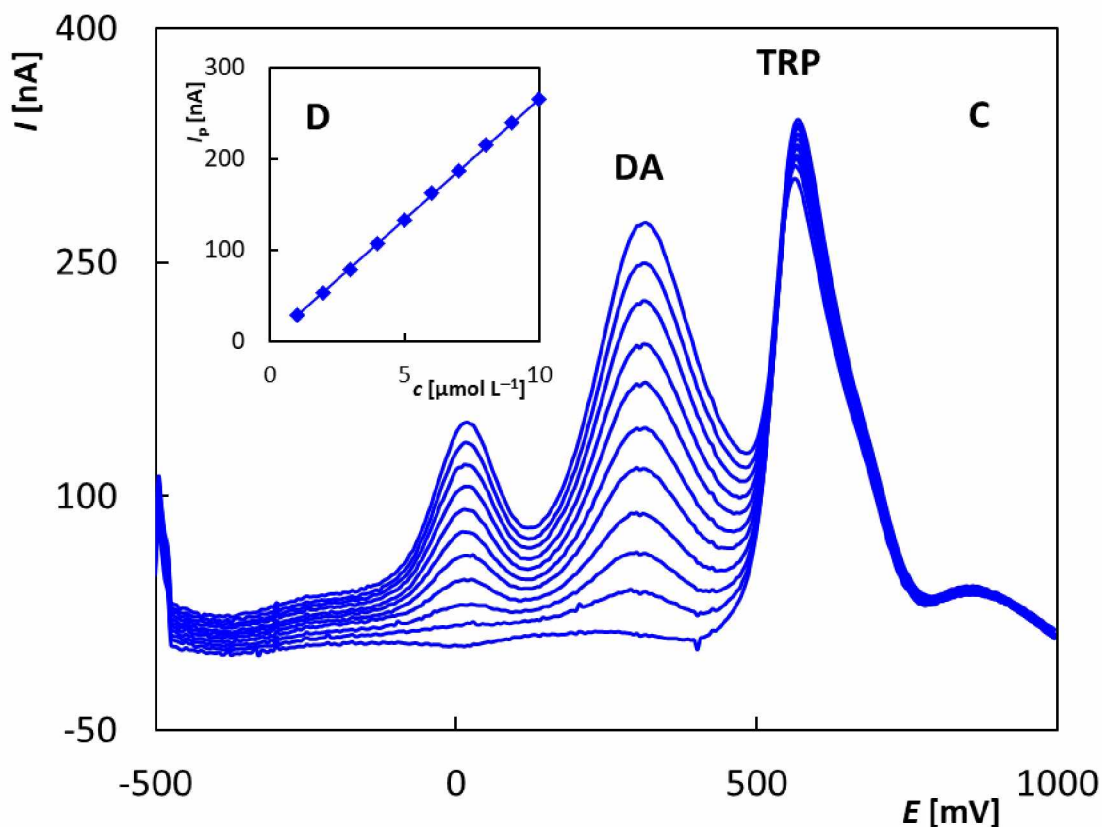
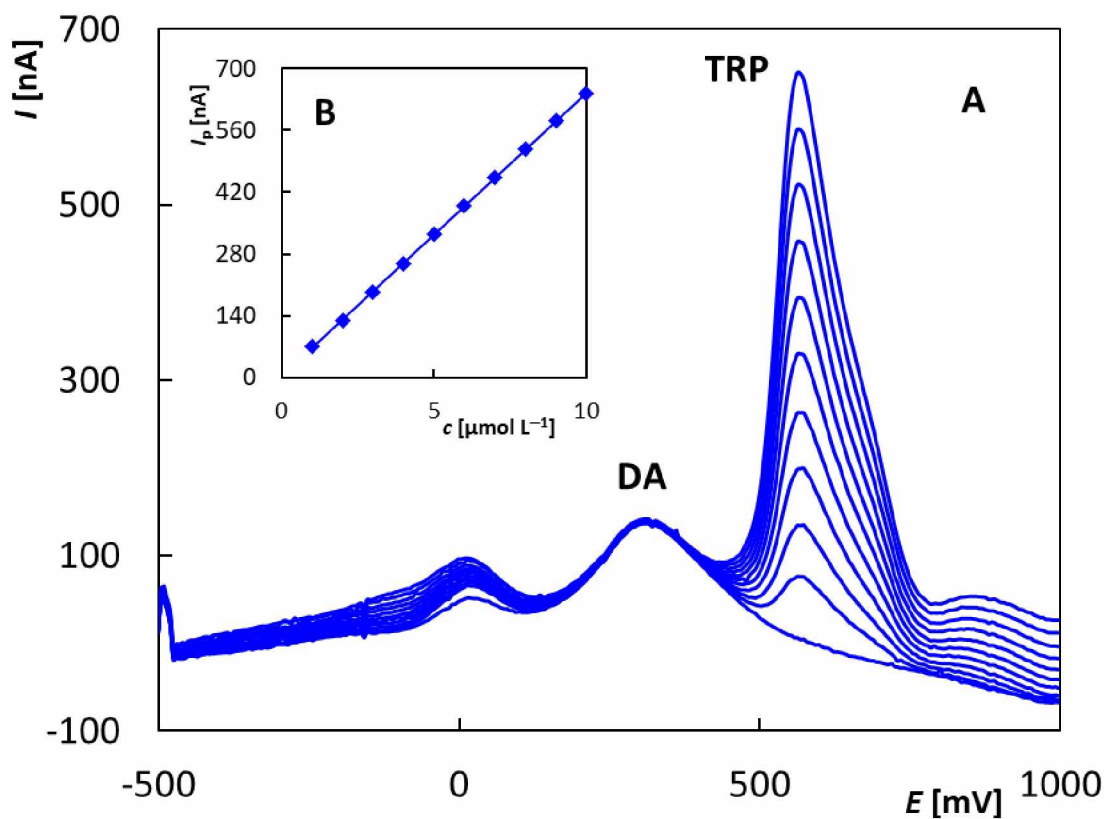
I v tomto případě byly změřeny koncentrační závislosti DA v přítomnosti PA a obráceně a zaznamenané SW voltamogramy jsou uvedeny na Obrázku 4.39. V tomto případě byl použit AuED1-SP/BDDE s ohledem na lepší elektrochemické vlastnosti a stabilitu povrchu. V prostředí BRB o pH 5,5 byly změřeny koncentrační závislosti v rozsahu 1-10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ pro obě látky. Koncentrace druhé látky byla konstantní (5 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Z obrázku je vidět, že ačkoliv PA poskytuje za daných podmínek výrazně menší proudovou odezvu oproti DA, lze tyto látky pomocí senzoru modifikovaného AuNPs stanovit vedle sebe. Obě koncentrační závislosti jsou lineární, a lze je popsat rovnicemi (24) pro PA a (25) pro DA.

$$I_p[\text{nA}] = (20,11 \pm 0,66) c[\mu\text{mol L}^{-1}] + (13,02 \pm 4,08), r = 0,9952 \quad (24)$$

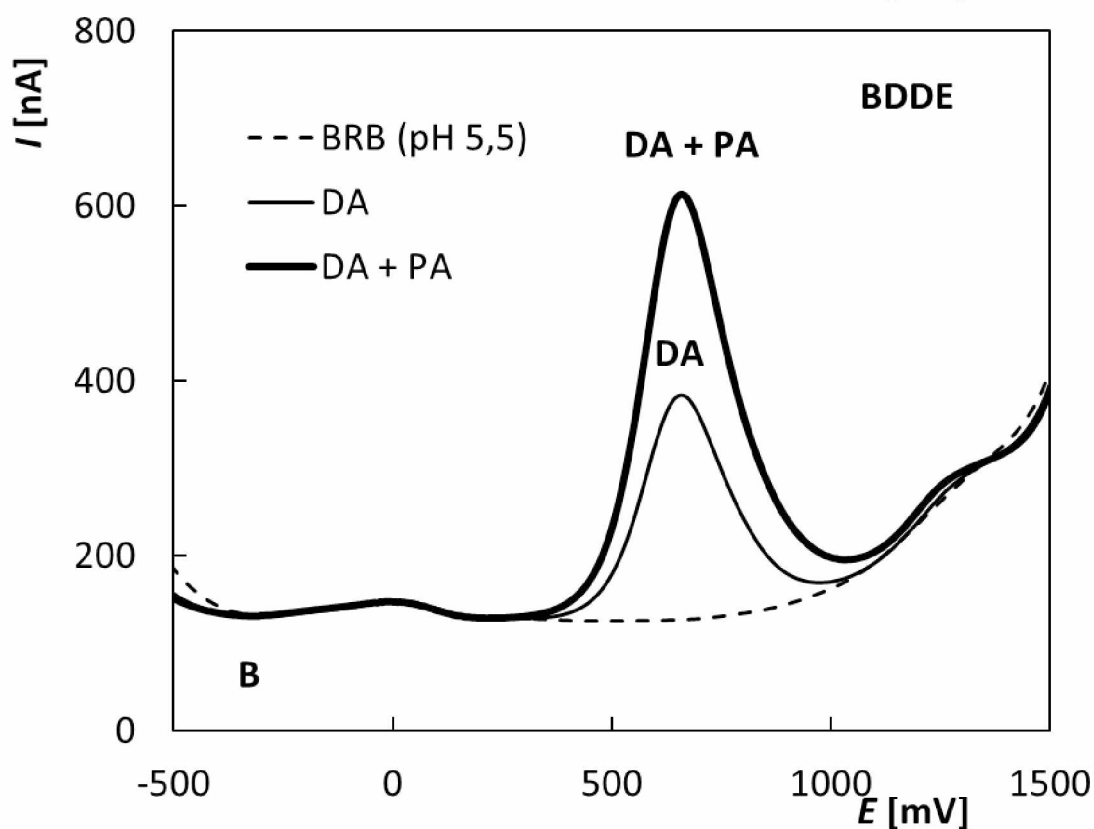
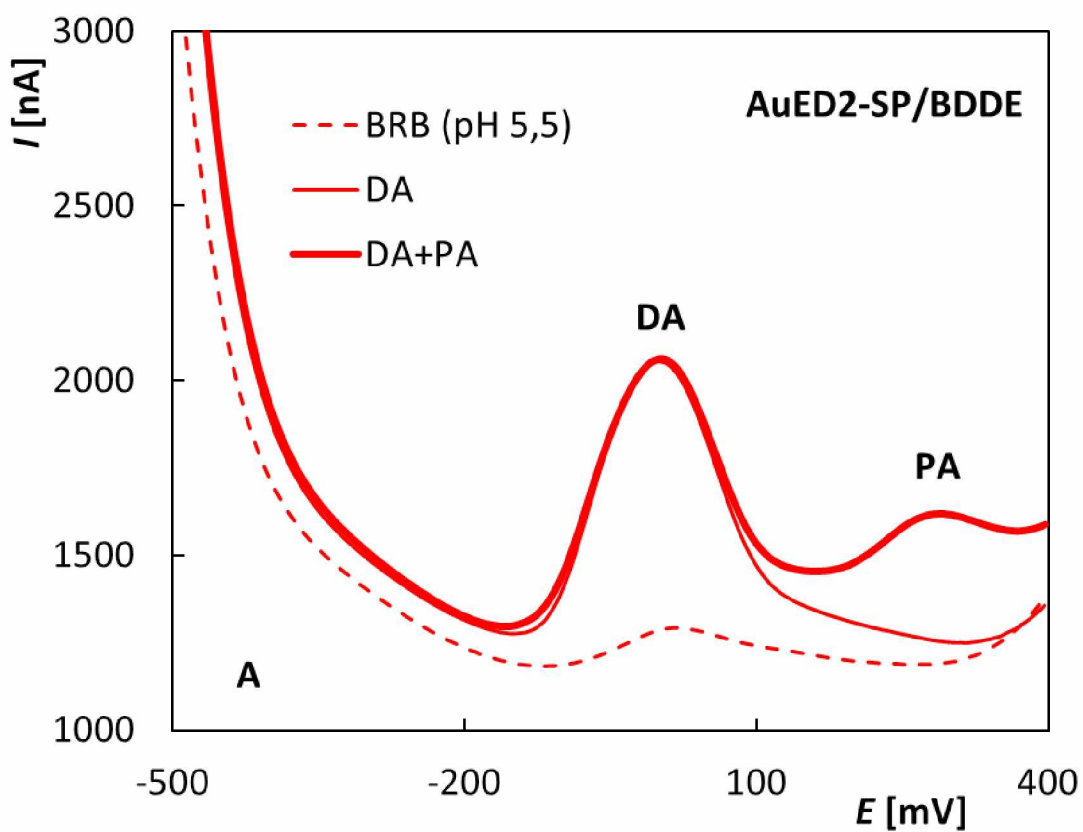
$$I_p[\text{nA}] = (131,40 \pm 0,47) c[\mu\text{mol L}^{-1}] - (11,1 \pm 2,9), r = 0,9999 \quad (25)$$



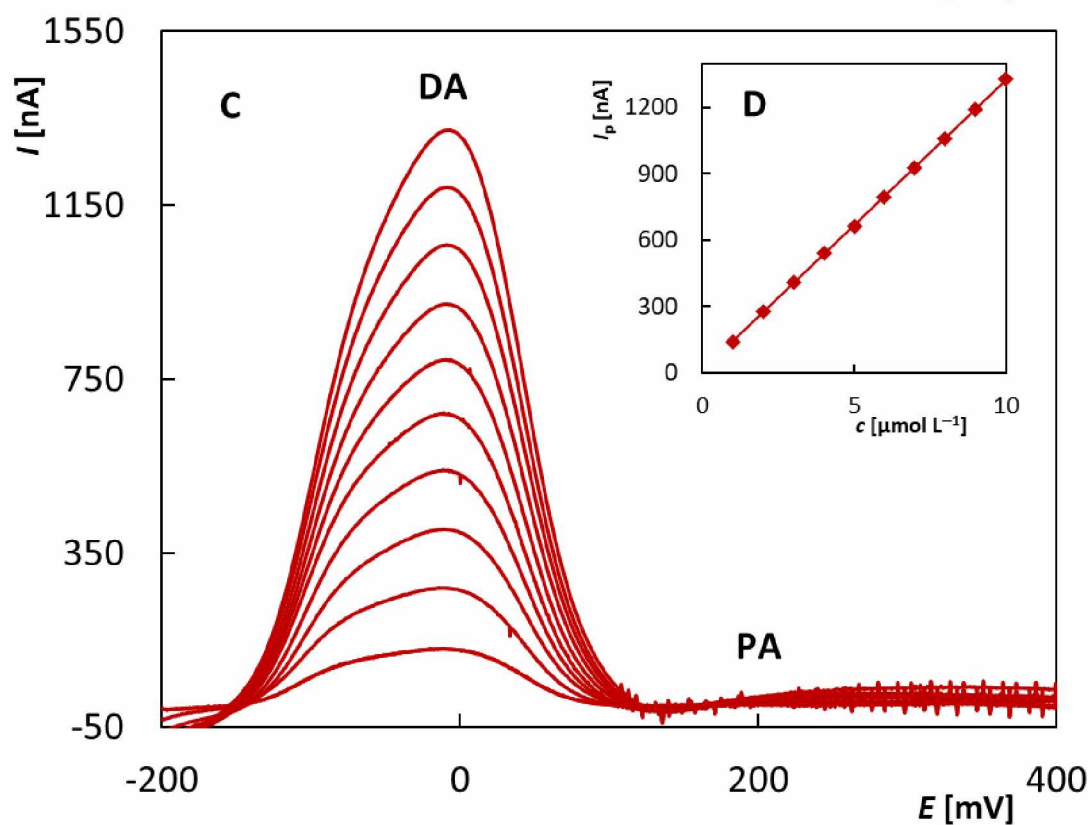
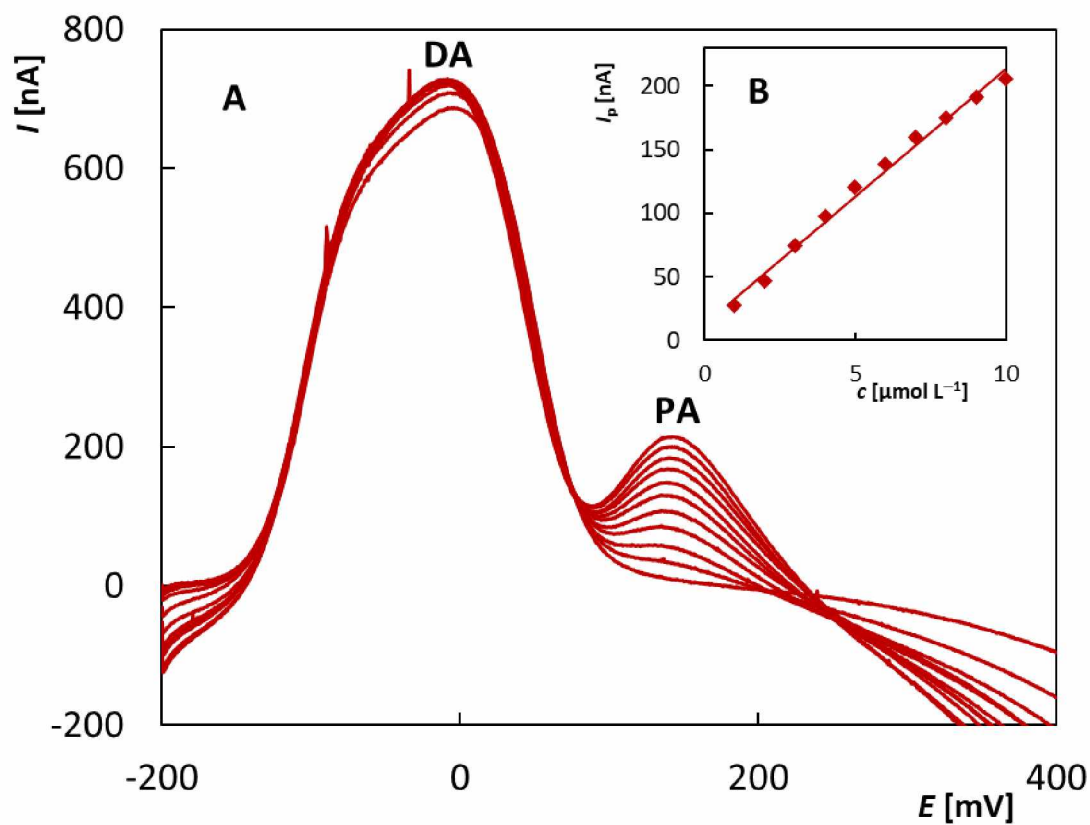
Obrázek 4.36 SW voltamogramy koncentrační závislosti TRP v přítomnosti DA (A) a odpovídající závislost I_p na $c(\text{TRP})$ (B), SW voltamogramy koncentrační závislosti DA v přítomnosti TRP (C) a odpovídající závislost I_p na $c(\text{DA})$ (D) zaznamenané na BDDE (křivky po odečtu základního elektrolytu); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A, B) a $1-10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (C, D), $c(\text{TRP}) = 1-10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A, B) a $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (C, D), $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Obrázek 4.37 SW voltamogramy koncentrační závislosti TRP v přítomnosti DA (A) a odpovídající závislost I_p na $c(\text{TRP})$ (B), SW voltamogramy koncentrační závislosti DA v přítomnosti TRP (C) a odpovídající závislost I_p na $c(\text{DA})$ (D) zaznamenané na SP/BDDE (křivky po odečtu základního elektrolytu); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A, B) a $1\text{--}10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (C, D), $c(\text{TRP}) = 1\text{--}10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A, B) a $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (C, D), $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Obrázek 4.38 SW voltamogramy DA zaznamenané na AuED2-SP/BDDE (A) a BDDE (B) po přidavku PA; elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $c(\text{PA}) = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Obrázek 4.39 SW voltamogramy koncentrační závislosti PA v přítomnosti DA (A) a odpovídající závislost I_p na $c(\text{PA})$ (B), SW voltamogramy koncentrační závislosti DA v přítomnosti PA (C) a odpovídající závislost I_p na $c(\text{DA})$ (D) zaznamenané na AuED1-SP/BDDE (křivky po odečtu základního elektrolytu); elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c(\text{DA}) = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A, B) a 1-10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (C, D), $c(\text{PA}) = 1-10 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A, B) a 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (C, D), $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$.

5. Závěr

Cílem této diplomové práce bylo studium elektrochemických vlastností tištěných senzorů s elektrochemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi a jejich aplikace při stanovení dopaminu.

Nejprve byly porovnány elektrochemické vlastnosti nemodifikovaných senzorů, konkrétně BDDE v klasickém tříelektrodovém uspořádání elektrochemického článku a nového SP/BDDE senzoru. Při práci s SP/BDDE byl zaznamenán významný posun potenciálů píků, resp. celého využitelného potenciálového rozsahu, k méně pozitivním potenciálům oproti BDDE. Bylo potvrzeno, že tento efekt je způsoben použitou quazi-referentní elektrodou a týká se všech použitých tištěných senzorů. Testování nemodifikovaných elektrod probíhalo pomocí cyklické voltametrie reversibilního redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a SP/BDDE poskytoval ve všech zkoumaných parametrech lepší výsledky, než BDDE.

Následovalo studium elektrochemických vlastností senzorů modifikovaných zlatými nanočásticemi. Byly testovány tři SPEs s povrchem BDDE modifikovaným AuNPs fyzikální depozicí, které se lišily velikostí nanočástic (5Au-SP/BDDE, 15Au-SP/BDDE, 50Au-SP/BDDE), jeden senzor s porézními AuNPs (pAu-SP/BDDE) a dva senzory po modifikaci elektrochemickou depozicí, které se lišily časem depozice (AuED1-SP/BDDE a AuED2-SP/BDDE). K testování byly jako redoxní markery zvoleny $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ a dopamin. Na základě změřených cyklických voltamogramů bylo zjištěno, že modifikace povrchu BDDE zlepšuje elektrochemické vlastnosti elektrod, zejména pak reversibilitu sledovaných reakcí. V případě pAu-SP/BDDE nebyly naměřeny významné signály dopaminu, který byl v další části práce využit jako modelový analyt. Proto byl tento senzor z dalších testů vyřazen.

V další části práce byla vyvinuta metoda stanovení dopaminu s využitím BDDE a byly optimalizovány podmínky SWV. Navržená metoda byla poté aplikována při analýze dopaminu s využitím všech testovaných senzorů, byly proměřené koncentrační závislosti ve stejném rozsahu a vypočteny základní statistické parametry. Opět se ukázalo, že modifikované senzory poskytují lepší výsledky, kdy zejména citlivost byla např. pro 15Au-SP/BDDE téměř 7× vyšší než pro nemodifikované elektrody. Ukázalo se také, že v případě strukturovaného povrchu je třeba vzít v úvahu významný vliv rychlosti polarizace. Ten se projevil u senzorů s elektrochemicky modifikovanou BDDE, která má na povrchu mnohem menší nanočástice Au s hustějším pokrytím. Při aplikaci nízkých rychlostí polarizace došlo k několikanásobnému zvýšení citlivosti těchto senzorů oproti původním výsledkům při vyšších rychlostech

a dosažené výsledky byly srovnatelné s těmi pro 15Au-SP/BDDE, která vykazovala nejlepší statistické parametry ze sady senzorů s fyzikálně deponovanými částicemi Au. Výhodou AuED-SP/BDDE je možnost každodenní regenerace povrchu, resp. opakované depozice nanočástic, což v případě fyzikální depozice není možné.

Významným přínosem modifikace povrchu elektrody může být také zvýšení selektivity stanovení. V rámci této práce se ukázalo, že s využitím nemodifikovaných BDDE a SP/BDDE lze stanovit dopamin vedle tyrosinu a tryptofanu, naopak zlatými nanočásticemi modifikované AuED-SP/BDDE senzory umožnili simultánní stanovení dopaminu a paracetamolu, které na čistém diamantovém povrchu není možné, protože signály obou látek nelze rozlišit.

Na závěr lze tedy říci, že cíle této diplomové práce byly splněny. Bylo zjištěno, že modifikace povrchu BDDE zlatými nanočásticemi vede ke zlepšení některých elektrochemických vlastností senzorů (např. citlivost, selektivita), což může být využito při konkrétních elektroanalytických aplikacích.

Seznam literatury

- [1] Opekar F.: *Základní analytická chemie pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 9788024617756.
- [2] Švancara I.: *Elektroanalýza: vybrané kapitoly*. Univerzita Pardubice, 2019. ISBN 978-80-7560-247-3.
- [3] Bard A. J., Faulkner L. R.: *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. 2nd ed. Hoboken: John Wiley, c2001. ISBN 978-0-471-04372-0.
- [4] Heyrovský J., Kůta J.: *Principles of Polarography*. Academic Press, 1965. ISBN 978-0-12-346650-1.
- [5] Heyrovský J., Zuman P.: *Practical polarography: An Introduction for Chemistry Students*. London: Academic Press, 1968. ISBN 978-1-4832-2746-7.
- [6] Berek J., Opekar F., Stulík K.: *Elektroanalytická chemie*. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1146-5.
- [7] Justice J. B. Jr.: *Voltammetry in the Neurosciences: Principles, Methods, and Applications*. 1. ed. New York: Humana Press, 1987. ISBN 978-1-59259-463-4.
- [8] Itterheimová, P.: Bioanalytické aplikace elektrochemických metod. Brno, 2019 Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, ústav chemie.
- [9] Bard A. J., Faulkner L. R.: *Polarography and Pulse Voltammetry. Electrochemical methods: fundamentals and applications*. 2nd ed. Hoboken: Wiley, c2001, 261-304. ISBN 978-0-471-04372-0.
- [10] Go W. S., O'Dea J. J., Osteryoung J.: Square wave voltammetry for the determination of kinetic parameters. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 1988, 255(1-2), 21-44.
- [11] Krause M. S., Ramaley L.: Analytical application of square wave voltammetry. *Analytical Chemistry*, 1969, 41(11), 1365-1369.
- [12] Ozkan S. A.: *Electroanalytical methods in pharmaceutical analysis and their validation*. New York: HNB Publishing, c2012. ISBN 978-0-9664286-7-4.
- [13] Kenšová R., Hynek D., Adam V., Kizek R.: Působení rtuti na živé organismy. *Laboratory reports*, 2014, 1(3), 38-41.
- [14] Harvey D.: *Modern analytical chemistry*. New York: McGraw-Hill, 2000, 1. ISBN 0-07-23754-7.

- [15] Stanić Z., Dimić T., Simić Z.: Noble Metal Oxides Electrodes and Analytical Application Thereof for Acid-Base Titrations in Non-Aqueous Solvents. *Journal of The Electrochemical Society*, 2012, 159(5), J168-J175.
- [16] Yan Y., Wang T., Li X., Pang H., Xue H.: Noble metal-based materials in high-performance supercapacitors. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 2017, 4(1), 33-51.
- [17] Uslu B, Ozkan S. A.: Solid Electrodes in Electroanalytical Chemistry: Present Applications and Prospects for High Throughput Screening of Drug Compounds. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2007, 10(7), 495/513.
- [18] Yosypchuk B., Fojta M., Barek J.: Preparation and Properties of Mercury Film Electrodes on Solid Amalgam Surface. *Electroanalysis*, 2010, 22(17-18), 1967-1973.
- [19] Zeng B., Zhao F.: Voltammetric behavior of L-cysteine in the presence of CPB at a silver electrode. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 2001, 369(5), 433-437.
- [20] Wang J., Lu J., Hocevar S. B., Farias P. A. M., Ogorevc B.: Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(14), 3218-3222.
- [21] Rana A., Baig N., Saleh T. A.: Electrochemically pretreated carbon electrodes and their electroanalytical applications – A review. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2019, 833, 313-332.
- [22] Crapnell R. D., Dempsey N. C., Sigley E., Tridente A., Banks C. E.: Electroanalytical point-of-care detection of gold standard and emerging cardiac biomarkers for stratification and monitoring in intensive care medicine - a review. *Microchimica Acta*, 2022, 189(142), 1-48.
- [23] Surucu, O; Ozturk, E; Kuralay, F.: Nucleic Acid Integrated Technologies for Electrochemical Point-of-Care Diagnostics: A Comprehensive Review. *Electroanalysis*, 2021, 34(2), 148-160.
- [24] Tanner E. E. L., Compton R. G.: How can Electrode Surface Modification Benefit Electroanalysis?. *Electroanalysis*. 2018, 30(7), 1336-1341.
- [25] Jiwanti P. K., Sultana S., Wicaksono W. P., Einaga Y.: Metal modified carbon-based electrode for CO₂ electrochemical reduction: A review. *Journal of electroanalytical chemistry*, 2021, 898, 1-17.
- [26] Barsan M. M., Ghica M. E., Brett C. M. A.: Electrochemical sensors and biosensors based on redox polymer/carbon nanotube modified electrodes: A review. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 881, 1-23.

- [27] Lanzalaco S.; Molina B. G.: Polymers and Plastics Modified Electrodes for Biosensors: A Review. *Molecules*, 2020, 25(10).
- [28] Ramesh M., Balakrishnan P., Dhanaprabhu S. S., Ramanan A., Maniraj J.: Enzyme-modified electrodes for biofuel cells: A comprehensive review. *Materials Today-Proceedings*, 2021, 46, 3495-3501.
- [29] Wang X. Y., Zhang Z. Q., Wu G. L., Xu C. X., Wu J. P., Zhang X. G., Liu J.: Applications of electrochemical biosensors based on functional antibody-modified screen-printed electrodes: a review. *Analytical Methods*, 2021, 14, 7-17.
- [30] Beitollahi H., Mohammadi S. Z., Safaei M., Tajik S.: Applications of electrochemical sensors and biosensors based on modified screen-printed electrodes: a review. *Analytical Methods*, 2020, 12, 1547-1560.
- [31] Tzszycyk-Rotko K., Kozak J., Czech B.: Screen-Printed Voltammetric Sensors—Tools for Environmental Water Monitoring of Painkillers. *Sensors*. 2022, 22(7).
- [32] Taleat Z., Khoshroo A., Mazloun-Ardakani M.: Screen-printed electrodes for biosensing: A review (2008-2013). *Microchimica Acta*, 2014, 181, 865-891.
- [33] Li M., Li Y. T., Li D. W., Long Y. T.: Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays-A review. *Analytical Chemica Acta*, 2012, 734, 31-44.
- [34] Niu X. H., Lan M. B., Zhao H.L., Chen C., Li Y.X., Zhu X.: Review: Electrochemical stripping analysis of trace heavy metal using screen-printed electrodes. *Analytical letters*, 2013, 46, 2479-2502.
- [35] Pohanka M.: Screen Printed Electrodes in Biosensors and Bioassays. A Review. *International Journal of Electrochemical Science*, 2020, 15, 11024-11035.
- [36] Screen-printed electrodes. *Metrohm DropSens*. Oviedo, Spain. Dostupné z: https://www.dropsens.com/en/screen_printed_electrodes_pag.html
- [37] Rao T. N., Fujishima A., Angus J. C.: Historical Survey of Diamonds Electrodes. *Diamond Electrochemistry*. 2005, 1-10. ISBN 978-0444519085, 0444519084.
- [38] Patel K., Hashimoto K., Fujishima A.: Application of boron-doped CVD-diamond film to photoelectrode. *Denki Kagaku*, 1992, 60, 659-661.
- [39] Swain G. M., Ramesham R.: The electrochemical activity of boron-doped polycrystalline thin-film electrodes. *Analytical Chemistry*, 1993, 65, 345-351.
- [40] Barek J.: Diamantové pracovní elektrody. *Možnost inovací v elektrochemické chemii, Praha*, 2006, 119-124. Dostupné z:

<https://old.vscht.cz/anl/paci/PAC/prezentace/elektroanalytika.pdf>

- [41] Fujishima A., Einaga Y., Rao T.N., Tryk D.A.: *Diamond Electrochemistry*, Elsevier, Amsterdam, 2005. ISBN 978-0444519085, 0444519084.
- [42] Luong J. H. T., Male K. B., Glennon J. D.: Boron-doped diamond electrode: synthesis, characterization, functionalization and analytical applications. *The Analyst*, 2009, 134, 1965-1979.
- [43] Pecková K., Musilová J., Barek J.: Boron-doped diamond film electrodes – New tool for voltammetric determination of organic substances. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2009, 39, 148-172.
- [44] Ivandini T. A., Einaga Y., Honda K., Fujishima A.: Preparation and Characterization of Polycrystalline Chemical Vapor Deposited Boron-doped Diamond Thin Film. *Diamond Electrochemistry*, 2005.
- [45] Swain G. M., Anderson A. B., Angus J. C.: Applications of diamond thin films in electrochemistry. *MRS Bulletin*, 1998, 23, 56-60.
- [46] Yang N. J., Yu S. Y., Macpherson J. V., Einaga Y., Zhao H. Y., Zhao G. H., Swain, G. M., Jiang X.: Conductive diamond: synthesis, properties, and electrochemical applications. *Chemical Society Reviews*, 2019, 48, 157-204.
- [47] Selesovska R., Krankova B., Stepankova M., Martinkova P., Janikova L., Chylkova J., Vojs M.: Influence of boron content on electrochemical properties of boron-doped diamond electrodes and their utilization for leucovorin determination. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2018, 821, 2-9.
- [48] Fujimori N., Nakahata H., Imai T.: Properties of boron-doped epitaxial diamond films, *Japanese Journal Applied Physics*, c1990, 29, 824-827.
- [49] Schwarzova-Peckova K., Vosahlova J., Barek J., Sloufova I., Pavlova E., Petrak V, Zavazalova J.: Influence of boron content on the morphological, spectral, and electroanalytical characteristics of anodically oxidized boron-doped diamond electrodes. *Electrochimica Acta*, 2017, 243, 170-182.
- [50] Yagi I., Ueda K., Uosaki K.: Electrochemical Hydrogen and Oxygen Evolution Mechanisms at B-doped Diamond Electrodes Investigated by TOF-ESD Methods. *Diamond Electrochemistry*. 2005, 11-. ISBN 978-0444519085, 0444519084.
- [51] Trouillon R., Einaga Y., Gijs M. A. M.: Cathodic pretreatment improves the resistance of boron-doped diamond electrodes to dopamine fouling. *Electrochemistry Communications*, 2014, 47, 92-95.

- [52] Selesovska R., Hlobenova F., Skopalova J., Cankar P., Janikova L., Chylkova J.: Electrochemical oxidation of anti-inflammatory drug meloxicam and its determination using boron doped diamond electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2020, 858.
- [53] Selesovska R., Herynkova M., Skopalova J., Keliskova-Martinkova P., Janikova L., Cankar P., Bednar P., Chylkova J.: Oxidation behavior of insecticide azoxystrobin and its voltammetric determination using boron-doped diamond electrode. *Electroanalysis*, 2019, 31, 363-373.
- [54] Baluchova S., Danhel A., Dejmkova H., Ostatna V., Fojta M., Schwarzova-Peckova K.: Recent progress in the applications of boron doped diamond electrodes in electroanalysis of organic compounds and biomolecules – A review. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1077, 30-66.
- [55] Takasu Y., Sugimoto W., Ohashi T., Zhang J.: Steam activation of boron doped diamond electrodes. *Electrochimica Acta*, 2011, 56(16), 5599-5604.
- [56] Muzyka K., Sun J., Fereja T. H., Lan Y., Zhang W., Xu G.: Boron-doped diamond: current progress and challenges in view of electroanalytical applications. *Analytical Methods*, 2019, 11(4), 397-414.
- [57] Stanković D. M., Kalcher K.: The Immunosuppressive drug – Rapamycin – Electroanalytical Sensing Using Boron- Doped Diamond electrode. *Electrochimica Acta*, 2015, 168, 76-81.
- [58] Oliviera S. N., Ribeiro F. W. P., Sousa C. P., Soares J. E. S., Suffredini H. B., Becker H., De Lima-Neto P., Correia A. N.: Imipramine sensing in pharmaceutical formulations using boron-doped diamond electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2017, 788, 118-124.
- [59] Karuwan Ch., Mantim T., Chaisuwan P., et al.: Pulsed Amperometry for Anti-fouling of Boron-doped Diamond in Electroanalysis of β -Agonists: Application to Flow Injection for Pharmaceutical Analysis. *Sensors*, 2006, 6(12), 1837-1850.
- [60] Kiran R., Scorsone E., De Sanoit J., Arnault J.-C., Mailley P., Bergonzo P.: Boron Doped Diamond Electrodes for Direct Measurement in Biological Fluids: An In Situ Regeneration Approach. *Journal of The Electrochemical Society*, 2012, 160(1), H67-H73.
- [61] Tryk D. A., Kondo T., Fujishima A.: Chemical, Photochemical and Electrochemical Modification of Diamond. *Diamond Electrochemistry*, 2005, 11-25. ISBN 978-0444519085, 0444519084.

- [62] Matvieiev O., Šelešovská R., Janíková L.: Modification of boron-doped diamond electrode and its applications. *Scientific Papers of the University of Pardubice, Series A, Faculty of Chemical Technology*, 2021, 27, 73-102.
- [63] Toghil K. E., Compton R. G.: Metal Nanoparticle Modified Boron Doped Diamond Electrodes for Use in Electroanalysis. *Electroanalysis*, 2010, 22(17-18), 1947-1956.
- [64] Treetepvijit S., Preechaworapun A., Praphairaksit N., Chuanuwatanakul S., Einaga Y., Chailapakul O.: Use of nickel implanted boron-doped diamond thin film electrode coupled to HPLC system for the determination of tetracyclines. *Talanta*, 2006, 68(4), 1329-1335.
- [65] Wulandari R., Ivandini T., Irkham A., Saepudin E., Einaga Y.: Modification of Boron-doped Diamond Electrodes with Platinum to Increase the Stability and Sensitivity of Haemoglobin-based Acrylamide Sensors. *Sensors and Materials*, 2019, 31(4), 1105-1117.
- [66] Siné G., Fóti G., Comminellis Ch.: Boron-doped diamond (BDD)-supported Pt/Sn nanoparticles synthesized in microemulsion systems as electrocatalysts of ethanol oxidation. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2006, 595(2), 115-124.
- [67] Mavrokefalos Ch. K., Hasan M., Khunsin W., Schmidt M., Maier S. A., Rohan J. F., Compton R. G., Foord J. S.: Electrochemically modified boron-doped diamond electrode with Pd and Pd-Sn nanoparticles for ethanol electrooxidation. *Electrochimica Acta*, 2017, 243, 310-319.
- [68] Fierro S., Watanabe T., Akai K., Ymanuki M., Einaga Y.: Anodic Stripping Voltammetry of Se 4 on Gold-Modified Boron-Doped Diamond Electrodes. *International Journal of Electrochemistry*, 2012, 2012, 1-5.
- [69] Toghil K. E., Wildgoose G. G., Moshar A., Mulcahy Ch., Compton R. G.: The Fabrication and Characterization of a Bismuth Nanoparticle Modified Boron Doped Diamond Electrode and Its Application to the Simultaneous Determination of Cadmium(II) And Lead(II). *Electroanalysis*, 2008, 20(16), 1731-1737.
- [70] Teker T., Hasan A. M. H., Aslanoglu M.: A boron doped diamond electrode modified with nano-carbon black for the sensitive electrochemical determination of chlorogenic acid. *Electroanalysis*, 2019, 31, 2446-2454.
- [71] Bahadir E. B., Sezginurk M. K.: Applications of graphene in electrochemical sensing and biosensing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2016, 76, 1-14.

- [72] Pop A., Manea F., Flueraș A., Schoonman J.: Simultaneous voltammetric detection of carbaryl and paraquat pesticides on graphene-modified boron-doped diamond electrode. *Sensors*, 2017, 17, 2033.
- [73] Pei J. X., Yu X., Zhang Z. Q., Zhang J., Wei S. B., Boukherroub R.: In-situ graphene modified self-supported boron-doped diamond electrode for Pb(II) electrochemical detection in seawater. *Applied Surface Science*, 2020, 527, 146761.
- [74] Gayen P., Chaplin B. P.: Selective electrochemical detection of ciprofloxacin with a porous Nafion/multiwalled carbon nanotube composite film electrode. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 2016, 8, 1615–1626.
- [75] Zehani N., Fortgang P., Lachgar M. S., Baraket A., Arab M., Dzyadevych S. V., Kherrat R., Jaffrezic-Renault N.: Highly sensitive electrochemical biosensor for bisphenol A detection based on a diazonium-functionalized boron-doped diamond electrode modified with a multi walled carbon nanotube-tyrosinase hybrid film. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 74, 830-835.
- [76] Durst R. A., Baumner A. J., Murray R. W., Buck R. P., Andrieux C. P.: Chemically modified electrodes: Recommended terminology and definitions. *Pure and Applied Chemistry*, 1997, 69, 1317–1324.
- [77] Rusinek C. A., Becker M. F., Rechenberg R., Kaval N., Ojo K., Heineman W. R.: Polymer-coated boron doped diamond optically transparent electrodes for spectroelectrochemical sensors. *Electroanalysis*, 2016, 28, 2228–2236.
- [78] Buzid A., McGlacken G. P., Glennon J. D., Luong J. H. T.: Electrochemical sensing of biotin using nafion-modified boron-doped diamond electrode. *ACS Omega*, 2018, 3, 7776–7782.
- [79] da Costa P. V. F., da Silva R. M. P., Suffredini H. B., Alves W. A.: Poly-L-arginine-modified boron-doped diamond and glassy carbon electrodes for terbutaline sulfate detection. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2018, 18, 4551–4558.
- [80] Niedzialkowski P., Ossowski T., Zieba P., Cirocka A., Rochowski P., Pogorzelski S. J., Ryl J., Sobaszek M., Bogdanowicz R.: Poly-l-lysine-modified boron-doped diamond electrodes for the amperometric detection of nucleic acid bases. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2015, 756, 84–93.
- [81] Song M.J., Lee S.K., Kim J.H., Lim D.S.: Dopamine sensor based on a boron-doped diamond electrode modified with a polyaniline/Au nanocomposite in the presence of ascorbic acid. *Analytical Sciences*, 2012, 28, 583–587.

- [82] Zazoua A., Khedimallah N., Jaffrezic-Renault N.: Electrochemical Determination of Cadmium, Lead, and Nickel Using a Polyphenol–Polyvinyl Chloride–Boron-Doped Diamond Electrode. *Analytical Letters*, 2017, 51(3), 336-347.
- [83] Niedziałkowski P., Ossowski T., Zięba P., et al.: Poly-l-lysine-modified boron-doped diamond electrodes for the amperometric detection of nucleic acid bases. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2015, 756, 84-93.
- [84] Svitkova J., Ignat T., Svorc L., Labuda J., Barek J.: Chemical modification of boron-doped diamond electrodes for applications to biosensors and biosensing. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2016, 46, 248-256.
- [85] Kondo T., Horitani M., Yuasa M.: Sensitive electrochemical detection of glucose at glucose oxidase-cobalt phthalocyanine-modified boron-doped diamond electrode. *International Journal of Electrochemistry*, 2012, 2012, 943957.
- [86] Bai Y.F., Xu T.B., Luong J.H.T., Cui H.F.: Direct electron transfer of glucose oxidase-boron doped diamond interface: a new solution for a classical problem. *Analytical Chemistry*, 2014, 86, 4910–4918.
- [87] Yang W. S., Auciello O., Butler J. E., Cai W., Carlisle J. A., Gerbi J., Gruen D. M., Knickerbocker T., Lasseter T. L., Russell J. N., Smith L. M., Hamers R. J.: DNA-modified nanocrystalline diamond thin-films as stable, biologically active substrates. *Nature Materials*, 2002, 1, 253–257.
- [88] Yang W. S., Butler J. E., Russell J. N., Hamers R. J.: Interfacial electrical properties of DNA-modified diamond thin films: intrinsic response and hybridization-induced field effects. *Langmuir*, 2004, 20, 6778–6787.
- [89] Svitkova J., Svikruhova S., Vojs M., Marton M., Svorc L.: DNA-modified boron-doped diamond electrode as a simple electrochemical platform for detection of damage to DNA by antihypertensive amlodipine. *Monatshefte für Chemie*, 2016, 147, 1365–1373.
- [90] Zhou Y. L., Zhi J. F.: Development of an amperometric biosensor based on covalent immobilization of tyrosinase on a boron-doped diamond electrode. *Electrochemistry Communications*, 2006, 8(12), 1811-1816.
- [91] National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, PubChem [cit. 9. 4. 2019]; dostupné z <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dopamine>.
- [92] Cruickshank L., Kennedy A. R., Shankland N.: Tautomeric and ionization forms of dopamine and tyramine in the solid state. *Journal of Molecular Structure*, 2013, 1051, 132-136.

- [93] Horowski R., Löschmann P. A.: Classical dopamine agonists. *Journal of Neural Transmission*, 2019, 126 (4), 449-454.
- [94] Iversen S. D., Iversen L. L.: Dopamine: 50 years in perspective. *Trends in Neurosciences*, 2007, 30 (5), 188-193.
- [95] Dauer W., Przedborski S.: Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron*, 2003, 39 (6), 889-909.
- [96] Teniou A., Rhouati A., Catanante G.: A Simple Fluorescent Aptasensing Platform Based on Graphene Oxide for Dopamine Determination: the rewarding years. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2006, 147(S1), S136-S144.
- [97] Marsden Ch. A.: Dopamine: the rewarding years. *British Journal of Pharmacology*, 2006, 147(S1), S136-S144.
- [98] Nichkova M., Wynveen P. M., Marc D. T., Huisman H., Kellermann G. H.: Validation of an ELISA for urinary dopamine: applications in monitoring treatment of dopamine-related disorders. *Journal of Neurochemistry*, 2013, 125(5), 724-735.
- [99] Hows M. E. P., Lacroix L., Heidbreder Ch., Organ A. J., Shan A. J.: High-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric assay for the simultaneous measurement of dopamine, norepinephrine, 5-hydroxytryptamine and cocaine in biological samples. *Journal of Neuroscience Methods*, 2004, 138(1-2), 123-132.
- [100] Zhao Y., Zhao S., Huang J., Ye F.: Quantum dot-enhanced chemiluminescence detection for simultaneous determination of dopamine and epinephrine by capillary electrophoresis. *Talanta*, 2011, 85(5), 2650-2654.
- [101] Moghadam M. R., Dadfarnia S., Shabani A. M. H., Shabazikham P.: Chemometric-assisted kinetic-spectrophotometric method for simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid, and dopamine. *Analytical Biochemistry*, 2011, 410(2), 289-295.
- [102] Breczko J., Plonska-Brzezinska M. E., Echegoyen L.: Electrochemical oxidation and determination of dopamine in the presence of uric and ascorbic acids using a carbon nano-onion and poly(diallyldimethylammonium chloride) composite. *Electrochimica Acta*, 2012, 72, 61-67.
- [103] Vatrál J., Boča R., Linert W.: Oxidation properties of dopamine at and near physiological conditions. *Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly*, 2015, 146(11), 1799-1805.
- [104] Chen S.-M., Peng K.-T.: The electrochemical properties of dopamine, epinephrine, norepinephrine, and their electrocatalytic reactions on cobalt(II) hexacyanoferrate films. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2003, 547(2), 179-189.

- [105] Gao Z., Yap D., Zhang Y.: Voltammetric Determination of Dopamine in a Mixture of Dopamine and Ascorbic Acid at a Deactivated Polythiophene Film Modified Electrode. *Analytical Sciences*, 1998, 14(6), 1059-1063.
- [106] D'Souza E. S., Manjunatha J. G., Raril Ch.: Electrochemical Determination of Dopamine and Uric Acid Using Poly(proline) Modified Carbon Paste Electrode: A Cyclic Voltammetric Study. *Chemistry & Chemical Technology*, 2021, 15(2), 153-160.
- [107] Bard A. J.: Inner-sphere heterogeneous electrode reactions. Electrocatalysis and photocatalysis: The challenge. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132, 7559-7567.
- [108] Li Y. R., Li H. J., Li M. J., Li C. P., Sun D. Z., Zang B. H.: Porous boron-doped diamond electrode for detection of dopamine and pyridoxine in human serum. *Electrochimica Acta*, 2017, 258, 744-753.
- [109] Mei X. R., Wei Q. P., Long H. Y., Yu Z. M., Deng Z. J., Meng L. C., Wang J., Luo J. T., Lin C. T., Ma L., Zheng K. Z., Hu N. X.: Long-term stability of Au nanoparticle-anchored porous boron-doped diamond hybrid electrode for enhanced dopamine detection. *Electrochimica Acta*, 2018, 271, 84-91.
- [110] Li H. C., Zhou K. C., Cao J., Wei Q. P., Lin C. T., Pei S. E., Ma L., Hu N. X., Guo Y. H., Deng Z. J., Yu Z. M., Zeng S. C., Yang W. L., Meng L. C.: A novel modification to boron-doped diamond electrode for enhanced, selective detection of dopamine in human serum. *Carbon*, 2021, 171, 16-28.
- [111] Tyszczyk-Rotko K., Jaworska I., Jedruchiewicz K.: Application of unmodified boron-doped diamond electrode for determination of dopamine and paracetamol. *Microchemical Journal*, 2019, 146, 664-672.
- [112] Yang Z., Li M. J., Li H. J., Li H. Y., Li C. P., Yang B. H.: Polycrystalline boron-doped diamond-based electrochemical biosensor for simultaneous detection of dopamine and melatonin. *Analytical Chimica Acta*, 2020, 1135, 73-82.
- [113] Wong A., Santos A. M., Fatibello-Filho O.: Simultaneous determination of dopamine and cysteamine by flow injection with multiple pulse amperometric detection using a boron-doped diamond electrode. *Diamond and Related Materials*, 2018, 85, 68-73.
- [114] Guimaraes G. A. A., Lacerda J. N., Xing Y. T., Ponzio E. A., Pacheco W. F., Semaan F. S., Dornellas R. M.: Development and application of electrochemical sensor of boron-doped diamond (BDD) modified by drop casting with tin hexacyanoferrate. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 2020, 24, 1769-1779.

- [115] Chang A. Y., Siddiqui S., Arumugam P. U.: Nafion and multiwall carbon nanotube modified ultrananocrystalline diamond microelectrodes for detection of dopamine and serotonin. *Micromachines*, 2021, 12, 523.
- [116] Hashem E. Y., El-Zohry A. M.: Simultaneous detection of dopamine and ascorbic acid in urine using the H-point standard addition method. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2012, 79(3), 424-430.
- [117] Łuczak T.: Gold and Nanogold Electrodes Modified with Gold Nanoparticles and meso-2,3-Dimercaptosuccinic Acid for the Simultaneous, Sensitive and Selective Determination of Dopamine and Its Biogenic Interferents. *Electroanalysis*, 2014, 26(10), 2152-2160.
- [118] Šelešovská R., Navrátil T., Hrdlička V., Michniak P., Hatala M., Vojs M., Marton M., Matvieiev O., Janíková L., Chýlková J.: Novel screen-printed sensors with chemically deposited boron-doped diamond and their use for voltammetric determination of attention deficit hyperactivity disorder medication atomoxetine. *Electrochimica Acta*, 2022, 403, 139642.
- [119] Matvieiev, O.; Šelešovská, R.; Vojs, M.; Marton, M.; Michniak, P.; Hrdlička, V.; Hatala, M.; Janíková, L.; Chýlková, J.; Skopalová, J.; Cankař, P.; Navrátil, T. Novel Screen-Printed Sensor with Chemically Deposited Boron-Doped Diamond Electrode: Preparation, Characterization, and Application. *Biosensors*, 2022, 12, 241.
- [120] Wahyuni W.T., Ivandini T.A., Jiwanti P.K., Saepudin E., Gunlazuardi J., Einaga Y.: Electrochemical behavior of zanamivir at gold-modified boron-doped diamond electrodes for an application in neuraminidase sensing. *Electrochemistry*, 2015, 83(5), 357–362.
- [121] Fischer A. E. et al.: Electrochemical Performance of Diamond Thin-Film Electrodes from Different Commercial Sources. *Analytical Chemistry*, 2004, 76, 2553-2560.
- [122] Gerhardt G., Adams R. N.: Determination of Diffusion Coefficients by Flow Injection Analysis. *Analytical Chemistry*, 1982, 54, 2618-2620.
- [123] Barnes E.O., Chen X., Li P., Compton R.G.: Voltammetry at porous electrodes: A theoretical study. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2017, 720-721, 92-100.