

Univerzita Pardubice
Fakulta Chemicko-Technologická

**Nové sítotiskové senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou:
příprava, charakterizace, modifikace a aplikace v elektroanalýze**

MSc. Oleksandr Matvieiev

Disertační práce

2024

Prohlašuji:

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

Byl jsem seznámen 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.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012 Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 15.4.2024

MSc. Oleksandr Matvieiev v. r.

Poděkování

Především jsem hluboce vděčný své školitelce doc. Ing. Renátě Šelešovské, Ph.D. za trpělivost, nezištnou podporu, nadšené vedení a ochotu jakkoli pomoci během mého doktorského studia. Za druhé bych rád poděkoval vedoucímu stáže Ing. Marianu Vojsovi, Ph.D. (Fakulta elektrotechniky a informatiky, Slovenská technická univerzita v Bratislavě) za spolupráci a výrobu senzorů. Dále děkuji Ing. Lence Janíkové Ph.D. za přečtení této práce a poskytnutí velmi cenné zpětné vazby.

Děkuji všem kolegům z naší výzkumné skupiny a Oddělení ochrany životního prostředí, kteří mi byli velkým zdrojem podpory. Upřímně si vážím všech ostatních vědců, kteří se podíleli na mé výzkumné činnosti, děkuji zejména prof. Ing. Tomášovi Navrátilovi, Ph.D. a Mgr. Vojtěchovi Hrdličkovi, Ph.D. (Oddělení elektrochemie v nanoměřítku, Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského) za cenné rady a dovednosti při měření elektrochemické impedanční spektroskopie, RNDr. Janě Skopalové, Ph.D. a prof. RNDr. Petrovi Bartákovi, Ph.D. (Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci) za pomoc při preparativní elektrolyze a identifikaci produktů a doc. RNDr. Romaně Sokolové, Ph.D. (Oddělení elektrochemie v nanoměřítku, Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského) za předání dovedností při měření spektroelektrochemie.

Jsem neuvěřitelně vděčný svým rodičům a nejbližším přátelům za bezpodmínečnou podporu a neochvějnou lásku. Bez jejich důvěry ve mě bych studium nemohl dokončit.

Závěrem bych rád poděkoval za finanční podporu mé výzkumné činnosti: Grantové agentuře ČR (projekt č. 20-01589S) a Univerzitě Pardubice (projekty č. SGSFChT_2021_003, SGSFChT_2022_001, SGSFChT_2023_002).

ANOTACE

V rámci této disertační práce byly připraveny nové sítotiskové senzory s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou (BDDE). Pro charakterizaci povrchu pracovní elektrody těchto senzorů byla použita skenovací elektronová mikroskopie a Ramanova spektroskopie. Jejich elektrochemické vlastnosti byly studovány s využitím cyklické voltametrie a elektrochemické impedanční spektroskopie standardních redoxních markerů a dosažené výsledky byly porovnávány s komerčně dostupným tištěným senzorem a BDDE v klasickém tříelektrodovém uspořádání elektrochemického článku. Pro ověření možnosti aplikace nových senzorů v elektroanalýze byly vyvinuty voltametrické metody pro stanovení vybraných biologicky aktivních látek, konkrétně léčiv mefenoxalonu a atomoxetinu a pesticidu tritikonazolu, a byly porovnány statistické parametry. Současně byla testována opakovatelnost měření a reprodukovatelnost senzorů. Dalším krokem byla modifikace povrchu pracovní elektrody zlatými nanočásticemi, a to fyzikální a elektrochemickou depozicí. Modifikované senzory byly opět charakterizovány pomocí skenovací elektronové mikroskopie, Ramanovy spektroskopie, cyklické voltametrie a elektrochemické impedanční spektroskopie. Aplikační možnosti modifikovaných senzorů byly testovány při stanovení neurotransmiteru dopaminu.

KLÍČOVÁ SLOVA: sítotiskový senzor; borem dopovaná diamantová elektroda; modifikace; zlaté nanočástice; elektrochemické vlastnosti; elektroanalýza

TITLE

Novel screen-printed sensors with boron-doped diamond electrode: preparation, characterization, modification, and application in electroanalysis

ANNOTATION

This Ph.D. thesis involved the preparation of new screen-printed sensors with chemically deposited boron-doped diamond electrodes (BDDE). Scanning electron microscopy and Raman spectroscopy were utilized to characterize the working electrode surface of these sensors. Their electrochemical properties were studied using cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy with standard redox markers, and the results were compared with those obtained using a commercially available screen-printed sensor and BDDE in a traditional three-electrode configuration of an electrochemical cell. To validate the potential application of these new sensors in electroanalysis, voltammetric methods were developed for the determination of selected biologically active substances, specifically the drugs mephenoalone and atomoxetine, as well as the pesticide triticonazole. Statistical parameters were compared, and measurement repeatability and sensor reproducibility were tested. The next step involved the modification of the working electrode surface with gold nanoparticles through physical and electrochemical deposition. Modified sensors were characterized once again using scanning electron microscopy, Raman spectroscopy, cyclic voltammetry, and electrochemical impedance spectroscopy. The application possibilities of the modified sensors were tested in the determination of the neurotransmitter dopamine.

KEYWORDS: screen-printed sensor; boron-doped diamond electrode; modification, gold nanoparticles; electrochemical properties; electroanalysis

OBSAH

Seznam symbolů a zkratk	8
ÚVOD	11
1 Cíle práce	14
2 Teoretická část	15
2.1 Pracovní elektrody ve voltametrii	15
2.1.1 Rtuťové elektrody	15
2.1.2 Kovové elektrody	16
2.1.3 Uhlíkové elektrody	17
2.2 Borem dopovaná diamantová elektroda	19
2.2.1 Příprava, vlastnosti a využití borem dopované diamantové elektrody	20
2.2.2 Modifikace borem dopované diamantové elektrody	22
2.3 Tištěné senzory	25
2.4 Studované látky	27
2.4.1 Mefenoxalon	27
2.4.2 Atomoxetin	28
2.4.3 Tritikonazol	29
2.4.4 Dopamin	30
3 Experimentální část	32
3.1 Použité chemikálie	32
3.2 Přístrojové vybavení	33
3.3 Příprava tištěných senzorů	35
3.3.1 Tištěné senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou	35
3.3.2 Tištěné senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi	36
3.4 Pracovní postupy	37
3.4.1 Aktivace pracovních elektrod	37
3.4.2 Studium voltametrického chování látek a vývoj metod jejich stanovení	38
3.4.3 Analýza modelových roztoků a praktických vzorků	38
3.4.4 Určování mechanismu oxidace mefenoxalonu	40
3.4.5 Charakterizace senzorů pomocí cyklické voltametrie	41

3.4.6	Charakterizace senzorů pomocí elektrochemické impedanční spektroskopie	41
3.5	Zpracování dat a výpočty	42
4	Výsledky a diskuse	44
4.1	Studium elektrochemického chování a vývoj voltametrické metody stanovení mefenoxalonu na borem dopované diamantové elektrodě	44
4.1.1	Studium elektrochemického chování mefenoxalonu.....	44
4.1.2	Mechanismus elektrochemické oxidace mefenoxalonu	47
4.1.3	Vývoj voltametrické metody stanovení mefenoxalonu	52
4.2	Elektrochemické chování a voltametrické stanovení dalších látek	57
4.2.1	Studium elektrochemického chování.....	57
4.2.2	Vývoj voltametrických metod stanovení	59
4.3	Nové tištěné senzory s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou	62
4.3.1	Studium elektrochemických vlastností s využitím cyklické voltametrie.....	63
4.3.2	Charakterizace pomocí elektrochemické impedanční spektroskopie	69
4.3.3	Aplikace tištěných senzorů v elektroanalýze.....	71
4.4	Tištěné senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi	82
4.4.1	Charakterizace povrchu tištěných senzorů modifikovaných nanočásticemi zlata.....	82
4.4.2	Studium elektrochemických vlastností pomocí cyklické voltametrie	84
4.4.3	Charakterizace pomocí elektrochemické impedanční spektroskopie	90
4.4.4	Aplikace v elektroanalýze při stanovení dopaminu.....	93
	Závěr	99
	Literatura.....	101
	Příloha 1 Přehled publikační činnosti autora	111
	Příloha 2.....	Chyba! Záložka není definována.
	Příloha 3.....	Chyba! Záložka není definována.
	Příloha 4.....	Chyba! Záložka není definována.
	Příloha 5.....	Chyba! Záložka není definována.
	Příloha 6.....	Chyba! Záložka není definována.

Seznam symbolů a zkratk

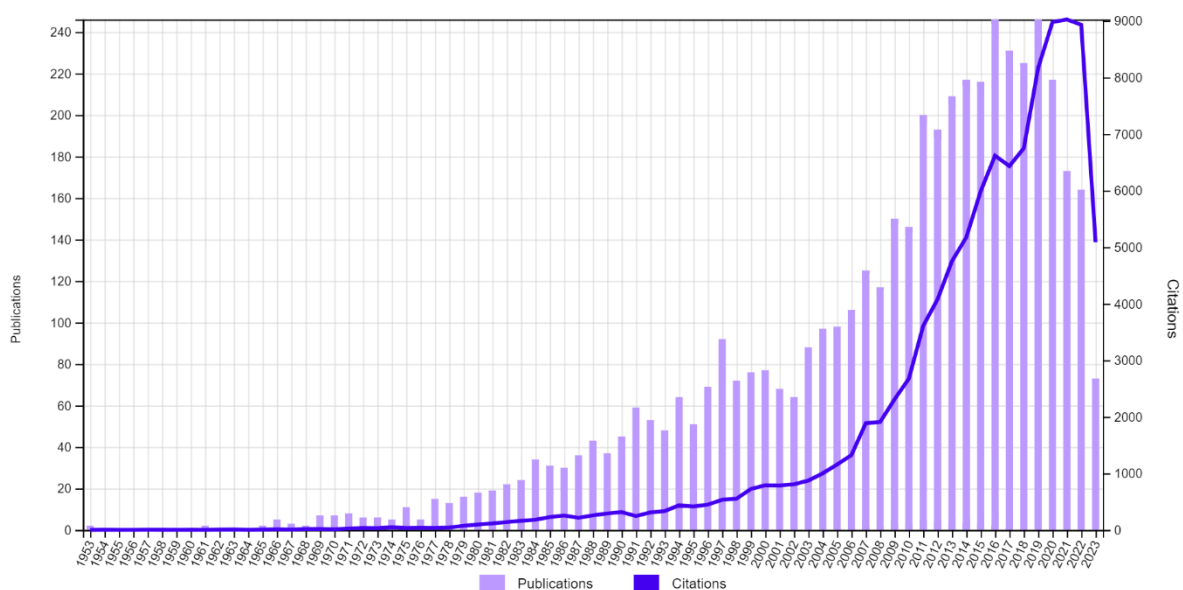
A	amplituda [mV]
A_{geo}	geometrická plocha [cm ²]
AFM	mikroskopie atomárních sil (atomic force microscopy)
ATX	atomoxetin
b	směrnice lineární závislosti
BRB	Brittonův-Robinsonův pufr (Britton-Robinson buffer)
BDDE	borem dopovaná diamantová elektroda (boron-doped diamond electrode)
c	koncentrace [mol L ⁻¹]
C_{eff}	efektivní kapacita [μ F cm ⁻²]
CE	pomocná elektroda (counter electrode)
CPE	uhlíková pastová elektroda (carbon paste electrode)
CV	cyklická voltametrie (cyclic voltammetry)
CVD	chemická depozice par (chemical vapor deposition)
D	difuzní koeficient
DA	dopamin
DAD	detektor diodového pole (diode-array detector)
DPV	diferenční pulzní voltametrie
DME	kapající rtuťová elektroda (dropping mercury electrode)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
E	potenciál [mV]
E_p	potenciál píku [mV]
E^0	formální standardní redox potenciál [mV]
$E_{poč}$	počáteční potenciál [mV]
E_{konc}	koncový potenciál [mV]
E_{obratu}	obratový potenciál [mV]
EIS	elektrochemická impedanční spektroskopie
ΔE_p	rozdíl mezi potenciály píku oxidace a redukce
F	Faradayova konstanta (96 485 C mol ⁻¹)
f	frekvence [Hz]
FTIR	infračervená spektroskopie s fourierovou transformací (Fourier transform infrared (spectroscopy))
GC	plynová chromatografie (gas chromatography)

GCE	elektroda ze skelného uhlíku (glassy carbon electrode)
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda (hanging mercury drop electrode)
HPLC	vysoce účinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
j	proudová hustota [nA mm^{-2}]
I	proud [nA]
I_p	výška píku [nA]
IR	infračervené záření (infrared)
k^0	rychlostní konstanta [cm s^{-1}]
k_{app}^0	heterogenní konstanta rychlosti přenosu elektronů [cm s^{-1}]
LDR	lineární dynamický rozsah
LOD	limit detekce (limit of detection)
LOQ	mez stanovitelnosti (limit of quantification)
MFE	rtuťová filmová elektroda (mercury film electrode)
MNL	mefenoxalon
MNP	kovové nanočástice (metal nanoparticles)
MONP	nanočástice oxidů kovů (metal oxide nanoparticles)
MS	hmotnostní spektroskopie (mass spectroscopy)
MWCVD	plazmová chemická depozice z par s mikrovlnným ohřevem (microwave plasma enhanced chemical vapor deposition)
n	počet vyměňovaných elektronů
n	exponent prvku konstantní fáze
NMR	nukleární magnetická rezonance
POCT	analýza v místě péče (point-of care testing)
R	plynová konstanta ($8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)
R_s	odpor roztoku [Ω]
R_{ct}	odpor přenosu náboje [Ω]
RE	referentní elektroda (reference electrode)
RSD	relativní směrodatná odchylka (relative standard deviation)
SAMs	samo-uspořádané monovrstvy (self-assembled monolayers)
SE	standardní odchylky úseku lineární závislosti (standard errors)
SEM	skenovací elektronová mikroskopie (scanning electron microscopy)
SMDE	statická rtuťová kapková elektroda (static mercury drop electrode)

SWV	square-wave voltametrie
T	termodynamická teplota [K]
TTC	tritikonazol
UV	ultrafialové záření (ultraviolet)
v	rychlost polarizace [mV s^{-1}]
WE	pracovní elektroda (working electrode)
WOS	web of science
Y_0	admittance [$\mu\text{Mh s}^{1/2}$]
α	koeficient přenosu náboje
γ	poměr difuzních koeficientů oxidační a redukční formy
τ	doba relaxace [s]
ψ	míra reversibility elektrodové reakce

ÚVOD

Elektrochemické, resp. voltametrické metody se stávají každým rokem populárnějšími a využívanějšími. Potvrzením je nárůst počtu publikací ve Web of Science (WOS), který je znázorněn na obrázku 1. Elektrochemické metody analýzy nabízejí několik výhod oproti jiným analytickým technikám, včetně vysoké citlivosti, rychlé doby odezvy, selektivity, nedestruktivnosti, miniaturizace, přenositelnosti a nízkých nákladů. Tyto výhody z nich dělají cenný nástroj pro širokou škálu aplikací, včetně monitorování životního prostředí, bezpečnosti potravin, lékařské diagnostiky a výzkumu léků.



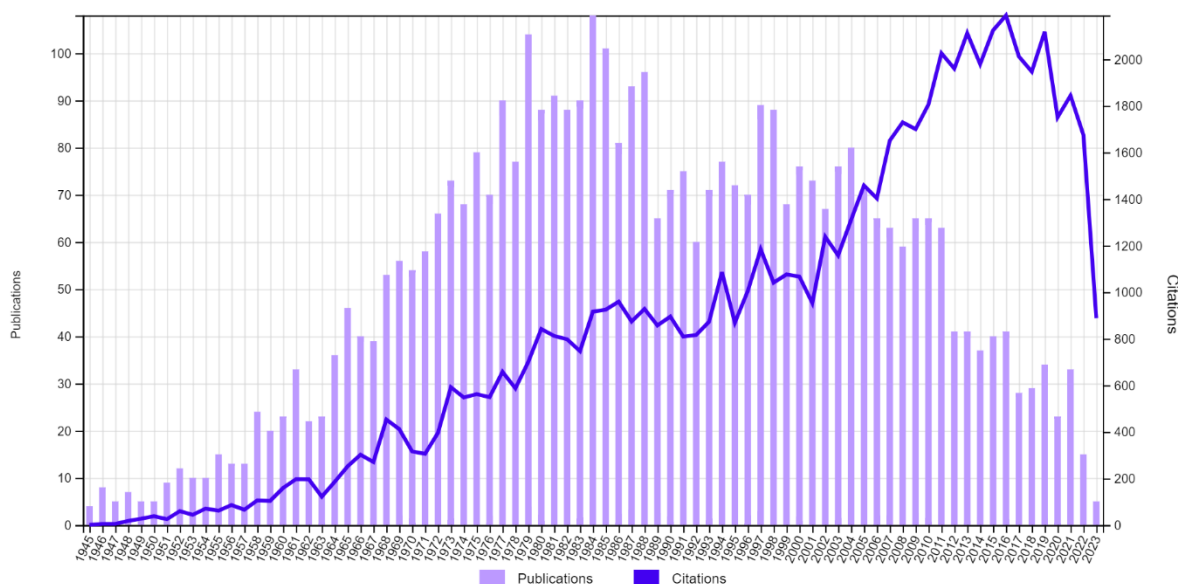
Obrázek 1 Počet publikací a citace ve Web of Science pro dotaz „Voltametrické stanovení“

Prvním vědcem, který položil základy elektrochemických metod analýzy, byl prof. Jaroslav Heyrovský. Výsledky své práce týkající se využití rtuťové kapající elektrody (DME) při analýze kovů publikoval již v roce 1922 [1]. Následně za objev polarografie obdržel profesor Jaroslav Heyrovský v roce 1959 Nobelovu cenu. Základní princip metody je založen na měření proudu protékajícího pracovní elektrodou ponořenou v analyzovaném roztoku v závislosti na napětí vkládaném na tuto elektrodu z vnějšího zdroje. Výsledkem měření je polarizační křivka, kde je proudová odezva při vhodném potenciálu dána oxidací nebo redukcí analyzované látky [2].

Základním rozdílem mezi polarografií a voltametrií je použitá pracovní elektroda. Zatímco v případě polarografie se používá dynamická elektroda – DME, voltametrie využívá stacionární elektrody, např.: visící rtuťovou kapkovou elektrodu (HMDE), kovové nebo uhlíkové elektrody. Pro voltametrická měření lze použít dvou-, tří- a čtyřelektrodové systémy.

V případě dvouelektrodového uspořádání je elektrochemický článek tvořen pracovní (indikační) elektrodou a referentní (srovnávací) elektrodou, která má konstantní potenciál (je nepolarizovatelná). Tento princip aplikoval prof. Heyrovský ve svém prvním polarografu, kde indikační elektrodou byla DME a rtuťové dno sloužilo jako referentní elektroda [1]. Častěji se v praxi využívá tříelektrodový systém, kde se přidá ještě pomocná elektroda. Proud prochází mezi pracovní a pomocnou elektrodou a skutečný potenciál pracovní elektrody se měří mezi pracovní a referentní elektrodou za bezproudého stavu [2]. Výjimečně se využívá ještě čtyřelektrodový systém, který se skládá z jedné pracovní, jedné pomocné a dvou referentních elektrod. Proud se měří opět mezi pracovní a pomocnou elektrodou, potenciály se měří jak u pracovní, tak u pomocné elektrody, a proto jsou zařazeny dvě referentní elektrody [3,4].

Nejdůležitějším prvkem voltametrické analýzy je materiál pracovní elektrody. Od objevení polarografie se jako elektrodový materiál nejčastěji používala rtuť, mezi jejíž hlavní výhody patří zejména neustále se obnovující povrch, ideální polarizace kapky po celé ploše a velmi široké využitelné potenciálové okno v katodické oblasti. Nevýhodou rtuti byla její toxicita, která vedla k postupnému omezování využívání rtuťových elektrod a navzdory jejich vynikajícím elektrochemickým vlastnostem se dnes již v podstatě nepoužívají. Tento trend dokumentuje pokles počtu publikací využívajících rtuťovou elektrodu schematicky znázorněný na obrázku 2.



Obrázek 2 Počet publikací a citace ve Web of Science pro dotaz „Rtuťová elektroda“

V současné době je jedním z hlavních témat výzkumu v oblasti elektroanalytické chemie vývoj nových pracovních elektrod a senzorů. Nové elektrodové materiály by měly splňovat

zejména následující kritéria: široký využitelný potenciálový rozsah, mechanická a chemická stabilita, netoxičita, nízký proud pozadí a odolnost proti korozi a pasivaci. Kovové elektrody (zlato, platina, stříbro, palladium a další) tyto požadavky částečně splňují, ale mají spíše omezené použití kvůli horší selektivitě, pasivaci a často malému potenciálovému oknu [5–7]. Další možností jsou uhlíkové elektrodové materiály, kdy se používají elektrody ze skelného uhlíku, grafitové elektrody, pyrolytický uhlík, elektrody z uhlíkové pasty nebo různé uhlíkové nanomateriály. Vlastnosti jednotlivých uhlíkových elektrod mohou být rozdílné [8]. Ke snížení detekčního limitu a zvýšení selektivity pracovních elektrod se v dnešní době hojně využívají různé procesy předúpravy povrchu nebo jejich modifikace např. nanočásticemi kovů a jejich oxidů, polymery, biomolekulami apod. [9].

Kromě vývoje nových elektrodových materiálů hraje důležitou roli také uspořádání elektrod v elektrochemickém článku, zejména možnost miniaturizace a přenosnosti systému. Samotná miniaturizace má řadu výhod. Šetří zdroje a vyžaduje méně činidel a vzorků pro provádění experimentů. To nejen snižuje náklady, ale také podporuje tzv. „zelený“ přístup v oblasti analytické chemie. Miniaturizované systémy pracují obvykle s menšími objemy činidel a tím se zkracuje doba míchání a difúze, což umožňuje rychlejší reakční kinetiku a zkrácení doby analýzy. Současně mohou být snadno přenosné a mobilní, umožňují analýzu na místě odběru vzorku ať už v rámci medicínských aplikací při sledování pacientů nebo při monitorování kvality životního prostředí, a v neposlední řadě sběr dat v reálném čase určených pro rychlé rozhodování.

1 CÍLE PRÁCE

Předkládaná disertační práce je věnována problematice nových elektrochemických sítotiskových senzorů s deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou (BDDE), jejich charakterizaci a aplikaci při analýze vybraných biologicky aktivních látek. Cíle této disertační práce byly definovány následujícím způsobem:

1. Literární rešerše na téma pracovních elektrod ve voltametii se zaměřením na BDDE a zejména na možnosti její modifikace.
2. Studium a popis elektrochemického chování vybraných biologicky aktivních látek (pesticidů a léčiv) a vývoj voltametrických metod jejich stanovení pomocí BDDE v klasickém tříelektrodovém uspořádání elektrochemického článku.
3. Charakterizace nových laboratorně vyrobených tištěných senzorů s BDDE jako pracovní elektrodou – povrchové a elektrochemické vlastnosti.
4. Aplikace nových tištěných senzorů s BDDE při analýze látek, pro něž byly vyvinuty metody stanovení v rámci bodu 2.
5. Modifikace povrchu BDDE tištěných senzorů nanočásticemi zlata, charakterizace a aplikace modifikovaných senzorů v elektroanalýze.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Pracovní elektrody ve voltametrii

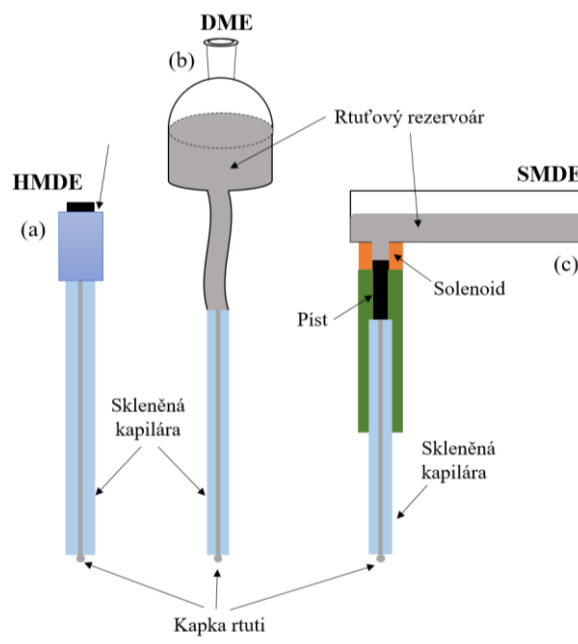
Jak již bylo zmíněno výše, hlavním a nejdůležitějším prvkem voltametrické analýzy je materiál pracovní elektrody, který určuje elektrochemické vlastnosti, zejména využitelný rozsah potenciálů a citlivost nebo selektivitu stanovení daného analytu. Pracovní elektroda se vždy volí podle toho, jaké látky v jakých typech vzorků budou analyzovány. V současné době se využívá mnoho různých elektrodových materiálů, elektrody mohou mít různý tvar a velikost. Následující část bude věnována stručné charakteristice nejčastěji používaných elektrodových materiálů pro elektroanalýzu.

2.1.1 Rtuťové elektrody

Rtuťová elektroda vždy hrála velmi důležitou roli v polarografii, resp. voltametrii, což bylo způsobeno jejími nespornými výhodami. Rtuť při pokojové teplotě je tekutý kov, a proto geometrická plocha elektrody odpovídá elektrochemicky aktivní ploše. V případě použití kapkové rtuťové elektrody se povrch neustále obnovuje a není potřeba žádná elektrochemická aktivace nebo regenerace. Díky velkému přepětí vodíku má tato elektroda široké využitelné potenciálové okno zejména v katodické oblasti (+0,4 až -2,5 V v závislosti na použitém základním elektrolytu). Z tohoto důvodu je vhodná zejména pro sledování redukčních reakcí analytů. Rtuť představuje elektrodový materiál, který je dokonale polarizovatelný, což snižuje proud pozadí [10–13].

Obrázek 3 znázorňuje konstrukci různých typů používaných rtuťových elektrod, konkrétně DME, HMDE a statickou rtuťovou kapkovou elektrodu (SMDE). DME je tvořena skleněnou kapilárou připojenou k rezervoáru se rtutí. Působením gravitace se na konci kapiláry tvoří rtuťová kapka, která v průběhu měření v pravidelných intervalech odpadává a nahrazuje ji nová. Výhodou tohoto uspořádání je minimální riziko pasivace povrchu, nevýhodou pak velká spotřeba rtuti. HMDE tvoří rovněž skleněná kapilára. Rtuťová kapka se tvoří otáčením mikrometrického šroubu, který vytlačuje rtuť ze zásobníku. Takto vzniklá kapka visí na konci kapiláry po celou dobu měření, a poté je odklepnuta a nahrazena novou. Snižuje se tak spotřeba rtuti, ale současně se o něco zvýší riziko pasivace. SMDE používá k řízení toku rtuti elektromagneticky poháněný píst. Aktivace elektromagnetu zvedne píst, což umožní rtuti protékat kapilárou a vytvořit kapku. Pokud se aktivace opakuje, lze produkovat řadu kapek jako v případě DME, ale s tím rozdílem, že kapka se obnovuje řízeně v pravidelných časových intervalech [14]. Alternativu ke klasickým rtuťovým elektrodám představuje rtuťová filmová

elektroda (MFE), která je tvořena elektrolyticky vyloučeným filmem rtuti např. na povrchu uhlíkové elektrody.



Obrázek 3 Rtuťové pracovní elektrody: HMDE (a), DME (b), SMDE (c), obrázek převzat a upraven z [14]

Od roku 2008 Evropská unie přijala „Nařízení (ES) č. 1102/2008 o zákazu vývozu kovové rtuti a některých sloučenin a směsí rtuti a bezpečném skladování kovové rtuti“, který omezuje i možnosti použití rtuti v elektroanalýze [15].

2.1.2 Kovové elektrody

Kromě rtuti se často používají i další kovové elektrody, např. zlato, platina, stříbro aj. [16–19]. Takové pracovní elektrody mohou mít různé tvary, uspořádání a velikost pracovního povrchu, jak je ilustrováno na obrázku 4. Největší výhodou kovových elektrod je vysoké přepětí kyslíku, které umožňuje stanovit látky s mnohem kladnějšími redoxními potenciály než na rtuti. Jsou proto vhodné zejména pro sledování oxidačních reakcí. Tyto elektrody jsou mechanicky stabilní a odolné vůči korozi ve většině agresivních prostředí. Na druhou stranu mají méně rovnoměrný povrch, mají mnohem větší drsnost ve srovnání s kapkou rtuti, což vede k rozdílu mezi elektrochemicky aktivní a geometrickou plochou. Největším problémem kovových elektrod je horší opakovatelnost výsledků. Vzhledem k velkému riziku pasivace těchto elektrod je nutné je pravidelně regenerovat. V některých případech lze použít elektrochemickou regeneraci zařazením vhodně zvolených potenciálů nebo potenciálových cyklů. Často je ale nutné mechanické leštění nebo broušení, v důsledku čehož se povrch mění a nelze tak

dosáhnout ideální opakovatelnosti výsledků na rozdíl od rtuťových elektrod, kde je povrch stále stejný a dokonale čistý [20].



Obrázek 4 Pevné pracovní elektrody [21]

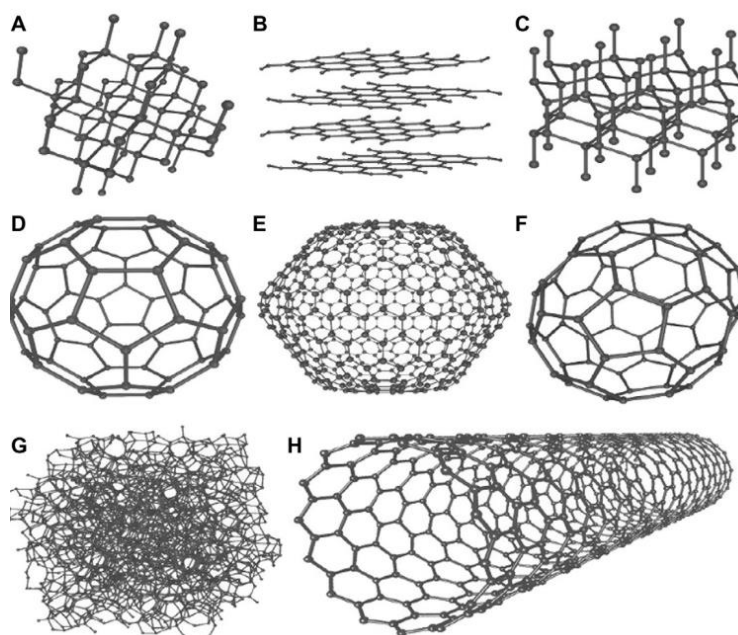
Alternativou ke rtuťovým elektrodám jsou elektrody amalgámové. V literatuře bylo popsáno několik typů. První variantou byly amalgámové elektrody tvořené kapalným amalgámem nejčastěji kadmia, cínu nebo mědi, které mohly fungovat jako kapající nebo visící elektrody analogicky k uspořádání rtuťových elektrod [22–24]. Další variantou byla tvorba filmu stříbrného amalgámu na povrchu stříbrného drátku, přičemž film bylo možné pravidelně obnovovat [25–27]. Nejrozšířenější variantou jsou pevné amalgámové elektrody, které jsou mechanicky odolné, protože neobsahují žádné pohyblivé součásti [28,29]. Největší výhodou amalgámových elektrod je stejně jako u elektrod rtuťových vysoké přepětí vodíku. Pro přípravu pevných amalgámových elektrod se využívají různé kovy jako zlato, stříbro, měď a další. Podle použitého kovu se pak liší výsledné elektrochemické vlastnosti elektrod a jejich využitelnost [30–35]. Kovové amalgámy jsou méně toxické než čistá rtuť, ale k jejich přípravě se používá rtuť nebo její sůl, což opět omezuje jejich použití z hlediska životního prostředí.

2.1.3 Uhlíkové elektrody

Jak již bylo zmíněno výše, rtuťové elektrody díky vysokému přepětí vodíku dobře fungují v katodické oblasti a kovové elektrody díky vysokému přepětí kyslíku v anodické oblasti. Relativně vysoké přepětí vodíku i kyslíku mají materiály na bázi uhlíku [36]. Pevné uhlíkové elektrody jsou v současné době široce používány v elektroanalýze především kvůli jejich širokému potenciálovému rozsahu, nízkému proudu pozadí, bohaté povrchové chemii, chemické inertnosti a nízké ceně. Jsou vhodné pro různé aplikace založené na oxidaci i redukcii

látek. Rychlosti přenosu elektronů pozorované na uhlíkových površích jsou ale často pomalejší než na kovových elektrodách. Většina běžných materiálů uhlíkových elektrod sdílí základní strukturu šestičlenného aromatického kruhu a sp^2 vazby [37]. Strukturální vzorce alotropních modifikací uhlíku jsou uvedeny na obrázku 5.

Elektrody na bázi uhlíku mohou být připraveny z grafitu, skelného uhlíku, pyrolytického grafitu, uhlíkových vláken, fulerenů nebo různých dalších uhlíkových nanomateriálů. Nejčastěji používanou uhlíkovou elektrodou je elektroda ze skelného uhlíku (GCE), která je velmi oblíbená pro své vynikající mechanické a elektrické vlastnosti, široké využitelné potenciálové okno, chemickou inertnost (odolnost vůči rozpouštědlům) a relativně reprodukovatelné vlastnosti. Vzhledem k vysoké hustotě a malé velikosti pórů není nutná impregnace [37,38]. Předúprava povrchu se však obvykle používá, a to k vytvoření aktivních a reprodukovatelných elektrod, ke zlepšení jejich elektroanalytických vlastností nebo za účelem regenerace povrchu v případě jeho pasivace, která je společným problémem všech pevných pracovních elektrod. Lze využít elektrochemické postupy i mechanické leštění povrchu.



Obrázek 5 Struktury osmi alotropů uhlíku: (A) diamant, (B) grafit, (C) Lonsdaleit, (D) C60 fuleren, (E) C540 fuleren, (F) C70 fuleren, (G) amorfni uhlík, (H) jedностěnná uhlíková nanotrubiце [39]

Řešením problémů s pasivací mohou být uhlíkové pastové elektrody (CPE), které se připravují smícháním grafitového prášku s různými s vodou nemísitelnými nevodivými organickými pojivy (pastovací kapaliny). Složení pasty silně ovlivňuje reaktivitu elektrody, přičemž zvýšení obsahu pastovací kapaliny snižuje přenosové rychlosti elektronů, stejně jako

příspěvky proudu pozadí. Současně může být elektroda snadno modifikována přimícháním modifikátoru přímo do pasty při přípravě [37]. Po skončení měření lze tuto pastu pomocí pístu vytlačovat z těla elektrody a zbytky odstraňovat filtračním papírem, takže obnovitelnost povrchu je velmi podobná jako u kapkové rtuťové elektrody. Na druhou stranu se tyto elektrody často vyznačují nízkou reprodukovatelností výsledků, nízkou mechanickou a chemickou odolností [40,41].

2.2 Borem dopovaná diamantová elektroda

Borem dopované diamantové elektrody (BDDE) byly zavedeny v oblasti elektroanalytické chemie na počátku 90. let 20. století [42–44]. Oproti jiným typům elektrod mají řadu výhod [45–48]:

- Chemická a elektrochemická stabilita: BDDE jsou vysoce stabilní v agresivních chemických a elektrochemických prostředích, jako je přítomnost silných kyselin, zásad nebo oxidačních činidel. Díky tomu jsou vhodné pro použití v široké škále aplikací.
- Široké potenciálové okno: BDDE mají široké využitelné potenciálové okno v anodické i katodické oblasti, což znamená, že je lze využít v širokém rozsahu potenciálů. Díky tomu jsou vhodné pro použití v elektrochemických procesech, které vyžadují vysoké potenciály nebo zahrnují tvorbu reaktivních meziproductů.
- Vysoká elektrická vodivost: BDDE mají vysokou elektrickou vodivost, která umožňuje účinný přenos elektronů mezi elektrodou a okolním roztokem. Díky tomu jsou ideální pro použití v elektrochemických reakcích, které zahrnují přenos elektronů, například při detekci nebo kvantifikaci analytů.
- Nízký proud pozadí: BDDE mají nízký proud pozadí, což umožňuje detekci nízkých hladin analytů v roztoku. To je zvláště důležité pro aplikace, kde je vyžadována vysoká citlivost.
- Biokompatibilita: BDDE jsou biokompatibilní, což znamená, že mohou být použity v biomedicínských aplikacích, aniž by způsobily významné poškození živých buněk nebo tkání. Díky tomu jsou vhodné pro použití v implantovatelných lékařských zařízeních nebo *in vitro* diagnostických testech.

Čistý diamant není elektricky vodivý materiál, je to izolant. Pro své elektrochemické využití musí být dopován atomy dalších prvků, nejčastěji borem. V závislosti na koncentraci atomů dopantu se liší elektrochemické vlastnosti výsledného elektrodového materiálu [49]. Převládající použití boru je spojeno s nízkou aktivační energií nosiče náboje 0,37 eV [50].

2.2.1 Příprava, vlastnosti a využití borem dopované diamantové elektrody

Diamantové vrstvy se nejčastěji připravují chemickou depozicí z plynné fáze (CVD), která využívá žhavená vlákna nebo mikrovlnné plazma. K růstu vrstvy dochází v prostředí směsi plynu obsahující uhlík (metan, acetylen apod.) a vodík, do které se přidává zdroj boru v plynné fázi (diboran, trymethylboran neboli trimatylborát z kapalné fáze) a další pomocné plyny (CO_2 , CO , H_2O). Substrát je nejčastěji vyroben z křemíku, keramiky, křemičitého skla, někdy též molybdenu nebo wolframu [49,51].

Jak bylo zmíněno výše, koncentrace boru v diamantové vrstvě má velký vliv na vlastnosti BDDE. Koncentrace boru ve vrstvě se označuje poměrem B/C a vyjadřuje se v jednotkách ppm, což představuje poměr atomů boru k atomům uhlíku v plynné směsi při depozici. Poměr B/C ovlivňuje morfologii, kvalitu a elektrochemické i spektrální vlastnosti vznikajících filmů. V posledních letech byly testovány filmy s obsahem boru přibližně od 1×10^{19} do $1 \times 10^{21} \text{ cm}^{-3}$ [52]. Když koncentrace boru klesla pod $1 \times 10^{19} \text{ cm}^{-3}$, vrstva vykazovala jasný valenční pás [53] a při koncentracích přibližně do $2 \times 10^{20} \text{ cm}^{-3}$ vykazoval diamantový film polovodičovou vodivost [53]. V praktických experimentech bylo zjištěno, že přechodový bod mezi polovodičovou a kovovou vodivostí se pohybuje v rozmezí $(1-3) \times 10^{20} \text{ cm}^{-3}$ [54,55], podle některých autorů i více (např. $4,5 \times 10^{20} \text{ cm}^{-3}$ [56]). Tato úroveň dopování borem se zdá být postačující pro rychlý přenos elektronů, což je charakteristické pro vodivost kovového typu. Vrstvy s koncentrací boru přesahující $3 \times 10^{20} \text{ cm}^{-3}$ jsou někdy označovány jako silně dopované [57]. Na toto téma bylo publikováno mnoho studií využívajících Ramanovu spektroskopii, skenovací elektronovou mikroskopii (SEM) nebo mikroskopii atomárních sil (AFM), impedanční spektroskopii (EIS), cyklickou voltometrii (CV) různých redoxních systémů a další metody [52,58–61]. Tyto práce ukázaly, že BDD filmy deponované v prostředí s poměrem B/C 500-1000 ppm poskytují polovodičovou vodivost a v prostředí s poměrem B/C 2000 ppm a vyšším kovovou vodivost. S rostoucí koncentrací boru v diamantovém filmu se využitelný rozsah potenciálu snižuje [52]. Obecně se elektrochemické vlastnosti elektrod zlepšují se zvyšujícím se poměrem B/C [58].

Neméně důležitý je proces předúpravy povrchu elektrody před jejím použitím. Nejčastěji může jít o anodickou nebo katodickou polarizaci, zařazení cyklické voltetrie nebo leštění [62]. Anodická předúprava se provádí při potenciálu větším než +2 V nebo při vysoké proudové hustotě, kdy je povrch BDDE obohacen atomy kyslíku, což umožňuje stabilizovat povrchové vlastnosti elektrody. Takto upravená elektroda se označuje jako O-terminovaná. V případě katodické předúpravy se používá polarizace při potenciálech menší než -2 V nebo

vysoká hustota katodického proudu. Povrch elektrody je obohacený vodíkem a nazývá se H-terminovaný [63]. Použití cyklické voltametrie pro předběžnou úpravu elektrody umožňuje stabilizovat její povrchové vlastnosti. Typicky se takové ošetření provádí v prostředí základního elektrolytu při rychlosti polarizace 100 mV s^{-1} a v širokém rozsahu potenciálů od $-(2-1)$ do $+(2-2,5)$ V [64,65]. Mechanická předúprava leštěním se výrazně liší od anodické předúpravy. Současně se rozlišují dva typy leštění: (i) leštění pomocí aluminy a (ii) chemicko-mechanické leštění. Při leštění pomocí aluminy je pozorován vliv povrchového nabíjení nebo změna polohy valenčního pásu pro anodizovaný povrch, což vede k vyšší rychlosti anodických procesů. Tento postup pravděpodobně vede k odstranění sp^2 hybridizovaného uhlíku s kyslíkovými funkčními skupinami, takže leštěné vrstvy mají nižší obsah kyslíkových funkčních skupin [66]. Tento typ předúpravy však není stabilní v čase a proudová hustota v následujících cyklech je menší než v prvním [62]. Leštění pomocí aluminy ovlivňuje pouze sp^2 hybridizovaný uhlík a připojené funkční skupiny, případně obsah nečistot na povrchu, nemění ale morfologii povrchu. Naopak chemicko-mechanické leštění [67] umožňuje vyhladit diamantové krystaly. Jako lešticí kapalina na polyuretanové/polyesterové podložce se používá alkalický koloidní oxid křemičitý. Tento typ leštění vede k rovnoměrnému rozložení vodivosti díky vyhlazení povrchu, zrychlení heterogenní kinetiky přenosu elektronů a zvýšení kapacity dvojvrstvy [68]. Na druhou stranu, chemicko-mechanické leštění vyžaduje speciální zařízení [69]. Katodická úprava ve srovnání s anodickou zajišťuje vyšší vodivost. Hydroxylové radikály, které obohatily povrch po anodické úpravě, jsou vysoce reaktivní a následně může mít povrch horší odezvu, protože není zcela inertní. Na druhou stranu H-terminovaný povrch není stabilní. Velice snadno se oxiduje jak na vzduchu, tak při měření v oblasti kladných potenciálů. Proto musí být H-terminovaný povrch obvykle vytvářen/udržován opakovaným zařazením katodické předúpravy před každým měřením [63]. Další možností povrchové úpravy BDDE je chemické (kovalentní) připojení aminoskupiny nebo karboxylové skupiny, které může sloužit např. k imobilizaci biomolekul jako je DNA či enzymy.

Díky svým vynikajícím vlastnostem našla BDDE široké uplatnění v elektroanalytické chemii. Navíc použití této elektrody ve voltametrické analýze může v některých případech nahradit rtuťové elektrody, což vede k větší šetrnosti k životnímu prostředí. V odborných časopisech bylo publikováno velké množství článků zaměřených na stanovení celé řady látek s využitím BDDE, např. léčiv, pesticidů, biomarkerů různých onemocnění, kontaminantů životního prostředí, karcinogenních a jinak zdraví nebezpečných látek. Byly stanovovány anorganické i organické látky a také biomolekuly. Publikované výsledky byly shrnuty v řadě přehledových článků, např. [62–65,70–78]. Dobrou perspektivu má rovněž uplatnění BDD při

čištění odpadních vod, zejména může být použit jako anodový materiál pro oxidaci organických polutantů [79–82].

2.2.2 Modifikace borem dopované diamantové elektrody

Současné požadavky na analytické metody vyvolávají značné úsilí o zlepšení selektivity a citlivosti dostupných voltametrických technik. Modifikace běžně používaných pracovních elektrod může být jedním z perspektivních směrů výzkumu v oblasti elektroanalytické chemie. Modifikace může být realizována s využitím elektrochemických, chemických, fotochemických nebo fyzikálních metod. Navázání organických funkčních skupin nebo biomolekul a elektrochemická depozice kovů nebo jejich oxidů jsou nejčastěji používanými postupy. Vzhledem k biokompatibilitě diamantu může být výhodné jeho použití pro vývoj *in vivo* senzorů. Proto jsou BDDE modifikovány také různými enzymy pro medicínské a diagnostické aplikace [74]. Stejně jako u jiných pracovních elektrod lze k modifikaci BDDE s odpovídajícími výhodami použít i různé typy uhlíkových nanomateriálů.

2.2.2.1 Modifikace nanočásticemi kovů a jejich oxidů

Modifikace BDDE kovovými nanočásticemi (MNPs) je jednoduchým způsobem ke zlepšení jejich elektrochemických a zejména elektrokatalytických vlastností. Nejčastěji se realizuje procesem elektrochemické depozice z roztoku kovových iontů [83,84], fyzikální depozicí [85,86] nebo implantací iontů [87,88]. Modifikace povrchu elektrody MNPs přináší řadu výhod. Mezi ně patří především velký aktivní povrch, který souvisí se zlepšením katalytické aktivity a nárůstem počtu aktivních míst ve vztahu k nemodifikované elektrodě. Modifikací povrchu BDDE lze dosáhnout rovněž zvýšení rychlosti přenosu náboje, zvýší se poměr signálu k šumu,lepší se difúze a selektivita. Kromě toho některé analyty, které neposkytovaly měřitelné signály na nemodifikované BDDE, lze stanovit pomocí modifikovaných elektrod, např. díky snížení aktivačního přepětí [9].

Elektrodepozice kovových nanočástic na povrch BDDE je velmi jednoduchý proces, který nevyžaduje žádné speciální nebo drahé vybavení. Lze využít různé substráty. Kromě BDDE byly nejčastěji používány elektrody z různých uhlíkových materiálů [89,90]. Důležité je, že řízením depozičních podmínek, zejména depozičního potenciálu a času, koncentrace kovu v roztoku nebo hodnoty pH média, lze dosáhnout relativně reprodukovatelné modifikace povrchu. Navíc je možné ovlivnit velikost výsledných nanočástic a také pokrytí povrchu elektrody [9,83,84].

Proces iontové implantace je mnohem složitější a vyžaduje náročnější a sofistikovanější vybavení ve srovnání s elektrodepozicí. Na druhou stranu poskytuje jednodušší a trvalejší modifikaci povrchu. Implantace se provádí vystavením povrchu BDDE bombardování kovovými ionty ze zdroje a modifikovaná elektroda je poté žíhaná při vysokých teplotách v přítomnosti vodíku [9,87,88]. Asi nejjednodušší možností je postup, kdy se nanočástice připravují samostatně a následně se fixují na povrch elektrody. MNPs se obvykle tvoří v koloidním roztoku, do kterého je elektroda ponořena, nebo je roztok aplikován na povrch elektrody a ponechá se zaschnout [91–94].

V případě modifikace BDDE byly nejčastěji používány následující kovy: zlato pro stanovení např. arsenu (III) [95], neuraminidázy [96], dopaminu [97] a malých organických sloučenin [98]; měď pro elektoredukci oxidu uhličitého [99]; palladium pro stanovení etanolu [100] a kyslíku [101]; platina pro stanovení amoniaku [102], neuraminidázy [103] a linuronu [104]; iridium pro elektoredukci oxidu uhličitého [105] a stanovení arsenu (III) [106]; stříbro ke stanovení cholesterolu [107]; nikl pro stanovení L-alaninu [108] a glukózy [109]; bizmut pro stanovení těžkých kovů [83,110–112].

První zmínka o modifikaci BDDE pomocí nanočástic oxidů kovů (MONP) byla publikována v roce 2001, kdy autoři zkoumali elektrokatalytické vlastnosti oxidů ruthenia a iridia jako katalyzátorů elektoredukce chloru [113]. Hlavní výhodou MONP je větší stabilita oproti MNP. Zatímco kovové nanočástice se mohou při anodických procesech rozpouštět do roztoku ve formě iontů, MONP jsou výrazně stabilnější [113]. V literatuře bylo popsáno například využití oxidů iridia pro stanovení arsenu (III) [114] a rtuti (I) [115], ruthenia pro elektoredukci oxidu uhličitého [116], mědi pro elektoredukci oxidu uhličitého [117,118], zinku pro oxidaci anilinu [119], titanu jako katalytického materiálu pro palivové články [120] a železa pro stanovení biomarkeru rakoviny interleukinu-8 [121].

2.2.2.2 *Modifikace organickými molekulami a biomolekulami*

Dalším způsobem modifikace povrchu BDDE je navázání různých organických molekul a biomolekul na jejich povrch. Existuje mnoho způsobů, jak získat takto modifikované elektrody. Vhodný modifikátor může být inkorporován do polymerního filmu pokrývajícího elektrodu. Dále je možné využít kovalentní (chemickou) vazbu modifikátoru k povrchu elektrody. V tomto případě je důležité zvolit vhodnou funkční skupinu použitého modifikátoru. Další možností je fyzikální adsorpce nebo spontánní chemisorpce modifikátoru [36,122].

Adsorpce elektroaktivních látek je velmi jednoduchý způsob modifikace elektrodového povrchu. Je to proces řízený rovnováhou. Modifikátor je často slabě vázán na povrch elektrody,

což obvykle vede v relativně krátké době k jeho desorpci. Při chemisorpci se uplatňují valenční síly stejného druhu, které působí při tvorbě chemických sloučenin. Vzniklý chemický film je pak silně a v ideálním případě nevratně adsorbován na povrchu elektrody, a to obvykle v jedné vrstvě. Tento typ modifikace zahrnuje také tzv. samo-uspořádané vrstvy (self-assembled monolayers, SAMs), ve kterých jsou nekorelované molekuly spontánně chemisorbovány na specifických místech na povrchu elektrody [122]. Ještě pevnějšího navázání modifikátoru k povrchu elektrody lze dosáhnout kovalentní vazbou požadované složky na povrchové skupiny přítomné nebo vytvořené přímo na substrátu. Tyto kovalentní vazebné postupy často využívají např. organosilany. Povrch substrátu je v tomto případě obvykle předupraven například oxidační reakcí, aby se vytvořily potřebné povrchové skupiny. Poté se přidá vazebné činidlo a požadovaný modifikátor [36]. Pomocí vrstev polymerů je možné vytvořit na povrchu elektrody poměrně silné filmy, které obsahují mnohem více elektroaktivních center než monovrstva. Na povrchu elektrody lze připravit různé typy polymerů, například elektroaktivní polymery obsahující oxidovatelné nebo redukovatelné skupiny kovalentně navázané na kostru polymeru, koordinační polymery obsahující skupiny, které mohou vázat např. ionty kovů a přenášet je do polymerní matrice, iontoměničové polymery obsahující nabitá centra, která mohou vázat ionty z roztoku prostřednictvím procesu iontové výměny, biologické polymery (enzymy nebo proteiny) používané pro vývoj biosenzorů atd. [36].

Příkladem modifikace polymery může být využití nafionu pro stanovení paracetamolu a kyseliny askorbové [123] nebo dopaminu [124], poly-L-lysinu pro stanovení guaninu a adeninu [125], polyanilin-poly(vinyl sulfonátu) pro tyrosinový biosenzor [126], hemoglobinu pro syntézu nanočástic stříbra [127], tyrozinázu pro stanovení fenolických látek [128] nebo DNA pro hybridizační senzor [129] aj.

2.2.2.3 Modifikace uhlíkovými materiály

BDD má za normálních okolností hybridizaci sp^3 , ale jeho modifikací sloučeninami uhlíku je možné získat kombinovanou vodivost sp^2 a sp^3 fáze. Tyto sloučeniny obvykle zahrnují různé alotropní modifikace uhlíku, zejména grafen, uhlíkové nanotrubičky a různé další uhlíkové materiály [38,130]. Ty vykazují vynikající vlastnosti, jako je velký povrch, vysoká elektrická vodivost, mobilita elektronů při pokojové teplotě, flexibilita a mechanická stabilita, což je činí velmi atraktivními v oblasti senzorů.

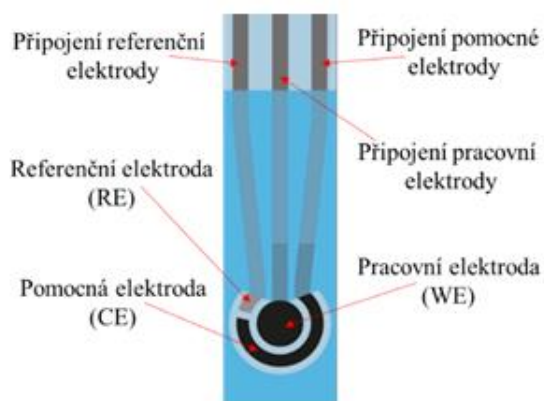
Příkladem modifikace může být využití nano-uhlíkové černi, kdy byla připravená suspenze v chloroformu nanosená na povrch BDDE a ponechána k vyschnutí na vzduchu. Takto modifikovaná elektroda byla použita pro stanovení kyseliny chlorogenové [130]. Dalším

rozšířeným modifikátorem je grafen, a to díky svým jedinečným morfologickým charakteristikám, chemické stabilitě a vysoké elektrické vodivosti. Velký povrch ve spojení s vynikajícími elektrochemickými vlastnostmi grafenu zlepšuje rychlost přenosu elektronů a citlivost detekce. Modifikace grafenem může být provedena například elektrochemickou depozicí z roztoku obsahujícího oxid grafenu při vhodném konstantním potenciálu. Touto cestou připravená elektroda byla použita pro stanovení pesticidů karbaryl a paraquat [131]. Dále byly použity uhlíkové nanočástice pro stanovení pesticidů [132], uhlíkové nanotrubičky pro stanovení glukózy [133], grafenové nanostěny pro stanovení 2,4,6-trinitrotoluenu a 2,4,6-trinitroanisolu [134] nebo vícevrstvé uhlíkové nanotrubičky pro stanovení ciprofloxacinu [135].

Podrobně byla problematika modifikace BDDE zpracována v rámci této disertační práce do přiloženého přehledového článku s názvem „Recent advances in modified boron-doped diamond electrodes: A review“ [136] (Příloha č. 2).

2.3 Tištěné senzory

V současné době je jedním z významných trendů v analytické, a tedy i elektroanalytické chemii, miniaturizace analytických systémů (snížení objemu vzorku, redukce samotného analytického zařízení). Tyto potřeby mohou do značné míry uspokojit senzory, které se vyrábí pomocí sítotisku. Tištěné senzory (SPE) umožňují provádět analýzu přímo v místě odběru vzorků s využitím přenosných analyzátorů. Může se jednat jak o analýzu složek životního prostředí (řeka, jezero atd.), tak o tzv. medicínskou diagnostiku přímo v ordinacích lékařů (point-of care testing, POCT) při analýze krve či moči pacienta. Hlavní výhodou SPE je nízká cena, jednoduchý design na míru a možnost snadné sériové výroby, díky čemuž je lze použít jako jednorázové senzory [137–141]. Základní schéma tištěného senzoru je znázorněno na obrázku 6.



Obrázek 6 Obecné schéma tištěného senzoru

SPE jsou připravovány pomocí různých inkoustů nanášených na povrch polyvinylchloridu nebo keramického substrátu. Volba inkoustu závisí na konečném použití senzoru. Pomocí sítotisku lze připravit celý elektrodový systém – referentní, pracovní i pomocnou elektrodu na jeden substrát. Pracovní elektrodou mohou být kovy (platina, zlato, stříbro a další) [142–148], uhlíkové materiály (uhlík, grafit) [149–153], amalgam [31,34] aj. Vždy záleží na konkrétní aplikaci, jaká pracovní elektroda je vhodná. Jako pomocná elektroda se používá většinou uhlík, vzhledem k tomu, že se snadno nanáší technologií sítotisku. Lze ale použít i jiné materiály, např. kovy nebo diamant [154,155]. Jako referentní elektroda se nejčastěji používá stříbro, přestože má řadu nevýhod. Stříbro nemůže držet konstantní potenciál stabilně a rozpouští se ve většině agresivních prostředí [156,157]. Pro zlepšení vlastností referentní elektrody lze stříbro elektrochemicky rozpustit do chloridu stříbrného nebo lze na povrch nanést pomocí technologie tisku vrstvu chloridu stříbrného. Taková elektroda se označuje jako pseudo-referentní elektroda a svými vlastnostmi se více blíží klasické argentchloridové elektrodě [156,157].

SPE senzory mohou být navrženy tak, aby detekovaly širokou škálu analytů, včetně plynů, kapalin a biomolekul. Mohou se používat při diagnostice v místě péče, monitorování životního prostředí, bezpečnosti potravin a v dalších oblastech, které vyžadují rychlá, levná a přenosná snímací zařízení. V literatuře byla popsána řada aplikací tištěných senzorů v různých oblastech analýzy. Pro stanovení iridia v lécích [158] nebo hydralazinu hydrochloridu [159] byl použit tištěný senzor s uhlíkovou pracovní elektrodou. Senzor, kde je pracovní elektroda tvořena filmem bismutu a antimonu byla aplikována pro stanovení olovnatých iontů [160]. Ke stanovení kyseliny askorbové byl testován SPE s elektrodou z oxidu rutheničitého [161]. Pro stanovení jodidů bylo popsáno využití senzoru s pracovní elektrodou z platiny, grafitu nebo zlata [162]. Protinádorové léčivo methotrexát byl stanovován pomocí SPE s elektrodou z vícestěnných uhlíkových nanotrubiček [163]. Celkově jsou SPE senzory všestranným a rychle rostoucím oborem sensorové technologie, která má potenciál pro uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích, při kontrole kvality potravin, monitorování škodlivých látek v jednotlivých složkách životního prostředí nebo v oblasti biomedicínské a medicínské diagnostiky tím, že poskytuje rychlá, levná a přenosná detekční a snímací zařízení [164].

Jak již bylo uvedeno výše, volba vhodného senzoru, resp. pracovní elektrody je zásadní pro úspěšnou aplikaci. Velkým přínosem v této oblasti mohou být tištěné senzory s pracovní elektrodou z borem dopovaného diamantu, jejíž výjimečné vlastnosti byly popsány v předchozí kapitole. Hlavními výhodami těchto senzorů by byla vysoká citlivost, reprodukovatelnost a stabilita. Diamantová elektroda může být na SPE nanášena tiskem aplikací inkoustů

obsahujících BDD prášek nebo častěji technikou CVD [165]. V literatuře je popsáno využití komerčně dostupných senzorů s touto pracovní elektrodou od firmy DropSens, a to zejména při stanovení léčiv [153,164–166]. V současné době však již tyto senzory nejsou dostupné, protože jejich výroba byla ukončena.

V rámci této disertační práce budou představeny nové laboratorně připravené tištěné senzory s BDDE (LM-SP/BDDE) vyráběné na Slovenské technické univerzitě, Fakultě elektroniky a informatiky, Ústavu elektroniky a fotoniky (Slovak Diamond Group) v Bratislavě skupinou Ing. M. Vojse, Ph.D. Příprava, charakterizace, testování a aplikace těchto nových senzorů byla popsána v příložených publikacích autora [167–169]. V posledních dvou letech se využití těchto senzorů rozšiřuje i na dalších pracovištích [170–172].

2.4 Studované látky

2.4.1 Mefenoxalon

Mefenoxalon (MNL, schéma 1, název IUPAC: 5-[(2-methoxyphenoxy)methyl]-1,3-oxazolidin-2-one) je svalový relaxant, který se používá ke zmírnění svalových křečí a bolesti, pomáhá při úzkosti u lidí [173–175]. Působí tlumením centrálního nervového systému, což vede ke snížení svalového tonu a uvolnění kosterního svalstva [176–179]. Má relaxační vlastnosti pro svaly a poskytuje výraznou sedaci, aniž by způsoboval vážné vedlejší účinky [178,180]. MNL v kombinaci s paracetamolem má analgetický charakter [181]. Obvykle se používá v kombinaci s fyzikální terapií a dalšími léčbami ke zvládnutí muskuloskeletálních poruch, jako jsou bolesti zad, bolesti krku a svalové napětí. Většinou pacientů je obecně dobře snášen, i když u některých jedinců může způsobit závratě, ospalost a další vedlejší účinky. Studie na psech a potkanech ukázaly, že dlouhodobá expozice MNL vede u těchto zvířat k anémii, ztrátě hmotnosti, hemolytické anémii a smrti [173,174,182,183]. Široké používání tohoto léčiva spolu s možnými vedlejšími účinky vyžaduje jasnou a přesnou kontrolu úrovně koncentrace MNL ve farmaceutických produktech, biologických vzorcích a také v životním prostředí.

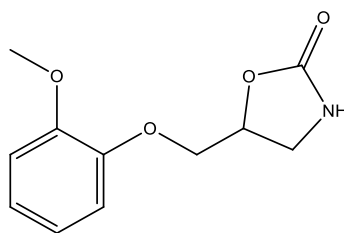


Schéma 1 Chemická struktura mefenoxalonu

V literatuře byly popsány různé instrumentální metody pro stanovení MNL. Nejčastěji se uvádí vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s fluorescenční detekcí [176,184,185]. Dále byly popsány postupy využívající UV spektrofotometrii [175,186], nukleární magnetickou rezonanci (NMR) [187], kolorimetrii [179], potenciometrii [179,186] a fluorimetrii [186]. Většina prezentovaných metod je přesná, citlivá a selektivní. Na druhou stranu jsou také drahé, instrumentálně náročné, časově náročné a často vyžadují komplikovanou přípravu vzorku před analýzou. Protože MNL je elektroaktivní sloučenina, mohou být přijatelnou alternativou elektrochemické metody, které se vyznačují přesností, rychlostí, jednoduchostí, nízkou cenou a relativně jednoduchou přípravou vzorku. Doposud neexistují žádné informace o elektrochemickém chování MNL. V literatuře také chybí informace o možnosti jeho voltametričkého stanovení.

2.4.2 Atomoxetin

Atomoxetin (ATX, schéma 2, název IUPAC: (R)-N-methyl-3-fenyl-3-(o-tolyloxy)propan-1-amin) je lék používaný k léčbě příznaků hyperkinetické poruchy známé jako ADHD nebo porucha pozornosti s hyperaktivitou [188]. Jde o centrální sympatomimetikum působící s vysokou afinitou a selektivitou k inhibici zpětného vychytávání noradrenalinu a blokování presynaptického noradrenalinového transportéru [189,190]. ATX používaný v léčbě ADHD je zodpovědný za zvýšení hladin noradrenalinu a dopaminu [191]. Na rozdíl od jiných je výhodou tohoto léčiva, že není návykové [192,193]. Na druhou stranu může ATX mít řadu vedlejších účinků, včetně zažívacích potíží, ztráty hladu, bolestí hlavy, sucha v ústech, nepříznivých změn chování, poruch spánku a alergických reakcí. Dalším závažnějším vedlejším účinkem je zvýšené riziko „myšlenek na smrt“ (tj. „sebevražedných myšlenek“). Nejvíce postiženou skupinou, u které byly pozorovány sebevražedné myšlenky v důsledku pravidelného užívání tohoto léku, jsou děti ve věku 7-12 let. Proto se doporučuje zvýšený dohled nad těmito dětmi či dospívajícími, ať už ze strany lékařů nebo rodičů [194].

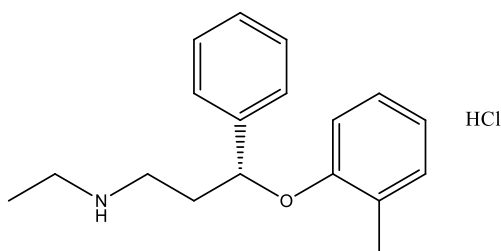


Schéma 2 Chemická struktura atomoxetinu

Vzhledem k výše uvedeným informacím je nutné mít k dispozici citlivé analytické metody pro stanovení ATX v dostupných léčivých přípravcích pro kontrolu jejich kvality a ověření obsahu účinné složky léčiva v různých lékových formách i pro analýzu biologických a environmentálních vzorků. HPLC ve spojení s různými detektory je nejčastěji používanou metodou pro stanovení ATX v biologických i farmaceutických vzorcích. Většina autorů použila kombinaci HPLC s UV [195–199] nebo fluorescenčním detektorem [200–202]. Velmi nadějnou metodou je také HPLC spojená s hmotnostní spektrometrií (MS) [203–206]. Samozřejmě lze použít i detektor diodového pole (DAD) [199]. Kromě chromatografických metod bylo popsáno stanovení ATX pomocí fluorimetrie [207,208] nebo spektrofotometrie [208]. Dále byla aplikována kapilární zónová elektroforéza [209] a potenciometrie pomocí uhlíkové pastové elektrody modifikované nanočásticemi TiO₂ [210].

V literatuře byl nalezen pouze jeden článek, který se zabývá studiem voltametrického chování ATX a vývojem metody pro jeho stanovení [211]. Autoři použili GCE a zjistili, že ATX poskytuje dobře vyvinutý oxidační pík při *cca.* +1500 mV v prostředí 0,1 mol L⁻¹ HClO₄. V nevodném médiu (acetonitril) byly zaznamenány dva ireverzibilní oxidační píky. Autoři navrhli mechanismus oxidace ATX na základě předpokladu, že sekundární a terciární aminy mohou být oxidovány v acetonitrilu za vzniku odpovídajících aldehydových a aminových derivátů [212]. Pomocí diferenční pulzní voltametrie (DPV) byl získán lineární dynamický rozsah (LDR) od 1×10⁻⁴ do 1×10⁻³ mol L⁻¹ a byl vypočten limit detekce (LOD) 6,9×10⁻⁵ mol L⁻¹. Autoři úspěšně aplikovali navrženou metodu při analýze vzorků léčiv [211].

2.4.3 Tritikonazol

Tritikonazol (TTC, schéma 3, název IUPAC: *rac*-(5*E*)-5-(4-chlorobenzylidene)-2,2-dimethyl-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) cyclopentanol) je systémový fungicid používaný v zemědělství k ochraně plodin před různými houbovými chorobami [213,214]. Patří do skupiny triazolových fungicidů, které inhibují biosyntézu ergosterolu, důležité složky buněčných membrán hub [215]. TTC je účinný proti širokému spektru houbových patogenů, včetně *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* a *Deuteromycetes*. Běžně se používá k ochraně plodin, jako jsou obiloviny, olejnatá semena, ovoce a zelenina, a je k dispozici v různých formách, včetně kapalin, emulgovatelných koncentrátů a granulí [216–218]. První zmínka o TTC byla v roce 1994 [216], kdy se používal k ošetření semen kukuřice [216,217]. Ačkoli patentové použití triazolových fungicidů, včetně TTC, se objevilo až v roce 2005 [218]. Vzhledem k velkému využití představuje potenciálně nebezpečnou látku pro životní prostředí, a přestože vykazuje nízkou rozpustnost ve vodě, při seti ošetřených obilovin se může během deště dostat

do půdy a později do vodních ploch [219,220]. Při vysoké koncentraci může TTC působit jako endokrinní disruptor [213,221–223], což jsou látky narušující syntézu, sekreci, transport, vazbu, působení nebo vylučování přirozených hormonů v těle a tím negativně ovlivňují vývoj, chování, plodnost a udržování homeostázy [224]. Riziko souvisí i s kumulativní expozicí triazolovým fungicidům a jejich metabolitům [225] nebo jejich komplexům s ionty kovů (např. Zn nebo Cu), které mění jejich chování v prostředí a biologickou aktivitu [226,227].

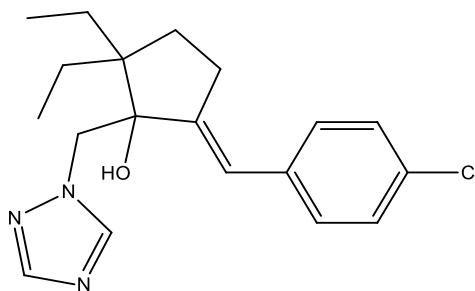


Schéma 3 Chemická struktura tritikonazolu

Chromatografické metody ve spojení s různými detektory se nejčastěji používají ke stanovení TTC v různých typech vzorků, např. extraktech ovoce a zeleniny, půdě nebo biologických vzorcích, jako je plazma a tkáň. Konkrétně byly aplikovány HPLC s UV detektorem [228–231], superkritická kapalinová chromatografie [231,232] a HPLC s MS detektorem [233,234]. Enantioselektivní separace R bylo dosaženo pomocí LC-MS/MS a byla rozpoznána rychlejší rychlost degradace S-tritikonazolu ve srovnání s R-izomerem [235]. Další metodou popsanou pro stanovení TTC byla fluorescenční spektroskopie [236]. Tyto metody se vyznačují vysokou citlivostí, přesností a selektivitou analýzy, ale mají také významné nevýhody, jako je velmi drahé a náročné vybavení, pracnost, komplikovaná příprava vzorku a dlouhá doba analýzy. Voltametrické stanovení TTC nebylo doposud v literatuře popsáno.

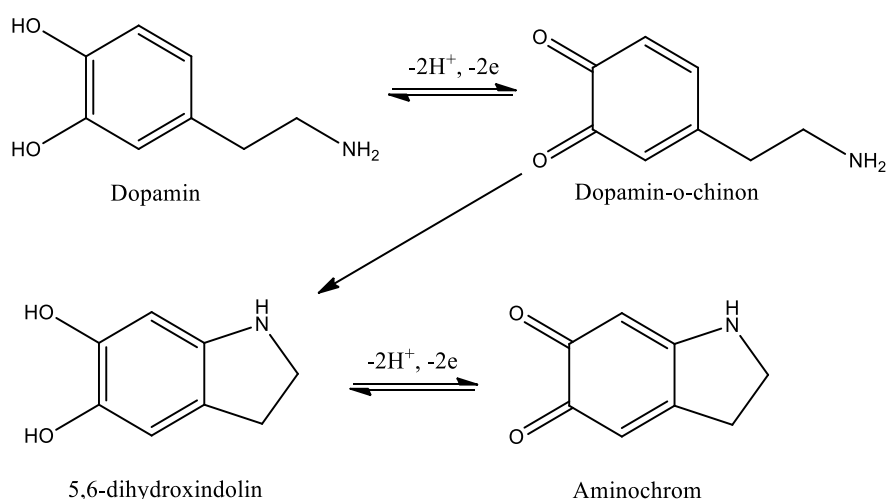
2.4.4 Dopamin

Dopamin (DA, obrázek 7, název IUPAC: 4-(2-aminoethyl)benzen-1,2-diol) je neurotransmitter, který se účastní široké škály fyziologických a behaviorálních procesů, včetně pohybu, motivace, odměny a posilování chování [237,238]. Je to chemický posel, který přenáší signály mezi nervovými buňkami v mozku a hraje klíčovou roli v regulaci nálady, pozornosti a poznávání [239]. DA je produkován v mozku skupinou buněk známých jako dopaminergní neurony. Tyto neurony se nacházejí v různých oblastech mozku, včetně *substantia nigra* a ventrální tegmentální oblasti. Uvolňování DA v reakci na určité podněty, jako je jídlo, sex

nebo zneužívání drog, vyvolává pocit potěšení a posiluje chování. DA se také podílí na regulaci pohybu a jeho nedostatek v mozku je spojen s Parkinsonovou chorobou, progresivní neurologickou poruchou charakterizovanou třesem, ztuhlostí a potížemi s pohybem. Nadměrná dopaminová aktivita se také podílí na určitých psychiatrických poruchách, jako je schizofrenie, která se vyznačuje bludy, halucinacemi a narušeným myšlením [240,241].

Analytické metody používané pro stanovení dopaminu zahrnují různé instrumentální metody jako např. ultrafialovou (UV) a viditelnou (VIS) spektroskopii [242,243] nebo fluorimetrii využívající fluorescenční vlastnosti DA [244,245]. K separaci a stanovení DA byly použity chromatografické techniky [246–248].

Elektrochemická oxidace DA [249] na povrchu elektrody vede ke vzniku řady oxidačních produktů, včetně dopamin-o-chinonu, 5,6-dihydroxindolinu, a aminochromu. Mechanismus elektrochemické oxidace DA je znázorněna na obrázku 7. Tato reakce DA může být využita v různých aplikacích, včetně detekce dopaminu v biologických tekutinách, syntézy nových sloučenin s možnými farmaceutickými aplikacemi a vývoje elektrochemických biosenzorů pro detekci onemocnění souvisejících s DA [250]. Například byly vyvinuty elektrochemické senzory pro detekci DA v krvi a moči [251–253]. Díky dobré znalosti oxidačního mechanismu se také používá jako redoxní marker při charakterizaci a testování nových elektrodových materiálů [254–257]. Jeho redoxní cyklus lze využít k hodnocení reaktivity a elektrokatalytické aktivity materiálů používaných při výrobě elektrod a obecně k hodnocení jejich elektrochemických vlastností.



Obrázek 7 Mechanismus elektrochemické oxidace dopaminu [249]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

Zásobní roztok $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl byl připraven rozpuštěním odpovídajícího množství prášku (Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o., Česká republika) v destilované vodě. Standardní roztoky $0,625$ a $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ (oba s čistotou $> 99 \%$, Sigma-Aldrich) byly připraveny rozpuštěním v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl. Brittonův-Robinsonův pufr (BRB) byl složený ze směsi kyselé a alkalické složky. Kyselá složka byla tvořena směsí H_3PO_4 ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$), H_3BO_3 ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$) a CH_3COOH ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$), kdy zásobní roztok byl připraven ředěním koncentrovaných kyselin (85% H_3PO_4 , 99% CH_3COOH , Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o., Česká republika) a rozpuštěním navážky H_3BO_3 (Sigma-Aldrich). Alkalickou složku představoval roztok NaOH o koncentraci $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o., Česká republika). Roztoky HNO_3 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), H_2SO_4 ($0,1$ a $0,05 \text{ mol L}^{-1}$), HCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) a HClO_4 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) byly připraveny ředěním koncentrovaných kyselin (65 % HNO_3 , 96 % H_2SO_4 , 35 % HCl, 64,5 % HClO_4 , všechny od Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o., Česká republika). Zásobní roztoky $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ MNL (čistota $> 99 \%$, Sigma-Aldrich), TTC (čistota $> 99 \%$, Sigma-Aldrich), ATX (čistota $> 99 \%$, Sigma-Aldrich) a DA (čistota $> 99 \%$, Sigma-Aldrich) byly připraveny rozpuštěním pevné látky v acetonitrilu (Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o., Česká republika) a skladovány v lednici ($+4 \text{ }^\circ\text{C}$) bez přístupu světla. Roztoky nižší koncentrace byly připravovány každý den čerstvé ředěním základním elektrolytem.

Byly analyzovány různé farmaceutické a pesticidní přípravky. Konkrétně se jednalo o farmaceutické přípravky Dimexol 200 mg (Glenmark Pharmaceuticals Distribution s.r.o., Česká republika) s účinnou látkou MNL (výrobcem deklarovaný obsah 200 mg) a Strattera 60MG (Eli Lilly, Česká republika) s účinnou látkou ATX (60 mg). Jako matrice pro analýzu biologického vzorku bylo použito biokomplexní sérum Human I (od společnosti Biosystems S.A., Španělsko). Dále byl analyzován komerčně dostupný pesticidní přípravek Saprol (Substral, Francie) s účinnou látkou TTC (10 g) prodáváný ve formě emulze.

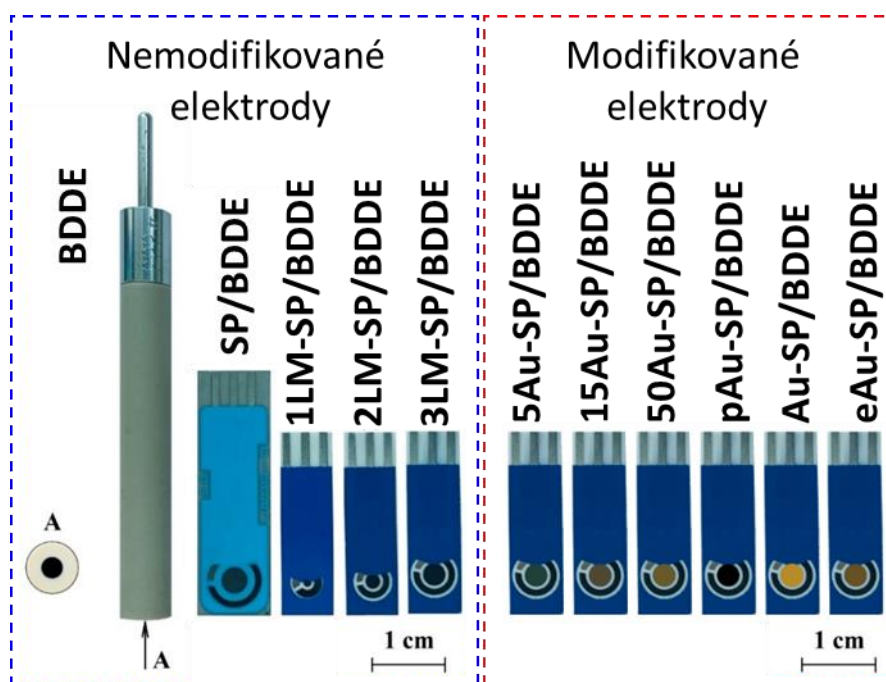
Pro elektrodepozici zlatých nanočástic (AuNPs) byl použit roztok $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich) o koncentraci 1 mol L^{-1} v $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ H_2SO_4 (Ing. Petr Švec – PENTA s.r.o., Česká republika). Pro odstranění AuNPs z povrchu elektrody byl použit $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCN (Sigma-Aldrich).

Ke studiu mechanismu elektrochemické oxidace MNL byl k extrakci použit ethylacetát (čistota 99,8 % od Sigma-Aldrich) a při derivatizaci produktů N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoracetamid (čistota ≥ 99 % od Sigma-Aldrich), pyridin (čistota $\geq 99,9$ % od Sigma-Aldrich) a hexan (čistota ≥ 95 % od Sigma-Aldrich). Tetrabutylamonium hexafluorofosfát (TBAPF₆) (čistota ≥ 99 % od Sigma-Aldrich) a acetonitril (bezvodý, obsah vody $< 0,001$ %, Sigma-Aldrich) byl použit pro spektroelektrochemická měření.

3.2 Přístrojové vybavení

Voltametrická měření byla provedena pomocí analyzátoru Autolab PGSTAT204 s modulem elektrochemické impedanční spektroskopie (EIS) FRA32M (Metrohm Autolab, Nizozemsko) vybaveného softwarem Nova 2.1.5. V případě konvenčního tříelektrodového uspořádání elektrochemického článku, BDDE (BioLogic, Francie, povrch 7,07 mm², vnitřní průměr 3 mm, měrný odpor 0,075 Ω cm s poměrem B/C při depozici 1000 ppm) byla použita jako pracovní elektroda (WE), nasycená argentchloridová elektroda (Ag/AgCl/KCl(sat.)) jako referenční (RE) a platinový drátek jako pomocná elektroda (CE) (obě Monokrystaly, Česká republika). Kromě toho byly použity následující dva typy tištěných senzorů s BDDE: (i) komerčně dostupné SPE (SP/BDDE, Metrohm/DropSens, Česká republika) s BDD WE (povrch 10,17 mm², vnitřní průměr 3,6 mm, B/C nebylo výrobcem specifikováno), uhlíkovou CE a stříbrnou RE a (ii) laboratorně připravené SPE (LM-SP/BDDE) tvořené z BDD jako WE i CE a Ag/AgCl pseudo-RE. Byly testovány 3 typy LM-SP/BDDE s různou plochou pracovní elektrody (0,785; 3,14 a 7,07 mm², vnitřní průměr 1, 2 a 3 mm, B/C 312 500 v plynné fázi při depozici, měrný odpor 0,017 Ω cm). Všechny testované senzory jsou znázorněny na obrázku 8. Pro modifikaci AuNPs byly použity senzory 3LM-SP/BDDE. Vakuové napařování bylo použito k modifikaci síťotiskových senzorů se AuNPs různých velikostí (nAu-SP/BDDE, kde n = 5, 15 a 50 nm označuje tloušťku zlaté vrstvy nanosené fyzikálním napařováním) a s nanoporézními nanočásticemi zlata (pAu-SP/BDDE). Pro srovnání byly použity i SP/BDDE modifikované zlatými nanočásticemi elektrochemickou depozicí (eAu-SP/BDDE) a SP/BDDE se souvislou vrstvou zlata na povrchu WE (Au-SP/BDDE).

Preparativní elektrolýza probíhala s využitím přístroje Autolab PGSTAT128N (Metrohm Autolab, Nizozemsko) ve dvoukomorové cele s katodovým a anodovým prostorem odděleným skleněnou fritou (obrázek 9). Jako pracovní anoda a pomocná katoda byly použity dvě velkoplošné BDDE (povrch 400 mm², B/C 312 500, měrný odpor 0,017 Ω cm), jako referenční elektroda byla použita Ag/AgCl/KCl(sat.).



Obrázek 8 Aplikované senzory



Obrázek 9 Elektrochemický článek pro preparativní elektrolyzu s velkoplošnými BDD

Elektronová mikroskopie (JEOL 7500f, úhel pohledu 45° od společnosti JEOL Ltd., Tokio, JP) byla použita ke zkoumání morfologie povrchu a tloušťky filmu BDD. Analýza velikosti AuNPs byla provedena pomocí softwaru ImageJ (od National Institutes of Health a Laboratory for Optical and Computational Instrumentation, University of Wisconsin). Distribuce velikosti nanočástic (nejméně 50 kusů) na povrchu elektrody byla analyzována pomocí Gaussovské funkce v programu OriginPro 9.0 (společnost OriginLab Corporation,

Northampton, USA). Chemická struktura deponovaných filmů byla hodnocena Ramanovou spektroskopií (633 nm Dilor systém, průměr bodu 5 μm , Spectroscopy&Imaging, Německo).

Kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II Prime LC System (Agilent, Spojené státy americké) s DAD detektorem byl použit pro HPLC srovnávací analýzu modelových roztoků i reálných vzorků. Pro analýzu oxidačních produktů MNL byl použit plynový chromatograf Agilent 7890A s hmotnostním selektivním detektorem (MSD) Agilent 5975C (Agilent, Santa Clara, CA, USA). K přípravě roztoků sloužil pH-metr Accumet AB150 (Fisher Scientific, Česká republika) a ultrazvuková lázeň Bandelin Sonorex (Schalltec GmbH, Německo).

Spektroelektrochemická absorpční spektra byla získána pomocí spektrometru Nicolet iS50 FTIR (Fourier transform infrared) v rozsahu vlnočtů 4000-650 cm^{-1} .

3.3 Příprava tištěných senzorů

3.3.1 Tištěné senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou

Výroba tištěných senzorů probíhala v rámci stáže pod vedením Dr. Mariana Vojse na Slovenské technické univerzitě v Bratislavě (Slovak Diamond Group). Všechny jednotlivé kroky přípravy sítotiskového senzoru s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou (LM-SP/BDDE) jsou znázorněny ve schématu 4. Depozice BDD byly prováděny v lineárním anténním reaktoru metodou mikrovlnné plazmové chemické depozice par (MWCVD) s použitím 6 kW mikrovlnného výkonu (2×3 kW s časováním 8 ms On/6 ms Off a 50 % změnou fáze pro každou ze dvou antén), po dobu 30 hodin při teplotě substrátu 590 °C a tlaku 30 Pa. Koncentrace trimethylborátu jako zdroje boru (TMBT, Sigma-Aldrich, $\geq 99,0\%$) odpařeného a zavedeného do komory byla 1 % a koncentrace CO_2 byla 0,2 % vzhledem k vodíku tvořícímu pozadí. Výsledný poměr B/C v plynné směsi TMBT/ CO_2 / H_2 byl 312 500 ppm.

Stříbrná elektroda a izolační vrstva byly natištěny sítotiskovou technikou (Oddělení polygrafie a aplikované fotochemie (ÚPSP FCHPT) pod vedením Dr. M. Hataly). Pro sítotisk byla použita šablona připravená fotochemickou metodou pomocí šablony pozitivního filmu a světlocitlivé emulze FOTECOAT 1019 BLUE (SPT Sales + Marketing, Heidelberg, Řecko). Proces tisku byl realizován pomocí poloautomatického tiskového stroje (ATMA TY-600H, Taiwan) vybaveného vakuovým stolem pro fixaci substrátů. Byla použita polyuretanová stěrka SERILOR HR1 P0 85 °Sh (Fimor, Le Mans, Francie).

Pro přípravu RE byly použity stříbrná tiskařská pasta AST6025 (SunChemical, USA) a polyesterová síťovina s počtem nití 71 cm^{-1} (SEFAR PME 71-48Y, Švýcarsko). Dvě vrstvy byly natištěny metodou „wet-on-wet“. Pro podporu vyrovnání byla vrstva ponechána po tisku při pokojové teplotě po dobu 5 minut a následně vysušena v laboratorní sušárně UN 55 (MEMMERT, Německo) při $150 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 30 minut. Transformace Ag na Ag/AgCl byla provedena elektrochemicky tzv. chloračním procesem – chronoamperometrií s RE zapojenou jako WE v neustále míchaném $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ roztoku KCl při aplikovaném potenciálu $+700 \text{ mV}$ po dobu 30 s.

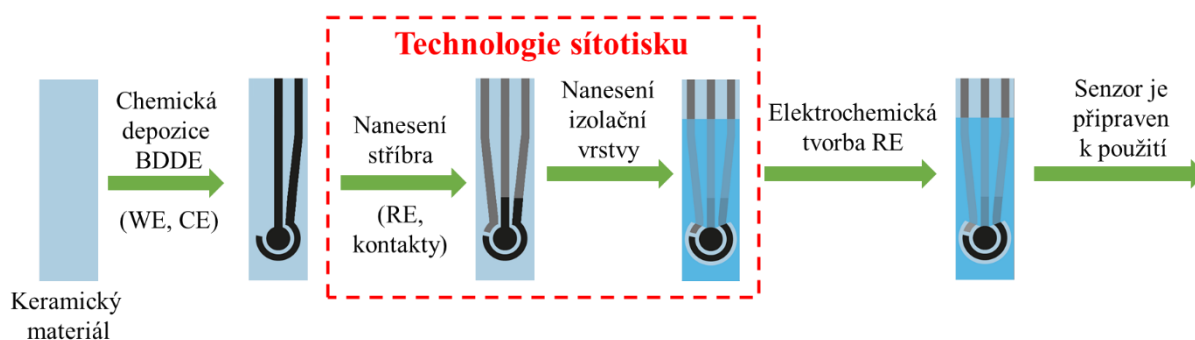


Schéma 4 Příprava LM-SP/BDDE

Pro přípravu izolační vrstvy byla použita sítotisková pasta na silikonové bázi s minerálním plnivem 240-SB (FERRO, USA). Tisk dvou vrstev metodou „wet-on-wet“ byl proveden pomocí polyesterové síťoviny s počtem nití 32 cm^{-1} (SEFAR PET 1500 32-70Y, Švýcarsko). Po vyrovnávací podpoře (5 minut při teplotě místnosti) byla vrstva sušena v laboratorní sušárně UN 55 (MEMMERT, Německo) při $150 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 120 minut.

3.3.2 Tištěné senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi

Modifikace BDDE nanočásticemi zlata (AuNP) a porézními nanočásticemi (pAuNP) byla provedena během výroby tištěného senzoru, konkrétně po deponování vrstvy BDD metodou MWCVD (Schéma 5). Senzory označované jako nAu-SP/BDDE byly modifikovány Au nanočásticemi pomocí fyzikální depozice. Termálním odpařováním Au ve vysokém vakuu byly vytvořeny vrstvy Au na povrchu BDD o různých tloušťkách ($n = 5, 15 \text{ a } 50 \text{ nm}$). Následným žiháním v atmosféře dusíku při teplotě $600 \text{ }^\circ\text{C}$ vznikl konečný tvar nAuNP se zajištěnou homogenní disperzí. Velikost NP se lišila v závislosti na tloušťce Au vrstvy.

Nakonec byly připraveny porézní pAuNP odpařováním dvojvrstvy Au/Ag, žháním k vytvoření slitiny Au/Ag (N_2 , 600 °C) a mokřým leptáním v kyselině dusičné pro odstranění Ag [258].

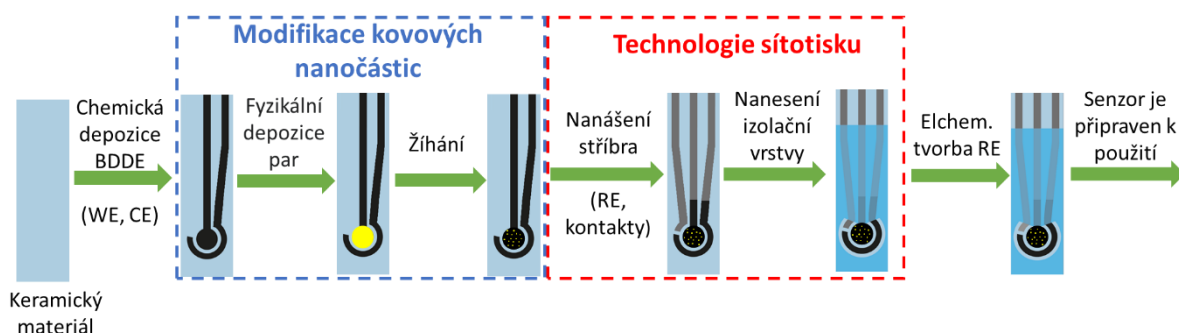


Schéma 5 Příprava LM-SP/BDDE modifikované zlatými nanočásticemi

Elektrochemická modifikace povrchu pracovní elektrody senzoru pomocí AuNP byla provedena po dokončení výroby LM-SP/BDDE v prostředí obsahujícím 1 mmol L^{-1} $H AuCl_4 \cdot 4H_2O$ v roztoku $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ H_2SO_4 . Toto složení elektrolytu bylo vybráno na základě informací dostupných v literatuře [95,96,98,101]. Potenciál (E_{dep}) a doba elektrodepozice (t_{dep}) byly optimalizovány, a jako optimální parametry pro modifikaci byly použity hodnoty 0 mV a 50 s.

3.4 Pracovní postupy

3.4.1 Aktivace pracovních elektrod

Procedura pro aktivaci BDDE před vlastním měřením byla optimalizována pro každý studovaný analyt v rámci vývoje metody jeho stanovení. Ukázalo se, že je možné použít stejný postup ve všech prezentovaných případech. Před zahájením práce byla BDDE vždy aktivována provedením 20 cyklických voltamogramů v rozsahu potenciálu od počátečního potenciálu ($E_{poč}$) -1500 mV do potenciálu obratu (E_{obratu}) $+2200 \text{ mV}$ s konečným potenciálem (E_{kon}) $+2200 \text{ mV}$ při rychlosti polarizace (v) 100 mV s^{-1} . Bylo zjištěno, že mezi jednotlivými měřeními nedocházelo k pasivaci povrchu elektrody a nebylo nutné ji znovu aktivovat nebo jakkoli regenerovat.

SP/BDDE byly před použitím také aktivovány pomocí CV. Parametry metody byly stejné, ale v tomto případě bylo zařazeno pouze 10 cyklů pro stabilizaci odezvy senzoru. V případě modifikovaných SP/BDDE nebyl použit žádný postup aktivace, aby se zabránilo rozpuštění nanočástic zlata.

3.4.2 Studium voltametrického chování látek a vývoj metod jejich stanovení

Cyklická voltametrie (CV) byla využita pro studium voltametrického chování MNL, ATX, TTC a DA, a to v závislosti na pH základního elektrolytu a rychlosti polarizace. Pokud není uvedeno jinak, byla měření provedena v rozsahu od $E_{\text{poč}} = -1500 \text{ mV}$ do $E_{\text{obratu}} = +2200 \text{ mV}$ při použití $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. V případě studie vlivu rychlosti polarizace se hodnota ν pohybovala od 25 do 500 mV s^{-1} .

Vzhledem k velmi dobré citlivosti byla pro stanovení uvedených látek testována square-wave-voltametrie (SWV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV). Nejprve byl vždy zvolen vhodný základní elektrolyt, kdy byly testovány různé anorganické kyseliny, BRB (pH 2-12) nebo roztok NaOH. Poté byly optimalizovány parametry voltametrických metod. V případě DPV to byla rychlost polarizace v rozsahu 10 až 100 mV s^{-1} , amplituda pulzu (A) v rozsahu 10-100 mV a doba modulace v rozsahu 10-100 ms. V případě SWV byla optimalizována opět ν ($10\text{-}100 \text{ mV s}^{-1}$), A (10-100 mV) a frekvence (f) v rozsahu 5-50 Hz. Vždy byly dva parametry udržovány konstantní a jeden byl změněn. Na základě získaných voltamogramů, resp. z výšky a tvaru píku, byla zvolena optimální hodnota parametru. Na závěr byl testován vliv předúpravy povrchu elektrody na výšku, tvar a opakovatelnost píku. Byly testovány následující postupy: (i) katodická polarizace ($E = -1000 \text{ mV}$, $t = 300 \text{ s}$), (ii) anodická polarizace ($E = +2200 \text{ mV}$, $t = 300 \text{ s}$), (iii) cyklování (20 cyklů CV, $E_{\text{poč}} = -1000 \text{ mV}$, $E_{\text{obratu}} = +2200 \text{ mV}$, $E_{\text{kon}} = +2200 \text{ mV}$, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$) a (iv) manuální leštění na alumině ($t = 60 \text{ s}$). Po každé proceduře bylo změřeno 11 voltamogramů analytu při určité koncentraci, byla vyhodnocena výška píku a vypočtena příslušná hodnota relativní směrodatné odchylky.

3.4.3 Analýza modelových roztoků a praktických vzorků

V rámci této disertační práce byly analyzovány modelové roztoky studovaných analytů a rovněž praktické vzorky farmaceutických a pesticidních přípravků, přírodních vod a séra.

Modelové roztoky byly připraveny vždy naředěním zásobního roztoku analyzované látky základním elektrolytem na požadovanou koncentraci. Poté byl odměřen vhodný objem do polarografické nádoby. Analýza probíhala metodou standardního přídávku a byla vždy 5× zopakována. Ze získaných výsledků byly vypočteny základní statistické parametry jako průměrná koncentrace s odpovídajícím intervalem spolehlivosti, výtěžnost a relativní směrodatná odchylka (RSD).

Dále byla analyzovaná říční voda odebraná z Labe, v níž byl stanovován obsah TTC. Protože říční voda běžně neobsahuje detekovatelné koncentrace konkrétních pesticidů, byla

obohacena přídatkem standardního roztoku TTC na požadovanou koncentraci. Analýza pobíhala stejně jako u modelových roztoků. Vzorky farmaceutických přípravků byly pro analýzu připraveny rozpuštěním tablety v případě Dimexolu (stanovení MNL), resp. obsahu kapsle u Strattery (ATX), ve vhodném objemu acetonitrilu za působení ultrazvuku. Rozpuštěn v acetonitrilu byl i vzorek emulze pesticidního přípravku Substral (TTC). Následně byl vhodný objem roztoku vzorku převeden do polarografické nádoby k základnímu elektrolytu a byla provedena analýza opět s využitím metody standardního přídatku a byly vypočteny výše uvedené statistické parametry.

Analýza séra byla provedena pro stanovení MNL, a to pouze s využitím tištěných senzorů, které umožnily analýzu v malém objemu vzorku. Navíc bylo zjištěno, že není třeba přidávat ke vzorku základní elektrolyt, protože sérum má dostatečnou iontovou sílu a je tedy zajištěna dostatečná vodivost prostředí. Pro analýzu byla použita metoda kalibrační přímky, kdy byla připravena kalibrační řada přidáním vhodného objemu zředěného standardního roztoku MNL k séru. Stejným způsobem byl 5× připraven vzorek o známé koncentraci analytu. Analýza kalibračních roztoků i vzorku probíhala v kapce o objemu 50 μL nanesené na povrch LM-SP/BDDE pomocí mikropipety. Provedení analýzy je ilustrováno na obrázku 10.



Obrázek 10 Analýza séra s využitím LM-SP/BDDE

DA byl stanoven v modelovém roztoku a vzorku moči pomocí nemodifikovaných BDDE, SP/BDDE a modifikovaných 5Au-SP/BDDE a eAu-SP/BDDE senzorů. Koncentrace

DA v modelovém roztoku byla $1 \mu\text{mol L}^{-1}$. Stanovení bylo $5\times$ opakováno a pro vyhodnocení byla použita metoda standardního přídávku. Do 10 ml vzorku v polarografické cele bylo přidáno 10 μL standardního roztoku DA o koncentraci $0,001 \mu\text{mol L}^{-1}$ a vždy byly provedeny 3 standardní přídávky. Vzorek moči byl odebrán od zdravého jedince, který neužíval žádné léky. Poté byl obohacen dopaminem na koncentraci $1 \mu\text{mol L}^{-1}$. Před analýzou byl vzorek zředěn základním elektrolytem v poměru 1:1 (5 ml moči, 5 ml BRB (pH 5,5)) a umístěn do ultrazvukové lázně na 15 min [170]. Takto připravený vzorek byl opět analyzován výše popsaným postupem.

Chromatografická analýza byla provedena na koloně Macherey-Nagel EC 250/4 Nucleosil 120-5 C18 (4 x 250 mm, velikost částic 5 μm) při $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Mobilní fáze se skládala z $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (90/10, V/V), s průtokem (F_m) 1 mL min^{-1} , injekčním objemem (V_{inj}) 20 μL a vlnovou délkou (λ) DAD detektoru 198 nm pro MNL a 222 nm pro TTC. Čas analýzy (t) 4 min pro MNL a 5 min pro TTC.

3.4.4 Určování mechanismu oxidace mefenoxalonu

Preparativní elektrolýza byla provedena s 10 mL 1 mmol L^{-1} MNL v roztoku BRB (pH 9) s celkovým obsahem acetonitrilu 2 % a 50 % (v/v) v anodovém prostoru elektrolytické cely. Katodový prostor byl naplněn roztokem BRB o pH 9. Roztok MNL obsahující 50 % acetonitrilu byl elektrolyzován při potenciálu +2000 mV na aktivované velkoplošné BDDE po dobu 108 min, roztok s 2 % acetonitrilem byl oxidován při +1800 mV po dobu 50 a 300 min. Po elektrolýze byly roztoky extrahovány ethylacetátem ($3\times 2 \text{ mL}$). Část (0,5 mL) extraktu byla přímo analyzována pomocí GC-MS. Další část (0,5 mL) byla odpařena do sucha pod proudem dusíku, derivatizována N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoracetamidem (50 μL) v pyridinu (50 μL) při $85 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 30 minut a zředěna hexanem (400 μL). Stejný postup extrakce a derivatizace byl aplikován na vzorky (10 mL) neelektrolyzovaného 1 mmol L^{-1} MNL v roztoku BRB (pH 9) obsahující 2 % a 50 % acetonitrilu a na vzorky obsahující 10 mL BRB (pH 9) s 2 % a 50 % acetonitrilu bez MNL.

Separace GC byla provedena na kapilární koloně HP-5MS, $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \mu\text{m}$ (Agilent, Santa Clara, CA, USA) s heliem (5,5, Siad, Bergamo, Itálie) jako nosným plynem při konstantním průtoku $0,9 \text{ mL min}^{-1}$. Program termostatu byl následující: $50 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 2 min, nárůst o $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ na konečnou teplotu $300 \text{ }^\circ\text{C}$, která byla udržována po dobu 15 min. Celková doba analýzy byla 42 min. Objem nástřiku byl 2 μL derivatizovaného nebo

nederivatizovaného vzorku (276 kPa, 24 s, 280 °C). Hmotnostní spektra byla zaznamenána při 70 eV v rozsahu hmotností 29-800 m/z .

Byla provedena infračervená spektroeletrochemická měření v roztoku 0,05 mol L⁻¹ TBAPF₆ (před použitím byl sušen při 80 °C) v acetonitrilu s využitím polopropustné tenkovrstvé elektrochemické cely [259] o tloušťce 0,18 mm s optickými okénky z CaF₂. Bylo použito 3-elektrodové zapojení tvořené quazi-referentní Ag/AgCl elektrodou, Pt mřížkou jako CE a polopropustnou Pt mřížkou (5×5 mm²) jako WE. Měření bylo prováděno v režimu cyklické voltametrie s rychlostí polarizace 5 mV s⁻¹ za současné registrace IČ absorpčních spekter v rozsahu vlnočtů 4000-650 cm⁻¹.

3.4.5 Charakterizace senzorů pomocí cyklické voltametrie

CV byla použita pro elektrochemickou charakterizaci testovaných senzorů pomocí vybraných redoxních markerů. Jako první redoxní systém „vnější sféry“ sloužil [Ru(NH₃)₆]^{2+/3+}. Jako redoxní markery „vnitřní sféry“ byly použity [Fe(CN)₆]^{4-/3-} a DA. Nejprve bylo změřeno 10 cyklických voltamogramů pomocí všech testovaných senzorů pro všechny uvedené látky pro vyhodnocení opakovatelnosti měření. Následovaly závislosti na rychlosti polarizace pro určení, resp. potvrzení řídicího děje sledovaných elektrochemických reakcí. Všechny koncentrace redoxních markerů a konkrétní parametry CV jsou uvedeny přímo v kapitole 4. Výsledky a diskuse v popiscích příslušných obrázků.

3.4.6 Charakterizace senzorů pomocí elektrochemické impedanční spektroskopie

Experimenty s využitím EIS byly prováděny v rozsahu frekvencí od 10 kHz do 1 Hz s amplitudou pulzu 10 mV. Pro charakterizaci nemodifikovaných SP/BDDE sloužily jako markery komplexy [Fe(CN)₆]^{4-/3-} a [Ru(NH₃)₆]^{2+/3+}, v případě senzorů modifikovaných AuNPs byl použit i DA. Pro určení půlvolnových potenciálů ($E_{1/2}$) byly nejprve změřeny cyklické voltamogramy 2,5 mmol L⁻¹ [Fe(CN)₆]^{4-/3-}, [Ru(NH₃)₆]^{2+/3+} a DA v 0,1 mol L⁻¹ KCl. Potenciály $\Delta E_{1/2}$ byly vypočteny pro každý typ senzoru jako polovina rozdílu mezi potenciály píku oxidace a redukce. Hodnoty $\Delta E_{1/2}$ pak byly použity jako počáteční potenciály v EIS pro každý konkrétní typ senzoru. V případě SP/BDDE bylo použito pět elektrod každého typu a na každé byla provedena tři opakovaná měření. Hodnoty jednotlivých prvků v elektrických ekvivalentních obvodech (EEC) (R([R]/Q) pro komplex Fe (Schéma 6A) a R([RW]/Q) pro komplex Ru (schéma 6B) byly vypočteny pomocí FRA simulace v software Metrohm NOVA 2.1.5. V případě charakterizace elektrod modifikovaných AuNPs byla použita

následující ekvivalentní schémata: pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a DA – R([RW]/Q) (Schéma 6B), pro $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ – [RW] (Schéma 6C).

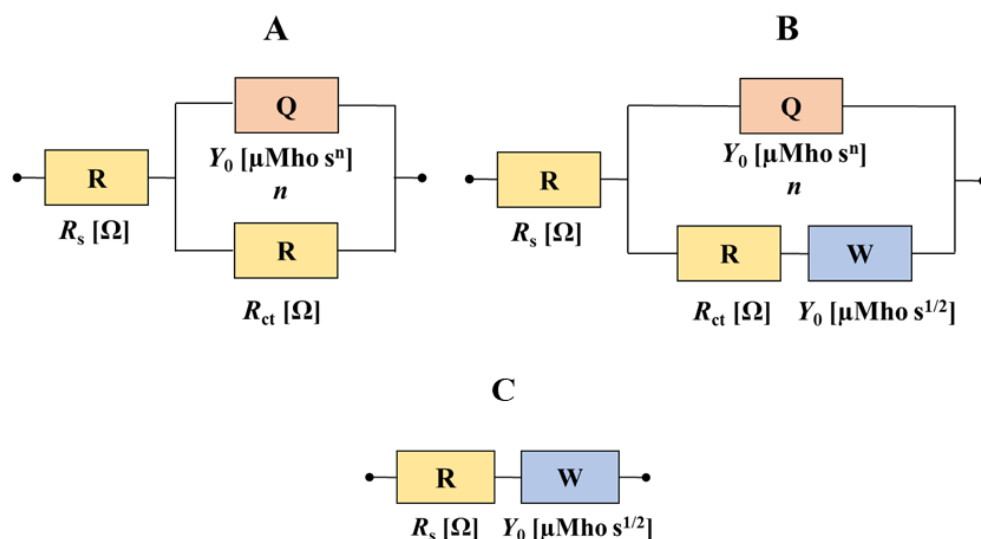


Schéma 6 Použité elektrické ekvivalentní obvody (EEC) R([R]/Q) (A), R([RW]/Q) (B) a RW (C). R – odpor, W – Warburgova impedance, Q – konstantní fázový posun, R_s – odpor roztoku, R_{ct} – odpor přenosu náboje, Y_0 – admittance, n – exponent konstantního fázového prvku

3.5 Zpracování dat a výpočty

Parametry kalibračních křivek s příslušnými intervaly spolehlivosti na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ byly vypočteny pomocí OriginPro 9 (Origin Lab Corporation, USA). Mez detekce (LOD, rovnice (1)) byla vypočtena jako trojnásobek a mez stanovitelnosti (LOQ, rovnice (2)) jako desetinásobek směrodatné odchylky úseku podělený směrnici příslušné lineární závislosti výšky píku na koncentraci [260]:

$$LOD = \frac{3 SE}{b}, \quad (1)$$

$$LOQ = \frac{10 SE}{b}, \quad (2)$$

kde:

LOD mez detekce [mol L^{-1}],

SE směrodatná odchylka úseku lineární závislosti [A],

b směrnice lineární závislosti [A L mol^{-1}],

LOQ mez stanovitelnosti [mol L^{-1}].

Pro výpočet počtu elektronů vyměněných v rámci sledované elektrochemické reakce byla použita Lavironova rovnice (3) [261]:

$$E_p = E^0 + \frac{2,303RT}{nF} \log\left(\frac{RTk^0}{nF}\right) + \frac{2,303RT}{\alpha nF} \log(v), \quad (3)$$

kde:

- E^0 formální standardní redoxní potenciál [V],
 k^0 rychlostní konstanta
 v rychlost polarizace [V s⁻¹],
 n počet vyměňovaných elektronů,
 T termodynamická teplota [K],
 R plynová konstanta [J K⁻¹ mol⁻¹],
 F Faradayova konstanta [C mol⁻¹].

Aby byly srovnatelné výsledky dosažené s využitím pracovních elektrod s různou velikostí povrchu, byly hodnoty proudu převedeny na proudovou hustotu podle rovnice (4):

$$j = \frac{I}{A}, \quad (4)$$

kde:

- j proudová hustota [A mm⁻²],
 I proud [A],
 A geometrická plocha pracovní elektrody [mm²].

Heterogenní konstanta rychlosti přenosu elektronů k_{app}^0 byla vypočtena podle Nicholsonovy rovnice (5) [262]:

$$\psi = \frac{\gamma^\alpha k_{app}^0}{\sqrt{\frac{\pi D n F v}{RT}}}, \quad (5)$$

kde:

- ψ míra reversibility elektrodové reakce,
 γ poměr difuzních koeficientů oxidační a redukční formy,
 α koeficient přenosu náboje,
 k_{app}^0 heterogenní konstanta rychlosti přenosu elektronů [cm s⁻¹],
 D difuzní koeficient.

Míra reverzibility elektrodové reakce byla vypočtena jako matematická funkce podle rovnice (6) [262]:

$$\psi = 10^{-0,0056048(\Delta E_p \cdot n) + 0,1882152}, \quad (6)$$

kde:

- ΔE_p rozdíl mezi potenciály píku oxidace a redukce [V].

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Úvodní kapitoly výsledkové části této disertační práce budou věnovány studiu elektrochemického chování a vývoji metod stanovení vybraných biologicky aktivních látek významných z hlediska lidského zdraví a ochrany životního prostředí. Konkrétně se jedná o léčiva mefenoxalon a atomoxetin, neurotransmitter dopamin a fungicid tritikonazol. Podrobněji bude zpracována kapitola týkající se mefenoxalonu, kde bude vedle výsledků prezentován postup jednotlivých studií. Výsledky pro další studované látky již budou s ohledem na rozsah práce shrnuty pouze stručně. Stěžejní část práce bude zaměřena na charakterizaci nových tištěných senzorů, jejich elektrochemické vlastnosti, modifikaci a možnosti aplikace v elektroanalýze.

4.1 Studium elektrochemického chování a vývoj voltametrické metody stanovení mefenoxalonu na borem dopované diamantové elektrodě

4.1.1 Studium elektrochemického chování mefenoxalonu

Elektrochemické chování MNL bylo zkoumáno na BDDE pomocí CV v roztoku BRB o pH 2, 5 a 9 při rychlosti polarizace 100 mV s^{-1} . Voltamogramy získané v BRB (pH 5) jsou uvedeny na obrázku 11, který ukazuje dva oxidační píky MNL při potenciálech (E_p) +1375 a +1590 mV. Nebyl pozorován žádný odpovídající redukční pík MNL, což svědčí o ireverzibilním průběhu elektrodové reakce. Proudová odezva MNL byla pozorována i v dalších testovaných prostředích. V alkalickém prostředí (pH 9) byl druhý pík pozorován až při vyšších koncentracích (obrázek 12).

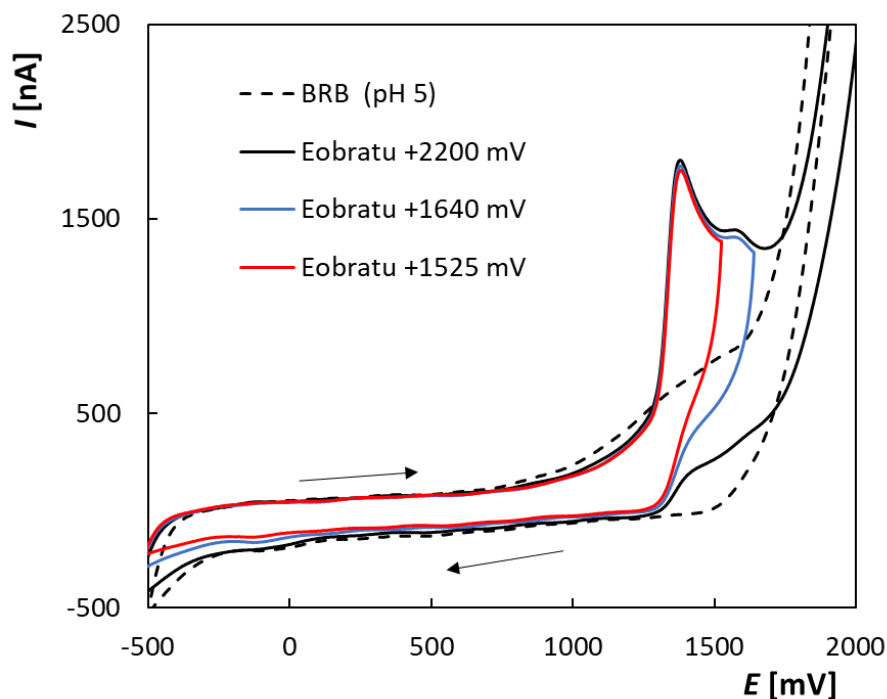
Vliv rychlosti polarizace na výšku píku (I_p) vypovídá o řídicím procesu sledované elektrodové reakce. Studie byla provedena opět v BRB (pH 2, 5 a 9) a v byla měněna od 25 do 500 mV s^{-1} . Získané voltamogramy (BRB, pH 5) jsou uvedeny na obrázku 13A. Vyhodnocován byl pouze první pík MNL. S rostoucí v se zvyšovala I_p , ale závislost nevykazovala lineární průběh (obrázek 13B) na rozdíl od závislosti I_p na $v^{1/2}$ (obrázek 13C, rovnice (7)), což naznačuje difúzně řízenou elektrodovou reakci. Hodnota směrnice ($0,479 \pm 0,001$) příslušné logaritmické závislosti I_p na v popsané rovnicí (8) se blíží teoretické hodnotě 0,5, což potvrzuje proces řízený difuzí. Podobné výsledky byly získány i při pH 2 a 9 (rovnice (9) a (10)).

$$I_p [\text{nA}] = (139,6 \pm 0,4) v^{1/2} ([\text{mV s}^{-1}]^{1/2}) + (73,4 \pm 6,0), r = 0,9999 \quad (7)$$

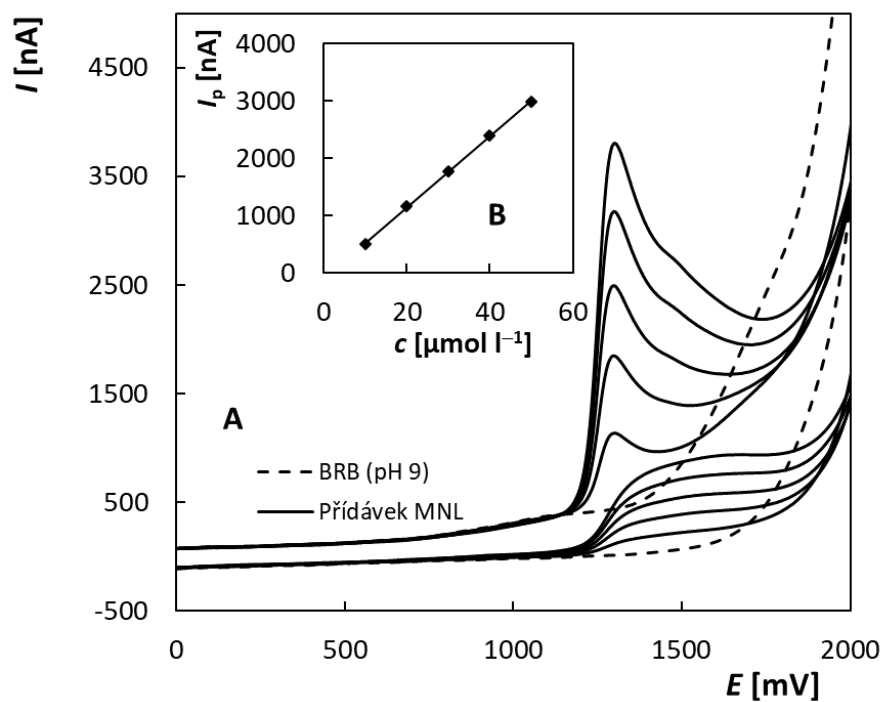
$$\text{pH 5: } \log(I_p [\text{nA}]) = (0,479 \pm 0,001) \log(v [\text{mV s}^{-1}]) + (2,210 \pm 0,002), r = 0,9999 \quad (8)$$

pH 2: $\log(I_p \text{ [nA]}) = (0,435 \pm 0,008) \log(v \text{ [mV s}^{-1}\text{]}) + (2,158 \pm 0,020)$, $r = 0,9966$ (9)

pH 9: $\log(I_p \text{ [nA]}) = (0,537 \pm 0,006) \log(v \text{ [mV s}^{-1}\text{]}) + (1,960 \pm 0,011)$, $r = 0,9993$ (10)



Obrázek 11 Cyklické voltamogramy MNL získané na BDDE. Metoda – CV, elektrolyt – BRB (pH 5), $E_{poč} = -1500 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +2200, +1525 \text{ a } +1640 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c_{MNL} = 20 \mu\text{mol L}^{-1}$



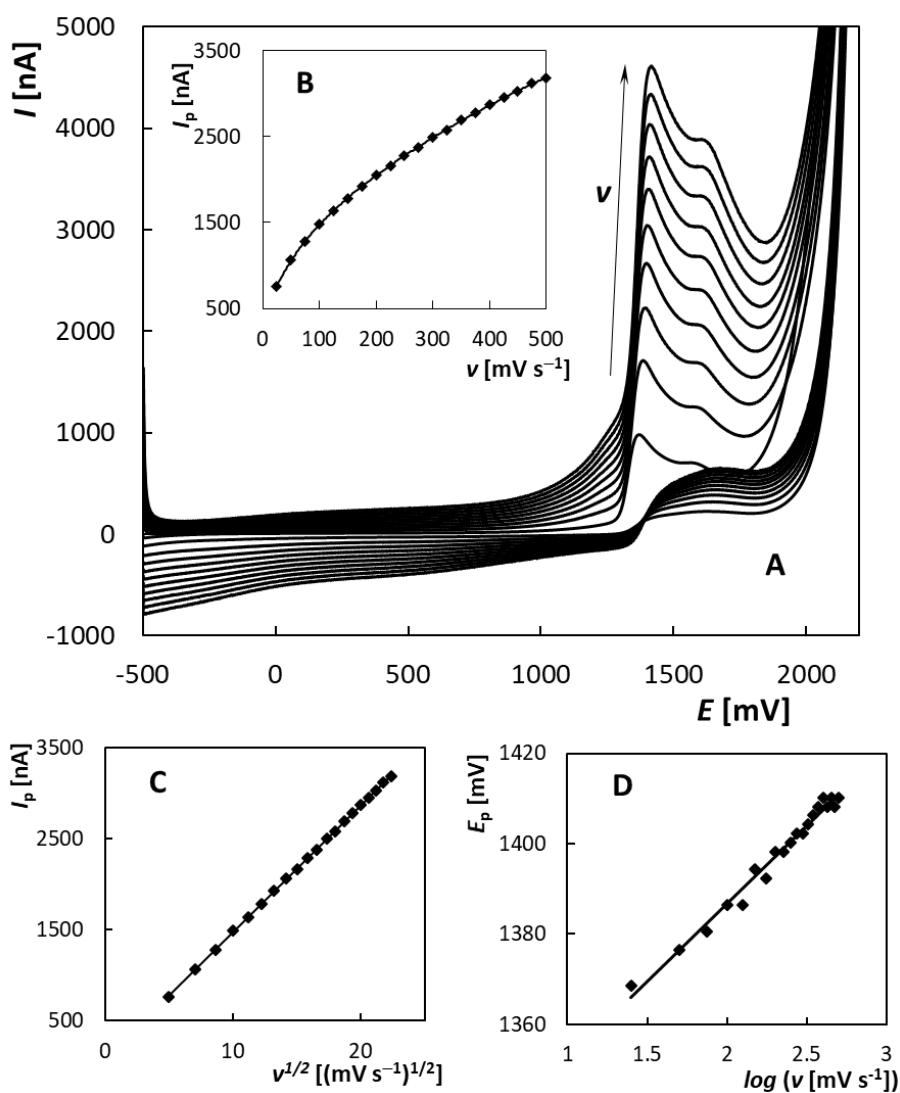
Obrázek 12 Cyklické voltamogramy MNL získané na BDDE v závislosti na koncentraci (A) a závislost I_p na c_{MNL} (B). Metoda – CV, elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{poč} = -1500 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +2200 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c_{MNL} = 10\text{-}50 \mu\text{mol L}^{-1}$

Potenciál oxidačního píku MNL se s rostoucí rychlostí polarizace posouval do anodické oblasti (obrázek 13D), což potvrzuje ireverzibilní průběh reakce. Dále byla k získání informace o počtu přenesených elektronů (n) použita Lavironova rovnice (3) navržená pro ireverzibilní oxidační procesy [261]. S použitím směrníc rovnic (11)-(13) a předpokladu, že $\alpha = 0,5$ (pro ireverzibilní reakci), byla hodnota n pro oxidaci MNL na BDDE 3,74 (tj. 4 elektrony) pro pH 5, 3,63 (tj. 4 elektrony) pro pH 2 a 3,76 (tj. 4 elektrony) pro pH 9.

$$\text{pH 5: } E_p \text{ [mV]} = (32,1 \pm 1,1) \log(v \text{ [mV s}^{-1}\text{]}) + (1317,9 \pm 2,6), r = 0,9908 \quad (11)$$

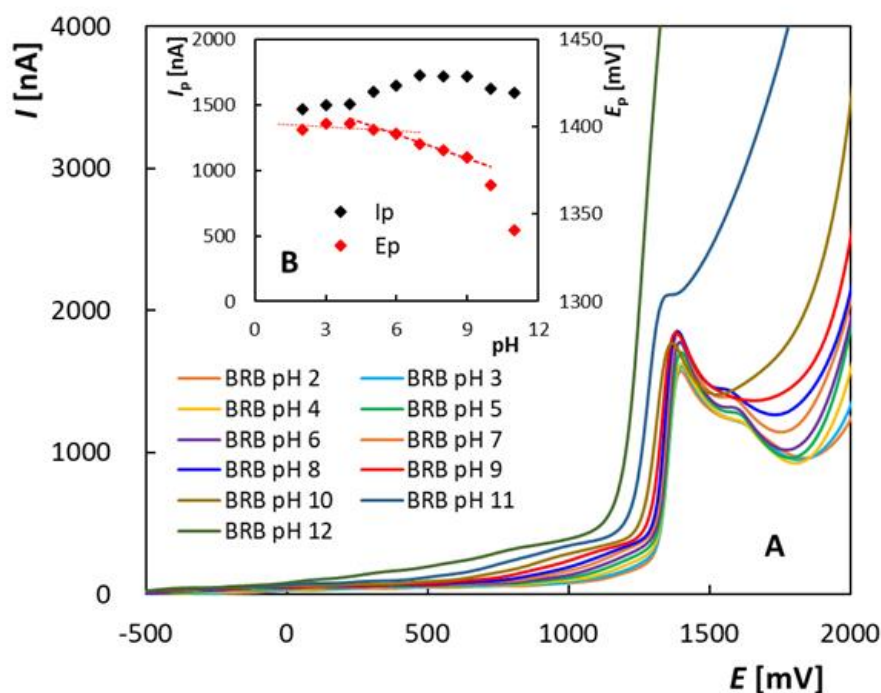
$$\text{pH 2: } E_p \text{ [mV]} = (33,1 \pm 2,6) \log(v \text{ [mV s}^{-1}\text{]}) + (1327,5 \pm 5,3), r = 0,9647 \quad (12)$$

$$\text{pH 9: } E_p \text{ [mV]} = (31,9 \pm 1,7) \log(v \text{ [mV s}^{-1}\text{]}) + (1319,9 \pm 4,1), r = 0,9741 \quad (13)$$



Obrázek 13 Cyklické voltamogramy MNL získané na BDDE v závislosti na rychlosti polarizace (A), závislosti I_p na v (B) a $v^{1/2}$ (C), logaritmická závislost E_p na v (D). Metoda – CV, elektrolyt – BRB (pH 5), $E_{poč} = -500$ mV, $E_{obratu} = +2200$ mV, $v = 25-500$ mV s⁻¹, $c_{MNL} = 20$ μmol L⁻¹

CV byla použita také pro posouzení vlivu pH elektrolytu na voltametrické chování MNL. Protože MNL neposkytuje katodický pík, obrázek 14A ukazuje pouze anodické části zaznamenaných cyklických voltamogramů. V rozsahu pH od 2 do 9 byl na BDDE pozorován jeden dobře definovaný a druhý špatně vyvinutý anodický pík. Při pH 9 a 10 byl pro danou koncentraci MLN získán pouze jeden oxidační pík. V prostředí o pH 12 nebyl pozorován žádný pík odpovídající oxidaci MNL. Z obrázku 14B vyplývá, že v kyselém prostředí byl zaznamenán první oxidační pík MNL při konstantním potenciálu. V rozmezí pH 4-9 došlo k posunu E_p s rostoucím pH, což svědčí o kinetickém charakteru proudů a účasti protonů na oxidačním procesu. Hodnota 58 mV/pH naznačuje účast stejného počtu protonů a elektronů. Nejvyšší oxidační pík byl získán v rozmezí pH 7-9. BRB o pH 9, v němž poskytoval MNL pouze jeden oxidační pík, byl zvolen jako základní elektrolyt pro vývoj voltametrické metody stanovení tohoto léčiva.



Obrázek 14 Anodické části cyklických voltamogramů MNL získaných na BDDE v závislosti na pH elektrolytu (A) a příslušné závislosti I_p a E_p na pH (B). Metoda – CV, elektrolyt – BRB (pH 2-11), $E_{poč} = -1500$ mV, $E_{obratu} = +2200$ mV, $v = 100$ mV s⁻¹, $C_{MNL} = 20$ μmol L⁻¹

4.1.2 Mechanismus elektrochemické oxidace mefenoxalonu

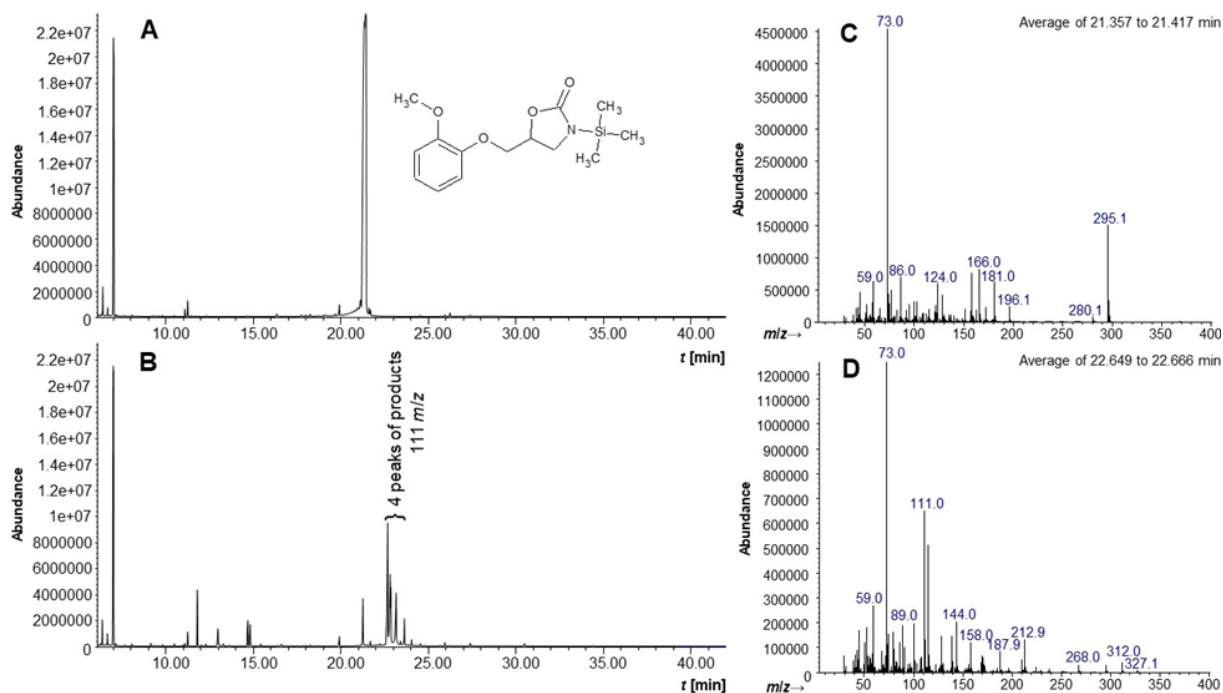
4.1.2.1 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Pro studium mechanismu elektrochemické oxidace MNL byla provedena preparativní elektrolyza na velkoplošné BDDE v roztoku BRB o pH 9. Elektrolyza při nízkém obsahu

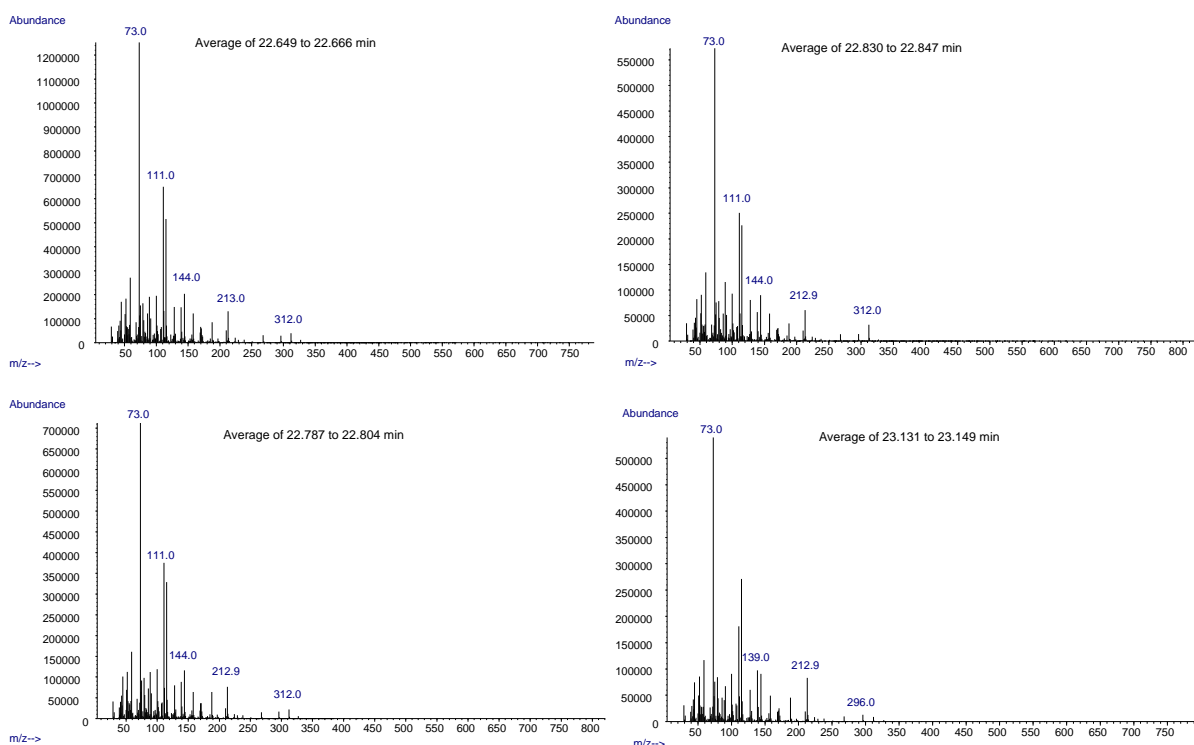
acetonitrilu v roztoku (2 %, V/V) byla doprovázena pasivací povrchu BDDE oxidačními produkty a tím i nízkou účinností konverze (25 % původního obsahu MNL bylo oxidováno po 50 minutách elektrolýzy). Při zvýšení obsahu acetonitrilu na 50 % se zvýšila účinnost elektrooxidace na 79 % po 108 minutách elektrolýzy. Podobná účinnost (75 %) byla dosažena ve 2% acetonitrilu až po 5 hodinách oxidace. I když byly v obou experimentech pozorovány stejné oxidační produkty, vyšší rozpustnost těchto produktů v 50% acetonitrilu zajišťuje lepší odstranění produktů z povrchu elektrody a tím i lepší podmínky pro jejich identifikaci. Při elektrolýze se spotřeboval náboj 8,5 C, který odpovídá 4 elektronovému přenosu. To je v souladu s teoretickým výpočtem počtu elektronů podle Lavironovy rovnice.

Elektrolyzované a neelektrolyzované roztoky MNL byly extrahovány ethylacetátem a analyzovány pomocí GC-MS jak přímo, tak po derivatizaci, jejíž postup je popsán v experimentální části. MNL samotný byl eluován za 21,60 min a jeho hmotnostní spektrum obsahující molekulární ion $M^{\bullet+}$ o hmotnosti 223 m/z bylo identické se spektrem v databázi NIST. Silanizovaný MNL poskytl pík s retenčním časem 21,39 min a $M^{\bullet+}$ o hmotnosti 295 m/z (obrázek 15 A,C). Chromatogramy elektrolyzovaných vzorků odhalily několik píků produktů. Podle očekávání, vyšší koncentrace produktů byla získána v 50% acetonitrilu. Skupina píků s retenčními časy 22,86-23,30 min byla pozorována v chromatogramech nederivatizovaných vzorků. Hmotnostní spektra těchto píků ukázala základní pík o m/z 111 a pík molekulárního iontu $M^{\bullet+}$ o m/z 255. Podobně byly pozorovány čtyři rozlišené píky produktů v chromatogramech derivatizovaných elektrolyzovaných vzorků (obrázek 15B). Hmotnostní spektra všech čtyř produktů (obrázek 16) poskytovala velmi podobný rozpadový vzor obsahující základní pík 73 m/z (trimethylsilyl kation) a významný pík o m/z 111, který je typický pro oxidační produkty MNL (obrázek 15D). Takto výrazný pík o m/z 111 je charakteristický pro hmotnostní spektra dimethylmuconátů [263,264], které mohou tvořit čtyři *cis-trans* izomery.

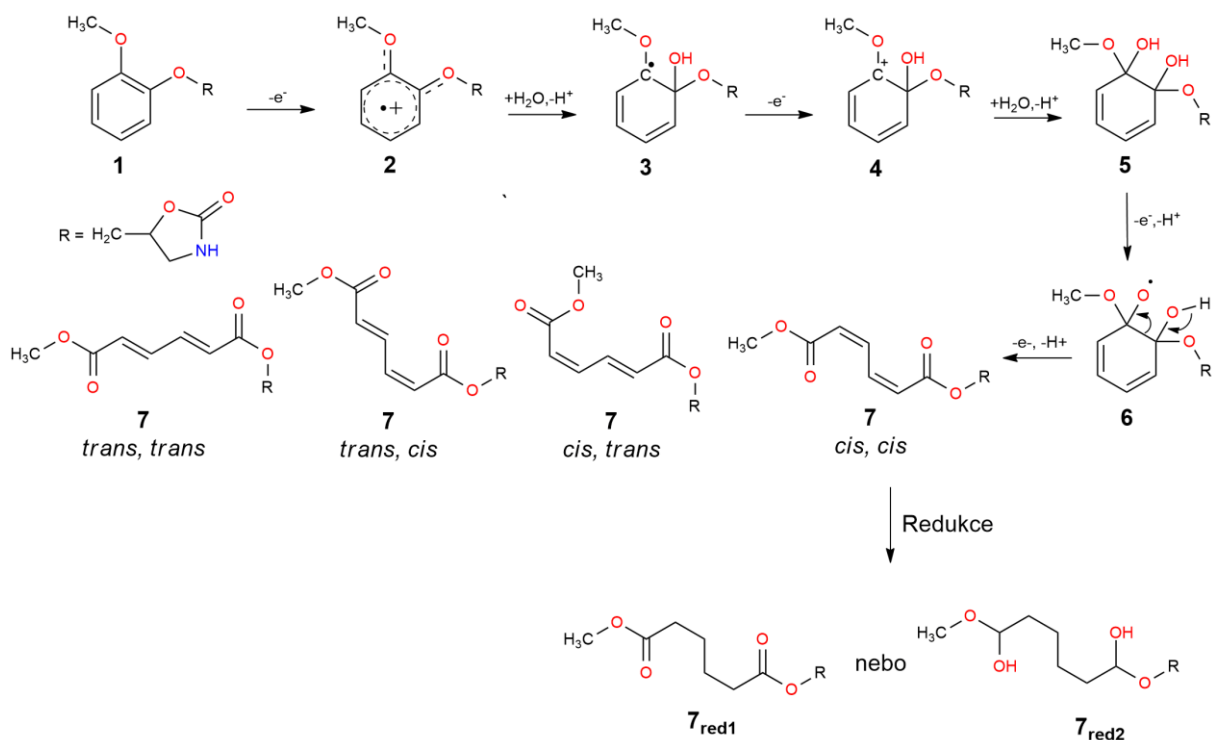
GC-MS analýza elektrolyzovaných roztoků MNL naznačuje, že oxidace probíhá na 1,2-dialkoxybenzenovém jádře molekuly MNL, zatímco oxazolidinonový fragment zůstává nedotčený. Mechanismus elektrochemické oxidace lze navrhnout následovně (obrázek 17). Ztráta elektronu z methoxylové skupiny MNL (**1**) vede k vytvoření reaktivního kationtového radikálu **2**, který je stabilizován rezonancí. Nukleofilní adice vody vede k hydroxylaci a tvorbě radikálu **3**, který je elektrochemicky oxidován na karbokationt **4**. Následná reakce s vodou vede k vytvoření 1,2-dialkoxycyklohexa-3,5-dien-1,2-diolu **5**. Oxidační štěpení vicinálního diolu poskytuje ester kyseliny hexadienové (mukonové) **7**, která může existovat ve čtyřech izomerních konfiguracích: *cis-cis*, *cis-trans*, *trans-cis* a *trans-trans*.



Obrázek 15 GC-MS (TIC) chromatogramy MNL (A) před a (B) po elektrooxidaci na BDDE při potenciálu 2000 mV v BRB pH 9 s acetonitrilem (50 %, V/V) a odpovídající hmotnostní spektra (C) MNL ($t_r = 21,39$ min) a (D) nejhojnější oxidační produkt ($t_r = 22,66$ min) po derivatizaci BSTFA v pyridinu



Obrázek 16 Hmotnostní spektra čtyř izomerních oxidačních produktů MNL vzniklých během elektrolyzy roztoku obsahujícího 1 mmol L⁻¹ MNL v BRB pH 9 a acetonitrilu (50 %, V/V) na BDDE při +2000 mV (108 min). Derivatizace pomocí BSTFA v pyridinu.



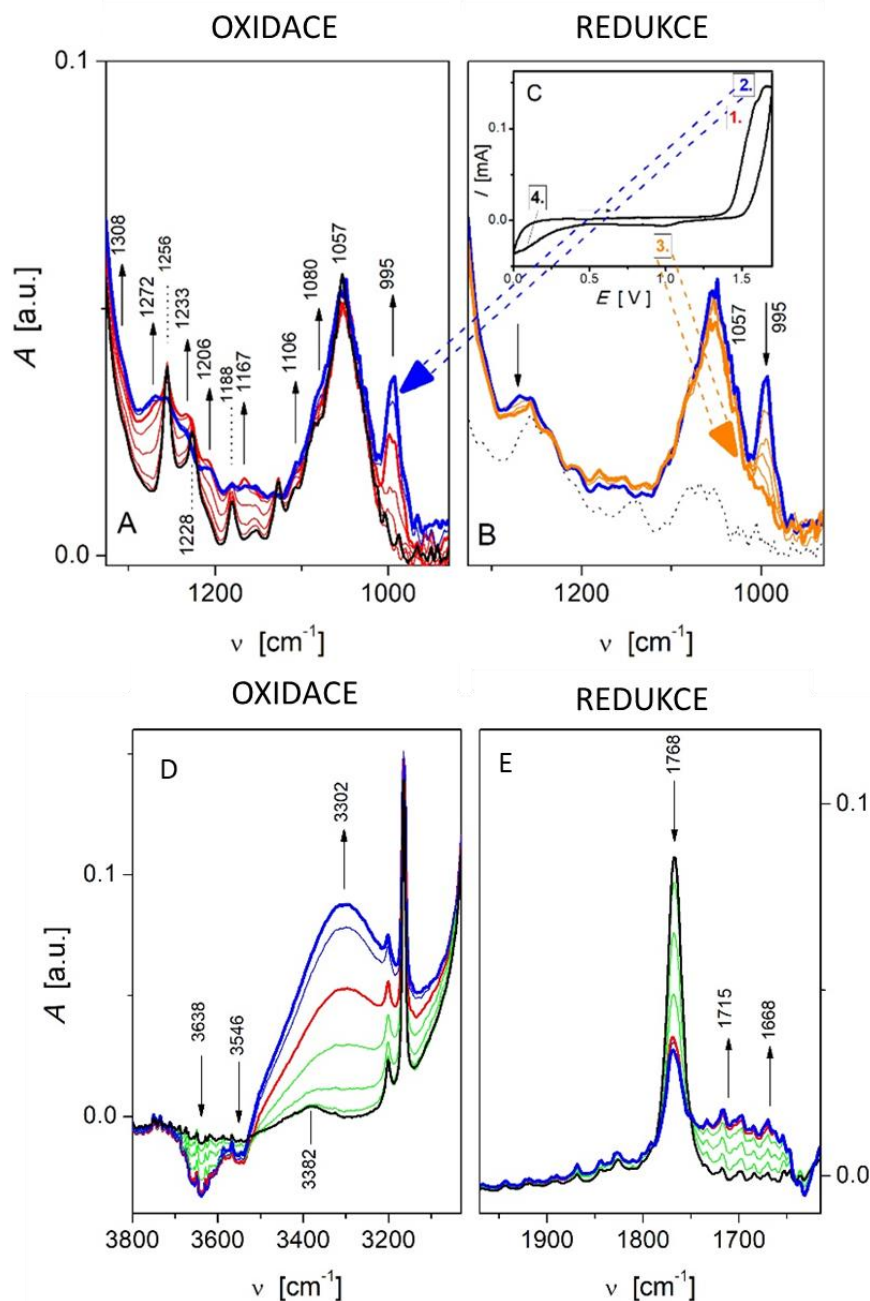
Obrázek 17 Navržený mechanismus elektrochemické oxidace mefenoxalonylu

4.1.2.2 IR spektroelektrochemie

Otevření cyklu cyklohexa-3,5-dienu a vznik diesteru kyseliny mukonové **7** bylo prokázáno také pomocí IR spektroelektrochemie. IR absorpční spektrum zaznamenané po oxidaci MNL (modré křivky na obrázku 18) obsahuje absorpční pásy při 1768, 1308, 1272, 1256, 1206, 1188, 1106, 1080, 1057 a 995 cm^{-1} a široký absorpční pás v rozsahu vibrací 1740-1650 cm^{-1} . Zvýšení absorpce mezi 1740-1650 cm^{-1} lze připsat absorpčním pásům sloučeniny **7** vypočítaným jako 1741, 1731 a 1649 cm^{-1} . Absorpční pás při 1768 cm^{-1} vibrací $\text{O}=\text{C}-\text{C}-\text{N}-\text{H}$ byl přítomen před a během oxidace MNL a během oxidace se snižovala jeho intenzita. Vypočítané hodnoty vlnočtů pro tuto vibraci byly téměř stejné pro všechny sloučeniny **3**, **5** a **7**. Důležité je, že reakce s vodou byla potvrzena spotřebováním stop vody přítomné v acetonitrilu během oxidace. To lze usuzovat z poklesu typických absorpčních pásů vody při 3638 a 3546 cm^{-1} . Během oxidace byla registrována přítomnost prvního hydroxylovaného meziproductu **3** (červená křivka na obrázku 18). Oba absorpční pásy vody se nesnížily současně jako obvykle a překvapivě se absorpce při 3546 cm^{-1} dokonce zvýšila, což naznačuje, že vibrace hydroxyskupiny vytvořené v poloze C1' byla skryta v absorpčním pásu vody.

Rovněž byla potvrzena skutečnost, že oxidace na oxazolidonové funkční skupině neprobíhá. Intenzivní absorpční pás při 1057 cm^{-1} oxazolidonového kruhu se nemění během oxidace ani prvního kroku redukce. Nicméně absorpční pás při 995 cm^{-1} klesá během zpětné

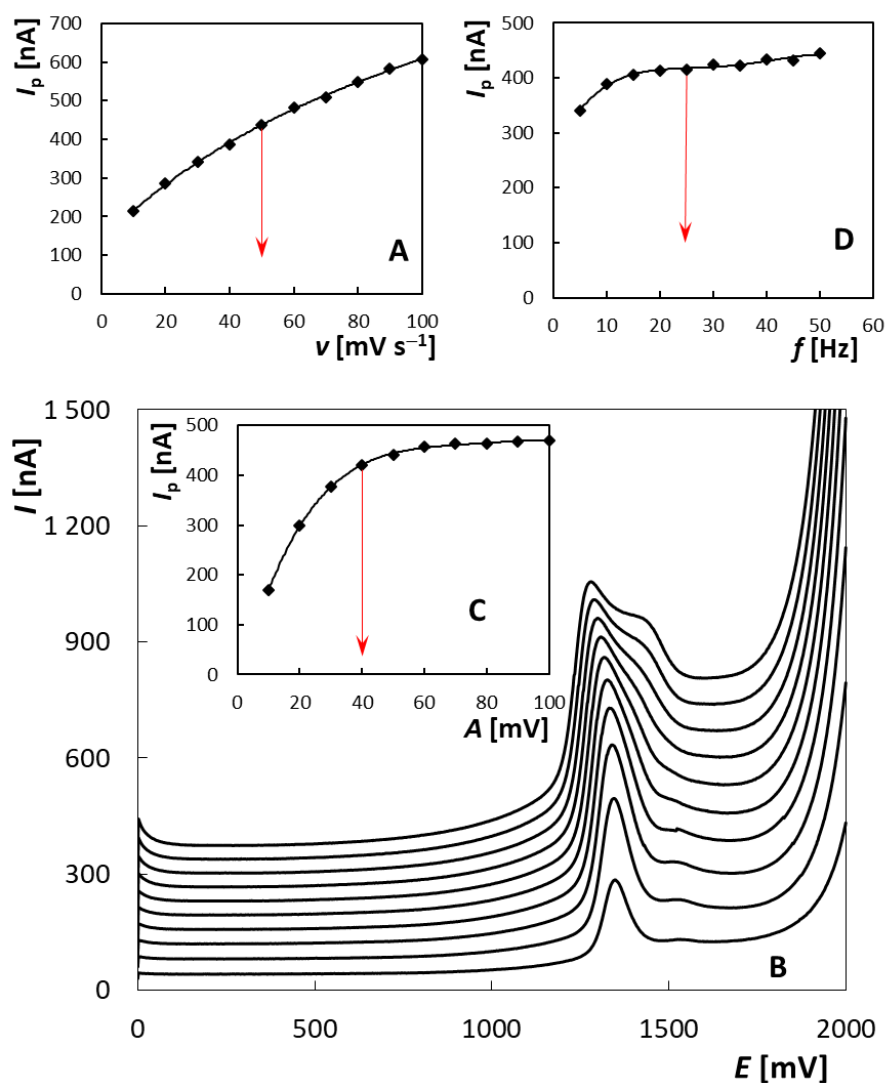
redukce, což znamená, že dvojné vazby přítomné v otevřené struktuře sloučeniny **7** byly redukovány. Takový rozpad by neproběhl u uzavřené molekuly **5**. Pásky při 1057 a 995 cm^{-1} zcela zmizely ve druhém kroku redukce (obrázek 18C, vlna 4).



Obrázek 18 IR spektroechemická identifikace sloučeniny **7** (modrá křivka) vytvořená oxidací MNL (A). Červená křivka byla připsána sloučenině **3**. Oranžové křivky byly zaznamenány během redukce **7** při zpětném skenování (B). Cyklické voltamogramy 3,7 mmol L^{-1} MNL získané na BDDE v 0,05 mmol L^{-1} tetra-*N*-butylamonium hexafluorofosfátu v acetonitrilu (C). Oxidační IR spektroechemie 3,7 mmol L^{-1} roztoku MNL v 0,05 mmol L^{-1} tetra-*N*-butylamonium hexafluorofosfátu v acetonitrilu (D, E).

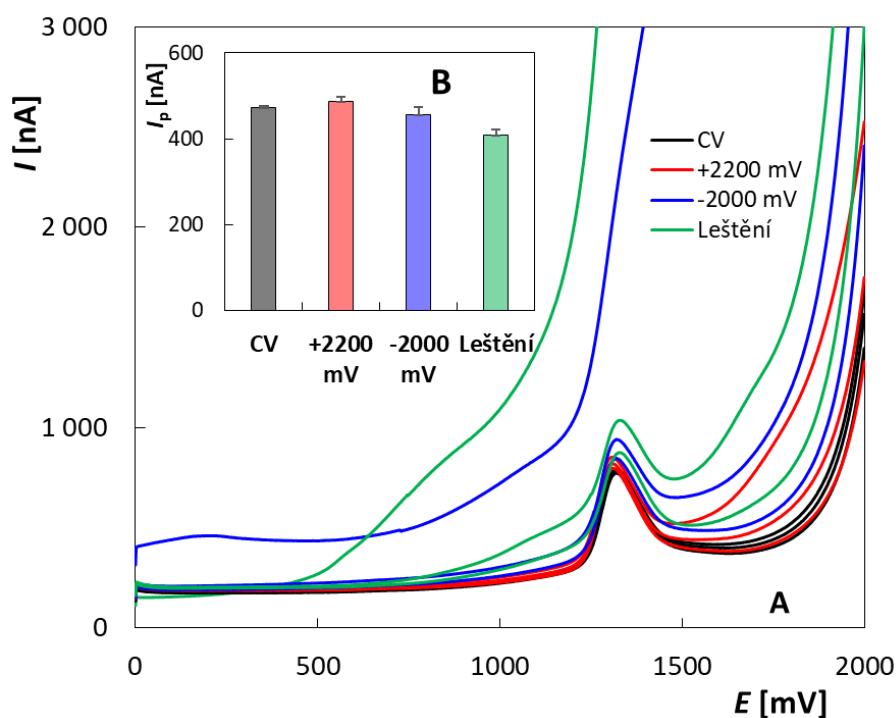
4.1.3 Vývoj voltametrické metody stanovení mefenoxalonu

Jak již bylo zmíněno, jako vhodný elektrolyt pro voltametrické stanovení MNL na BDDE byl zvolen BRB (pH 9). Vzhledem k velmi dobré citlivosti byla použita SWV. Dalším krokem byla optimalizace parametrů této metody jako jsou ν , A a f , které mohou ovlivnit výšku a tvar oxidačního píku. Experimenty probíhaly v roztoku MNL o koncentraci $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, kdy byly měřeny hodnoty I_p MNL tak, že jeden parametr byl vždy měněn v určitém rozsahu a další dva byly udržovány konstantní. Optimální hodnoty jednotlivých parametrů byly vždy voleny jako kompromis mezi I_p , tvarem a vyhodnotitelností proudové odezvy. Získané závislosti včetně vyznačených optimálních hodnot ($\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 40 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$) použitých v následujících měřeních jsou znázorněny na obrázku 19.



Obrázek 19 Závislost I_p na ν (A); SWV voltamogramy $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ MNL zaznamenané na BDDE v závislosti na A (B); závislosti I_p na A (C) a I_p na f (D). Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2000 \text{ mV}$, $\nu = 10\text{--}100 \text{ mV s}^{-1}$ (A) a 50 mV s^{-1} (B, C, D), $A = 10\text{--}100 \text{ mV}$ (B, C), 50 mV (A) a 40 mV (D) $f = 25 \text{ Hz}$ (A, B, C) a $5\text{--}50 \text{ Hz}$ (D), $c_{MNL} = 5 \mu\text{mol L}^{-1}$

Dalším neméně důležitým parametrem, který ovlivňuje elektrochemické vlastnosti BDDE a tím i tvar a výšku proudových signálů, je postup předúpravy povrchu elektrody. Byly testovány čtyři metody: (i) katodická ($E = -2000$ mV, $t = 300$ s) a (ii) anodická polarizace ($E = +2200$ mV, $t = 300$ s), (iii) CV (20 cyklů, $E_{\text{poč}} = -1500$ mV, $E_{\text{obratu}} = +2200$ mV, $E_{\text{kon}} = +2200$ mV, $v = 100$ mV s⁻¹) a (iv) leštění na suspenzi oxidu hlinitého ($t = 60$ s). Po zařazení předúpravy bylo vždy změřeno 10 SW voltamogramů MNL při optimalizovaných parametrech. Získané výsledky jsou znázorněny na obrázku 20. Rozdíly v I_p byly minimální, kromě leštění, po kterém se signál snížil. Leštění a katodická polarizace navíc vyžadovaly několik skenů pro ustálení odezvy. Nejnižší hodnoty relativní směrodatné odchylky opakovaných měření ($RSD_{10} = 0,9$ %, $c_{\text{MNL}} = 5,0$ μmol L⁻¹; pro cyklování a leštění nebyl do výpočtu zahrnut 1. sken) bylo dosaženo po cyklování, a proto byl tento postup nadále používán. Vzhledem k tomu, že nebyla pozorována pasivace elektrody, bylo cyklování zařazeno pouze na začátku práce a elektroda se mezi jednotlivými měřeními nijak neregenerovala ani neaktivovala.



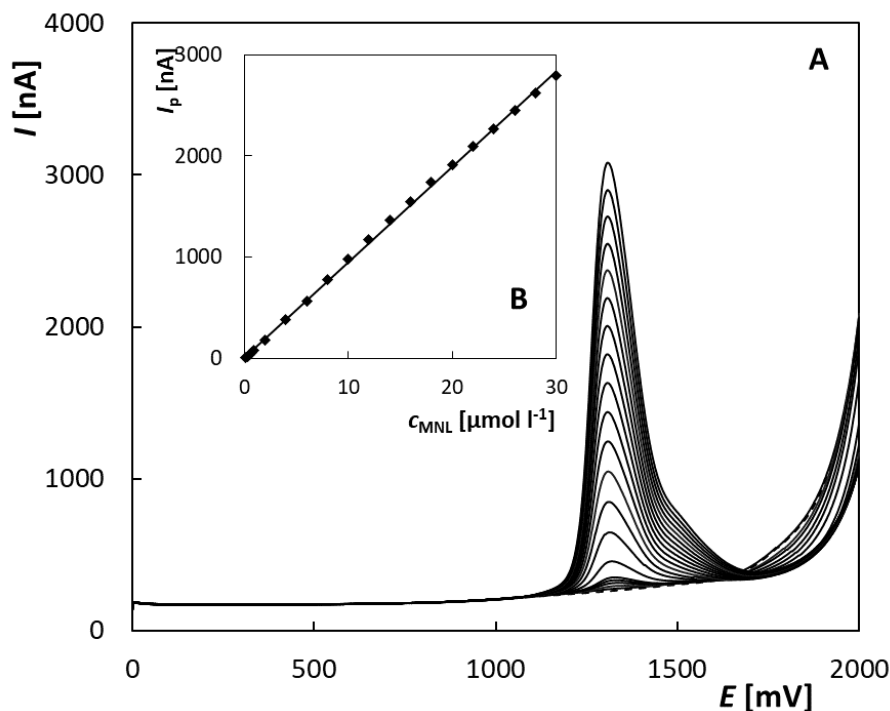
Obrázek 20 SW voltamogramy (1., 3. a 10. sken) 5 μmol L⁻¹ MNL získané na BDDE po různých postupech předúpravy (A) a závislost I_p na použitém postupu předúpravy (B); Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{\text{poč}} = 0$ mV, $E_{\text{kon}} = +2000$ mV, $v = 50$ mV s⁻¹, $A = 40$ mV, $f = 25$ Hz, postup předúpravy: CV, katodická předúprava, anodická předúprava a leštění

4.1.3.1 Analýza modelového roztoku

Nově vyvinutá voltametrická metoda byla použita k měření různých koncentračních závislostí MNL na BDDE v modelových roztocích pro stanovení základních statistických

parametrů, jako jsou lineární dynamický rozsah (LDR), LOD a LOQ. Obrázek 21 ukazuje příklad SW voltamogramů MNL získaných na BDDE v koncentračním rozsahu od 0,1 do 30 $\mu\text{mol L}^{-1}$, což je současně LDR nové metody. Jak je vidět, I_p roste lineárně s rostoucí koncentrací MNL v roztoku a závislost lze popsat rovnicí (14). Byly získány velmi nízké hodnoty statistických parametrů LOD = 55 nmol L^{-1} a LOQ = 180 nmol L^{-1} .

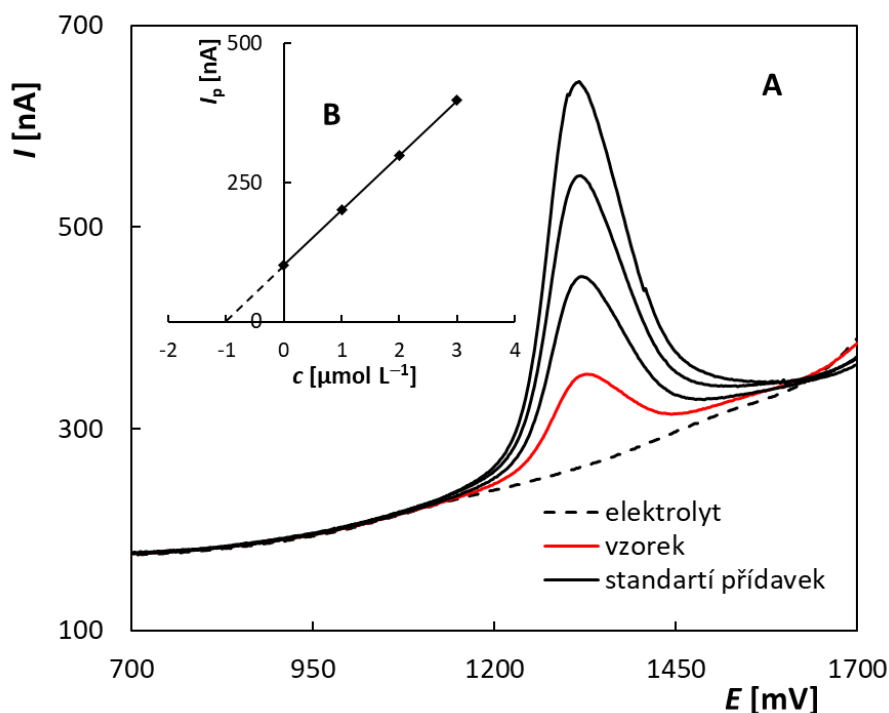
$$I_p [\text{nA}] = (94,67 \pm 0,37) c (\mu\text{mol L}^{-1}) + (6,72 \pm 5,72), r = 0,9997 \quad (14)$$



Obrázek 21 SW voltamogramy MNL v závislosti na koncentraci zaznamenané na BDDE (A), závislost I_p na c_{MNL} (B). Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2000 \text{ mV}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 40 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$, $c_{MNL} = 0,1\text{-}30 \mu\text{mol L}^{-1}$

Navržená metoda byla ověřena pomocí analýzy modelových roztoků. Koncentrace MNL byla 1,0 a 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ v 10 mL BRB (pH 9) a pro vyhodnocení byla použita metoda standardního přídatku, kdy byly přidány vždy 2-3 přídatky standardního roztoku MNL. Analýza byla 5× opakována a byly vypočteny parametry jako průměrná hodnota s intervalem spolehlivosti, výtěžnost a relativní směrodatná odchylka opakovaného stanovení. Příklad analýzy je uveden na obrázku 22 včetně grafického vyhodnocení metody standardního přídatku. Získané výsledky jsou shrnuty v tabulce 1 a ukazují, že SWV ve spojení s BDDE umožňuje dosáhnout správných a opakovatelných výsledků. Jako referenční metoda pro kontrolu správnosti nově vyvinuté voltametrické metody byla použita HPLC/DAD. Analyzována byla pouze vyšší koncentrace MNL, protože nižší byla pod LOQ metody za

daných podmínek. Byl použit dvouvýběrový t-test [265] s rovností rozptylů a na hladině významnosti $p = 0,05$ byla potvrzena shoda výsledku SWV a HPLC.



Obrázek 22 Stanovení MNL v modelovém roztoku o koncentraci $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ na BDDE (A) a grafické vyhodnocení metody standardního přidavku (B). Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{\text{poč}} = 0 \text{ mV}$, $E_{\text{kon}} = +2000 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 40 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$, vzorek: $V = 10 \text{ mL}$, standardní přidavky: $V = 10 \mu\text{L}$, $c_{\text{MNL}} = 0,001 \text{ mol L}^{-1}$

Tabulka 1 Výsledky opakovaného stanovení MNL v modelových roztocích

Metoda	Dáno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Stanoveno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Výtěžnost [%]	RSD ₅ [%]
SWV	1,0	(0,999±0,026)	97,0-103,1	2,6
SWV	5,0	(5,015±0,077)	97,9-102,0	1,5
HPLC/DAD	5,0	(5,130±0,140)	98,0-104,9	2,4

4.1.3.2 Analýza praktického vzorku

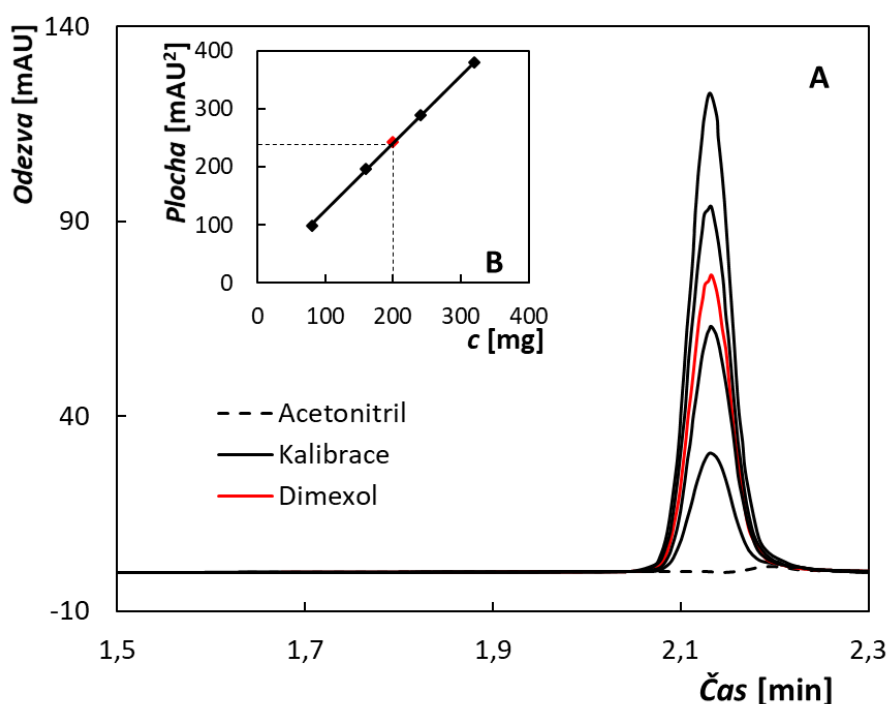
Vyvinutá metoda byla aplikována při analýze farmaceutického přípravku Dimexol s deklarovaným obsahem MNL 200 mg na tabletu. Analýza byla provedena následovně. Tableta byla rozdrcena v keramické hmoždíři a rozpuštěna v acetonitrilu tak, aby koncentrace účinné látky MNL v roztoku byla $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ (počítáno podle obsahu látky deklarovaného výrobcem). Výsledný roztok byl umístěn na 15 minut v ultrazvukové lázni. $50 \mu\text{L}$ připraveného roztoku bylo přidáno do voltametrické cely s 10 mL BRB (pH 9). Postup stanovení byl stejný

jako u modelových roztoků. Z tabulky 2 vyplývá, že hodnota obsahu MNL deklarovaná výrobcem leží v získaném intervalu spolehlivosti. Navíc opakovatelnost stanovení byla velmi dobrá ($RSD_5 < 2,0 \%$). Získané výsledky byly opět porovnány s výsledky HPLC/DAD, kdy byla k vyhodnocení použita metoda kalibrační závislosti (obrázek 23). K tomuto účelu byla použita metoda kalibrační závislosti. Na základě získaných výsledků a aplikovaného t-testu lze říci, že obě metody poskytují shodné výsledky, i když pro HPLC/DAD byl získán širší konfidenční interval.

Tabulka 2 Výsledky opakovaného stanovení MNL ve farmaceutickém přípravku Dimexol

Metoda	Deklarováno [mg]	Stanoveno [mg]	Výtěžnost* [%]	RSD ₅ [%]
SWV	200	(198,7±3,5)	98,0-102,2	1,8
HPLC/DAD	200	(206,1±6,6)	97,1-106,6	3,2

* Výtěžnost byla vztažena k obsahu MNL deklarovanému výrobcem



Obrázek 23 Chromatogram analýzy farmaceutického přípravku Dimexol metodou kalibrační závislosti (A) a grafické vyhodnocení metody kalibrační závislosti (B). Metoda – HPLC/DAD, mobilní fáze – CH_3CN/H_2O (90/10, V/V), $V_{inj} = 20 \mu L$, $F_m = 1 mL \min^{-1}$, $\lambda = 198 \text{ nm}$, $t = 4 \text{ min}$

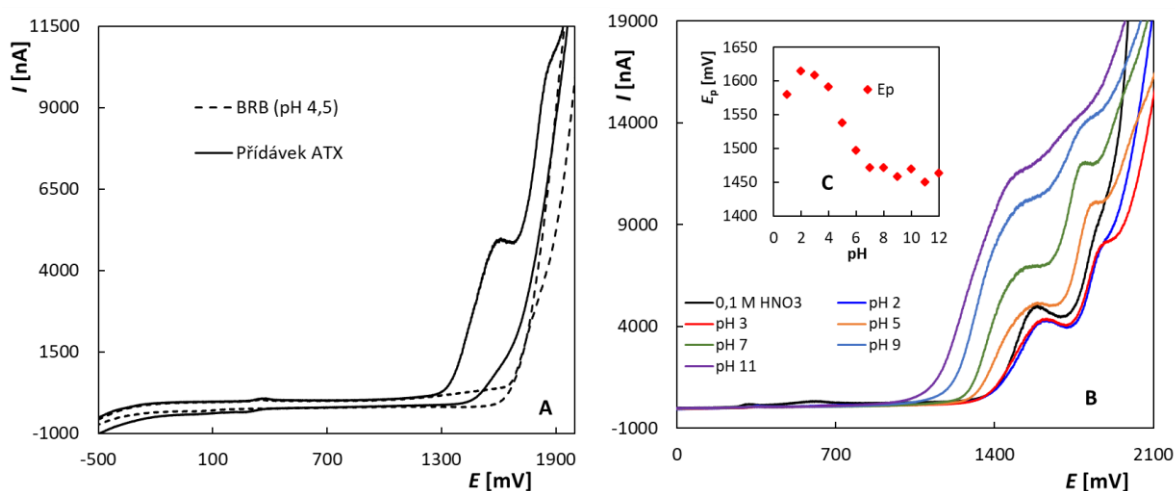
Výsledky této studie byly publikovány v článku s názvem „Voltammetric analysis of mephenoxalone drug in pharmaceutical and biological samples using novel screen-printed sensor with boron-doped diamond electrode“ [169] (Příloha č. 3).

4.2 Elektrochemické chování a voltametrické stanovení dalších látek

V rámci této kapitoly budou stručně shrnuty výsledky studií zaměřených na elektrochemické chování a stanovení dalších studovaných látek, které byly zmíněny již v úvodu výsledkové části, konkrétně se jedná o léčivo ATX, pesticid TTC a neurotransmitter DA. U některých látek jsou podrobnější výsledky opět součástí přiložených publikací.

4.2.1 Studium elektrochemického chování

Cyklický voltamogram ATX zaznamenaný na BDDE v prostředí BRB (pH 4,5) je uveden na obrázku 24A. Analyt poskytuje dva široké anodické píky (+1600 a +1850 mV) a žádný odpovídající redukční signál pozorován nebyl. Původ anodických píků ATX byl podrobněji zkoumán s využitím eliminační voltametrie s lineárním skenem a výsledky této studie jsou popsány v přiložené práci [168] (Příloha č. 4). Obrázek 24B ukazuje anodické části cyklických voltamogramů ATX získaných na BDDE v 0,1 mol L⁻¹ HNO₃ a v BRB (pH 2-11). Je zřejmé, že oba anodické píky ATX byly pozorovány v celém testovaném rozsahu pH, ale jejich vyhodnotitelnost se s rostoucí hodnotou pH zhoršovala v důsledku překryvu signálů rozkladem elektrolytu. Současně se oba píky posouvají s rostoucím pH k méně pozitivní potenciálům.



Obrázek 24 Cyklický voltamogram ATX v roztoku BRB (pH 4,5) získaný na BDDE (A), anodické části cyklických voltamogramů ATX získané na BDDE v závislosti na pH (B), závislost E_p na pH (C).

Metoda – CV, elektrolyt – 0,1 mol L⁻¹ HNO₃ a BRB (pH 2-12), $E_{poč} = -1000$ mV (A), 0 mV (B),

$$E_{obratu} = +2200 \text{ mV}, \nu = 100 \text{ mV s}^{-1}; c_{ATX} = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$$

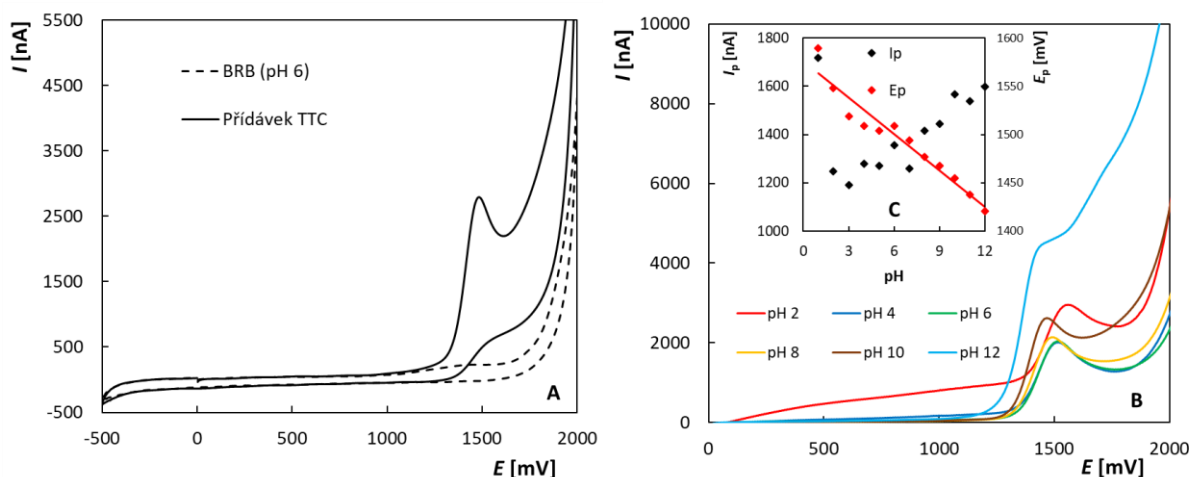
S rostoucí rychlostí polarizace (25-350 mV s⁻¹) se potenciály píků ATX (100 μmol L⁻¹) posouvají k pozitivnějším hodnotám, což odpovídá ireverzibilnímu průběhu elektrodové reakce. Byla získaná lineární závislost I_p na $\nu^{1/2}$ (rovnice (15)), což ukazuje na difúzně řízenou elektrodovou reakci. Odpovídající logaritmická závislost $\log(I_p) = f(\log(\nu))$ popsána

rovnici (16) vykazuje směrnici blížíící se teoretické hodnotě 0,5, což potvrzuje difúzi jako řídicí děj.

$$I_p \text{ [nA]} = (295,9 \pm 2,6) v^{1/2} \text{ [(mV s}^{-1}\text{)}^{1/2}] + (249,1 \pm 36,0), r = 0,9995 \quad (15)$$

$$\log(I_p \text{ [nA]}) = (0,465 \pm 0,004) \log(v \text{ [mV s}^{-1}\text{)}) + (2,578 \pm 0,009), r = 0,9998 \quad (16)$$

Elektrochemické chování TTC v prostředí BRB (pH 6) je dokumentováno na obrázku 25A. TTC poskytuje jeden anodický pík při potenciálu +1500 mV a jedná se o ireverzibilní elektrodovou reakci. Obrázek 25B ukazuje vliv pH elektrolytu na anodické signály TTC (0,1 mol L⁻¹ HNO₃ a BRB (pH 2-12)). Oxidační pík byl pozorován v celém testovaném rozsahu a s výjimkou silně alkalického prostředí (pH 12) se jeho výška ani tvar příliš neměnila. E_p se s rostoucím pH posouval k méně pozitivním hodnotám, což ukazuje na roli protonů v pozorované elektrodové reakci (rovnice (17), obrázek 25C).



Obrázek 25 Cyklický voltamogram TTC v roztoku BRB (pH 6) získaný na BDDE (A), anodické části cyklických voltamogramů TTC získané na BDDE v závislosti na pH (B). Závislost I_p a E_p na pH (C).

Metoda – CV, elektrolyt – 0,1 mol L⁻¹ HNO₃ a BRB (pH 2-12), $E_{poč} = -500$ mV (A), 0 mV (B), $E_{obratu} = +2200$ mV, $v = 100$ mV s⁻¹; $c_{TTC} = 100$ μmol L⁻¹

S rostoucí rychlostí polarizace od 25 do 250 mV s⁻¹ se výška oxidačního píku TTC (100 μmol L⁻¹) zvyšovala lineárně v závislosti na $v^{1/2}$ (rovnice (18)), což opět ukazuje na reakci řízenou difúzí. Závislost $\log(I_p) = f(\log(v))$ popsána rovnicí (19) potvrzuje tento závěr vzhledem k hodnotě směrnice (0,477±0,01). Potenciál oxidačního píku se s rostoucí rychlostí polarizace posouvá do anodické oblasti (rovnice (20)), což potvrzuje ireverzibilní průběh oxidační reakce TTC na BDDE.

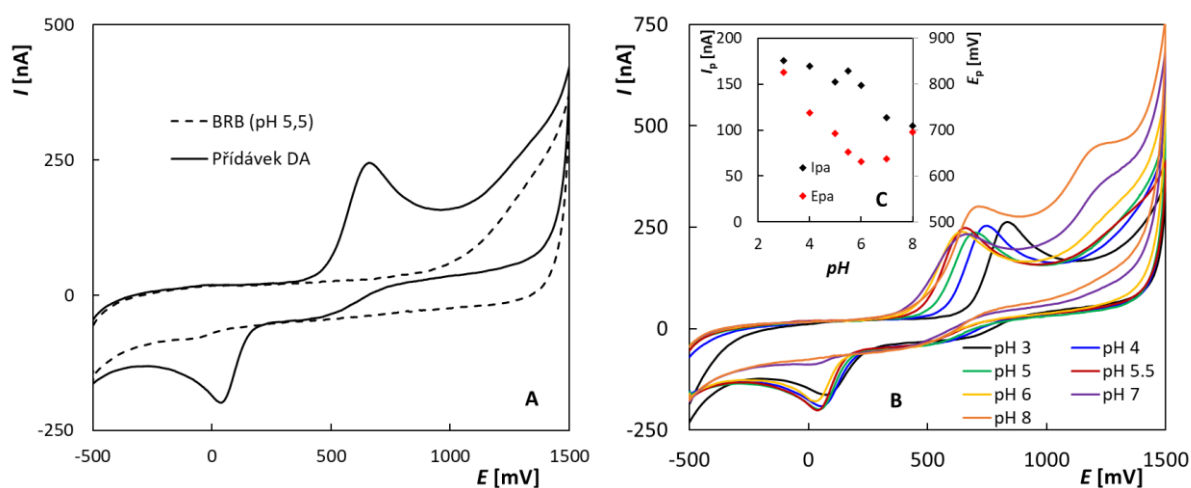
$$E_p \text{ [mV]} = (-12,6 \pm 1,1) \text{ pH} + (1575 \pm 8), r = 0,9661 \quad (17)$$

$$I_p \text{ [nA]} = (144,6 \pm 3,3) v^{1/2} \text{ [(mV s}^{-1}\text{)}^{1/2}] + (110,3 \pm 39,2), r = 0,9979 \quad (18)$$

$$\log(I_p [\text{nA}]) = (0,477 \pm 0,010) \log(v [\text{mV s}^{-1}]) + (2,237 \pm 0,020), r = 0,9984 \quad (19)$$

$$E_p [\text{mV}] = (113,6 \pm 6,5) \log(v [\text{mV s}^{-1}]) + (1292,4 \pm 13,4), r = 0,9873 \quad (20)$$

Obrázek 26A ukazuje cyklický voltamogram DA zaznamenaný na BDDE v BRB (pH 5,5). Je vidět, že DA poskytuje v souladu s literaturou [249] jeden oxidační a odpovídající redukční pík. Rozdíl E_p oxidačního a redukčního píku je přibližně 630 mV, takže lze konstatovat, že elektrochemická reakce DA je kvazi-reverzibilní. Závislost píku na pH je znázorněna na obrázku 26B. V kyselém až slabě kyselém prostředí pH (3-6) byly pozorovány dobře vyvinuté oxidační a redukční píky, jejichž výška se příliš neměnila. S dalším zvýšením pH se proudové odezvy snižovaly.



Obrázek 26 Cyklický voltamogram DA v roztoku BRB (pH 5,5) získaný na BDDE (A), anodické části cyklických voltamogramů DA získané na BDDE v závislosti na pH (B). Závislost I_p a E_p na pH (C).

Metoda – CV, elektrolyt – BRB (pH 3-8), $E_{poč} = -500 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +1500 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$; $c_{DA} = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$

4.2.2 Vývoj voltametrických metod stanovení

Vývoj metod pro voltametrické stanovení uvedených látek probíhal podobně jako u MNL. Nejprve byla vybrána optimální hodnota pH prostředí a poté byly optimalizovány parametry DPV a SWV. Na základě porovnání parametrů změřených koncentračních závislostí pak byla zvolena metoda výhodnější pro konkrétní látku. Přehled použitých základních elektrolytů a metod s optimalizovanými parametry pro všechny studované látky je uveden v tabulce 3.

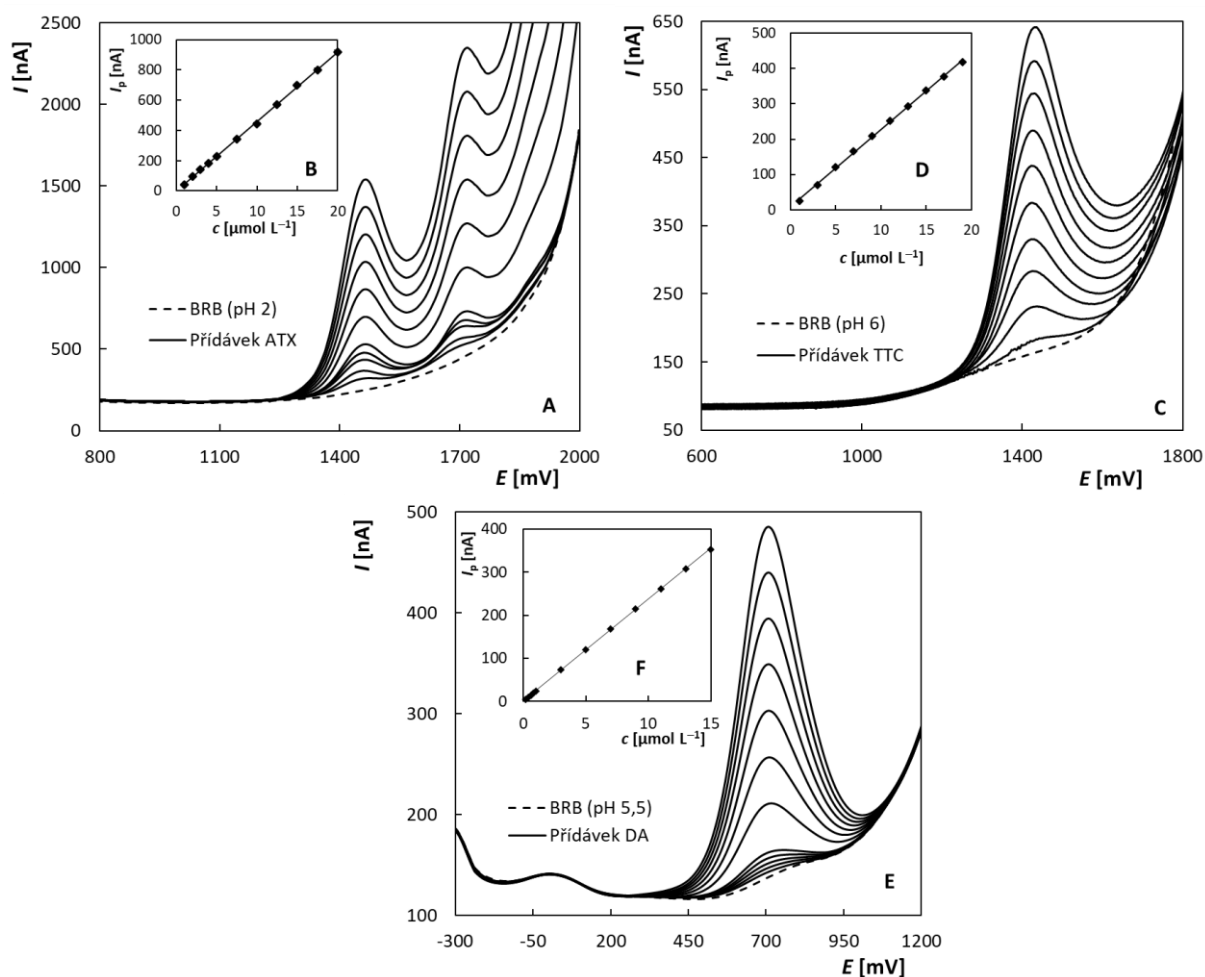
Tabulka 3 Parametry metod pro voltametrické stanovení vybraných látek pomocí BDDE

Látka	pH	Metoda	$E_{\text{poč}}$ [mV]	E_{konc} [mV]	Parametry
MNL	10	SWV	0	2000	$\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 40 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$
ATX	2,0	DPV	500	2000	$\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 50 \text{ mV}$, $t = 20 \text{ ms}$
TTC	6,0	SWV	0	2000	$\nu = 40 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 40 \text{ mV}$, $f = 20 \text{ Hz}$
DA	5,5	SWV	0	1500	$\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$

Následovalo proměření řady koncentračních závislostí a zjištění základních statistických parametrů navržených metod. Příklady získaných voltamogramů v závislosti na koncentraci látek jsou uvedeny na obrázku 27 a parametry vložených závislostí jsou shrnuty v tabulce 4. Pro všechny analyzované látky byl získán poměrně široký LDR přes několik koncentračních řádů. Vypočtené hodnoty LOD a LOQ jsou uvedeny v tabulce 5, ze které vyplývá, že navržené metody umožňují stanovení velmi nízkých koncentrací analytů. Dobrá opakovatelnost měření byla ověřena výpočtem RSD_{11} pro 11 opakovaných křivek pro stejnou koncentraci jednotlivých látek, která je $\leq 5 \%$ (tabulka 5).

Tabulka 4 Statistické parametry koncentračních závislostí pro všechny studované látky

Látka	LDR [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Směrnice [nA $\mu\text{mol L}^{-1}$]	Úsek [nA]	r
MNL	0,1-30	(94,67 \pm 0,37)	(6,91 \pm 5,72)	0,9997
ATX	0,2-20	(45,78 \pm 0,19)	(0,66 \pm 0,59)	0,9999
TTC	1-20	(21,69 \pm 0,15)	(10,34 \pm 1,84)	0,9996
DA	0,2-286	(25,53 \pm 0,13)	(7,41 \pm 1,20)	0,9998



Obrázek 27 DP voltamogramy ATX (A) a SW voltamogramy TTC (C) a DA (E) v závislosti na koncentraci zaznamenané na BDDE, závislosti I_p na koncentraci jednotlivých látek (B, D, F). Podmínky metod jsou shrnuty v tabulce 3

Tabulka 5 Vypočítané hodnoty LOD, LOQ a RSD_{11} pro všechny studované látky

Látka	LOD [nmol L ⁻¹]	LOQ [nmol L ⁻¹]	RSD_{11} * [%]
MNL	55	180	0,9
ATX	39	130	5,0
TTC	250	850	2,5
DA	62	207	1,4

*Vypočteno z 11 opakovaných měření při koncentraci MNL, ATX, DA 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, a TTC 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$

Na závěr této kapitoly jsou prezentovány výsledky analýzy modelových roztoků o známé koncentraci analytů a pesticidních (TTC/Substral) nebo farmaceutických (ATX/Strattera) přípravků s využitím vyvinutých voltametrických metod. Postupy přípravy vzorků i vlastních analýz jsou uvedeny v Experimentální části. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 6, ze

kteře vyplývá, že byly vyvinuty metody umožňující správné a opakovatelné stanovení studovaných látek nejen v modelových roztocích, ale i v reálných vzorcích se složitější maticí.

Tabulka 6 Výsledky stanovení ATX a TTC v modelových roztocích a praktických vzorcích

Látka	Vzorek	Dáno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Stanoveno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Výtěžnost [%]	RSD _s [%]
TTC	Modelový roztok	5,0	(5,070±0,100)	98,9-103,7	2,0
ATX	Modelový roztok	1,0	(1,016±0,024)	97,4-107,1	3,5
		5,0	(4,990±0,065)	97,2-102,2	2,0
Látka	Vzorek	Deklarováno [mg]	Stanoveno [mg]	Výtěžnost [%]	RSD _s [%]
TTC	Substral	10	(9,84 ± 0,58)	92,5-105,8	5,9
ATX	Strattera	60	(59,7 ± 1,1)	98,2-103,9	2,8

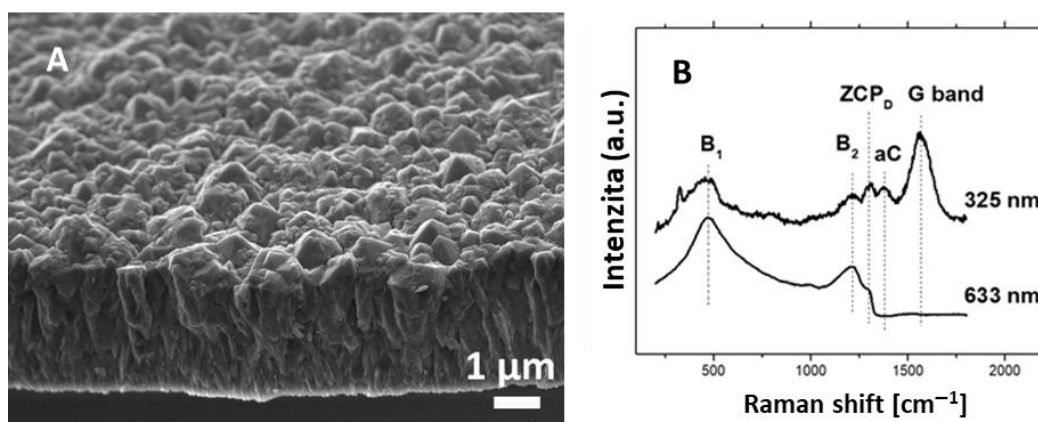
Výsledky části této studie týkající se ATX byly publikovány v článku s názvem „Novel screen-printed sensors with chemically deposited boron-doped diamond and their use for voltammetric determination of attention deficit hyperactivity disorder medication atomoxetine“ [168] (Příloha č. 4).

4.3 Nové tištěné senzory s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou

V rámci této disertační práce byly připraveny nové tištěné senzory s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou (LM-SP/BDDE), byly studovány jejich povrchové a elektrochemické vlastnosti a možnosti aplikace při analýze vybraných elektroaktivních látek. Tyto senzory byly zavedeny do praxe publikací s názvem „Novel screen-printed sensor with chemically deposited boron-doped diamond electrode: preparation, characterization, and application.“ [167] (Příloha č. 5).

Postup přípravy těchto senzorů byl popsán v experimentální části v kapitole 3.3.1. Tištěné senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou. Snímek SEM (obrázek 28A) ukazuje BDD vrstvu připravenou na substrátu z Al_2O_3 . Velikost zrn se pohybuje v rozmezí od 0,2 do 1 μm . Tloušťka vrstvy po 30 hodinách růstu je cca 3,5 μm , což zajišťuje homogenní pokrytí keramického substrátu. Ramanova spektra získaná pomocí excitační vlnové délky 325 nm a 633 nm (obrázek 28B) obsahují maxima typická pro diamant silně dopovaný bórem. Pásky B1 (480 cm^{-1}) a B2 (1220 cm^{-1}) se týkají inkorporace boru ve struktuře diamantu. Maximum

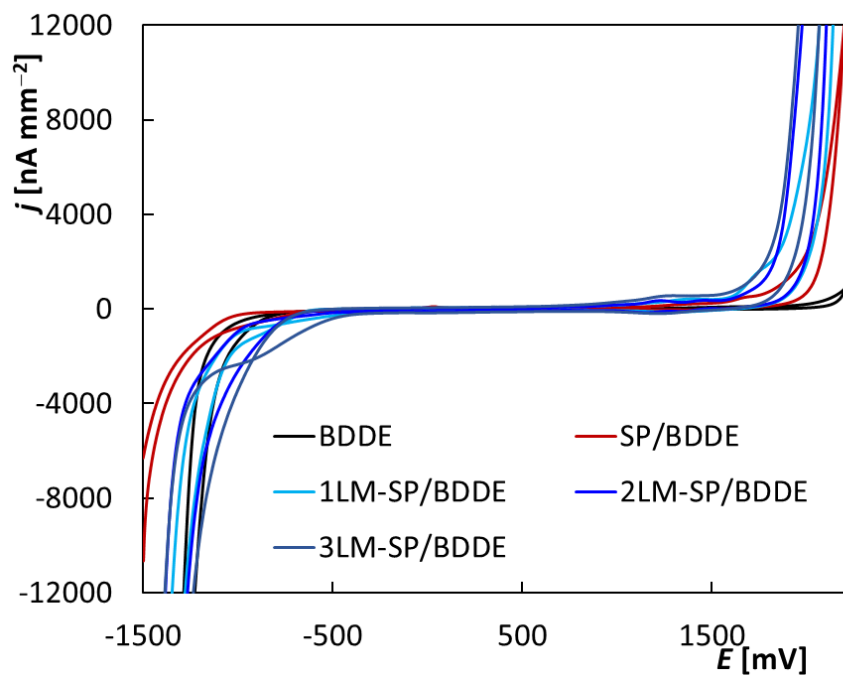
ZCP_D odpovídá diamantu a pásy při 1360 cm⁻¹ resp. 1570 cm⁻¹ odpovídají amorfnnímu uhlíku a sp² vázanému uhlíku [266,267].



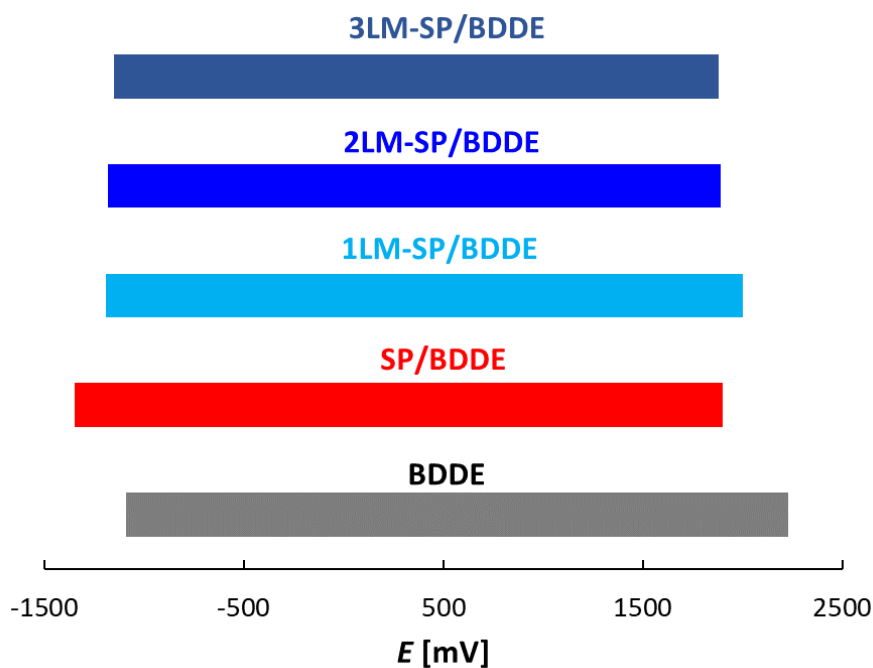
Obrázek 28 SEM snímek filmu BDD na substrátu Al₂O₃ (45° úhel pohledu) (A) a Ramanova spektra filmu BDD získaná při excitaci 325 nm a 633 nm (B₁ a B₂ – maxima související s inkorporací boru, ZCP_D – fononový mód kubického diamantu, aC – amorfnní uhlík, G band – grafitový pás související s sp² uhlíkem) (B)

4.3.1 Studium elektrochemických vlastností s využitím cyklické voltametrie

Elektrochemické vlastnosti LM-SP/BDDE byly zkoumány pomocí CV a získané výsledky byly porovnány s výsledky dosaženými s použitím BDDE ve standardním uspořádání elektrochemického článku a komerčně dostupného SP/BDDE. Prvním testovaným parametrem byl využitelný potenciálový rozsah jednotlivých senzorů v prostředí 0,1 mol L⁻¹ H₂SO₄ (obrázek 29). Mez anodického a katodického potenciálu byla definována jako potenciál, kde proudová hustota překročila hodnotu ±2000 nA mm⁻². Obrázek 30 ukazuje, že všechny systémy poskytují srovnatelné velmi široké využitelné potenciálové okno (> 3000 mV). Nejširší potenciálový rozsah byl pozorován u klasické BDDE, což odpovídá nižší úrovni dopování borem [52,58].



Obrázek 29 Cyklické voltamogramy zaznamenané v prostředí $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ na testovaných senzorech ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$)

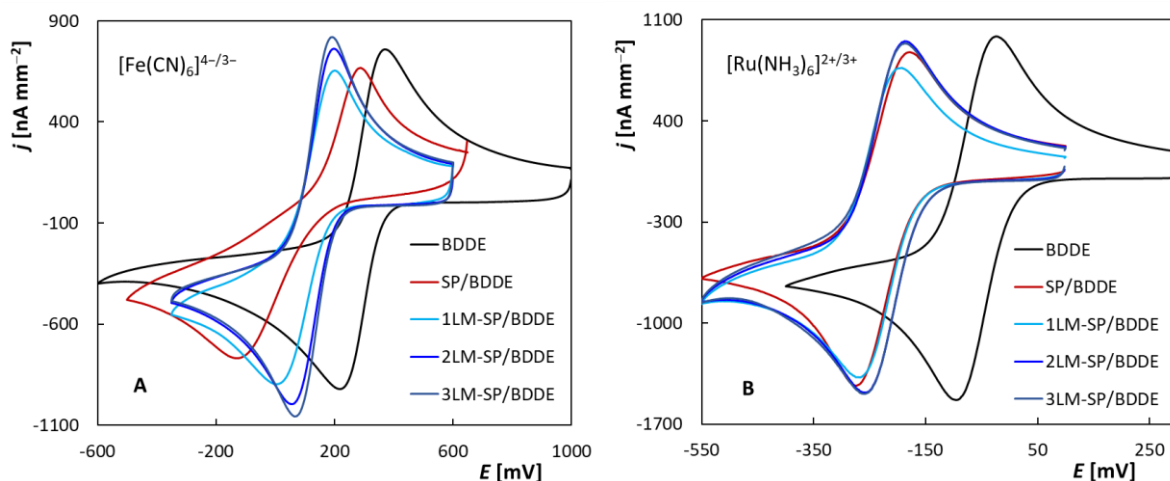


Obrázek 30 Využitelný rozsah potenciálu pro jednotlivé elektrody v prostředí $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ (limit byl nastaven na hodnotu proudové hustoty $\pm 2000 \text{ nA mm}^{-2}$)

Pro studium elektrochemických vlastností nových senzorů byly použity dva redoxní systémy běžně používané pro charakterizaci elektrod, a to $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$. Zatímco $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ představuje v případě BDDE redoxní systém tzv. „vnitřní sféry“, kdy přenos elektronů je silně ovlivněn stavem povrchu a materiálem elektrody [43,52,268–271],

$[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ patří mezi markery „vnější sféry“, pro které platí, že přenos elektronů není ovlivněn materiálem elektrody ani její kvalitou [52,269,271,272]. Reakce s mechanismem „vnitřní sféry“ jsou obecně méně reverzibilní než reakce „vnější sféry“ [273]. Pro lepší porovnání výsledků byly hodnoty proudu přepočítány na proudové hustoty (k přepočtu byla použita geometrická plocha). Nejprve bylo měřeno 10 opakovaných cyklických voltamogramů obou redoxních markerů v roztoku $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c([\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}) = c(\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}) = 0,625 \text{ mmol L}^{-1}$). Získané výsledky svědčí o velmi dobré opakovatelnosti měření na všech testovaných senzorech ($\text{RSD}_{10} < 2,5 \%$).

Dále byla zkoumána reverzibilita sledovaných elektrodových reakcí. Obrázek 31A ukazuje cyklické voltamogramy $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ zaznamenané na konkrétních elektrodách (vždy 10. křivka z předchozího experimentu). Základní charakteristiky anodických a katodických pík jsou shrnuty v tabulce 7. Dosažené hodnoty j_p byly podobné, přesto nejvyšší oxidační a redukční píky byly zaznamenány vedle BDDE na 2LM- a 3LM-SP/BDDE. Parametr j_{pa}/j_{pc} se pro všechny senzory pohyboval kolem hodnoty 1 potvrzující reverzibilitu elektrodové reakce. ΔE_p byl vyšší, než odpovídá teoretické hodnotě 59 mV, což je pravděpodobně dáno tím, že se jedná o marker „vnitřní sféry“ a probíhající reakce je ovlivněna kvalitou povrchu elektrody. Jednoznačně nejhorší výsledek ($\Delta E_p = 395 \text{ mV}$) byl získán pro SP/BDDE. U LM-SP/BDDE rostla reversibilita reakce s rostoucí plochou WE ($\Delta E_p = 115 \text{ mV}$, 3LM-SP/BDDE).



Obrázek 31 Cyklické voltamogramy $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (A) a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ (B) zaznamenané na testovaných senzorech. Metoda – CV, elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c([\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}) = c(\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}) = 0,625 \text{ mmol L}^{-1}$

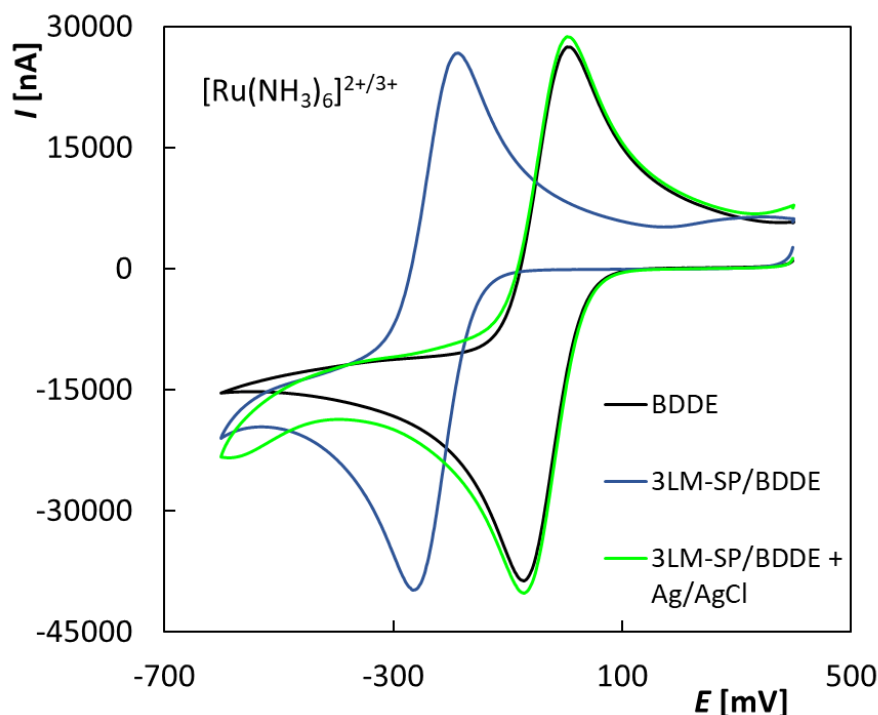
Cyklické voltamogramy pro komplex $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ jsou uvedeny na obrázku 31B a parametry křivek jsou opět shrnuty v tabulce 7. Parametr j_{pa}/j_{pc} se pohyboval od 0,96 do 1,03, což svědčí o reverzibilním průběhu reakce. Na rozdíl od $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ byly v případě

$[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ zjištěny hodnoty ΔE_p blíží se teoretické hodnotě 59 mV, která je typická pro jednoelektronovou reverzibilní elektrodovou reakci. To lze vysvětlit povahou redoxního systému, kdy reakce ani přenos elektronů nejsou ovlivněny fyzikálně-chemickými vlastnostmi pracovního povrchu elektrody [274]. Velmi dobrá reverzibilita byla potvrzena zejména u LM-SP/BDDE a klasického BDDE ($\Delta E_p = 59\text{-}65$ mV). U SP/BDDE byl rozdíl větší ($\Delta E_p = 85$ mV).

Tabulka 7 Parametry cyklických voltamogramů redoxních markerů $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$

Elektroda	j_{pa} [nA mm ⁻²]	j_{pc} [nA mm ⁻²]	j_{pa}/j_{pc}	E_{pa} [mV]	E_{pc} [mV]	ΔE_p [mV]
$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$						
BDDE	857	-829	1,03	367	221	146
SP/BDDE	634	-535	1,18	283	-112	395
1LM-SP/BDDE	777	-665	1,17	195	19	176
2LM-SP/BDDE	874	-816	1,07	193	60	133
3LM-SP/BDDE	939	-882	1,06	187	72	115
$[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$						
BDDE	1283	-1266	1,01	-47	-111	64
SP/BDDE	1094	-1144	0,96	-194	-279	85
1LM-SP/BDDE	1059	-1024	1,03	-200	-265	65
2LM-SP/BDDE	1179	-1162	1,01	-192	-251	59
3LM-SP/BDDE	1142	-1144	1,00	-192	-253	61

Současně byl pozorován významný posun potenciálu redoxních signálů získaných na SP/BDDE i LM-SP/BDDE do méně pozitivních hodnot ve srovnání s klasickým uspořádáním elektrochemického článku s BDDE. Jak je dokumentováno na obrázku 32, tento posun je způsoben pseudo-RE používanými v případě SPE. Obrázek ukazuje na příkladu 3LM-SP/BDDE, že po připojení externí RE k tištěnému senzoru se píky $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ posunuly k pozitivnějším potenciálům a překrývají se s píky získanými na BDDE ve spojení se stejnou RE. Podobný potenciálový posun byl pozorován v celé práci jak v analýze redoxních markerů, tak při stanovení dalších analytů, a nebude mu již v dalším textu věnována pozornost.

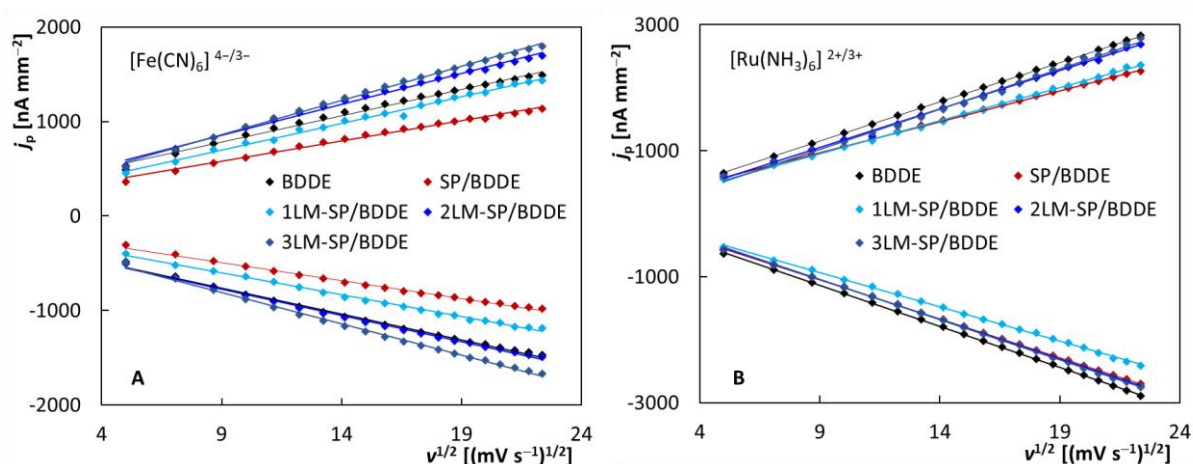


Obrázek 32 Cyklické voltamogramy $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ zaznamenané na BDDE v klasickém třielektrodovém uspořádání (RE – Ag/AgCl/KCl(sat.)), na 3LM-SP/BDDE (pseudo-RE) a na 3LM-SP/BDDE s externí RE (Ag/AgCl/KCl(sat.)). Metoda CV, elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c([Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$

V dalším kroku byl zkoumán vliv rychlosti polarizace v rozsahu 25 až 500 mV s^{-1} na voltametrické odezvy obou redoxních markerů. Ty se zvyšují s rostoucí rychlostí polarizace, ale příslušné závislosti I_p na v nebyly lineární. Naopak linearita byla pozorována u závislosti $j_p = f(v^{1/2})$, což ilustruje obrázek 33. Tento výsledek je typický pro difuzně řízenou elektrodovou reakci, která je běžná pro BDDE vzhledem k nízké sorpci analytů na povrchu. Nejvyšší hodnoty směrnic (tabulka 8) byly opět získány pro 2LM- a 3LM-SP/BDDE, což svědčí o vynikajících elektrochemických vlastnostech těchto senzorů. Difuze jako řídicí děj byla dále potvrzena vynesemím logaritmických závislostí $\log(j_p) = f(\log(v))$. Směrnicе uvedených závislostí (tabulka 9) se blíží k teoretické hodnotě $0,5$ zejména v případě komplexu $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$.

Zdánlivá heterogenní konstanta rychlosti přenosu elektronů (k_{app}^0) byla vypočtena podle Nicholsona (rovnice 5) pro $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ [262]. Na základě literatury byly použity následující hodnoty difúzních koeficientů (D) za předpokladu $D_{ox} = D_{red}$: $7,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ [275,276] pro $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ a $5,5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ [277] pro $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$. Rychlostní konstanty se označují jako zdánlivé, protože nebyla provedena žádná korekce na jakékoli elektrické dvouvrstvé efekty. Získané výsledky jsou shrnuty v tabulce 8 a mohou sloužit pro kvalitativní odhad rychlosti přenosu náboje. Vzhledem k vysokým hodnotám ΔE_p v případě $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ byl použit dříve publikovaný výpočetní postup (rovnice 6) [58]. Hodnoty k_{app}^0 se pohybují přes tři

řády ($2,10 \times 10^{-3}$ až $5,70 \times 10^{-5}$ cm s^{-1}), což potvrzuje povrchově citlivý charakter tohoto markeru. Srovnatelně vysoké hodnoty k_{app}^0 indikující rychlejší přenos náboje byly vypočteny pro LM-SP/BDDE (nejvyšší pro 3LM-SP/BDDE) a BDDE. Významně nižší hodnota byla získána pro SP/BDDE. Hodnoty k_{app}^0 vypočtené pro $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ se pohybují v úzkém rozsahu od $4,40 \times 10^{-3}$ do $3,16 \times 10^{-3}$ cm s^{-1} , což odpovídá charakteru tohoto markeru (“vnější sféry”) a je v souladu s publikovanými výsledky [52,58,267]. Nejvyšší hodnoty potvrzující příznivé elektrochemické vlastnosti byly opět získány pro 2LM- a 3LM-SP/BDDE.



Obrázek 33 Závislosti $j_p = f(v^{1/2})$ získané pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (A) a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ (B) s použitím testovaných senzorů. Metoda CV, elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $v = 25\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$, $c([\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}) = c([\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}) = 0,625 \text{ mmol L}^{-1}$

Tabulka 8 Parametry závislosti $j_p = f(v^{1/2})$ a hodnoty k_{app}^0 pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$

Elektroda	Směrnice (a) [nA s mV ⁻¹ mm ⁻²]	Směrnice (c) [nA s mV ⁻¹ mm ⁻²]	ΔE_p^1 [mV]	k_{app}^0 ¹ [cm s ⁻¹]
$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$				
BDDE	(55,7±1,10)	–(55,10±0,91)	146,8	$1,39 \times 10^{-3}$
SP/BDDE	(43,11±0,80)	–(38,10±0,61)	394,7	$5,70 \times 10^{-5}$
1LM-SP/BDDE	(56,50±1,00)	–(46,21±0,60)	176,5	$9,47 \times 10^{-4}$
2LM-SP/BDDE	(65,10±1,12)	–(55,71±0,80)	132,9	$1,66 \times 10^{-3}$
3LM-SP/BDDE	(72,41±0,90)	–(66,51±0,81)	115,0	$2,10 \times 10^{-3}$
$[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$				
BDDE	(124,61±0,50)	–(130,21±0,31)	63,5	$4,19 \times 10^{-3}$
SP/BDDE	(98,21±0,50)	–(123,31±0,20)	85,3	$3,16 \times 10^{-3}$
1LM-SP/BDDE	(104,91±0,81)	–(109,00±0,80)	65,5	$4,08 \times 10^{-3}$
2LM-SP/BDDE	(122,20±1,30)	–(125,91±0,60)	59,5	$4,40 \times 10^{-3}$
3LM-SP/BDDE	(127,60±1,60)	–(127,10±0,50)	61,5	$4,30 \times 10^{-3}$

¹ při rychlosti polarizace 100 mV s^{-1} ; a – anodický pík, c – katodický pík

Tabulka 9 Parametry závislosti $\log(j_p) = f(\log(v))$ pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$

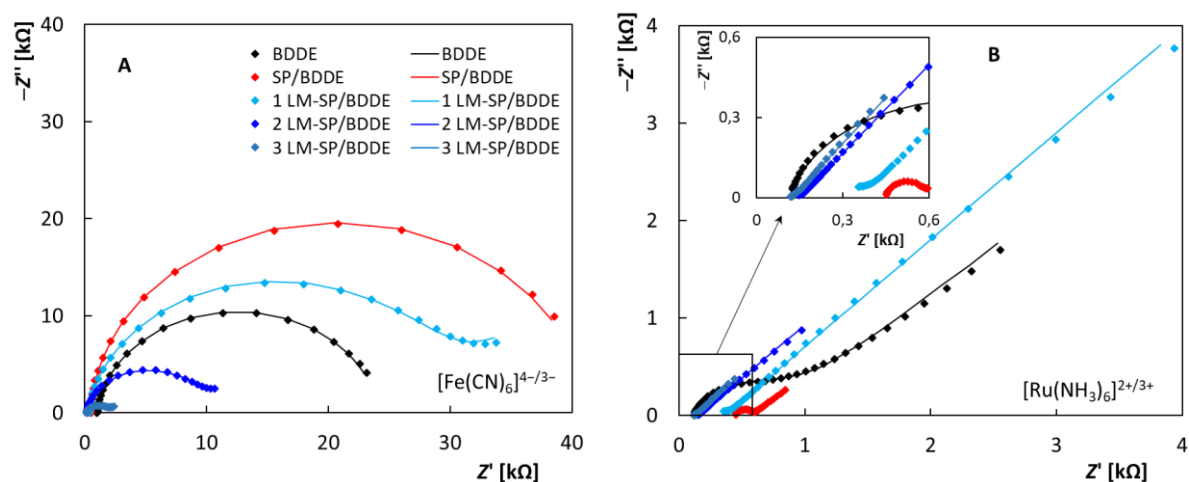
Elektroda	Směrnice (a)	<i>r</i>	Směrnice (c)	<i>r</i>
	[nA s ^{1/2} mV ^{-1/2}]		[nA s ^{1/2} mV ^{-1/2}]	
$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$				
BDDE	(0,363±0,003)	0,9992	(0,366±0,002)	0,9997
SP/BDDE	(0,377±0,003)	0,9995	(0,388±0,023)	0,9997
1LM-SP/BDDE	(0,388±0,007)	0,9973	(0,374±0,004)	0,9989
2LM-SP/BDDE	(0,383±0,003)	0,9995	(0,362±0,001)	0,9999
3LM-SP/BDDE	(0,413±0,002)	0,9997	(0,405±0,002)	0,9998
$[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$				
BDDE	(0,489±0,001)	0,9999	(0,509±0,001)	0,9999
SP/BDDE	(0,469±0,001)	0,9999	(0,521±0,001)	0,9999
1LM-SP/BDDE	(0,489±0,004)	0,9994	(0,510±0,004)	0,9986
2LM-SP/BDDE	(0,507±0,006)	0,9989	(0,527±0,002)	0,9998
3LM-SP/BDDE	(0,525±0,006)	0,9989	(0,533±0,001)	0,9999

4.3.2 Charakterizace pomocí elektrochemické impedanční spektroskopie

Všechna získaná EIS spektra (obrázek 34) dobře korelují s výsledky CV, protože nejostřejší píky s nejlepší reverzibilitou byly získány na elektrodách s nejnižšími R_{ct} . Hodnoty jednotlivých prvků elektrických ekvivalentních obvodů (*EEC*) ($R([R]/Q)$ pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ redox marker a $R([RW]/Q)$ pro $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ redox marker vypočítané pomocí simulačního softwaru FRA jsou shrnuty v tabulce 10. Pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (obrázek 34A) byla nejvyšší hodnota $R_{ct} = 40,1 \text{ k}\Omega$ zaznamenána na SP/BDDE, což odpovídá největšímu ΔE_p mezi píky oxidace a redukce. V případě LM-SP/BDDE se R_{ct} snižovalo se zvyšující se plochou pracovní elektrody, a to 21,6, 7,7 a 2,4 k Ω pro průměr elektrody 1, 2 a 3 mm, ale po zohlednění plochy elektrody byly hodnoty velice blízké (0,17, 0,24 a 0,17 k $\Omega \text{ cm}^2$). R_{ct} u BDDE a SP/BDDE byly 11,7 k Ω a 0,83 k $\Omega \text{ cm}^2$, resp. 40,1 k Ω a 4,1 k $\Omega \text{ cm}^2$.

Hodnoty R_{ct} pro $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ (obrázek 34B) u BDDE a SP/BDDE byly mnohem nižší 1,0 k Ω / 71,8 $\Omega \text{ cm}^2$ a 0,12 k Ω / 12,3 $\Omega \text{ cm}^2$. U LM-SP/BDDE byly hodnoty R_{ct} 1,19, 0,94 a 1,98 $\Omega \text{ cm}^2$ pro elektrody o průměru 1, 2 a 3 mm. Větší rozptyl hodnot byl způsoben velmi nízkým změřeným R_{ct} na úrovni 30 Ω pro 2LM-SP/BDDE a 3LM-SP/BDDE z důvodu obtížné simulace, resp. fitování *EEC*, protože bylo získáno jen několik použitelných bodů v půlkruzích Nyquistova grafu. Nižší R_{ct} pro oba markery byly podle očekávání pozorovány u elektrod s vyšším dopováním borem, vzhledem k jejich analogickému voltametričkému chování na

BDDE s různými úrovněmi dopování bórem [52,58]. Kromě toho trvale nízké hodnoty získaných R_{ct} na testovaných elektrodách ilustrují dlouhodobou stabilitu H-terminace, protože odpovídající R_{ct} na O-terminovaných BDDE jsou výrazně vyšší, jak uvádí Oliviera a Oliveira-Brett [63].



Obrázek 34 Elektrochemická impedanční spektra (Nyquistovy grafy) zaznamenaná na testovaných senzorech. Metoda – EIS, elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $f = 10\,000\text{--}1 \text{ Hz}$, $A = 10 \text{ mV}$, $c = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (A) a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ (B)

Tabulka 10 Hodnoty jednotlivých prvků EEC ($R([R]/Q)$ pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a $R([RW]/Q)$ pro $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ vypočítané pomocí simulačního softwaru FRA

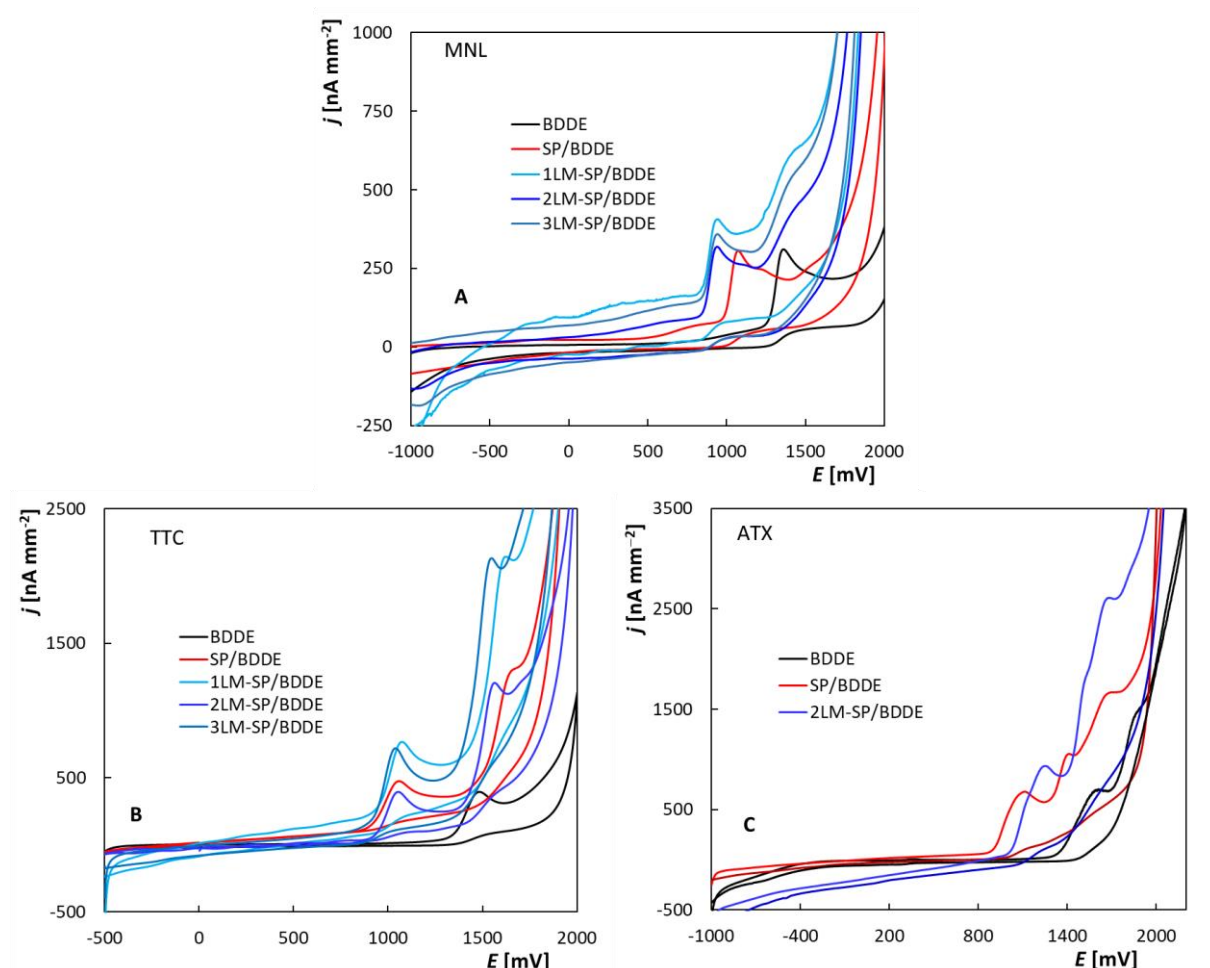
Elektroda	R_s [Ω]	R_{ct} [k Ω]	Y_o [$\mu\text{Mho s}^n$]	n	Y_o [$\mu\text{Mho s}^{1/2}$]
$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$					
BDDE	105	11,7	0,77	0,90	–
SP/BDDE	499	40,1	0,75	0,95	–
1LM-SP/BDDE	319	21,6	0,14	0,92	–
2LM-SP/BDDE	149	7,7	0,49	0,93	–
3LM-SP/BDDE	119	2,4	2,17	0,86	–
$[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$					
BDDE	0,189	1,016	1,5	0,80	93
SP/BDDE	0,479	0,121	2,4	0,88	581
1LM-SP/BDDE	0,351	0,151	11,1	0,62	34
2LM-SP/BDDE	0,145	0,030	29,3	0,65	165
3LM-SP/BDDE	0,123	0,025	90,1	0,66	455

4.3.3 Aplikace tištěných senzorů v elektroanalýze

Jak již bylo zmíněno, jedním z cílů této práce bylo také otestovat aplikační možnosti nových sítotiskových senzorů s BDDE. Pro tyto účely byly jako analyty využity léčiva mefenoxalon a atomoxetin a fungicid tritikonazol, pro něž byly vyvinuty metody stanovení s využitím BDDE rovněž v rámci této disertační práce a jsou popsány výše.

4.3.3.1 Studium voltametrického chování vybraných látek na tištěných senzorech

Voltametrické chování MNL a TTC bylo studováno s využitím všech testovaných senzorů, zatímco pro ATX byly porovnány pouze výsledky získané na BDDE, SP/BDDE a 2LM-SP/BDDE. Na obrázku 35 jsou uvedeny cyklické voltamogramy (A) MNL ($20 \mu\text{mol L}^{-1}$) zaznamenané v prostředí BRB (pH 9), (B) TTC ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) v prostředí BRB (pH 6) a (C) ATX ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) v BRB (pH 4,5).



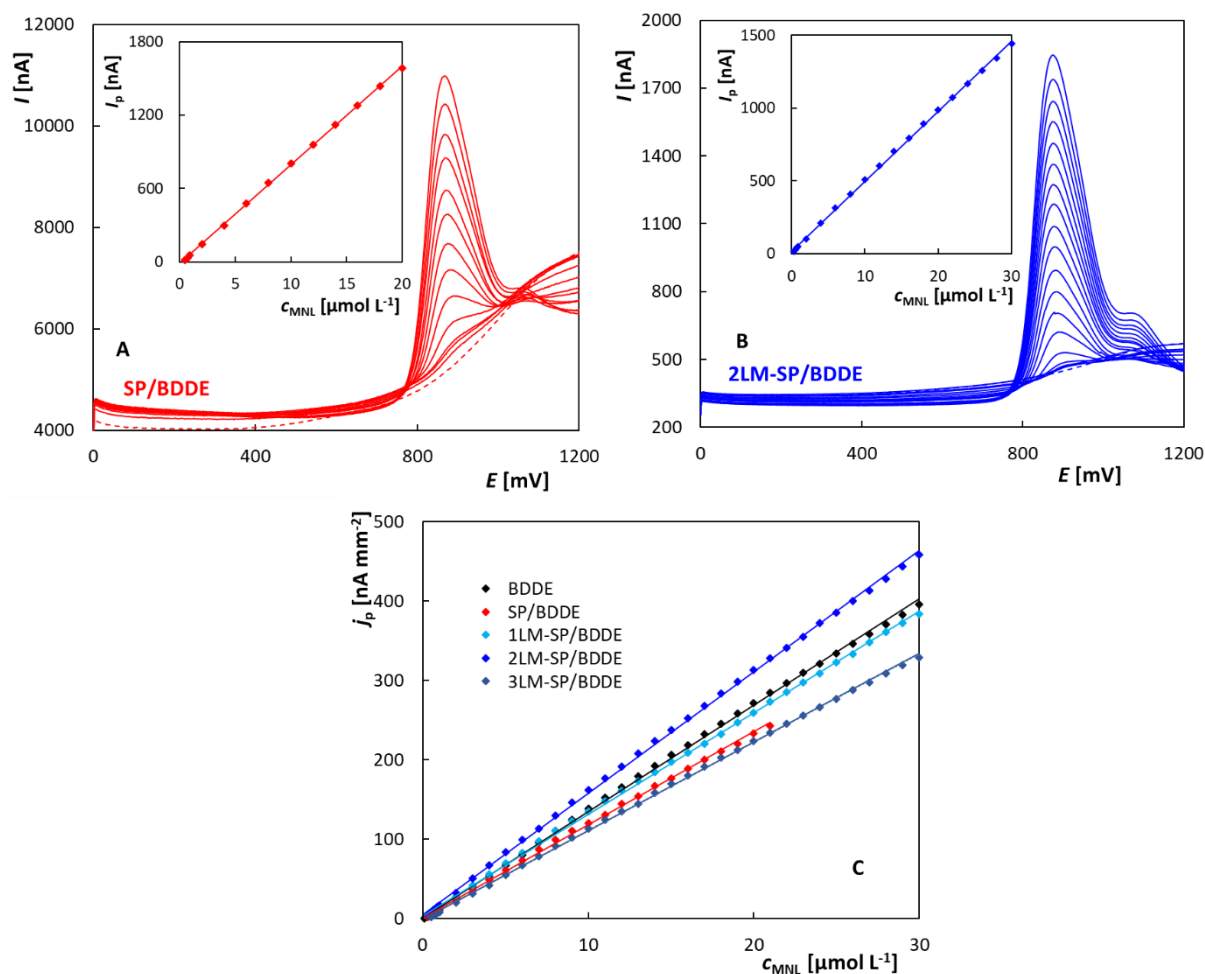
Obrázek 35 Cyklické voltamogramy MNL (A), TTC (B) a ATX (C) zaznamenané na testovaných senzorech. Metoda – CV, MNL: elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{poč} = -1500 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +2200 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c_{MNL} = 20 \mu\text{mol L}^{-1}$, TTC: elektrolyt – BRB (pH 6), $E_{poč} = -500 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +2000 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c_{MNL} = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$; ATX: elektrolyt – BRB (pH 4,5), $E_{poč} = -1000 \text{ mV}$, $E_{obratu} = +2200 \text{ mV}$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $c_{ATX} = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$

Zatímco na BDDE byl pozorován pouze jeden oxidační pík MNL (v souladu s výsledky v kapitole 4.1.1 Studium elektrochemického chování mefenoxalonu), tištěné senzory poskytovaly další špatně vyvinuté signály (obrázek 35A). Získané hodnoty j_p oxidačního píku MNL byly srovnatelné pro všechny senzory. V případě TTC (obrázek 35B) byl na SPE senzorech vedle stejné anodické odezvy jako na BDDE, jen posunutý k méně pozitivnímu potenciálu, pozorován další méně vyvinutý a špatně vyhodnotitelný pík v oblasti pozitivnějších potenciálů. Jeho tvar byl významně ovlivněn rozkladem základního elektrolytu. Z obrázku 35C pro ATX vyplývá, že voltametrické křivky získané na všech tištěných senzorech jsou složitější a obsahují více anodických signálů než v případě BDDE. Problematice původu jednotlivých signálů ATX je věnována pozornost v příložené práci (Příloha 4) [168]. Pro analytické účely se jevil pro všechny analyty vhodný vždy první oxidační signál pozorovaný na jednotlivých SPE odpovídající odezvě na BDDE.

4.3.3.2 *Parametry koncentračních závislostí studovaných látek*

Pro stanovení zkoumaných látek byly použity metody SWV a DPV s optimalizovanými parametry. Nejprve byly proměřeny koncentrační závislosti s využitím testovaných senzorů a stanoveny základní statistické parametry. Příklad SW voltametrických křivek MNL v závislosti na jeho koncentraci zaznamenaných na SP/BDDE a 2LM-SP/BDDE je uveden na obrázku 36A a B včetně odpovídajících závislostí I_p na c_{MNL} . Obrázek 36C představuje porovnání závislostí po přepočtu na j_p pro všechny testované senzory a uspořádání. Získané statistické parametry pro MNL jsou shrnuty v tabulce 11. Všechny SPE poskytovaly srovnatelné hodnoty LDR jako BDDE s výjimkou SP/BDDE, jejíž využití bylo omezeno při vyšších koncentracích. Nejnižší LOD a LOQ totožné s BDDE poskytla 3LM-SP/BDDE. S klesající plochou elektrody se tyto parametry mírně zhoršovaly. Výsledky získané pro SP/BDDE byly srovnatelné s 1LM-SP/BDDE. Všechny senzory se vyznačovaly vysokou opakovatelností měření ($RSD_{11} \leq 1 \%$).

Stejná měření s využitím všech testovaných senzorů byla realizována rovněž pro TTC. Obrázek 37 ukazuje příklad SW voltamogramů zaznamenaných v závislosti na koncentraci TTC na 2LM-SP/BDDE (A) a porovnání získaných závislostí j_p na c_{TTC} (B) pro jednotlivé senzory. Vypočítané statistické parametry jsou shrnuty v tabulce 12. Je zřejmé, že citlivost je mírně vyšší pro nové LM-SP/BDDE ve srovnání s BDDE a SP/BDDE. Hodnoty LOD jsou v podstatě shodné pro všechny testované senzory. Tištěné senzory poskytují výrazně širší LDR oproti BDDE. Opakovatelnost měření je na všech senzorech dobrá ($RSD_{11} < 4 \%$).



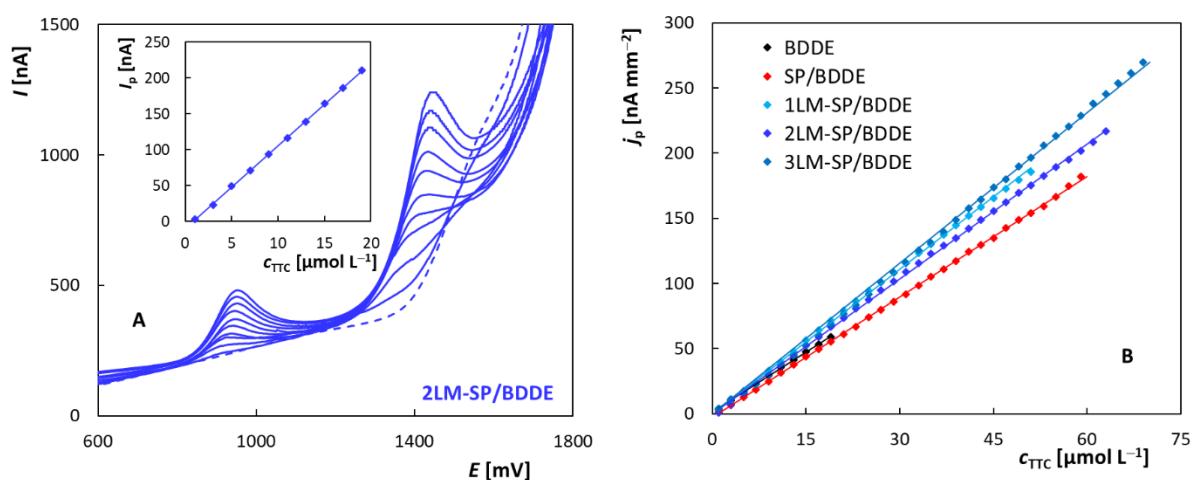
Obrázek 36 SW voltamogramy MNL v závislosti na koncentraci zaznamenané na SP/BDDE (A) a 2LM-SP/BDDE (B) s vloženými, závislostmi I_p na c_{MNL} a závislost j_p na c_{MNL} pro všechny testované senzory (C). Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{kon} = +2000$ mV, $v = 50$ mV s⁻¹, $A = 40$ mV, $f = 25$ Hz, $c_{MNL} = 0,1-20$ (A) a $0,1-30$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ (B, C)

Tabulka 11 Statistické parametry koncentračních závislostí změřených pro MNL pomocí všech testovaných senzorů

Elektroda	LDR [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Směrnice [nA L μmol^{-1} mm ⁻²]	LOD ^a [nmol L ⁻¹]	LOQ ^a [nmol L ⁻¹]	RSD ₁₁ ^b [%]
BDDE	0,1-30	(13,39±0,05)	55	180	0,9
SP/BDDE	0,3-21	(11,74±0,07)	94	310	1,0
1LM-SP/BDDE	0,3-30	(12,81±0,05)	99	330	0,7
2LM-SP/BDDE	0,3-30	(15,31±0,06)	74	250	0,6
3LM-SP/BDDE	0,2-30	(11,15±0,04)	58	190	1,0

^a Vypočteno ze zaznamenané koncentrační závislosti v rozmezí 0,5-10 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

^b Vypočteno z 11 opakovaných měření při koncentraci MNL 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$.



Obrázek 37 SW voltamogramy TTC v závislosti na koncentraci zaznamenané na 2LM-SP/BDDE (A) s vloženými, závislostmi I_p na c_{TTC} a závislost j_p na c_{TTC} pro všechny testované senzory (B). Metoda SWV, elektrolyt BRB (pH 6), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{konc} = +2000$ mV, $v = 40$ mV s⁻¹, $A = +40$ mV, $f = 25$ Hz

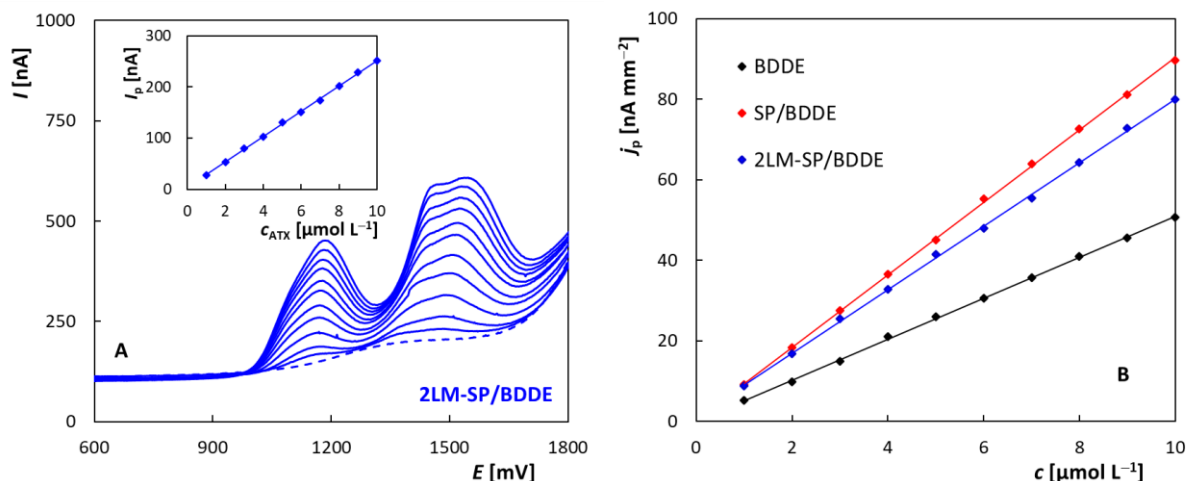
Tabulka 12 Statistické parametry koncentračních závislostí změřených pro TTC pomocí všech testovaných senzorů

Elektroda	LDR [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Směrnice [nA L μmol^{-1} mm ⁻²]	LOD ^a [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	LOQ ^a [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	RSD ₁₁ ^b [%]
BDDE	1-20	(3,07±0,02)	0,25	0,83	2,5
SP/BDDE	1-60	(3,04±0,01)	0,21	0,70	1,4
1LM-SP/BDDE	1-51	(3,71±0,02)	0,28	0,93	3,2
2LM-SP/BDDE	1-63	(3,64±0,01)	0,18	0,60	2,6
3LM-SP/BDDE	1-70	(3,85±0,03)	0,34	1,13	3,9

^a Vypočteno ze zaznamenané koncentrační závislosti v rozmezí 1-20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

^b Vypočteno z 11 opakovaných měření při koncentraci TTC 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Voltametrická metoda stanovení ATX vyvinutá pomocí BDDE byla přenesena na SP/BDDE a 2LM-SP/BDDE. Pro porovnání citlivosti jednotlivých senzorů byly změřeny koncentrační závislosti v rozsahu od 1 do 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ v prostředí BRB (pH 2). Příklad zaznamenaných DP voltamogramů pro 2LM-SP/BDDE (A) s vnesenými závislostmi $j_p = f(c)$ pro jednotlivé senzory (B) jsou uvedeny na obrázku 38 a vypočtené statistické parametry jsou shrnuty v tabulce 13. Je zřejmé, že jak SP/BDDE, tak 2LM-SP/BDDE poskytují vyšší hodnoty směrnice než BDDE, ale hodnoty LOD pro všechny tři senzory byly srovnatelné. Opakovatelnost měření byla opět velice dobrá ($\text{RSD}_{11} < 2\%$).



Obrázek 38 DP voltamogramy ATX v závislosti na koncentraci zaznamenané na 2LM-SP/BDDE (A) s vloženými, závislostmi I_p na c_{ATX} a závislost j_p na c_{ATX} pro všechny testované senzory (B). Metoda – DPV, elektrolyt – BRB (pH 2), $E_{poc} = +500$ mV, $E_{kon} = +2000$ mV, $v = 50$ mV s⁻¹, $A = +50$ mV, $t = 20$ ms, $c_{ATX} = 1-10$ μmol L⁻¹

Tabulka 13 Statistické parametry koncentračních závislostí změřených pro ATX pomocí BDDE, SP/BDDE a 2LM-SP/BDDE

Elektroda	LDR [μmol L ⁻¹]	Směrnice [nA L mm ⁻² μmol]	LOD [μmol L ⁻¹]	LOQ [μmol L ⁻¹]	RSD ₁₁ ^a [%]
BDDE	1-10	(5,084±0,044)	0,16	0,53	1,1
SP/BDDE	1-10	(8,990±0,053)	0,14	0,48	1,8
2LM-SP/BDDE	1-10	(7,888±0,070)	0,13	0,42	1,5

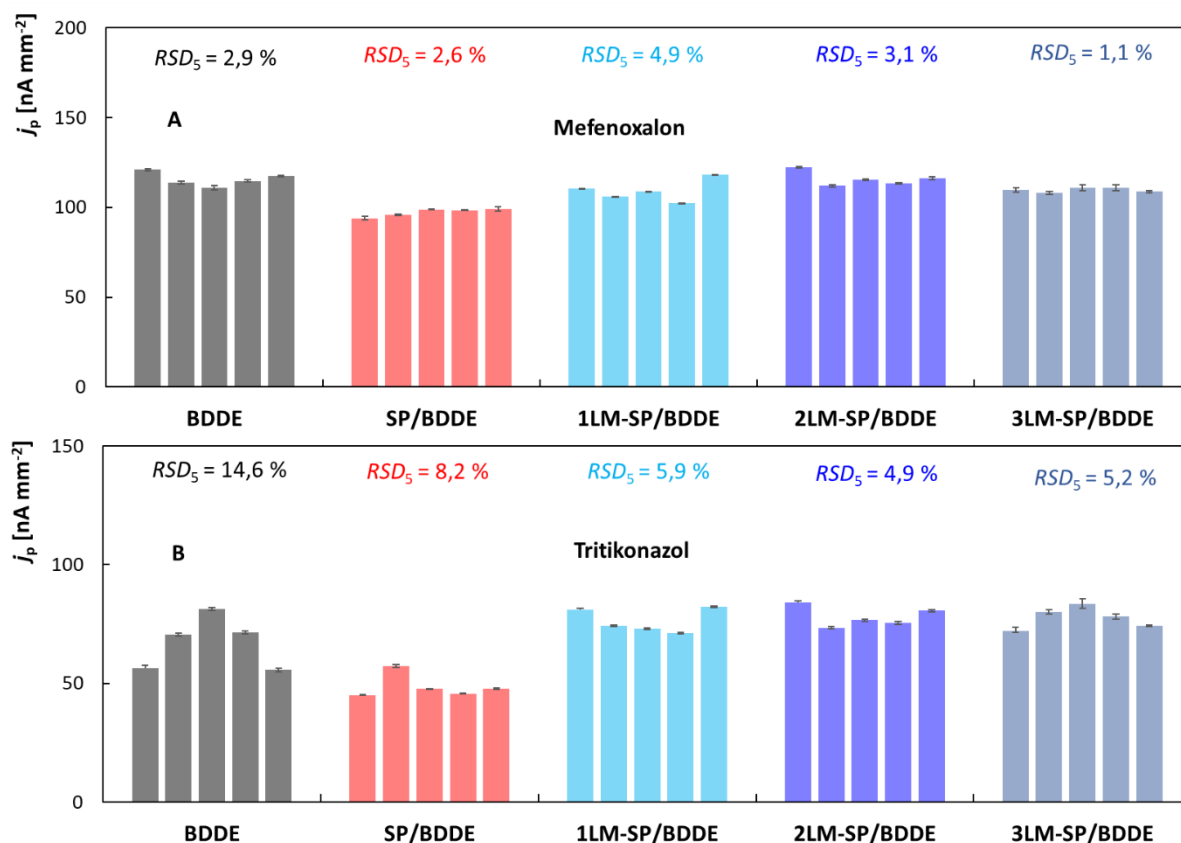
^a Vypočteno z 11 opakovaných měření při koncentraci ATX 5 μmol L⁻¹.

4.3.3.3 Opakovatelnost a reprodukovatelnost měření

Vzhledem k potenciální aplikaci senzorů v praxi hraje důležitou roli rovněž opakovatelnost měření a reprodukovatelnost přípravy senzorů. Reprodukovatelnost výsledků měření mezi jednotlivými kusy elektrod stejného typu je důležitá zejména s ohledem na možnost použití SPE jako jednorázových senzorů. Navíc platí, že reprodukovatelnost tištěných senzorů může být problematická. Pro studii bylo použito vždy 5 senzorů každého testovaného typu, bylo provedeno 10 opakovaných měření 10 μmol L⁻¹ MNL a získané průměrné j_p spolu s chybovými úsečkami vyjadřujícími rozptyl hodnot naměřených na jednotlivých senzorech jsou shrnuty na obrázku 39A. Podobná studie byla provedena i pro TTC (obrázek 39B).

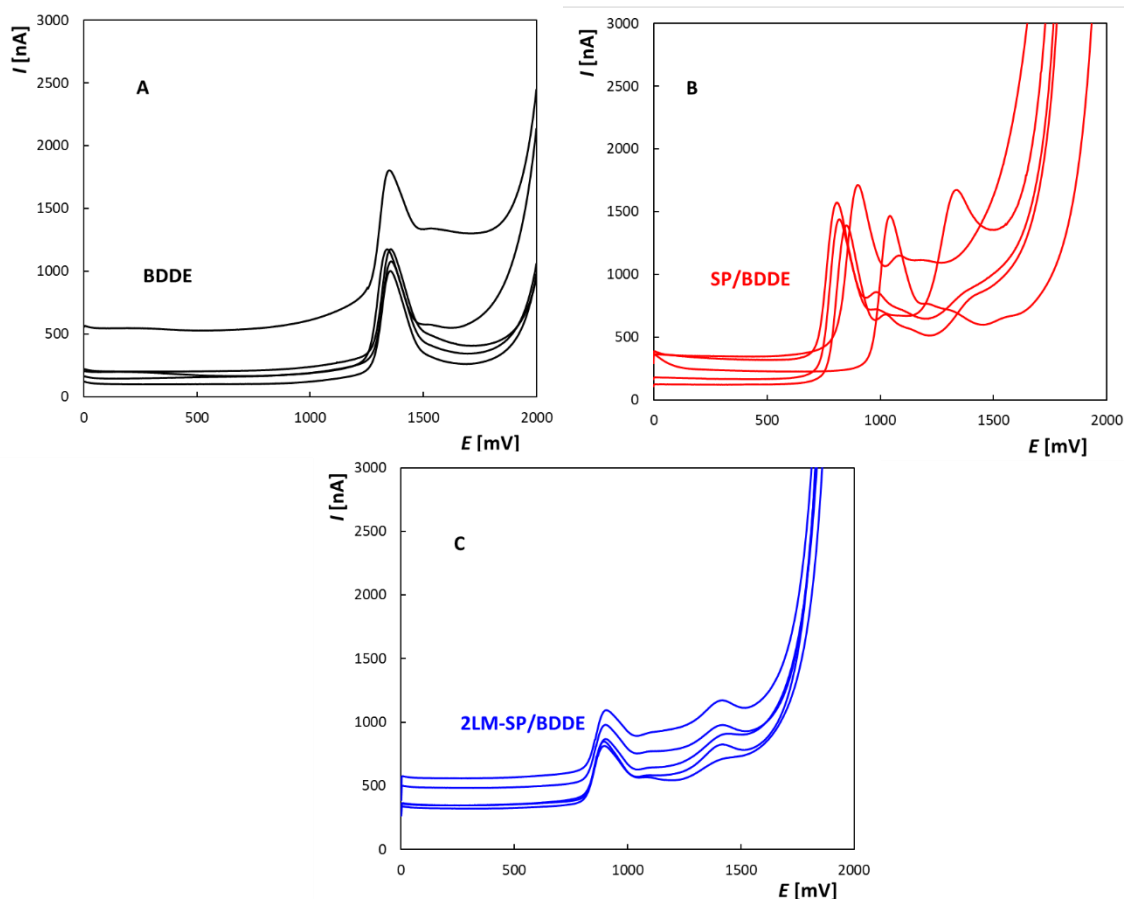
Je zřejmé, že v případě MNL všechny testované typy senzorů vykazují velmi dobrou reprodukovatelnost, kdy vždy 5 senzorů daného typu poskytovalo srovnatelnou proudovou odezvu ($RSD_5 < 5,0$ %). V případě použití SP/BDDE bylo zjištěno, že Ag pseudo-RE není stabilní, na rozdíl od Ag/AgCl pseudo-RE použité u LM-SP/BDDE a klasické

Ag/AgCl/KCl(sat.), hodnota E_p značně kolísá mezi jednotlivými senzory, což je vidět na obrázku 40. V případě TTC byla reprodukovatelnost měření pro jednotlivé typy senzorů o něco horší, ale v případě LM-SP/BDDE se stále pohybovala kolem 5 %. Opakovatelnost měření na jednotlivých elektrodách (chybové úsečky u sloupců v grafu na obrázku 39) byla velice dobrá pro všechny testované typy senzorů a oba analyty.

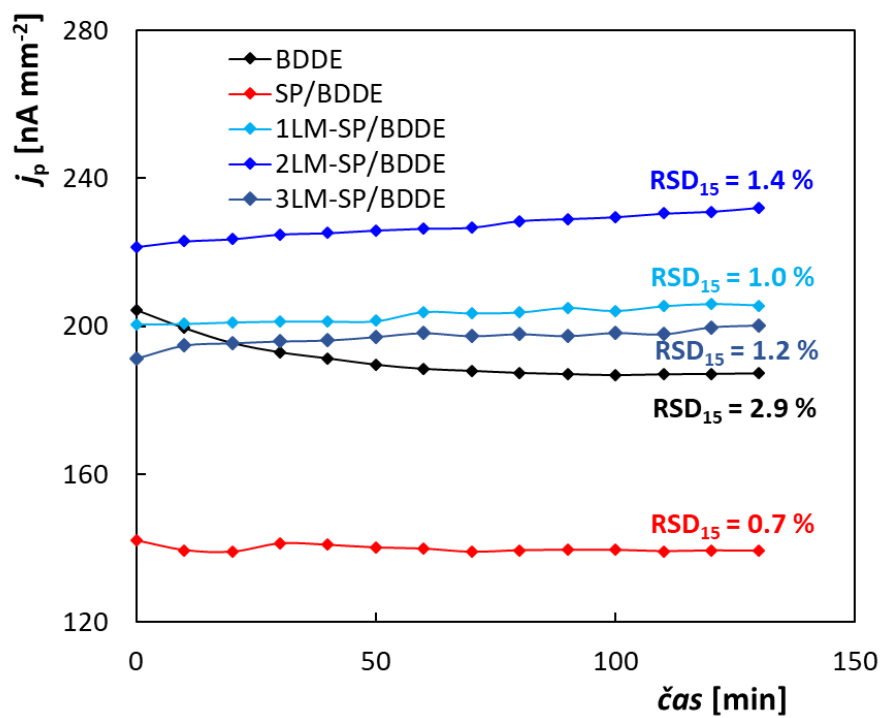


Obrázek 39 Schematické znázornění opakovatelnosti a reprodukovatelnosti měření zaznamenané na všech testovaných senzorech při voltametrické analýze MNL (A) a TTC (B). Metoda – SWV, MNL: elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{kon} = +2000$ mV, $v = 50$ mV s⁻¹, $A = 40$ mV, $f = 25$ Hz, $c_{MNL} = 10$ μmol L⁻¹; TTC: elektrolyt BRB (pH 6), $E_{poč} = 0$ mV, $E_{konc} = +2000$ mV, $v = 40$ mV s⁻¹, $A = 40$ mV, $f = 25$ Hz, $c_{TTC} = 20$ μmol L⁻¹

Na závěr byla testována také reprodukovatelnost signálu MNL v závislosti na čase. Na začátku experimentu byla každá elektroda aktivována s využitím CV. Poté byl každých 10 minut měřen pík MNL (20 μmol L⁻¹). Mezi měřeními nebyla prováděna žádná aktivace ani regenerace povrchu elektrody, ale bylo zařazeno pouze míchání roztoku. Bylo zjištěno, že MNL nepasivuje povrch pracovních elektrod po dobu 150 minut. Byla vypočtena teoretická hodnota RSD₁₅ pro každou z elektrod a v žádném případě nebylo překročeno 3,0 % (viz obrázek 41). Všechny tištěné senzory vykazují větší stabilitu odezvy v závislosti na čase ve srovnání s BDDE.



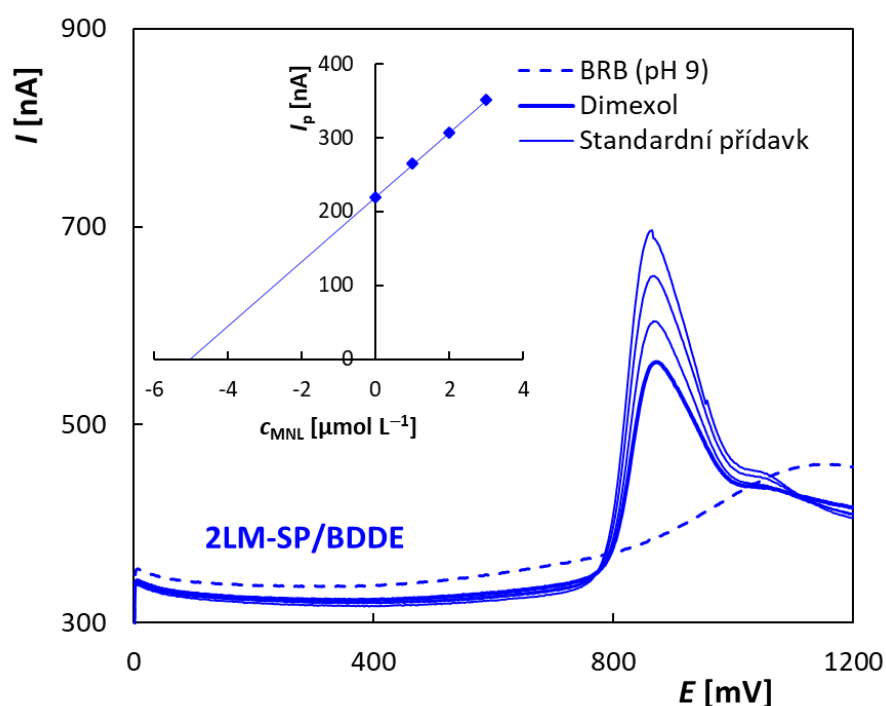
Obrázek 40 Opakované SW voltamogramy MNL zaznamenané na BDDE (A), SP/BDDE (B) a 2LM-SP/BDDE (C). Parametry u obrázku 39



Obrázek 41 Závislost j_p oxidačního píku MNL na čase. Parametry u obrázku 39

4.3.3.4 Analýza modelových roztoků a praktických vzorků

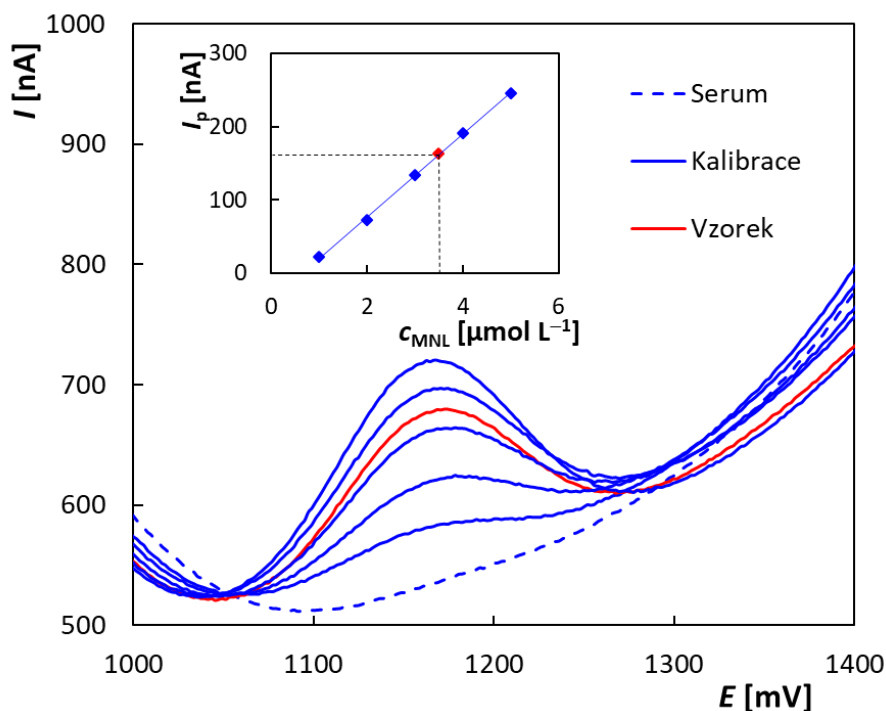
Nově vyvinuté metody pro stanovení MNL, TTC a ATX s využitím testovaných senzorů byly ověřeny při analýze modelových roztoků a poté aplikovány při analýze praktických vzorků. Analýza byla vždy opakována 5× a byly vypočítány příslušné statistické parametry. MNL byl nejprve stanovován v modelových roztocích o koncentraci 1 a 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Příklad analýzy s použitím 2LM-SP/BDDE spolu s grafickým vyhodnocením metody standardního přídávku je uveden na obrázku 42. Výsledky jsou shrnuté v tabulce 15 a ukazují, že všechny testované senzory umožňují získat správné a velice dobře opakovatelné výsledky stejně jako při využití srovnávací metody HPLC/DAD. Následovala analýza farmaceutického přípravku Dimexol. Postup přípravy vzorku i vlastní analýzy je uveden v experimentální části. Z tabulky 15 vyplývá, že dosažené výsledky jsou ve velmi dobré shodě jak s výrobcem deklarovaným obsahem MNL v tabletách, tak s výsledky dosaženými s využitím HPLC/DAD.



Obrázek 42 SW voltamogramy analýzy farmaceutického přípravku Dimexol 200 mg získané na 2LM-SP/BDDE s využitím metody standardního přídávku. Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 9), $E_{poč} = 0 \text{ mV}$, $E_{kon} = +2000 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 40 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$, standardní přídávky – $V = 10 \mu\text{L}$, $c_{MNL} = 0,001 \text{ mol L}^{-1}$; Vloženo grafické vyhodnocení metody standardního přídávku

Analýza séra byla provedena pouze s použitím tištěného senzoru, což umožnilo pracovat v malém objemu vzorku. Konkrétně byla měření provedena s využitím LM-SP/BDDE v kapce séra o objemu 50 μL nanesené na povrch senzoru pomocí mikropipety. Prvním krokem byla optimalizace poměru séra a základního elektrolytu. Na základě řady experimentů bylo zjištěno,

že sérum vykazuje dostatečnou vodivost a přídavek elektrolytu není nutný. Vzhledem k reálným koncentracím MNL v lidském séru během užívání léku kolem $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ [278] byly vzorky obohaceny přídavkem standardního roztoku MNL na koncentraci $3,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. K vyhodnocení analýz byla použita metoda kalibrační křivky (obrázek 43). Jak je uvedeno v tabulce 14, LM-SP/BDDE umožňují stanovení MNL v séru, dosažené výsledky byly správné a velmi dobře opakovatelné ($\text{RSD}_5 < 5 \%$). Při analýze séra nebyla aplikována HPLC, neboť by bylo nutné optimalizovat způsob přípravy vzorku před vlastní analýzou, což nebylo předmětem této práce. Velkou výhodou použití voltametrie ve spojení s tištěnými senzory je možnost analýzy malých objemů vzorků bez jejich předúpravy. V případě SP/BDDE nebyla analýza séra provedena, protože minimální koncentrace, kterou tento sensor dokázal v séru detekovat, byla $20 \mu\text{mol L}^{-1}$.



Obrázek 43 SW voltamogramy analýzy séra získané na 2LM-SP/BDDE s využitím metody kalibrační křivky. Metoda – SWV, elektrolyt – sérum, $E_{\text{poč}} = 0 \text{ mV}$, $E_{\text{konc}} = +2000 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 40 \text{ mV}$, $f = 25 \text{ Hz}$, $c_{\text{MNL}} = 1,0\text{-}5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$; Vloženo grafické vyhodnocení metody kalibrační křivky

Obdobně jako pro MNL byla provedena analýza modelových roztoků i reálných vzorků pro další studované látky. Konkrétní postupy příprav vzorků i analýzy jsou uvedeny v Experimentální části a výsledky pro TTC jsou shrnuty v tabulce 15 a pro ATX v tabulce 16. Je zřejmé, že nové tištěné senzory mohou být úspěšně použity nejen při analýze modelových

roztoků, ale poskytují správné a dobře opakovatelné výsledky i v prostředí komplikované matrice reálných vzorků.

Tabulka 14 Výsledky opakovaného stanovení MNL v modelových roztocích, přípravku Dimexol a séru

	Elektroda	Dáno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Stanoveno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Výtěžnost [%]	RSD₅ [%]
Modelový roztok	BDDE		(0,999±0,026)	97,0-103,1	2,6
	SP/BDDE		(0,997±0,011)	98,1-101,0	1,1
	1LM-SP/BDDE	1,0	(1,004±0,023)	98,4-104,5	2,3
	2LM-SP/BDDE		(1,014±0,017)	99,3-104,5	1,6
	3LM-SP/BDDE		(0,995±0,016)	96,4-100,8	1,6
	BDDE		(5,015±0,077)	97,9-102,0	1,5
	SP/BDDE		(5,035±0,065)	99,0-103,0	1,3
	1LM-SP/BDDE	5,0	(5,074±0,081)	98,7-103,4	1,6
	2LM-SP/BDDE		(5,090±0,120)	98,7-104,4	2,3
	3LM-SP/BDDE		(4,950±0,059)	97,4-100,4	1,2
	HPLC/DAD	5,0	(5,130±0,140)	98,0-104,9	2,40
	Elektroda	Deklarováno [mg]	Stanoveno [mg]	Výtěžnost [%]	RSD₅ [%]
Dimexol	BDDE		(198,7±3,5)	98,0-102,2	1,8
	SP/BDDE		(198,9±2,1)	97,5-100,1	1,1
	1LM-SP/BDDE	200	(198,6±3,2)	97,6-102,1	1,0
	2LM-SP/BDDE		(199,9±1,2)	98,9-100,6	0,6
	3LM-SP/BDDE		(199,1±2,6)	97,6-101,2	1,3
		HPLC/DAD	200	(206,1±6,6)	97,1-106,6
	Elektroda	Dáno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Stanoveno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Výtěžnost [%]	RSD₅ [%]
Sérum	1LM-SP/BDDE		(3,57±0,14)	95,5-106,5	3,8
	2LM-SP/BDDE	3,5	(3,62±0,13)	97,4-108,7	3,5
	3LM-SP/BDDE		(3,62±0,18)	94,7-110,2	4,9

Tabulka 15 Opakované stanovení TTC v modelových roztocích a přípravku Saprol

	Elektroda	Dáno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Stanoveno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Výtěžnost [%]	RSD₅ [%]
Modelový roztok	BDDE		(5,070±0,100)	98,9-103,7	2,0
	SP/BDDE		(4,953±0,097)	96,8-102,4	2,0
	1LM-SP/BDDE	5	(5,084±0,112)	98,9-104,8	3,8
	2LM-SP/BDDE		(4,946±0,089)	96,7-101,6	1,8
	3LM-SP/BDDE		(4,999±0,089)	98,7-103,2	3,0
	HPLC/DAD	5	5,013±0,098	98,1-104,3	3,3
	Elektroda	Deklarováno [g]	Stanoveno [g]	Výtěžnost [%]	RSD₅ [%]
Saprol	BDDE		(9,84±0,58)	92,5-105,8	5,9
	SP/BDDE		(9,96±0,20)	96,5-102,2	2,1
	1LM-SP/BDDE	10	(9,91±0,22)	96,1-103,1	3,0
	2LM-SP/BDDE		(9,98±0,25)	96,2-103,5	2,5
	3LM-SP/BDDE		(9,89±0,31)	95,3-104,3	4,3
	HPLC/DAD	10	(9,97±0,24)	96,2-103,5	2,4

Tabulka 16 Výsledky opakovaných analýz modelových roztoků ATX a léku Strattera 60MG

	Elektroda	Dáno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Stanoveno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Výtěžnost [%]	RSD₅ [%]
Modelový roztok	BDDE	5,0	(4,99±0,07)	97,2-102,2	2,0
			(1,02±0,02)	97,4-107,1	3,5
	SP/BDDE	1,0	(1,02±0,02)	98,5-106,0	3,2
	2LM-SP/BDDE		(1,02±0,02)	98,2-103,9	2,7
	Elektroda	Deklarováno [mg]	Stanoveno [mg]	Výtěžnost [%]	RSD₅ [%]
Strattera 60MG	BDDE		(59,70±1,10)	98,2-103,9	2,8
	SP/BDDE	60	(59,40±0,90)	97,0-102,6	2,3
	LM-SP/BDDE		(59,48±0,75)	96,9-101,8	1,9

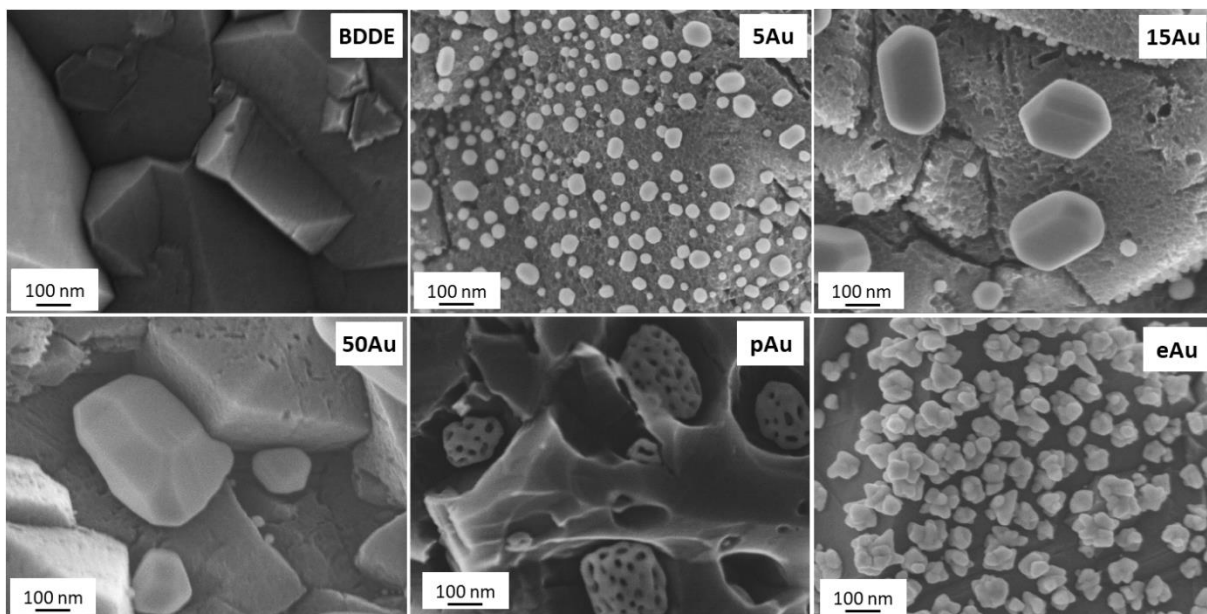
4.4 Tištěné senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi

Tištěné senzory s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou, charakterizované v předchozí kapitole, byly v rámci této disertační práce ve spolupráci se skupinou Dr. Vojse a prof. M. Weise z FEI STU v Bratislavě modifikovány zlatými nanočásticemi (AuNPs) s využitím originální procedury založené na fyzikální depozici zlata (nAu-SP/BDDE) popsané v experimentální části (obrázek 8) a podrobněji v Příloze 6 [279]. Byla provedena povrchová a elektrochemická charakterizace těchto senzorů, které byly následně aplikovány při analýze dopaminu. Získané výsledky byly porovnávány s těmi, dosaženými pro LM-SP/BDDE modifikované AuNPs s využitím elektrochemické depozice z roztoku (eAu-SP/BDDE), jejíž podmínky jsou opět shrnuty v experimentální části.

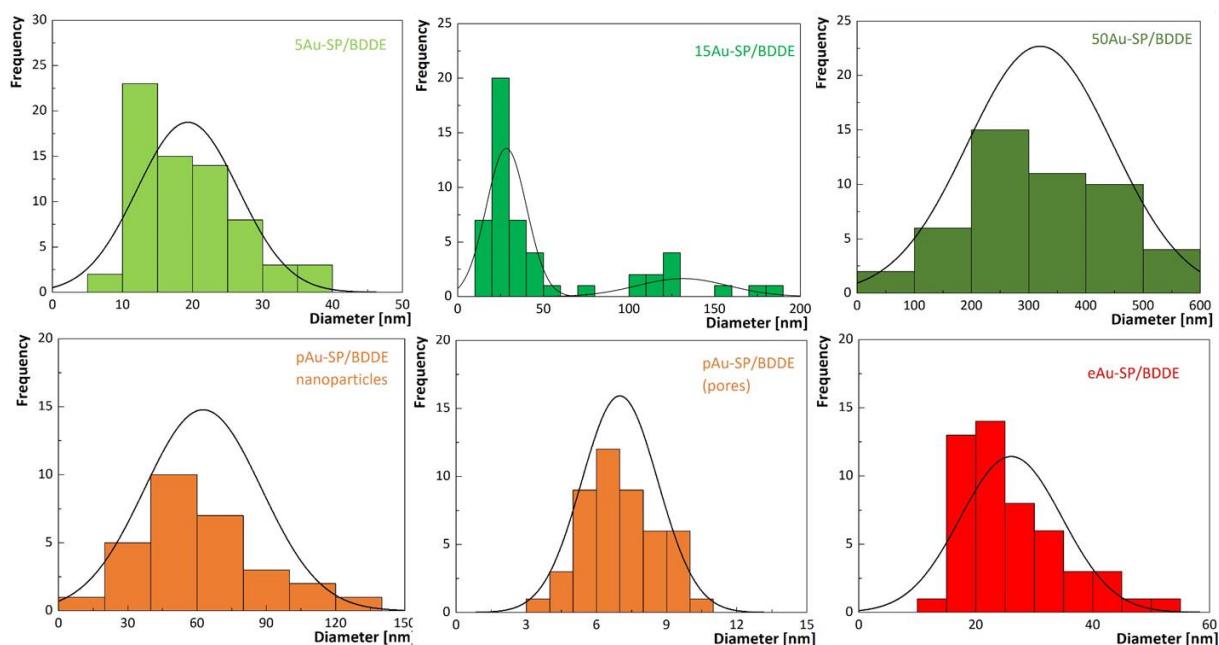
4.4.1 Charakterizace povrchu tištěných senzorů modifikovaných nanočásticemi zlata

4.4.1.1 Skenovací elektronová mikroskopie

Na obrázku 44 jsou zobrazeny SEM snímky povrchu nemodifikovaného BDD a LM-SP/BDDE modifikovaných různým typem AuNPs. Statické histogramy distribuce velikosti nanočástic na povrchu elektrod jsou uvedeny na obrázku 45. Nejmenší velikost nanočástic byla dosažena na senzoru 5Au-SP/BDDE (aplikovaná vrstva Au nejmenší tloušťky ($n = 5$ nm) a následné žihání), kde se pohybovala v rozsahu ($16,8 \pm 1,7$) nm. V případě aplikace vrstvy zlata o tloušťce 15 nm jsou přítomny dvě velikosti nanočástic, větší množství s menší velikostí ($25,1 \pm 0,8$) nm a menší množství s větší velikostí ($128,1 \pm 5,1$) nm. U senzoru 50Au-SP/BDDE byly získány nanočástice o velikosti ($317,4 \pm 24,4$) nm. Podle očekávání velikost AuNPs na povrchu elektrody se zvětšovala s rostoucí tloušťkou vrstvy deponovaného zlata. U pAu-SP/BDDE byly získány nanočástice o velikosti ($54,1 \pm 1,6$) nm s póry o velikosti ($6,9 \pm 0,2$) nm. Po elektrochemické depozici byly získány nanočástice s průměrem ($21,7 \pm 0,9$) nm, které se liší ve své krystalografické struktuře od těch získaných fyzikální depozicí, jsou drsnější, tvarem připomínají hvězdy (obrázek 44). Hustota pokrytí povrchu elektrody nanočásticemi byla nejvyšší po elektrochemické depozici. Nanočástice získané oběma prezentovanými metodami rovnoměrně pokrývají celý povrch pracovní elektrody.



Obrázek 44 SEM snímky nemodifikovaného BDD a povrchu BDD modifikovaného různými typy nanočástic zlata (zvětšení 100 000×)

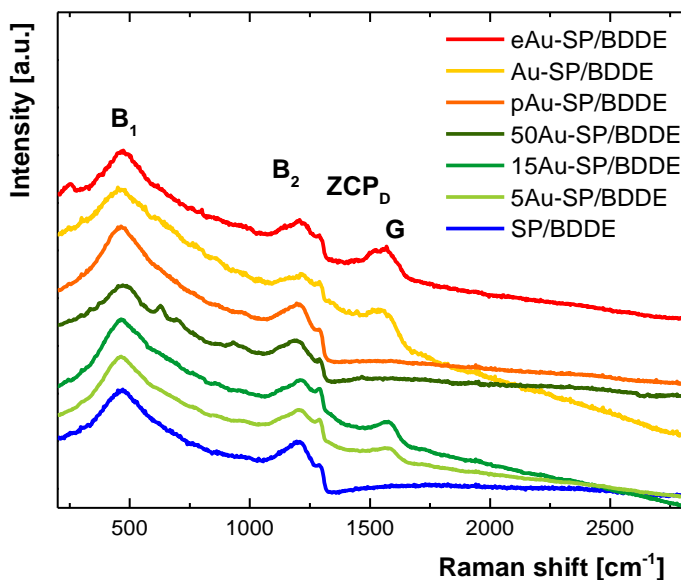


Obrázek 45 Statistické histogramy distribuce velikosti nanočástic zlata

4.4.1.2 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie (obrázek 46) ukázala typická maxima odpovídající diamantu dopovanému borem přibližně při 460 cm^{-1} (B1) a 1200 cm^{-1} (B2), která jsou spojena s inkorporací boru do struktury diamantu, maximum při 1290 cm^{-1} (ZCPD) je spojeno s diamantovou strukturou a při 1560 cm^{-1} (G) odpovídá obsahu nediamantového uhlíku, převážně uhlíkem s vazbou sp^2 . Modifikace povrchu BDD AuNPs má významný vliv na maximum G,

což naznačuje zvýšený obsah nediamantové fáze v případě eAu-, Au-, 15Au- a 5Au-SP/BDDE. Vzhledem k tomu, že uhlík s vazbou sp^2 je považován za efektivní centrum přenosu náboje, zvýšení jeho obsahu na povrchu BDD může také ovlivnit elektrochemické vlastnosti těchto elektrod.



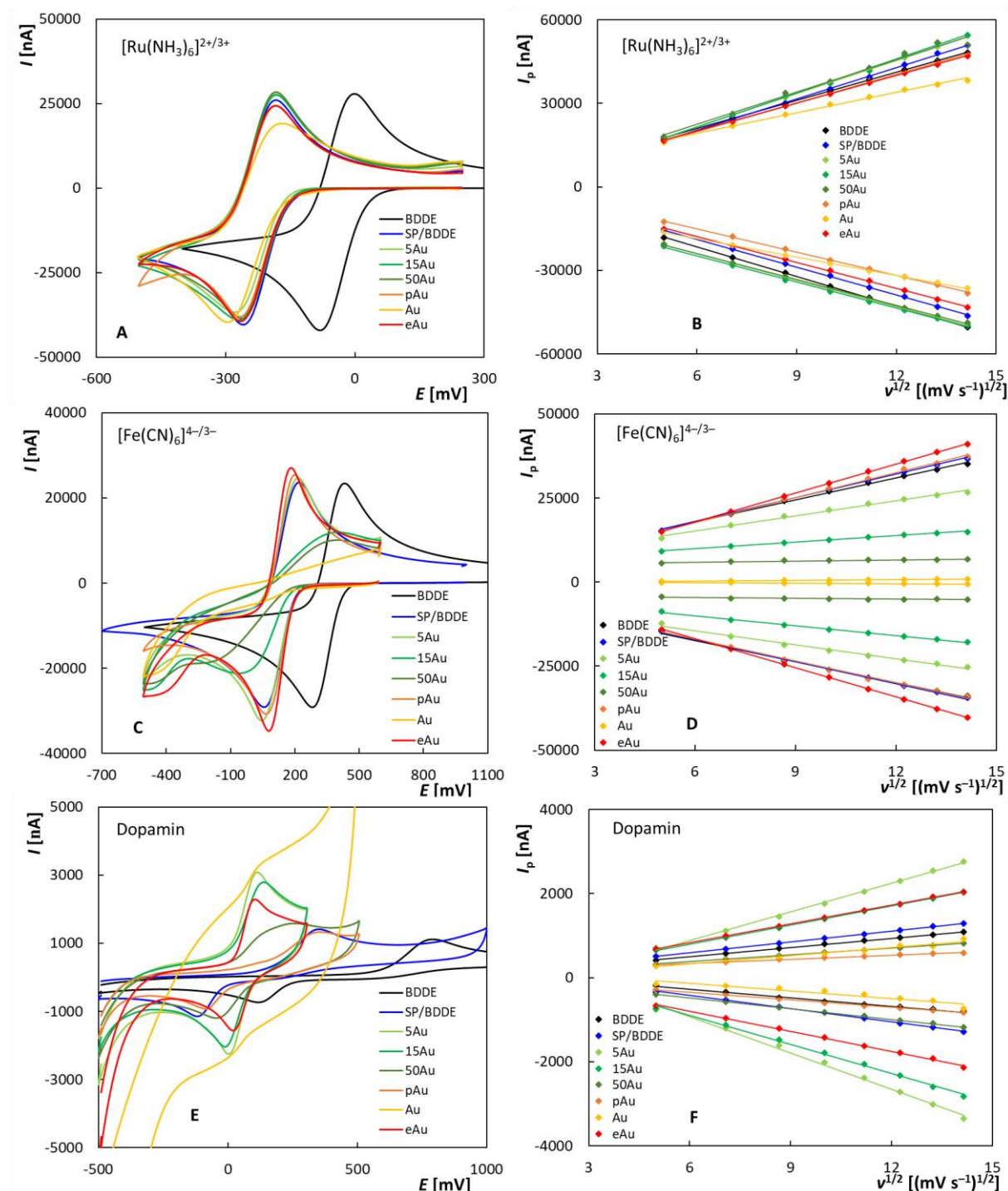
Obrázek 46 Ramanova spektra BDD filmu pořízená při excitaci při 633 nm (B_1 a B_2 – maxima související s inkorporací boru, ZCPD – fononový mód se středem zóny kubického diamantu, G – pás grafitu související s uhlíkem sp^2)

4.4.2 Studium elektrochemických vlastností pomocí cyklické voltametrie

Elektrochemické vlastnosti modifikovaných senzorů byly studovány pomocí CV a získané výsledky byly porovnány s nemodifikovanou SP/BDDE (v předchozí kapitole označená jako 3LM-SP/BDDE) a BDDE v klasickém tříelektrodovém uspořádání. Byly použity tři redoxní markery $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a DA. Nejprve byla ověřena opakovatelnost měření na deseti cyklických voltamogramech změřených pro všechny redoxní markery při rychlosti polarizace 100 mV s^{-1} v prostředí 0,1 M KCl pro $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ a $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ a v BRB (pH 5,5) pro DA. Výsledky svědčí o velmi dobré opakovatelnosti ve všech případech ($\text{RSD}_{10} < 4 \%$).

Dalším sledovaným parametrem byla reverzibilita elektrochemických reakcí. Na obrázku 47A jsou uvedeny cyklické voltamogramy $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ zaznamenané na všech testovaných elektrodách. Konkrétní hodnoty I_{pa} , I_{pc} a I_{pa}/I_{pc} , E_{pa} , E_{pc} a ΔE_p jsou shrnuty v tabulce 17. Výška proudové odezvy byla velice podobná s výjimkou Au-SP/BDDE, která poskytla menší píky. Poměr I_{pa}/I_{pc} se pohyboval od 0,9 do 1,3, což potvrzuje reverzibilní reakci.

ΔE_p se blíží teoretické hodnotě 59 mV opět s výjimkou Au-SP/BDDE ($\Delta E_p = 110,8$ mV). Výsledky odpovídají charakteru použitého redoxního systému „vnější sféry“. Významný posun potenciálů píků u tištěných senzorů je opět způsoben použitou RE.



Obrázek 47 Cyklické voltamogramy $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ (A), $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ (C) a DA (E) zaznamenané na testovaných senzorech spolu se závislostmi I_p na $v^{1/2}$ pro $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ (B), $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ (D) a DA (F). Metoda – CV, elektrolyt – 0,1 mol L⁻¹ KCl (A-D), BRB (pH 5,5) (E, F), $v = 100$ mV s⁻¹ (A, C, E) a 25-200 mV s⁻¹ (B, D, F), $c([Fe(CN)_6]^{4-/3-}) = c([Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}) = 2,5$ mmol L⁻¹, $c(DA) = 50$ μ mol L⁻¹

Tabulka 17 Parametry cyklických voltamogramů redoxních markerů $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$, $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ a DA

Elektroda	I_{pa} [nA]	I_{pc} [nA]	I_{pa}/I_{pc}	E_{pa} [mV]	E_{pc} [mV]	ΔE_p [mV]
$[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$						
BDDE	34597	-35647	1,0	-5,49	-78,89	73,4
SP/BDDE	35186	-31947	1,1	-184,48	-255,89	71,4
5Au-SP/BDDE	33033	-37014	0,9	-188,45	-269,78	81,3
15Au-SP/BDDE	32409	-37502	0,9	-184,48	-265,81	81,3
50Au-SP/BDDE	33207	-36608	0,9	-184,48	-263,82	79,3
pAu-SP/BDDE	33258	-26654	1,3	-186,46	-259,86	73,4
Au-SP/BDDE	29771	-27595	1,1	-183,11	-293,88	110,8
eAu-SP/BDDE	33518	-30057	1,1	-186,46	-259,89	73,4
$[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$						
BDDE	26974	-26175	1,0	404,4	261,8	142,6
SP/BDDE	27633	-26141	1,1	214,5	53,4	161,1
5Au-SP/BDDE	21528	-20457	1,1	227,4	36,0	191,3
15Au-SP/BDDE	12564	-14060	0,9	257,6	15,9	241,7
50Au-SP/BDDE	6429	-4994	1,3	338,1	-115,1	453,2
pAu-SP/BDDE	27832	-26142	1,1	197,1	66,2	130,9
Au-SP/BDDE	552	-327	1,7	177,0	86,4	90,6
eAu-SP/BDDE	29417	-28349	1,0	177,0	86,4	90,6
DA						
BDDE	797,0	-568,1	1,4	779,0	114,3	664,7
SP/BDDE	939,1	-827,9	1,1	345,9	-117,3	463,3
5Au-SP/BDDE	1755,7	-2021,0	0,9	114,3	3,5	110,8
15Au-SP/BDDE	1393,3	-1783,0	0,8	134,4	-6,6	141,0
50Au-SP/BDDE	597,4	-824,9	0,7	215,0	-36,8	251,8
pAu-SP/BDDE	478,5	-593,3	0,8	335,9	-87,1	423,0
Au-SP/BDDE	378	-238	1,6	124,4	-6,6	130,9
eAu-SP/BDDE	1424,8	-1427,8	1,0	104,2	23,7	80,6

Totožný experiment pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ je zaznamenán na obrázku 47B a parametry měřených voltamogramů jsou v tabulce 17. Projevuje se fakt, že se jedná o systém „vnitřní sféry“ citlivý na kvalitu povrchu pracovní elektrody. Poměr I_{pa}/I_{pc} se opět pohyboval v rozmezí od 0,9 do 1,3 na všech testovaných senzorech, což potvrzuje reverzibilitu elektrodové reakce. Nejvyšší I_p a nejmenší ΔE_p (90,6 mV) byly zaznamenány na eAu-SP/BDDE. Naopak, na Au-SP/BDDE byly zaznamenány pouze velice malé píky. Pro BDDE, 5LM-SP/BDDE a pAu-SP/BDDE byly získány podobné výsledky o něco horší než na eAu-SP/BDDE. Velmi zajímavá závislost byla pozorována u senzorů po fyzikální depozici zlata, kde se výška píků a reverzibilita reakce zhoršovaly s nárůstem velikosti AuNPs. Cyklické voltamogramy DA jsou uvedeny na obrázku 47C. Parametr I_{pa}/I_{pc} (tabulka 17) se pohyboval v rozmezí od 0,7 (50Au-SP/BDDE) do 1,4 (BDDE) u všech testovaných senzorů. Opět pouze malé oxidační a redukční píky byly získány na Au-SP/BDDE. Nejvyšší proudové odezvy byly zaznamenány u 5Au-SP/BDDE a s rostoucí velikostí nanočástic I_p klesala stejně jako v případě $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. Hodnota ΔE_p se s rostoucí velikostí nanočástic zvětšovala, což může naznačovat pomalejší elektrodovou reakci. Nejnižší hodnota ΔE_p (80 mV) a tím nejlepší reverzibilita reakce byla zaznamenána u eAu-SP/BDDE. Několikanásobně vyšší rozdíl potenciálů byl pozorován u (3LM-)SP/BDDE a pAu-SP/BDDE a nejhorší výsledek byl získán pro BDDE. Tento rozdíl lze pravděpodobně vysvětlit katalytickým působením AuNPs.

Následně byl zkoumán vliv rychlosti polarizace na voltamogramy těchto redoxních markerů. Tento experiment byl prováděn v rozsahu rychlostí od 25 do 200 mV s^{-1} . Výšky píků všech redoxních markerů se zvyšovaly s rostoucí rychlostí polarizace (ν), ale závislosti byly nelineární. Namísto toho byly pozorovány lineární závislosti mezi výškou píku (I_p) a druhou odmocninou rychlosti polarizace ($\nu^{1/2}$), které jsou zobrazeny na obrázku 47B (pro $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$), obrázku 47D (pro $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$) a obrázku 47E (pro DA). Statistické parametry těchto závislostí jsou shrnuty v tabulce 18. Statistické parametry logaritmických závislostí I_p na ν jsou shrnuty v tabulce 19. V případě redoxního markeru $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ naměřeného na všech elektrodách s výjimkou Au-SP/BDDE byla směrnice menší než 0,5, což naznačuje kineticko-difuzně řízenou elektrodovou reakci. V případě DA a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ byla směrnice pro všechny senzory velmi blízká teoretické hodnotě 0,5, což naznačuje difuzně řízenou reakci.

Tabulka 18 Statistické parametry závislosti $I_p = f(v^{1/2})$ pro $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$, $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ a DA

Elektroda	Směrnice (a) [nA s mV ⁻¹ mm ⁻²]	r	Směrnice (a) [nA s mV ⁻¹ mm ⁻²]	r
$[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$				
BDDE	(3358,7±12,7)	0,9999	-(3540,9±14,7)	0,9999
SP/BDDE	(3745,6±50,6)	0,9995	-(3333,5±32,4)	0,9997
5Au-SP/BDDE	(3981,3±22,7)	0,9999	-(3161,8±37,0)	0,9996
15Au-SP/BDDE	(4078,1±67,2)	0,9992	-(3109,0±46,5)	0,9993
50Au-SP/BDDE	(3845,8±187,0)	0,9940	-(3091,7±29,9)	0,9997
pAu-SP/BDDE	(3435,9±30,8)	0,9998	-(2789,4±31,5)	0,9996
Au-SP/BDDE	(2457,5±77,9)	0,9970	-(2215,4±29,4)	0,9995
eAu-SP/BDDE	(3321,1±14,5)	0,9999	-(3091,9±23,6)	0,9998
$[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$				
BDDE	(2168,1±48,2)	0,9985	-(2096,2±53,5)	0,9981
SP/BDDE	(2343,2±36,7)	0,9993	-(2180,2±41,1)	0,9990
5Au-SP/BDDE	(1490,7±55,7)	0,9958	-(1391,5±56,9)	0,9950
15Au-SP/BDDE	(642,8±15,8)	0,9982	-(981,1±18,8)	0,9989
50Au-SP/BDDE	(109,9±18,6)	0,9241	-(71,7±17,7)	0,8557
pAu-SP/BDDE	(2464,1±46,7)	0,9989	-(2152,8±61,5)	0,9976
Au-SP/BDDE	(63,0±4,0)	0,9906	-(63,0±3,7)	0,9521
eAu-SP/BDDE	(2861,2±16,2)	0,9999	-(2871,9±6,2)	0,9999
DA				
BDDE	(3358,7±12,7)	0,9999	-(3540,9±14,5)	0,9999
SP/BDDE	(3745,6±50,6)	0,9995	-(3333,5±32,4)	0,9997
5Au-SP/BDDE	(3981,3±22,7)	0,9999	-(3161,8±37,1)	0,9996
15Au-SP/BDDE	(4078,1±67,2)	0,9992	-(3109,1±46,5)	0,9993
50Au-SP/BDDE	(3845,8±187,1)	0,9930	-(3091,7±29,9)	0,9997
pAu-SP/BDDE	(3435,9±30,8)	0,9998	-(2789,4±31,5)	0,9996
Au-SP/BDDE	(66,0±4,0)	0,9872	-(59,0±8,0)	0,9502
eAu-SP/BDDE	(3321,1±14,5)	0,9999	-(3091,3±23,6)	0,9998

a – anodický pík, c – katodický pík

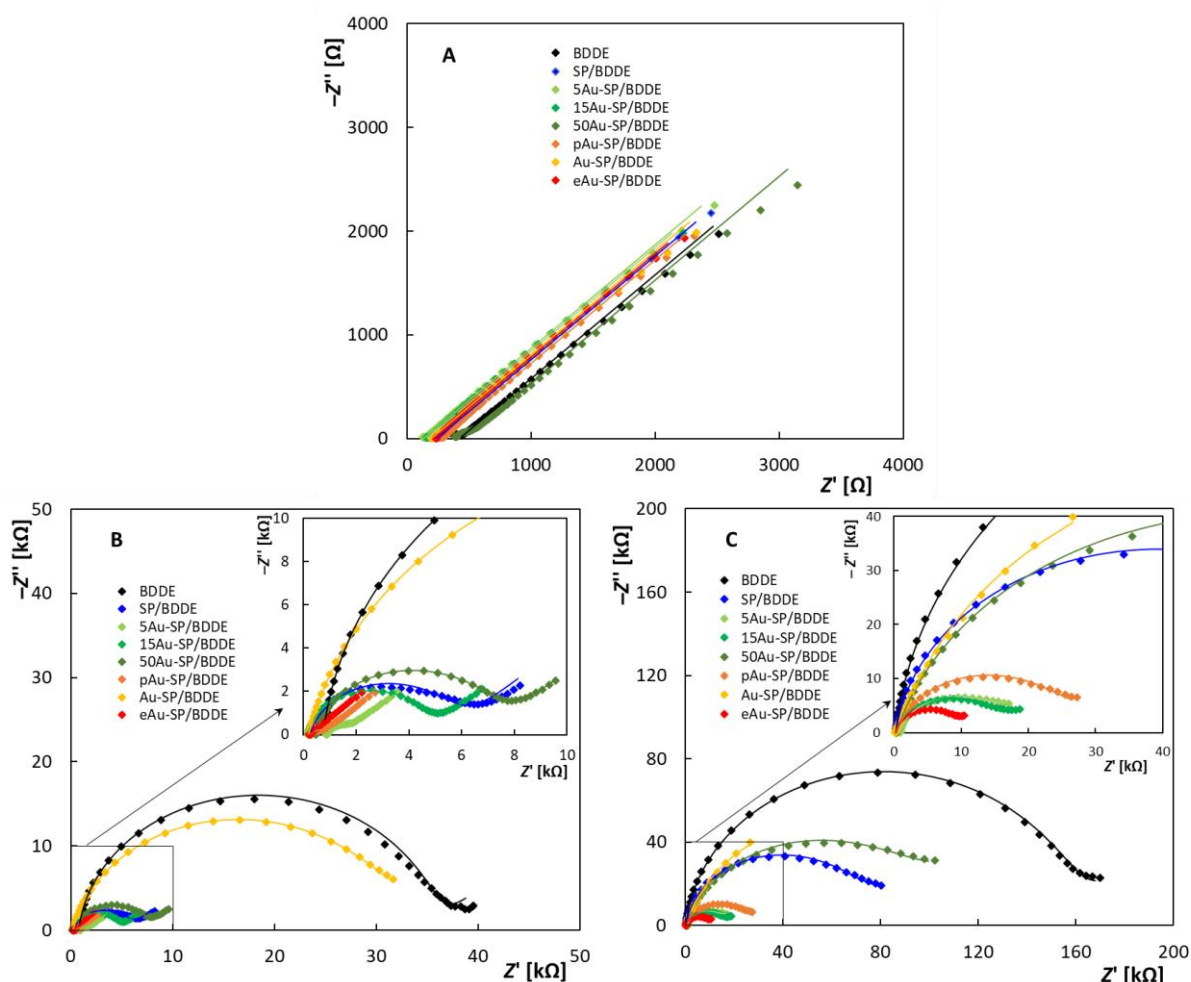
Tabulka 19 Statistické parametry závislosti $\log(I_p) = f(\log(v))$ pro $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$, $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ a DA

Elektroda	Směrnice (a) [nA s ^{1/2} mV ^{-1/2}]	r	Směrnice (c) [nA s ^{1/2} mV ^{-1/2}]	r
[Ru(NH₃)₆]^{2+/3+}				
BDDE	(0,486±0,001)	0,9999	(0,492±0,003)	0,9999
SP/BDDE	(0,529±0,005)	0,9997	(0,215±0,004)	0,9998
5Au-SP/BDDE	(0,534±0,001)	0,9999	(0,424±0,001)	0,9999
15Au-SP/BDDE	(0,543±0,006)	0,9996	(0,410±0,002)	0,9999
50Au-SP/BDDE	(0,520±0,018)	0,9963	(0,416±0,002)	0,9999
pAu-SP/BDDE	(0,515±0,004)	0,9998	(0,534±0,005)	0,9997
Au-SP/BDDE	(0,423±0,008)	0,9989	(0,394±0,003)	0,9998
eAu-SP/BDDE	(0,500±0,002)	0,9999	(0,508±0,003)	0,9999
[Fe(CN)₆]^{4-/3-}				
BDDE	(0,402±0,004)	0,9997	(0,403±0,005)	0,9995
SP/BDDE	(0,423±0,003)	0,9999	(0,418±0,004)	0,9998
5Au-SP/BDDE	(0,346±0,006)	0,9991	(0,342±0,007)	0,9986
15Au-SP/BDDE	(0,241±0,002)	0,9987	(0,339±0,002)	0,9999
50Au-SP/BDDE	(0,084±0,009)	0,9652	(0,071±0,013)	0,9112
pAu-SP/BDDE	(0,445±0,005)	0,9996	(0,419±0,007)	0,9991
Au-SP/BDDE	(0,543±0,024)	0,9941	(0,730±0,072)	0,9723
eAu-SP/BDDE	(0,486±0,002)	0,9999	(0,507±0,001)	0,9999
DA				
BDDE	(0,486±0,001)	0,9999	(0,492±0,006)	0,9999
SP/BDDE	(0,529±0,005)	0,9997	(0,515±0,004)	0,9998
5Au-SP/BDDE	(0,534±0,001)	0,9999	(0,424±0,001)	0,9999
15Au-SP/BDDE	(0,543±0,006)	0,9996	(0,543±0,006)	0,9999
50Au-SP/BDDE	(0,520±0,018)	0,9963	(0,416±0,002)	0,9999
pAu-SP/BDDE	(0,515±0,004)	0,9998	(0,534±0,005)	0,9997
Au-SP/BDDE	(0,543±0,025)	0,9939	(0,740±0,074)	0,9712
eAu-SP/BDDE	(0,499±0,002)	0,9999	(0,508±0,003)	0,9998

a – anodický pík, c – katodický pík

4.4.3 Charakterizace pomocí elektrochemické impedanční spektroskopie

Vedle cyklické voltametrie byla pro studium elektrochemických vlastností modifikovaných senzorů použita také EIS. Pro systém $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ (obrázek 48A) byla v Nyquistových grafech pozorována přímá čára pod úhlem velmi blízkým 45° , což odpovídá Warburgově impedanci (difuzní impedanci) [280–282]. Toto bylo v souladu s očekáváním, protože se jedná o redoxní marker "vnější sféry", který není citlivý na povrch elektrody. Všechny vypočítané hodnoty [36,280–284] jsou shrnuty v tabulce 20. Hodnoty R_s a z nich vypočtené k_{app}^0 se pohybovaly v širokém rozmezí, což je dáno specifiky elektrochemie použitého redoxního markeru. Výsledky ukazují, že Warburgovy koeficienty a difuzní koeficienty jsou velmi blízké, což naznačuje, že difuze probíhá na všech nemoifikovaných a modifikovaných elektrodách na základě stejného mechanismu a relativně podobnou rychlostí.



Obrázek 48 Elektrochemická impedanční spektra (Nyquistovy grafy) $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}$ (A), $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (B) a DA (C) zaznamenaná na testovaných elektrodách. Metoda – EIS, elektrolyt – $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$, $f = 0,1-10\,000 \text{ Hz}$, $A = 10 \text{ mV}$, $c([\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}) = c([\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+/3+}) = c(\text{DA}) = 2,5 \text{ mmol L}^{-1}$

Tabulka 20 Hodnoty jednotlivých prvků elektrických ekvivalentních obvodů [RW] pro $[Ru(NH_3)_6]^{2+/3+}$ redox marker vypočítané pomocí simulace FRA software

Elektroda	R_s [Ω]	Y_0 [$\mu Mh s^{1/2}$]	σ_w [$\Omega m^2/s^{1/2}$]	k_{app}^0 [$10^6 cm s^{-1}$]
BDDE	410,8	435	103,7	3,66
SP/BDDE	182,0	407	112,9	8,27
5Au-SP/BDDE	808,4	439	108,3	1,86
15Au-SP/BDDE	123,3	451	105,2	12,2
50Au-SP/BDDE	463,9	344	134,2	3,25
pAu-SP/BDDE	242,2	453	103,7	6,21
Au-SP/BDDE	182,5	428	107,8	8,24
eAu-SP/BDDE	147,14	473	103,7	10,2

Zkratky: R_s – odpor roztoku, Y_0 – admittance, σ_w – Warburgův koeficient, k_{app}^0 – heterogenní konstanta rychlosti přenosu elektronů

Co se týče ostatních markerů tzv. "vnitřní sféry", jako je $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ a DA, ty jsou velmi citlivé na kvalitu povrchu elektrody. Výsledky EIS (viz obrázky 48 B,C) poskytly informace o vlivu modifikace na elektronový přenosový odpor. Pro přizpůsobení a simulaci těchto redoxních markerů byl použit elektrický obvod $R(Q/[RW])$. Pro výpočet kapacity dvojvrstvy na povrchu všech nemodifikovaných a modifikovaných elektrod [285] byl použit konstantní fázový prvek (Q). Všechny vypočtené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 21.

Odpor R_s , který odpovídá odporu elektrolytu u všech elektrod, vykazoval přibližně stejné hodnoty. Pouze elektrody 5Au- a 50Au-SP/BDDE měly odpor mírně vyšší. To je spojeno pravděpodobně především s výrobním postupem, protože je obtížné vyrábět senzory s identickým odporem vzhledem k heterogenitě diamantových filmu. V případě téměř všech modifikovaných elektrod bylo pozorováno snížení R_{ct} a zvýšení k_{app}^0 , což naznačuje zrychlení elektrochemické reakce. Větší velikost nanočástic po fyzikální depozici zlata vede k poklesu rychlosti přenosu elektronů. Bylo zjištěno, že u DA odpor přenosu náboje koreluje s maximem G pásma v Ramanových spektrech. Čím je obsah nediamantové fáze vyšší, tím nižší je R_{ct} . To naznačuje vliv fáze sp^2 na mechanismus reakce, což bylo popsáno McLaughlinem a kol. [285].

Tabulka 21 Hodnoty jednotlivých prvků elektrických ekvivalentních obvodů $R(Q/[RW])$ pro $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ a DA redoxní markery vypočítané pomocí simulace FRA software

Elektroda	R_s [Ω]	R_{ct} [k Ω]	Y_0 [$\mu Mh s^{1/2}$]	Y_0 [$\mu Mh s^n$]	n	C_{eff} [$\mu F cm^2$]	k^0_{app} [$10^6 cm s^{-1}$]	τ [ms]
$[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$								
BDDE	762	34,8	266	474	0,94	32,7	0,04	80,4
SP/BDDE	247	55,2	360	3,37	0,87	4,2	0,03	16,4
5Au-SP/BDDE	926	0,9	458	19,4	0,89	9,3	1,67	0,59
15Au-SP/BDDE	169	4,6	427	2,5	0,91	2,7	0,33	0,88
50Au-SP/BDDE	461	6,9	378	3,57	0,88	4,2	0,22	2,04
pAu-SP/BDDE	283	0,5	440	17,8	0,74	26,8	3,16	0,94
Au-SP/BDDE	196	31,2	431	5,97	0,88	5,1	0,09	11,2
eAu-SP/BDDE	229	0,02	444	12,7	0,82	6,65	80,9	0,01
DA								
BDDE	250	157	68,6	472	0,95	29,6	0,01	328
SP/BDDE	270	71,9	80	2,14	0,93	2,2	0,02	11,2
5Au-SP/BDDE	898	14,1	260	14,8	0,87	10,6	0,11	10,5
15Au-SP/BDDE	204	15,1	255	6,05	0,87	5,6	0,10	5,98
50Au-SP/BDDE	406	97,7	60,8	2,58	0,84	5,1	0,01	35,2
pAu-SP/BDDE	262	25,8	345	8,09	0,84	8,2	0,06	14,9
Au-SP/BDDE	706	12,7	7,15	27,2	0,86	14,9	0,12	13,4
eAu-SP/BDDE	238	9,19	490	17,0	0,91	7,1	0,16	4,61

Zkratky: R_s – odpor roztoku, R_{ct} – odpor přenosu náboje, Y_0 – admitance, n – exponent prvku konstantní fáze, C_{eff} – efektivní kapacita, k^0_{app} – heterogenní konstanta rychlosti přenosu elektronů, τ – doba relaxace

Na druhou stranu, EIS je dobrým nástrojem pro zkoumání vlastností analytu i elektrodového materiálu [286], pokud je vybrán vhodný ekvivalentní elektrický obvodový model. Je třeba poznamenat, že efekt Maxwell-Wagnera řídí procesy relaxace náboje na rozhraní analytu/elektrody. Výsledkem je relaxační doba, která je dána dielektrickou konstantou a poměrem vodivosti, a lze ji modelovat pomocí paralelního rezistoru R a kondenzátoru C [287]. Vzhledem k tomu, že exponent konstantního fázového posunu (CPE) se přibližuje hodnotě 1, vykazuje CPE kapacitní chování a lze přibližně odhadnout relaxační čas jako $\tau = R_{ct} C_{eff}$. Je zajímavé, že BDDE vykazuje nejdelší relaxační časy, zatímco SP/BDDE nabízí relaxaci rychlosti o jeden řád rychlejší. Navíc nanostrukturované povrchy, jako jsou 5

nebo 15 nm velké nanočástice zlata nebo porézní nanočástice zlata, vykazují nejkratší relaxační čas. Je třeba poznamenat, že povrchové struktury často ovlivňují difuzi na povrchu [288], což vede k ne-Cottrellovu chování blízko povrchu.

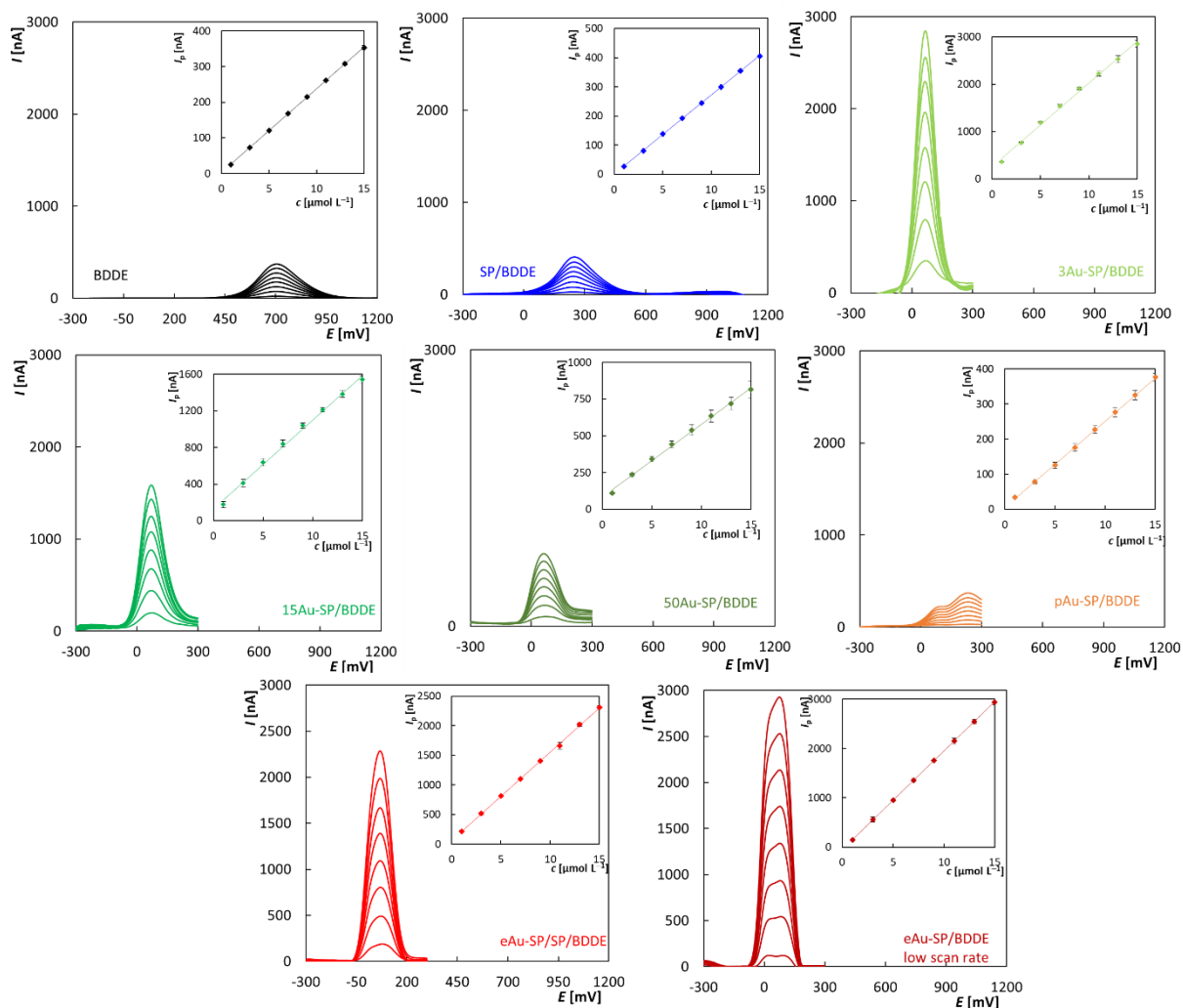
Obecně lze říci, že modifikace povrchu BDDE zlatými nanočásticemi urychluje elektrochemickou reakci ve srovnání s nemodifikovaným diamantem a čistým zlatem. Je třeba poznamenat, že senzor modifikovaný elektrochemickou depozicí AuNPs vykazoval nejnižší hodnotu R_{ct} a nejvyšší hodnotu k_{app}^0 pro všechny testované redoxní systémy.

4.4.4 Aplikace v elektroanalýze při stanovení dopaminu

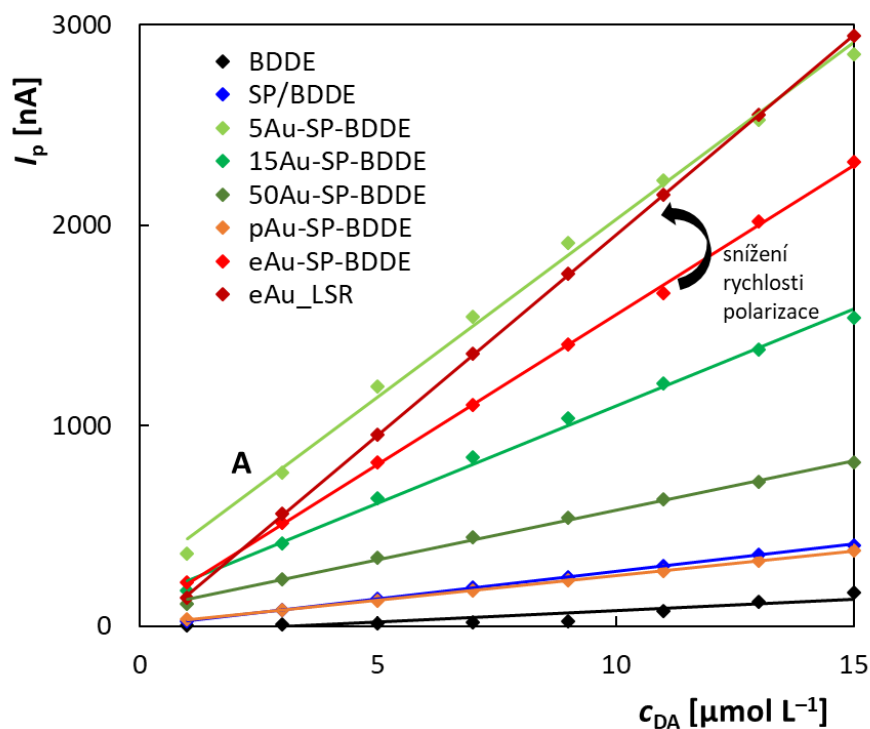
4.4.4.1 Koncentrační závislosti

Pro ověření využitelnosti SP/BDDE modifikovaných AuNPs v elektroanalýze byl jako analyt zvolen dopamin, který je často používán právě při testování nových elektrodoých materiálů [68,255,256,289,290]. Při těchto studiích byla aplikována SWV s parametry optimalizovanými v kapitole 4.2.2 Vývoj voltametrických metod stanovení. Testované senzory byly použity nejprve k měření závislosti I_p na koncentraci DA v rozsahu (1 až 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$) pro stanovení základních statistických parametrů a jejich porovnání. Zaznamenané voltamogramy s příslušnými závislostmi I_p na c_{DA} jsou uvedeny na obrázku 49. Srovnání získaných závislostí je možné z obrázku 50. Vzhledem ke stejné velikosti povrchu všech elektrod nebyl nutný přepočítání na proudové hustoty. Statistické parametry jako směrnice a úsek s odpovídajícími intervaly spolehlivosti a korelační koeficienty shrnuté v tabulce 22 naznačují, že modifikace povrchu AuNPs obecně zvyšuje citlivost stanovení DA. Nejvýznamnější nárůst hodnoty směrnice ($176,8 \pm 4,3 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$), konkrétně 6,5krát ve srovnání s nemodifikovanými BDDE nebo SP/BDDE, byl pozorován pro senzor modifikovaný fyzikální depozicí s nejmenší velikostí nanočástic (5Au-SP/BDDE). S rostoucí velikostí nanočástic citlivost klesala. Srovnatelně vynikající výsledky byly dosaženy pro eAu-SP/BDDE ($149,1 \pm 1,6 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$). Snížení rychlosti polarizace na eAu-SP/BDDE navíc vede k dalšímu zvýšení citlivosti ($199,60 \pm 0,54 \text{ nA L } \mu\text{mol}^{-1}$). To lze vysvětlit tím, že při nízké v mohou být využity všechny elektroaktivní centra včetně těch uvnitř strukturovaného materiálu, které při vyšších rychlostech nejsou zapojeny do probíhajících redoxních reakcí [291]. Tento jev nebyl pozorován u senzorů s fyzikálně deponovaným zlatem (kromě pAu-SP/BDDE), což lze vysvětlit nižší hustotou pokrytí povrchu elektrody. Navíc, samotný povrch elektrochemicky deponovaných AuNPs je strukturovaný, zatímco v případě fyzické depozice je hladký (obrázek 51). V případě porézních AuNPs jsou tyto zapuštěny hluboko do diamantové vrstvy, což vede k zapojení povrchu BDD

do reakcí při vysoké rychlosti polarizace, a to vede ke vzniku dvou oxidačních píků. Po snížení rychlosti polarizace (obrázek 52) je pozorován pouze první pík odpovídající reakci na pAuNPs, jeho výška se nezměnila. Na rozdíl od eAu-SP/BDDE se tedy citlivost v případě pAu-SP/BDDE nezvýšila při nižší polarizační rychlosti, což lze vysvětlit malou velikostí pórů (cca 7 nm) a působením elektrokapilárních sil.



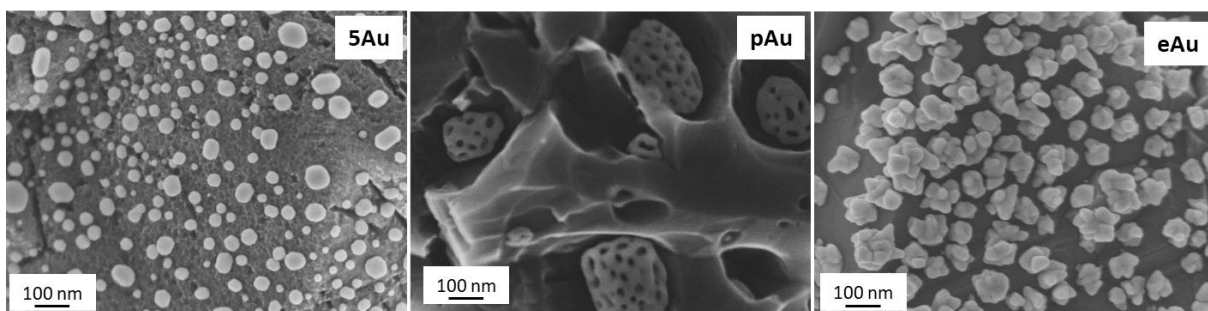
Obrázek 49 SW voltamogramy DA v závislosti na koncentraci získané pro všechny testované senzory a odpovídající závislosti $I_p = f(c)$. Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c_{DA} = 1-15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ (a 5 mV s^{-1} pro eAu-SP/BDDE), $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$



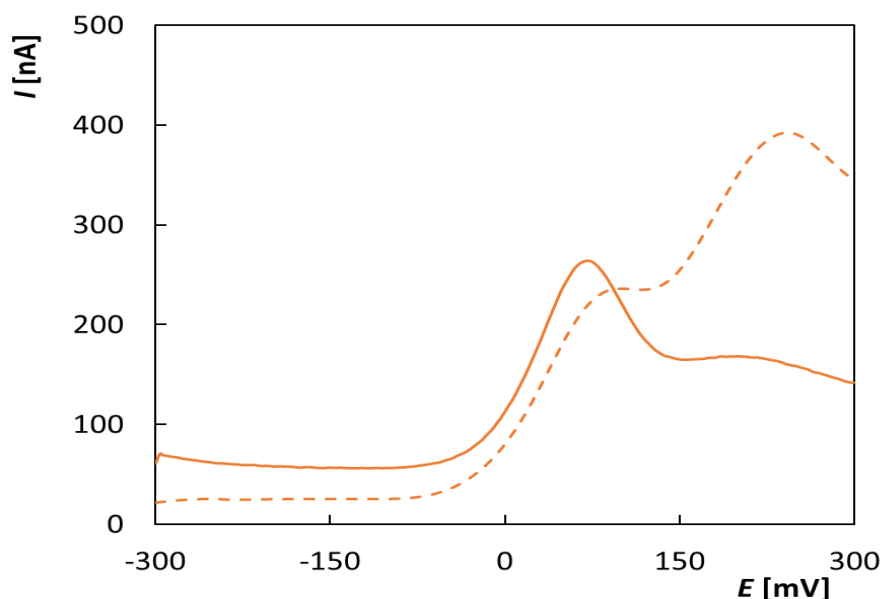
Obrázek 50 Koncentrační závislosti získané pro všechny testované senzory s přidanou závislostí získanou pro eAu-SP/BDDE při nízké rychlosti polarizace. Metoda CV, elektrolyt – BRB (pH 5,5), $c_{DA} = 1-15 \mu\text{mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ (a 5 mV s^{-1} pro eAu-SP/BDDE), $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$

Tabulka 22 Statistické parametry závislosti I_p na c_{DA} získané na všech testovaných senzorech

Elektroda	Směrnice	Úsek	r
	[nA $\mu\text{mol L}^{-1}$]	[nA]	
BDDE	(23,64±0,059)	(1,20±0,49)	0,9998
SP/BDDE	(27,17±0,088)	(0,17±0,71)	0,9997
5Au-SP/BDDE	(176,8±4,3)	(258±40)	0,9998
15Au-SP/BDDE	(96,9±2,7)	(128±25)	0,9976
50Au-SP/BDDE	(49,6±1,1)	(82,2±9,8)	0,9998
pAu-SP/BDDE	(24,5±0,17)	(6,4±1,7)	0,9998
eAu-SP/BDDE	(149,1±1,57)	(64±15)	0,9997
eAu-SP/BDDE (5 mV s^{-1})	(199,6±0,54)	-(43,8±5,0)	0,9998



Obrázek 51 SEM snímky 5Au, pAu a eAu (zvětšení 100 000×)



Obrázek 52 SW voltamogramy DA zaznamenané na pAu-SP/BDDE při různé rychlosti polarizace. Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 5,5), $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ (přerušovaná čára) a 5 mV s^{-1} (plná čára), $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$, $c_{DA} = 15 \mu\text{mol L}^{-1}$

Pro výpočet limitu detekce byly změřeny koncentrační závislosti v nižším koncentračním rozsahu od $0,2$ do $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Příloha 6, [279]). Vypočtené hodnoty LOD a jejich srovnání s hodnotami dosaženými s využitím jiných senzorů popsanych v literatuře je uvedeno v tabulce 23. Je zřejmé, že použití nových (LM-)SP/BDDE modifikovaných AuNPs vede ke snížení LOD. Zároveň bylo zjištěno, že nejlepší výsledky poskytují senzory s menšími nanočásticemi, jako je 5Au- a 15Au-SP/BDDE nebo eAu-SP/BDDE (zejména při nízkých rychlostech polarizace). Podobné hodnoty LOD byly také získány pro pAu-, i když citlivost těchto senzorů ($24,5 \pm 0,17$) byla významně nižší. Hodnoty LOD dosažené v této práci pro nové senzory modifikované AuNPs jsou nejnižší ve srovnání s publikovanými hodnotami v literatuře pro jiné typy senzorů.

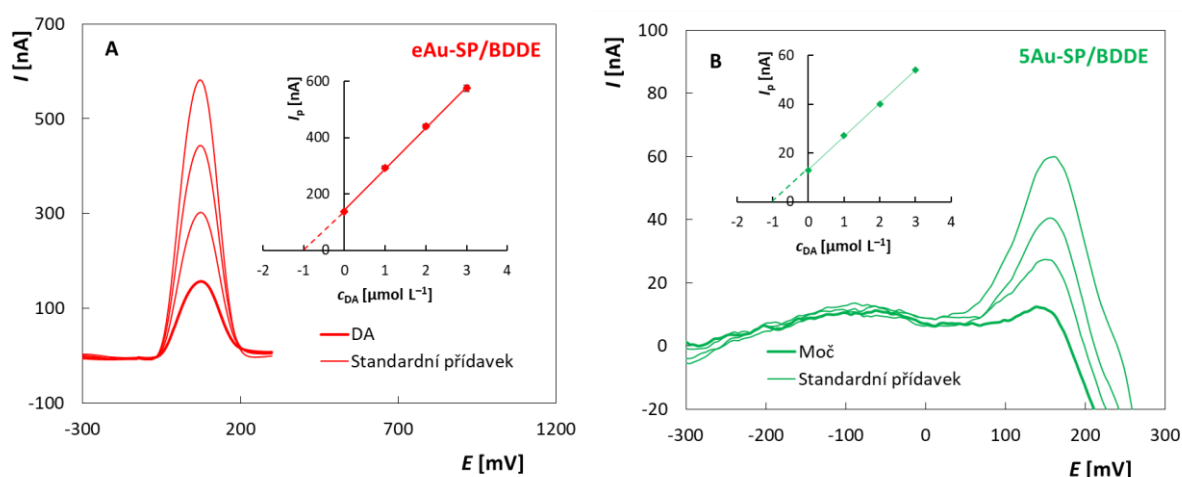
Tabulka 23 Porovnání výsledků získaných v rámci této práce s výsledky dříve publikovanými pro stanovení DA

Elektroda	Metoda	Elektrolyt	LOD [nmol L ⁻¹]	Cit.
BDDE	DPV	ABS (pH 3,0)	90	[292]
AuNPs-BDDE	SWV	PBS (pH 7,4)	100	[293]
Au/pBDDE	DPV	0,1 M HClO ₄	60	[294]
Au/PE/PS-BDDE	CV	PBS (pH 7,2)	800	[295]
Au-C@Ni/BDDE	DPV	0,1 M HClO ₄	15	[97]
Au-PANI/BDDE	SWV	PBS (pH 7,0)	30	[296]
GC/NiOx-Au	SWV	PBS (pH 7,0)	79	[297]
graphite–polyurethane	DPV	PBS (pH 7,0)	15,5	[298]
poly-aurine/AuNP/GCE	DPV	PBS (pH 7,4)	160	[299]
AuNP@3D GR	DPV	PBS (pH 7,0)	100	[300]
ErGO-AuNP/ITO	DPV	PBS (pH 7,4)	15	[301]
3D-MoS ₂ /rGO/Au@GCE	DPV	PBS (pH 7,0)	110	[302]
AuNPs/GCE	DPV	PBS (pH 7,2)	130	[303]
CoS ₂ /IL-GN/GCE	DPV	PBS (pH 7,4)	40	[304]
rGO-Mn ₃ O ₄ /Nafion-Au/GC	AM	PBS (pH 4,5)	250	[305]
MWCNT/PSVM/Au/GCE	DPV	PBS (pH 7,0)	56	[306]
Au/MWNTs/Nafion/GCE	DPASV	PBS (pH 6,0)	40	[307]
Au/ATP-ABA/GCE	DPV	PBS (pH 6,0)	9200	[308]
BDDE	SWV	BRB (pH 5,5)	62,2	v této práci
SP/BDDE	SWV	BRB (pH 5,5)	77,3	v této práci
5Au-SP/BDDE	SWV	BRB (pH 5,5)	2,5	v této práci
15Au-SP/BDDE	SWV	BRB (pH 5,5)	9,3	v této práci
50Au-SP/BDDE	SWV	BRB (pH 5,5)	36,6	v této práci
pAu-SP/BDDE	SWV	BRB (pH 5,5)	13,4	v této práci
eAu-SP/BDDE	SWV	BRB (pH 5,5)	12,8	v této práci
eAu-SP/BDDE (5 mV s ⁻¹)	SWV	BRB (pH 5,5)	9,9	v této práci

PE – polyelektrolyt, PS – polystyren, Au – zlato, pBDDE – porézní bórem dopovaná diamantová elektroda, Au-C@Ni – zlaté nanočástice a grafitem potažené nanočástice niklu, PANI – polyanilin, AM – amperometrie, AuNP@3D GR – zlaté nanočástice a trojrozměrný grafen; ErGO-AuNP/ITO – oxid grafenu a nanočástice zlata na elektrodě oxidu india a cínu; 3D-MoS₂/rGO/Au@GCE – zlaté nanočástice na 3D síti skládající se z nanokompozitu MoS₂/rGO; MWCNT/PSVM/Au/GCE – uhlíkové nanotrubičky a zlaté nanočástice v kopolymeru; Au/ATP-ABA/GCE – nanočástic zlata navázané pomocí 4-aminothiofenolu a kyseliny 4-aminobenzoové na uhlíkové skleněné elektrodě

4.4.4.2 Stanovení dopaminu v modelovém roztoku a vzorku moči

Pro ověření aplikovatelnosti testovaných senzorů při analýze DA v modelových roztocích a vzorku moči byly použity dva vybrané modifikované senzory s nejlepšími elektrochemickými vlastnostmi (5Au-SP/BDDE a eAu-SP/BDDE). Byl připraven modelový roztok DA a rovněž vzorek moči, oba o koncentraci DA $1 \mu\text{mol L}^{-1}$. Pro vyhodnocení analýzy byla použita metoda standardního přídávku. Postup přípravy vzorků a následné analýzy je popsán v experimentální části. Příklady analýzy včetně grafického vyhodnocení jsou uvedeny na obrázku 53 a výsledky jsou shrnuty v Tabulce 24. Je zřejmé, že testované senzory umožňují dosažení správných a dobře opakovatelných výsledků v modelových roztocích i při analýze biologických vzorků se složitější maticí.



Obrázek 53 SW voltamogramy analýzy DA v modelovém roztoku (A) a vzorku moči (B). Metoda – SWV, elektrolyt – BRB (pH 5,5), $E_{poč} = -300 \text{ mV}$, $E_{kon} = +300 \text{ mV}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $A = 80 \text{ mV}$, $f = 10 \text{ Hz}$, metoda standardního přídávku: vzorek – $V = 10 \text{ mL}$, standardní přídávky – $V = 10 \mu\text{L}$, $c_{DA} = 0,001 \text{ mol L}^{-1}$; Vložené grafické vyhodnocení metody standardního přídávku

Tabulka 24 Výsledky opakovaného stanovení DA v modelovém roztoku a vzorku moči

	Elektroda	Dáno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Stanoveno [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Výtěžnost [%]	RSD ₅ [%]
Modelový roztok	5Au/SP-BDDE	1,0	(1,005±0,045)	94,2-108,1	4,5
	eAu/SP/BDDE		(1,006±0,024)		
Moč	5Au/SP-BDDE	1,0	(0,995±0,042)	95,1-104,2	4,8
	eAu/SP/BDDE		(0,998±0,022)		

Studie týkající se tištěných senzorů modifikovaných AuNPs byla publikována v práci „Effect of different modification by gold nanoparticles on the electrochemical performance of screen-printed sensors with boron-doped diamond electrode“ [279] (Příloha č. 6).

ZÁVĚR

Předmětem této disertační práce byly nové elektrochemické sítotiskové senzory s chemicky deponovanou BDDE. Byly zkoumány fyzikální a elektrochemické vlastnosti těchto senzorů a možnosti jejich modifikace a aplikace v elektroanalýze.

Úvodní kapitoly výsledkové části se týkaly studia elektrochemického chování a vývoje metod stanovení vybraných biologicky aktivních látek významných pro zdraví člověka a ochranu životního prostředí s využitím BDDE v klasickém tříelektrodovém uspořádání elektrochemického článku. Konkrétně se jednalo o léčiva MNL a ATX, neurotransmitter DA a pesticid TTC. Vedle CV byly použity metody DPV nebo SWV, byly optimalizovány jejich parametry, postup předúpravy povrchu elektrody, a poté získány následující statistické parametry: MNL – LDR 0,1-30 $\mu\text{mol L}^{-1}$, LOD 55 nmol L^{-1} a LOQ 320 nmol L^{-1} ; ATX – LDR 0,2-20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, LOD 39 nmol L^{-1} a LOQ 130 nmol L^{-1} ; TTC – LDR 1-20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, LOD 250 nmol L^{-1} a LOQ 850 nmol L^{-1} ; DA – LDR 0,2-286 $\mu\text{mol L}^{-1}$, LOD 62 nmol L^{-1} a LOQ 207 nmol L^{-1} . Metody byly úspěšně aplikovány při analýze farmaceutických a pesticidních přípravků. Pro MNL byl navržen mechanismus elektrochemické oxidace s využitím LC-MS analýzy produktů preparativní elektrolýzy a spektroeletrochemie. Všechny vyvinuté metody byly později použity při testování nových senzorů.

Hlavní část disertační práce byla věnována nově připraveným tištěným senzorům s BDDE (LM-SP/BDDE). Jejich povrch byl charakterizován pomocí SEM a Ramanovy spektroskopie. Elektrochemické vlastnosti byly testovány s využitím CV a EIS dvou redoxních markerů $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ a $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+/2+}$. Dosažené výsledky byly porovnány s komerčně dostupným SP/BDDE a BDDE v klasickém uspořádání. Všechny senzory vykazovaly široké využitelné potenciálové okno kolem 3 V (0,1 mol L^{-1} H_2SO_4). Na základě měření CV a EIS se ukázalo, že nové senzory vykazují často lepší nebo srovnatelné elektrochemické vlastnosti než BDDE. Nejlepší výsledky, např. reversibilita reakce, I_p nebo k_{app}^0 , byly získány pro 2LM- a 3LM-SP/BDDE, nejhorší naopak pro komerční SP/BDDE. Aplikační možnosti nových senzorů v elektroanalýze byly testovány pro výše uvedené analyty s využitím nově vyvinutých metod. Získané statistické parametry se významně nelišily. Citlivost byla srovnatelná s výjimkou ATX, kde BDDE poskytovala nižší hodnotu směrnice koncentrační závislosti. LOD byly rovněž podobné s výjimkou SP/BDDE a 2LM-SP/BDDE, kde byla hodnota *cca* dvojnásobná. BDDE a zejména SP/BDDE pak pro některé analyty vykazovala užší LDR. Všechny testované senzory byly úspěšně použity při analýze reálných vzorků s obsahem MNL, ATX a TTC a je zřejmé, že mohou být úspěšně použity nejen při analýze modelových roztoků, ale poskytují správné a

dobře opakovatelné výsledky i v prostředí komplikované matrice reálných vzorků. Výhodou tištěných senzorů je možnost analýzy v malých objemech vzorků. Tato možnost byla ověřena při aplikaci LM-SP/BDDE pro stanovení MNL v séru, které probíhalo v objemu 50 μL . Tato analýza nebyla provedena na SP/BDDE, protože hodnota LOQ v séru pro tento senzor byla příliš vysoká. Bylo také potvrzeno, že všechny testované SPE vykazují velmi dobrou opakovatelnost měření a jejich příprava je dobře reprodukovatelná. Výhodou LM-SP/BDDE oproti SP/BDDE je stabilita referentní elektrody. Navíc v průběhu zpracování této disertační práce bylo zjištěno, že výroba testovaného komerčně dostupného SP/BDDE byla ukončena, což zdůrazňuje význam dosažených výsledků nabízejících kvalitní alternativu.

V další fázi práce byly nové senzory, s využitím originální procedury založené na fyzikální depozici zlata, modifikovány AuNPs různých velikostí. Byla provedena povrchová a elektrochemická charakterizace těchto senzorů, které byly následně aplikovány při analýze DA. Získané výsledky byly porovnávány s těmi, dosaženými pro LM-SP/BDDE modifikované AuNPs s využitím elektrochemické depozice z roztoku a nemodifikované senzory. Pomocí SEM bylo zjištěno, že s rostoucí tloušťkou deponovaného filmu Au roste i velikost získaných nanočástic. Ve srovnání s elektrochemicky připravenými AuNPs, které jsou hrubší a připomínají tvarem hvězdy, mají jinou krystalografickou strukturu a hladší povrch. Pokrytí povrchu elektrody nanočásticemi je ve všech případech homogenní, ale jeho hustota byla výrazně vyšší po elektrochemické depozici. Nejlepší elektrochemické vlastnosti, pravděpodobně díky katalytickému efektu AuNP, byly při CV analýze redoxních markerů zaznamenány pro senzory s nejmenší velikostí nanočástic, tj. eAu-SP/BDDE a 5Au-SP/BDDE. S rostoucí velikostí NPs se zhoršuje rychlost přenosu náboje. Tyto výsledky byly potvrzeny pomocí EIS. Obecně modifikace povrchu AuNP vede k urychlení elektrochemické reakce v porovnání s nemodifikovanou BDDE. Sensory eAu-SP/BDDE navíc vykazovaly nejnižší hodnotu odporu přenosu elektronů. Na závěr byly modifikované senzory aplikovány při analýze DA a opět se potvrdilo, že senzory s menšími NPs dosahují lepších výsledků, tedy vyšší citlivosti a nižších LOD od jednotek do desítek nmol L^{-1} a jsou nejnižší ve srovnání s publikovanými hodnotami v literatuře pro jiné typy senzorů.

LITERATURA

1. J. Heyrovský, *Chem. Listy*, 103 (1922) 256–264.
2. J. Barek, F. Opekar, K. Štulík, *Elektroanalytická chemie*, Karolinum, (2005) Praha.
3. O. Farghaly, R. s Hameed, A.-A.H. Abu-Nawwas, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 9 (2014) 3287–3318.
4. M.E. Strong, J.R. Richards, M. Torres, C.M. Beck, J.T. La Belle, *Biosens. Bioelectron.*, 177 (2021) 112949.
5. D.S. Austin, J.A. Polta, T.Z. Polta, A.P.-C. Tang, T.D. Cabelka, D.C. Johnson, *J. Electroanal. Chem.*, 168 (1984) 227–248.
6. J.B. Benziger, F.A. Pascal, S.L. Bernasek, M.P. Soriaga, A.T. Hubbard, *J. Electroanal. Chem.*, 198 (1986) 65–80.
7. J. Zhu, Y. Gong, J. Zhang, P. Shen, H. Chen, *Electroanalysis*, 9 (1997) 1030–1032.
8. S.A. Ozkan, *Electroanalytical Methods in Pharmaceutical Analysis and Their Validation*, HNB Publ, (2012) New York, NY.
9. K.E. Toghiani, R.G. Compton, *Electroanalysis*, 22 (2010) 1947–1956.
10. J. Barek, A.G. Fogg, A. Muck, J. Zima, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 31 (2001) 291–309.
11. V. Vyskočil, J. Barek, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 39 (2009) 173–188.
12. P. Zuman, *Electroanalysis*, 12 (2000) 1187–1194.
13. R.M. West, J. Janata, *J. Electroanal. Chem.*, 858 (2020) 113773.
14. D. Harvey, *Analytical Chemistry 2.1*, LibreTexts, (2022).
15. Regulation (EC) No 1102/2008 of the European Parliament and of the Council of 22 October 2008 on the Banning of Exports of Metallic Mercury and Certain Mercury Compounds and Mixtures and the Safe Storage of Metallic Mercury (Text with EEA Relevance), (2008).
16. C.R. Raj, T. Ohsaka, *J. Electroanal. Chem.*, 496 (2001) 44–49.
17. J. Zhang, K. Seo, I.C. Jeon, *Anal. Bioanal. Chem.*, 375 (2003) 539–543.
18. T. Navrátil, M. Kopanica, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 32 (2002) 153–166.
19. W. Cheuquepán, J. Martínez-Olivares, A. Rodes, J.M. Orts, *J. Electroanal. Chem.*, 819 (2018) 178–186.
20. P.M.S. Monk, *Fundamentals of Electroanalytical Chemistry*, Wiley, (2001) Chichester; New York.
21. *ALS Co., Ltd. Electrochemistry and Spectroelectrochemistry* (2022).
22. N.H. Furman, W.C. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.*, 72 (1950) 5667–5676.
23. J.H. Mendez, A.S. Perez, F.L. Conde, *J. Electroanal. Chem.*, 66 (1975) 53–65.
24. W.C. Cooper, *J. Am. Chem. Soc.*, 77 (1955) 2074–2076.
25. B. Baš, Z. Kowalski, *Electroanalysis*, 14 (2002) 1067–1071.
26. P. Kapturski, A. Bobrowski, *Electroanalysis*, 19 (2007) 1863–1868.
27. P. Kapturski, A. Bobrowski, *J. Electroanal. Chem.*, 617 (2008) 1–6.
28. L. Novotný, B. Yosypchuk, *Chem. Listy*, 94 (2000) 1118–1120.
29. B. Yosypchuk, L. Novotný, *Electroanalysis*, 14 (2002) 1733–1738.
30. B. Yosypchuk, *Talanta*, 56 (2002) 971–976.
31. P. Havranova, L. Fojt, L. Kejik, T. Sikola, M. Fojta, A. Danhel, *Sens. Actuators B Chem.*, 340 (2021) 129921.
32. C.M. Welch, O. Nekrassova, X. Dai, M.E. Hyde, R.G. Compton, *ChemPhysChem*, 5 (2004) 1405–1410.
33. L. Novotný, R. Petrankova, *Anal. Lett.*, 49 (2016) 161–168.
34. B. Josypčuk, J. Langmaier, S. Tvorynska, *Sens. Actuators B Chem.*, 347 (2021) 130583.
35. Ø. Mikkelsen, K.H. Schrøder, *Electroanalysis*, 15 (2003) 679–687.

36. A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed, Wiley, (2001) New York.
37. J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2nd ed, Wiley-VCH, (2000) New York.
38. E.B. Bahadır, M.K. Sezgintürk, *Trends Anal. Chem.*, 76 (2016) 1–14.
39. A. Aqel, K.M.M.A. El-Nour, R.A.A. Ammar, A. Al-Warthan, *Arab. J. Chem.*, 5 (2012) 1–23.
40. R.N. Adams, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1576–1576.
41. Z. Wang, G. Liu, L. Zhang, H. Wang, *Ionics*, 19 (2013) 1687–1693.
42. K. Patel, K. Hashimoto, A. Fujishima, *Denki Kagaku*1961, 60 (1992) 659–661.
43. G.M. Swain, Rajeshuni. Ramesham, *Anal. Chem.*, 65 (1993) 345–351.
44. G.M. Swain, A.B. Anderson, J.C. Angus, *MRS Bull.*, 23 (1998) 56–60.
45. J. Xu, M.C. Granger, Q. Chen, J.W. Strojek, T.E. Lister, G.M. Swain, *Anal. Chem.*, 69 (1997) 591A-597A.
46. A. Kraft, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2 (2007).
47. J.H.T. Luong, K.B. Male, J.D. Glennon, *Analyst*, 134 (2009) 1965.
48. A. Fujishima, Y. Einaga, T.N. Rao, D.A. Tryk, eds., *Diamond Electrochemistry*, BKC, (2005) Tokyo.
49. N. Yang, S. Yu, J.V. Macpherson, Y. Einaga, H. Zhao, G. Zhao, G.M. Swain, X. Jiang, *Chem. Soc. Rev.*, 48 (2019) 157–204.
50. C.E. Nebel, J. Ristein, eds., *Thin-Film Diamond. II*, 1. ed, Elsevier Acad. Press, (2004) Amsterdam.
51. M. Marton, M. Vojs, P. Michniak, M. Behúl, V. Rehacek, M. Pifko, Š. Stehlík, A. Kromka, *Diam. Relat. Mater.*, 126 (2022) 109111.
52. K. Schwarzová-Pecková, J. Vosáhlová, J. Barek, I. Šloufová, E. Pavlova, V. Petrák, J. Závazalová, *Electrochim. Acta*, 243 (2017) 170–182.
53. A.W.S. Williams, E.C. Lightowers, A.T. Collins, *J. Phys. C: Solid State Phys.*, 3 (1970) 1727–1735.
54. F. Pruvost, E. Bustarret, A. Deneuve, *Diam. Relat. Mater.*, 9 (2000) 295–299.
55. M. Bernard, A. Deneuve, P. Muret, *Diam. Relat. Mater.*, 13 (2004) 282–286.
56. A. Kromka, L. Grausova, L. Bacakova, J. Vacik, B. Rezek, M. Vanecek, O.A. Williams, K. Haenen, *Diam. Relat. Mater.*, 19 (2010) 190–195.
57. M. Bernard, C. Baron, A. Deneuve, *Diam. Relat. Mater.*, 13 (2004) 896–899.
58. R. Šelešovská, B. Kránková, M. Štěpánková, P. Martinková, L. Janíková, J. Chýlková, M. Vojs, *J. Electroanal. Chem.*, 821 (2018) 2–9.
59. A.N. Ndao, F. Zenia, A. Deneuve, A. Bernard, C. Lévy-Clément, *Diam. Relat. Mater.*, 9 (2000) 1175–1180.
60. J.J. Wei, Ch.M. Li, X.H. Gao, L.F. Hei, F.X. Lvun, *Appl. Surf. Sci.*, 258 (2012) 6909–6913.
61. Z.V. Živcová, O. Frank, V. Petrák, H. Tarábková, J. Vacík, M. Nesládek, L. Kavan, *Electrochim. Acta*, 87 (2013) 518–525.
62. S. Baluchová, A. Daňhel, H. Dejmková, V. Ostatná, M. Fojta, K. Schwarzová-Pecková, *Anal. Chim. Acta*, 1077 (2019) 30–66.
63. S.C. B. Oliveira, A.M. Oliveira-Brett, *Electrochim. Acta*, 55 (2010) 4599–4605.
64. R. Šelešovská, M. Herynková, J. Skopalová, P. Kelíšková-Martinková, L. Janíková, P. Cankař, P. Bednář, J. Chýlková, *Electroanalysis*, 31 (2019) 363–373.
65. R. Šelešovská, F. Hlobeňová, J. Skopalová, P. Cankař, L. Janíková, J. Chýlková, *J. Electroanal. Chem.*, 858 (2020) 113758.
66. L.A. Hutton, J.G. Iacobini, E. Bitziou, R.B. Channon, M.E. Newton, J.V. Macpherson, *Anal. Chem.*, 85 (2013) 7230–7240.

67. E.L.H. Thomas, G.W. Nelson, S. Mandal, J.S. Foord, O.A. Williams, *Carbon*, 68 (2014) 473–479.
68. M. Zelenský, J. Fischer, S. Baluchová, L. Klimša, J. Kopeček, M. Vondráček, L. Fekete, J. Eidenschink, F.-M. Matysik, S. Mandal, O.A. Williams, M. Hromadová, V. Mortet, K. Schwarzová-Pecková, A. Taylor, *Carbon*, 203 (2023) 363–376.
69. J. Ryl, A. Zielinski, L. Burczyk, R. Bogdanowicz, T. Ossowski, K. Darowicki, *Electrochim. Acta*, 242 (2017) 268–279.
70. K. Pecková, J. Musilová, J. Barek, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 39 (2009) 148–172.
71. J. Barek, J. Fischer, T. Navrátil, K. Pecková, B. Yosypchuk, J. Zima, *Electroanalysis*, 19 (2007) 2003–2014.
72. K. Muzyka, J. Sun, T.H. Fereja, Y. Lan, W. Zhang, G. Xu, *Anal. Methods*, 11 (2019) 397–414.
73. J. Svítková, L. Švorc, J. Labuda, *Acta Chim. Slov.*, 8 (2015) 172–177.
74. J. Musilová, J. Barek, K. Pecková, *Chem. Listy*, 103 (2009).
75. S. Baluchová, A. Mamaloukou, R.H.J.M. Koldenhof, J.G. Buijnsters, *Electrochim. Acta*, 450 (2023) 142238.
76. O. Sarakhman, L. Švorc, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 52 (2022) 791–813.
77. A. Usenko, J. Chýlková, R. Šelešovská, M. Sedlák, J. Váňa, J. Bartáček, T. Mikysek, *J. Electroanal. Chem.*, 904 (2022) 115857.
78. A. Usenko, J. Chýlková, J. Váňa, O. Matvieiev, L. Janíková, R. Šelešovská, *J. Electroanal. Chem.*, 935 (2023) 117360.
79. G. Kuchtová, J. Chýlková, J. Váňa, M. Vojs, L. Dušek, *J. Electroanal. Chem.*, 863 (2020) 114036.
80. G. Kuchtová, L. Hojová, A.V. Staňová, M. Marton, M. Vrška, M. Behúl, P. Michniak, M. Vojs, L. Dušek, *Electrochim. Acta*, 464 (2023) 142924.
81. E. Mordačiková, M. Vojs, M. Marton, K. Grabicová, P. Michniak, T. Mackulák, R. Grabic, A. Vojs Staňová, *SSRN Journal* (2022).
82. G. Kuchtová, P. Herink, T. Herink, J. Chýlková, P. Mikulášek, L. Dušek, *Process Saf. Environ. Prot.*, 171 (2023) 834–846.
83. K.E. Toghil, G.G. Wildgoose, A. Moshar, C. Mulcahy, R.G. Compton, *Electroanalysis*, 20 (2008) 1731–1737.
84. N.R. Stradiotto, K.E. Toghil, L. Xiao, A. Moshar, R.G. Compton, *Electroanalysis*, 21 (2009) 2627–2633.
85. G. Siné, G. Fóti, Ch. Comninellis, *J. Electroanal. Chem.*, 595 (2006) 115–124.
86. H. Li, K. Zhou, J. Cao, Q. Wei, C.-T. Lin, S.E. Pei, L. Ma, N. Hu, Y. Guo, Z. Deng, Z. Yu, S. Zeng, W. Yang, L. Meng, *Carbon*, 171 (2021) 16–28.
87. T.A. Ivandini, R. Sato, Y. Makide, A. Fujishima, Y. Einaga, *Diam. Relat. Mater.*, 13 (2004) 2003–2008.
88. T. Watanabe, T.A. Ivandini, Y. Makide, A. Fujishima, Y. Einaga, *Anal. Chem.*, 78 (2006) 7857–7860.
89. S. Kolahi-Ahari, B. Deiminiat, G.H. Rounaghi, *J. Electroanal. Chem.*, 862 (2020) 113996.
90. J. Tu, Y. Gan, T. Liang, H. Wan, P. Wang, *Sens. Actuators B Chem.*, 272 (2018) 582–588.
91. C. Salvo-Comino, I. Rassas, S. Minot, F. Bessueille, M. Arab, V. Chevallier, M.L. Rodriguez-Mendez, A. Errachid, N. Jaffrezic-Renault, *Materials*, 13 (2020) 688.
92. T.A. Ivandini, Harmesa, E. Saepudin, Y. Einaga, *Anal. Sci.*, 31 (2015) 643–649.
93. M.S.P. Luhur, T.A. Ivandini, M. Khalil, (2018) Bali, Indonesia, p. 020092.
94. A.D. Kurniawan, E. Saepudin, T.A. Ivandini, *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, 496 (2019) 012063.
95. K. Pungjunun, S. Chaiyo, I. Jantrahong, S. Nantaphol, W. Siangproh, O. Chailapakul, *Microchim. Acta*, 185 (2018) 324.

96. W.T. Wahyuni, T.A. Ivandini, P.K. Jiwanti, E. Saepudin, J. Gunluardi, Y. Einaga, *Electrochemistry*, 83 (2015) 357–362.
97. H. Li, Y. Guo, S. Zeng, Q. Wei, P.E. Sharel, R. Zhu, J. Cao, L. Ma, K. Zhou, L. Meng, *J. Mater. Sci.*, 56 (2021) 4700–4715.
98. F. Bottari, K. De Wael, *J. Electroanal. Chem.*, 801 (2017) 521–526.
99. P.K. Jiwanti, K. Natsui, K. Nakata, Y. Einaga, *Electrochim. Acta*, 266 (2018) 414–419.
100. C.K. Mavrokefalos, M. Hasan, W. Khunsin, M. Schmidt, S.A. Maier, J.F. Rohan, R.G. Compton, J.S. Foord, *Electrochim. Acta*, 243 (2017) 310–319.
101. S. Szunerits, R. Boukherroub, *C. R. Chim.*, 11 (2008) 1004–1009.
102. Y. Hernández-Lebrón, C.R. Cabrera, *J. Electroanal. Chem.*, 793 (2017) 174–183.
103. T.A. Ivandini, J. Ariani, P.K. Jiwanti, J. Gunluardi, E. Saepudin, Y. Einaga, *Makara J. Sci.*, 21 (2017) 34–42.
104. L.C.S. Figueiredo-Filho, E.R. Sartori, O. Fatibello-Filho, *Anal. Methods*, 7 (2015) 643–649.
105. T.A. Ivandini, (2018) Bali, Indonesia, p. 020102.
106. T. Agustiany, M. Khalil, Y. Einaga, P.K. Jiwanti, T.A. Ivandini, *Mater. Chem. Phys.*, 244 (2020) 122723.
107. S. Nantaphol, O. Chailapakul, W. Siangproh, *Anal. Chim. Acta*, 891 (2015) 136–143.
108. W. Dai, M. Li, H. Li, B. Yang, *Sens. Actuators B Chem.*, 201 (2014) 31–36.
109. C. Li, T. Zhao, Q. Wei, Z. Deng, H. Long, K. Zheng, H. Li, Y. Guo, Z. Yu, L. Ma, K. Zhou, N. Huang, C.-T. Lin, *J. Electroanal. Chem.*, 841 (2019) 148–157.
110. M. Marton, P. Michniak, M. Behul, V. Rehacek, A. Vojs Stanova, R. Redhammer, M. Vojs, *Vacuum*, 167 (2019) 182–188.
111. C. Gao, J. Tong, C. Bian, J. Sun, Y. Li, J. Wang, Y. Hui, Y. Xu, X. Wang, H. Xie, S. Xia, *Chinese J. Anal. Chem.* (2018) 217–224.
112. C. Gao, J. Tong, C. Bian, J. Sun, Y. Li, J. Wang, S. Gong, Y. Hui, S. Xai, *Chem. J. Chin. Univ.* (2018) 447–454.
113. A. De Battisti, S. Ferro, M. Dal Colle, *J. Phys. Chem. B*, 105 (2001) 1679–1682.
114. A. Salimi, M.E. Hyde, C.E. Banks, R.G. Compton, *Analyst*, 129 (2004) 9.
115. A. Salimi, V. Alizadeh, R. Hallaj, *Talanta*, 68 (2006) 1610–1616.
116. N. Spataru, K. Tokuhira, C. Terashima, T.N. Rao, A. Fujishima, *J. Appl. Electrochem.*, 33 (2003) 1205–1210.
117. N.Y. Yetri, T.A. Ivandini, J. Gunluardi, *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, 188 (2017) 012011.
118. D. Denala, M. Khalil, T.A. Ivandini, (2019) Depok, Indonesia, p. 020057.
119. Y. Li, H. Li, M. Li, C. Li, Y. Lei, D. Sun, B. Yang, *J. Alloys Compd.*, 743 (2018) 187–195.
120. A. Manivannan, N. Spataru, K. Arihara, A. Fujishima, *Electrochem. Solid-State Lett.*, 8 (2005) C138.
121. M. Braiek, Y. Yang, C. Farre, C. Chaix, F. Bessueille, A. Baraket, A. Errachid, A. Zhang, N. Jaffrezic-Renault, *Electroanalysis*, 28 (2016) 1810–1816.
122. R.A. Durst, A.J. Baumner, R.W. Murray, R.P. Buck, C.P. Andrieux, *Pure Appl. Chem.*, 69 (1997) 1317–1324.
123. K. Tyszczyk-Rotko, I. Bęczkowska, M. Wójciak-Kosior, I. Sowa, *Talanta*, 129 (2014) 384–391.
124. K. Tyszczyk-Rotko, I. Sadok, *Electroanalysis*, 28 (2016) 2178–2187.
125. P. Niedziałkowski, T. Ossowski, P. Zięba, A. Cirocka, P. Rochowski, S.J. Pogorzelski, J. Ryl, M. Sobaszek, R. Bogdanowicz, *J. Electroanal. Chem.*, 756 (2015) 84–93.
126. Z.A. Mangombo, P. Baker, E. Iwuoha, D. Key, *Microchim. Acta*, 170 (2010) 267–273.
127. L. Jiang, I. Santiago, J. Foord, *Langmuir*, 36 (2020) 6089–6094.

128. Y.L. Zhou, R.H. Tian, J.F. Zhi, *Biosens. Bioelectron.*, 22 (2007) 822–828.
129. W. Yang, O. Auciello, J.E. Butler, W. Cai, J.A. Carlisle, J.E. Gerbi, D.M. Gruen, T. Knickerbocker, T.L. Lassetter, J.N. Russell, L.M. Smith, R.J. Hamers, *Nat. Mater.*, 1 (2002) 253–257.
130. T. Teker, A.M.H. Hasan, M. Aslanoglu, *Electroanalysis*, 31 (2019) 2446–2454.
131. A. Pop, F. Manea, A. Flueraș, J. Schoonman, *Sensors*, 17 (2017) 2033.
132. M. Wei, G. Zeng, Q. Lu, *Microchim. Acta*, 181 (2014) 121–127.
133. H. Long, C. Li, Z. Deng, Y. Wang, N. Hu, L. Meng, Y. Xie, Q. Wei, Z. Yu, S. Zhang, *J. Electrochem. Soc.*, 165 (2018) B135–B142.
134. A. Dettlaff, P. Jakóbczyk, M. Ficek, B. Wilk, M. Szala, J. Wojtas, T. Ossowski, R. Bogdanowicz, *J. Hazard. Mater.*, 387 (2020) 121672.
135. N. Zehani, P. Fortgang, M.S. Lachgar, A. Baraket, M. Arab, S.V. Dzyadevych, R. Kherrat, N. Jaffrezic-Renault, *Biosens. Bioelectron.*, 77 (2016) 1222.
136. V. Hrdlička, O. Matvieiev, T. Navrátil, R. Šelešovská, *Electrochim. Acta*, 456 (2023) 142435.
137. M. Li, Y.-T. Li, D.-W. Li, Y.-T. Long, *Anal. Chim. Acta*, 734 (2012) 31–44.
138. Z. Taleat, A. Khoshroo, M. Mazloun-Ardakani, *Microchim. Acta*, 181 (2014) 865–891.
139. J. Barton, M.B.G. García, D.H. Santos, P. Fanjul-Bolado, A. Ribotti, M. McCaul, D. Diamond, P. Magni, *Microchim. Acta*, 183 (2016) 503–517.
140. H. Beitollahi, S.Z. Mohammadi, M. Safaei, S. Tajik, *Anal. Methods*, 12 (2020) 1547–1560.
141. M. Pohanka, *Int. J. Electrochem. Sci.* (2020) 11024–11035.
142. L. Falciola, V. Pifferi, M.L. Possenti, V. Carrara, *J. Electroanal. Chem.*, 664 (2012) 100–104.
143. H. Cunha-Silva, M. Julia Arcos-Martinez, *Talanta*, 195 (2019) 771–777.
144. W. McCormick, D. McCrudden, *J. Electroanal. Chem.*, 860 (2020) 113912.
145. L. Gómez-Arconada, A. Díaz-Fernández, E.E. Ferapontova, *Talanta*, 245 (2022) 123456.
146. W. Zhang, P. Zhang, Y. Liang, W. Cheng, L. Li, H. Wang, Z. Yu, Y. Liu, X. Zhang, *RSC Adv.*, 12 (2022) 13448–13455.
147. O.E. Fayemi, O.G. Poe, F.A. Adesanya, I.P. Ejidike, *Nanomaterials*, 12 (2022) 1825.
148. A.K.M.S. Inam, M.A.C. Angeli, A. Douaki, B. Shkodra, P. Lugli, L. Petti, *Sensors*, 22 (2022) 2754.
149. T. Rajarathinam, D. Thirumalai, M. Kwon, S. Lee, S. Jayaraman, H. Paik, J. Lee, S.-C. Chang, *Bioelectrochemistry*, 146 (2022) 108155.
150. N. Nataraj, T.-W. Chen, M. Akilarasan, S.M. Chen, A.A. Al-Ghamdi, M.S. Elshikh, *Chemosphere*, 302 (2022) 134765.
151. R.K.A. Amali, H.N. Lim, I. Ibrahim, Z. Zainal, S.A.A. Ahmad, *J. Electroanal. Chem.*, 918 (2022) 116440.
152. S. Nur Ashakirin, M. Aniq Shazni M. Haniff, M. Hazani M. Zaid, M. Farhanulhakim M. Razipwee, E. Mahmoudi, *Measurement*, 196 (2022) 111058.
153. D.M. Stanković, Z. Milanović, L. Švorc, V. Stanković, D. Janković, M. Mirković, S.V. Đurić, *Diam. Relat. Mater.*, 113 (2021) 108277.
154. T. Matsunaga, T. Kondo, I. Shitanda, Y. Hoshi, M. Itagaki, T. Tojo, M. Yuasa, *Carbon*, 173 (2021) 395–402.
155. A. Gevaerd, E.Y. Watanabe, B.C. Janegitz, M.F. Bergamini, L.H. Marcolino-Junior, *J. Electrochem. Soc.*, 169 (2022) 037503.
156. R.C. Dawkins, D. Wen, J.N. Hart, M. Vepsäläinen, *Electrochim. Acta*, 393 (2021) 139043.
157. A.E. Ferreira Oliveira, A.C. Pereira, M.A. Campos de Resende, L.F. Ferreira, *Electroanalysis*, 34 (2022) 809–819.

158. M. Zaguirre, C. Arino, N. Serrano, J. Manuel Diaz-Cruz, M. Esteban, *Electroanalysis*, 30 (2018) 2925–2930.
159. S. Cheemalapati, S. Palanisamy, S.-M. Chen, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7 (2012) 11488–11496.
160. C. Chen, X. Niu, Y. Chai, H. Zhao, M. Lan, Y. Zhu, G. Wei, *Electroanalysis*, 25 (2013) 1446–1452.
161. J. Wu, J. Suls, W. Sansen, *Electrochem. Commun.*, 2 (2000) 90–93.
162. M. Khodari, U. Bilitewski, A. a. H. Basry, *Electroanalysis*, 27 (2015) 281–284.
163. S. Wang, Z. Qi, H. Huang, H. Ding, *Anal. Lett.*, 45 (2012) 1658–1669.
164. P. Kelišková, O. Matvieiev, L. Janíková, R. Šelešovská, *Curr. Opin. Electrochem.*, 42 (2023) 101408.
165. S. Đurđić, F. Vlahović, M. Markičević, J. Mutić, D. Manojlović, V. Stanković, E. Švorc, D. Stanković, *Chemosensors*, 11 (2023) 15.
166. O. Sarakhman, A. Benková, E. Švorc, *Microchem. J.*, 175 (2022) 107132.
167. O. Matvieiev, R. Šelešovská, M. Vojs, M. Marton, P. Michniak, V. Hrdlička, M. Hatala, L. Janíková, J. Chýlková, J. Skopalová, P. Cankar, T. Navrátil, *Biosensors*, 12 (2022) 241.
168. R. Šelešovská, T. Navrátil, V. Hrdlička, P. Michniak, M. Hatala, M. Vojs, M. Marton, O. Matvieiev, L. Janíková, J. Chýlková, *Electrochim. Acta*, 403 (2022) 139642.
169. O. Matvieiev, R. Šelešovská, R. Sokolová, R. Jerga, J. Skopalová, P. Barták, J. Chýlková, M. Vojs, *Sens. Actuators B Chem.*, 397 (2023) 134700.
170. O. Dushna, L. Dubenska, M. Marton, M. Hatala, M. Vojs, *Microchem. J.*, 191 (2023) 108839.
171. O. Dushna, L. Dubenska, M. Vojs, M. Marton, I. Patsay, S. Ivakh, S. Plotycya, *Electrochim. Acta*, 432 (2022) 141182.
172. L.M.A. Melo, L.V. de Faria, L.C. Arantes, M. Vojs, M. Marton, R.F. Brocenschi, E.M. Richter, R.A.A. Munoz, W.T.P. dos Santos, *Electrochim. Acta*, 465 (2023) 142996.
173. K.-F. Benitz, R. Moraski, R.R. Roepke, L.A. Wozniak, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 4 (1962) 220–237.
174. I.A. Kraft, *Am. J. Psychiatry*, 118 (1962) 841–842.
175. N. Erk, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 21 (1999) 429–437.
176. A.A. Bredikhin, Z.A. Bredikhina, D.V. Zakharychev, A.V. Pashagin, *Tetrahedron: Asymmetry*, 18 (2007) 1239–1244.
177. P. Lowinger, *Am. J. Psychiatry*, 120 (1963) 66–67.
178. A. Ochoa-Terán, I.A. Rivero, *Arkivoc.*, 2008 (2008) 235–242.
179. J. Dohnal, Z. Volková, K. Vytřas, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 7 (1989) 755–758.
180. G.D. Laveck, P. Bwkley, *J. Chronic. Dis.*, 13 (1960) 174–183.
181. J. Eskenazi, T. Nikiforidis, J.J. Livio, J.L. Schelling, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 9 (1976) 411–415.
182. B.V. Franko, J.W. Ward, D.L. Gilbert, G. Woodard, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 19 (1971) 93–102.
183. R.A. Yeary, R.A. Benish, C.A. Brahm, D.L. Miller, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 6 (1964) 642–652.
184. A.A. Bredikhin, Z.A. Bredikhina, A.T. Gubaidullin, *CrystEngComm*, 22 (2020) 7252–7261.
185. Y.-S. Uang, I.-K. Chen, L.-H. Wang, K.-Y. Hsu, *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 759 (2001) 91–97.
186. R. Rothchild, K.S. Venkatasubban, S. Braddock, K. Sanders, S. Traviglia, *Spectrosc. Lett.*, 26 (1993) 271–291.
187. F. Jancik, J. Dohnal, B. Kakác, Z. Köllnerová, J. Pospíšilová, H. Beránková, *Cesk. Farm.*, 40 (1991) 49–52.

188. G. Yu, G.-F. Li, J.S. Markowitz, *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.*, 26 (2016) 314–326.
189. J. Biederman, S.V. Faraone, *The Lancet*, 366 (2005) 237–248.
190. J.D.D. Bradley, C.J. Golden, *Clin. Psychol. Rev.*, 21 (2001) 907–929.
191. F. Bymaster, *Neuropsychopharmacology*, 27 (2002) 699–711.
192. J.W. Witcher, A. Long, B. Smith, J.-M. Sauer, J. Heilgenstein, T. Wilens, T. Spencer, J. Biederman, *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.*, 13 (2003) 53–63.
193. P. Cahová, J. Pejčochová, H. Ošlejšková, *Ceska Slov. Neurol. Neurochir.*, 74 (2011) 157–162.
194. R.B. Sangal, J. Owens, A.J. Allen, V. Sutton, K. Schuh, D. Kelsey, *Sleep*, 29 (2006) 1573–1585.
195. H.R. Prajapati, P.N. Raveshiya, J.M. Prajapati, *E-J. Chem.*, 8 (2011) 1958–1964.
196. S.S. Kamat, V.B. Choudhari, V.T. Vele, S.S. Prabhune, *Chromatographia* (2008).
197. J. He, W.-B. Li, C.-J. Ruan, *Acta Pharmacol. Sin.*, 34 (2013) 140–141.
198. W. Guo, W. Li, G. Guo, J. Zhang, B. Zhou, Y. Zhai, C. Wang, *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 854 (2007) 128–134.
199. S.K. Patel, N.J. Patel, *J. AOAC Int.*, 93 (2010) 1207–1214.
200. B. Stegmann, A. Dörfelt, E. Haen, *Ther. Drug Monit*, 38 (2016) 98–107.
201. S.T. Ulu, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 35 (2012) 747–756.
202. H.-J. Zhu, J.-S. Wang, J.L. Donovan, C.L. DeVane, B.B. Gibson, J.S. Markowitz, *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 846 (2007) 351–354.
203. E. Papaseit, E. Marchei, C. Mortali, G. Aznar, O. Garcia-Algar, M. Farrè, R. Pacifici, S. Pichini, *Forensic Sci. Int.*, 218 (2012) 62–67.
204. C.-I. Choi, J.-W. Bae, H.-I. Lee, C.-G. Jang, U.D. Sohn, S.-Y. Lee, *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 885–886 (2012) 103–108.
205. E. Marchei, E. Papaseit, O.Q. Garcia-Algar, M. Farrè, R. Pacifici, S. Pichini, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 60 (2012) 26–31.
206. J.H. Mullen, R.L. Shugert, G.D. Ponsler, Q. Li, B. Sundaram, H.L. Coales, J.E. Yakupkovic, R.M. LeLacheur, W.J. Wheeler, F.J. Belas, J.-M. Sauer, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 38 (2005) 720–733.
207. S.M. Derayea, M.A. Omar, A.A. Abu-hassan, *R. Soc. Open Sci.*, 5 (2018) 170943.
208. S.T. Ulu, *Pharmazie* (2011) 831–835.
209. H. Zeng, R. Yang, Y. Zhang, J. Li, L. Qu, *Luminescence*, 30 (2015) 124–130.
210. H.M. Abu Shawish, H. Tamous, S.M. Saadeh, A. Tbaza, *Acta Chim. Slov.*, 65 (2018) 811–822.
211. M. Pérez-Ortiz, C. Muñoz, C. Zapata-Urzúa, A. Álvarez-Lueje, *Talanta*, 82 (2010) 398–403.
212. H. Lund, O. Hammerich, eds., *Organic Electrochemistry*, 4th Edition, Marcel Decker, (2001).
213. European Centre for Disease Prevention and Control., *Risk Assessment on the Impact of Environmental Usage of Triazoles on the Development and Spread of Resistance to Medical Triazoles in Aspergillus Species.*, Publications Office, (2013) LU.
214. M. Jakl, I. Kovač, S. Čavar Zeljković, J. Jaklová Dyrtrtová, *Food Chemistry*, 351 (2021) 129328.
215. BASF SE Grop Protection Division, <https://Agriculture.Basf.Com> (2015).
216. D.P. Biradar, W.L. Pedersen, A.L. Rayburn, *Pestic. Sci.*, 41 (1994) 291–295.
217. M.-P. Charnay, C. Verge, E. Barriuso, *Pest Manag Sci* (2000) 8.
218. J.-B. Speakman, R. Stierl, S. Strathmann, P. Dombo, M. Niedenbrueck, E. Haden, D. Voeste, D. Groeger, *Method for Controlling Mycoses in Leguminous Plants*, EP20050817599, 2005.
219. C. Beigel, M.-P. Charnay, E. Barriuso, *Soil Biol. Biochem.*, 31 (1999) 525–534.

220. C. Beigel, E. Barriuso, L. Di Pietro, *J. Environ. Qual.*, 26 (1997) 1503–1510.
221. M.K. Draskau, J. Boberg, C. Taxvig, M. Pedersen, H.L. Frandsen, *Environ. Pollut.* (2019) 11.
222. R. Liu, Y. Deng, W. Zhang, L. Zhang, Z. Wang, B. Li, J. Diao, Z. Zhou, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 185 (2019) 109691.
223. M.K. Draskau, *Chemosphere*, 264 (2021) 128468.
224. T.M. Crisp, E.D. Clegg, R.L. Cooper, W.P. Wood, D.G. Anderson, K.P. Baetcke, J.L. Hoffmann, M.S. Morrow, D.J. Rodier, J.E. Schaeffer, L.W. Touart, M.G. Zeeman, Y.M. Patel, *Environ. Health Perspect.*, 106 (1998) 11.
225. P.E. Boon, G. van Donkersgoed, D. Christodoulou, A. Crépet, L. D'Addezio, V. Desvignes, B.-G. Ericsson, F. Galimberti, E. Ioannou-Kakouri, B.H. Jensen, I. Rehurkova, J. Rety, J. Ruprich, S. Sand, C. Stephenson, A. Strömberg, A. Turrini, H. van der Voet, P. Ziegler, P. Hamey, J.D. van Klaveren, *Food Chem. Toxicol.*, 79 (2015) 13–31.
226. M. Jakl, J. Fanfrlík, J. Jaklová Dyrtrtová, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 31 (2017) 2043–2050.
227. J. Jaklová Dyrtrtová, K. Bělonožníková, M. Jakl, H. Ryšlavá, *Environ. Pollut.*, 266 (2020) 115201.
228. Q. Zhang, B. Gao, M. Tian, H. Shi, X. Hua, M. Wang, *J. Chromatogr. B Biomed. Appl.*, 1009–1010 (2016) 130–137.
229. T. Chai, W. Yang, J. Qiu, S. Hou, *Chirality*, 27 (2015) 32–38.
230. J. Yan, R. Zhang, X. Wang, Y. Wang, D. Wang, Z. Zhou, W. Zhu, *Chirality*, 28 (2016) 409–414.
231. J. He, J. Fan, Y. Yan, X. Chen, T. Wang, Y. Zhang, W. Zhang, *J. Sep. Science*, 39 (2016) 4251–4257.
232. Q. Tan, J. Fan, R. Gao, R. He, T. Wang, Y. Zhang, W. Zhang, *Talanta*, 164 (2017) 362–367.
233. T. Chai, Q. Jia, S. Yang, J. Qiu, *J. Sep. Science*, 37 (2014) 595–601.
234. J. Nie, P. Yaro, K. He, S. Zeng, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 172 (2019) 78–85.
235. X. Wang, Y. Liu, M. Xue, Z. Wang, J. Yu, X. Guo, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 183 (2019) 109491.
236. R. Shokri, M. Amjadi, *Spectrochim. Acta A*, 246 (2021) 118951.
237. L. Cruickshank, A.R. Kennedy, N. Shankland, *J. Mol. Struct.* (2013).
238. R. Horowski, P.-A. Löschmann, *J. Neural. Transm.*, 126 (2019) 449–454.
239. S.D. Iversen, L.L. Iversen, *Trends Neurosci.*, 30 (2007) 188–193.
240. W. Dauer, S. Przedborski, *Neuron*, 39 (2003) 889–909.
241. A. Teniou, A. Rhouati, G. Catanante, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 194 (2022) 1925–1937.
242. K. Kaya, S. Jockusch, Y. Yagci, *Macromolecules*, 54 (2021) 5991–5999.
243. F. Olmo, J. Garoz-Ruiz, A. Colina, A. Heras, *Anal. Bioanal. Chem.*, 412 (2020) 6329–6339.
244. H. Wang, *Talanta*, 57 (2002) 899–907.
245. B. Caldwell, A. Ustione, D. Piston, *Biophys. J.*, 106 (2014) 718a.
246. D.D. Clarke, S. Wilk, S.E. Gitlow, M.J. Franklin, *J. Chromatogr. Sci.*, 5 (1967) 307–310.
247. A.H. Almalki, I. Alsalahat, M.A. Alharthi, D.S. Panda, A. Almahri, I.A. Naguib, *Separations*, 9 (2022) 147.
248. M. Baranyi, E. Milusheva, E.S. Vizi, B. Sperlágh, *J. Chromatogr. A*, 1120 (2006) 13–20.
249. J. Breczko, M.E. Plonska-Brzezinska, L. Echegoyen, *Electrochim. Acta*, 72 (2012) 61–67.
250. J. Vatrál, R. Boča, W. Linert, *Monatsh. Chem.*, 146 (2015) 1799–1805.
251. Z. Zhong, J. Wang, S. Jiang, M. Li, J. Lin, J. Pan, X. Tao, A. Xie, S. Luo, *Ionics*, 28 (2022) 4853–4865.

252. Z. Nazari, M.H. Nematollahi, F. Zareh, B. Pouramiri, M. Mehrabani, *ChemistrySelect*, 8 (2023) e202203630.
253. L.N. Rizalputri, I. Anshori, M. Handayani, G. Gumilar, N.L.W. Septiani, Y.W. Hartati, M.S. Annas, A. Purwidyantri, B.A. Prabowo, B. Yulianto, *Nanotechnology*, 34 (2023) 055502.
254. S. Baluchová, M. Brycht, A. Taylor, V. Mortet, J. Krůšek, I. Dittert, S. Sedláková, L. Klimša, J. Kopeček, K. Schwarzová-Pecková, *Anal. Chim. Acta*, 1182 (2021) 338949.
255. A. Taylor, S. Baluchová, L. Fekete, L. Klimša, J. Kopeček, D. Šimek, M. Vondráček, L. Míka, J. Fischer, K. Schwarzová-Pecková, V. Mortet, *Diam. Relat. Mater.*, 123 (2022) 108815.
256. Z. Liu, S. Baluchová, A.F. Sartori, Z. Li, Y. Gonzalez-Garcia, M. Schreck, J.G. Buijnsters, *Carbon*, 201 (2023) 1229–1240.
257. J. Ghilane, F. Hauquier, J.-C. Lacroix, *Anal. Chem.*, 85 (2013) 11593–11601.
258. D. Wang, P. Schaaf, *J. Mater. Chem.*, 22 (2012) 5344.
259. M. Krejčík, M. Daněk, F. Hartl, *J. Electroanal. Chem.*, 317 (1991) 179–187.
260. J. Mocak, A.M. Bond, S. Mitchell, G. Scollary, *Pure Appl. Chem.*, 69 (1997) 297–328.
261. E. Laviron, *J. Electroanal. Chem.*, 101 (1979) 19–28.
262. R.S. Nicholson, *Anal. Chem.*, 37 (1965) 1351–1355.
263. A. Altamura, C. Fusco, L. D'Accolti, R. Mello, T. Prencipe, R. Curci, *Tetrahedron Lett.*, 32 (1991) 5445–5448.
264. A.B. McKague, *Synth. Commun.*, 29 (1999) 1463–1475.
265. M.M. Al-Kassab, A.H. Majeed, *ADAS*, 81 (2022) 13–22.
266. F. Pruvost, A. Deneuille, *Diam. Relat. Mater.*, 10 (2001) 531–535.
267. M. Marton, M. Vojs, E. Zdravecká, M. Himmerlich, T. Haensel, S. Krischok, M. Kotlár, P. Michniak, M. Veselý, R. Redhammer, *J. Spectrosc.*, 2013 (2013) 1–6.
268. Shokoofeh. Alehashem, Fred. Chambers, J.W. Strojek, G.M. Swain, Rajeshuni. Ramesham, *Anal. Chem.*, 67 (1995) 2812–2821.
269. J.W. Strojek, M.C. Granger, G.M. Swain, T. Dallas, M.W. Holtz, *Anal. Chem.*, 68 (1996) 2031–2037.
270. S. Ferro, A. De Battisti, *Electrochim. Acta*, 47 (2002) 1641–1649.
271. M.C. Granger, G.M. Swain, *J. Electrochem. Soc.*, 146 (1999) 4551–4558.
272. F. Friso, S. Trasatti, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 68 (2003) 1621–1635.
273. A.J. Bard, *J. Am. Chem. Soc.*, 132 (2010) 7559–7567.
274. J.V. Macpherson, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 17 (2015) 2935–2949.
275. A.E. Fischer, Y. Show, G.M. Swain, *Anal. Chem.*, 76 (2004) 2553–2560.
276. Greg. Gerhardt, R.N. Adams, *Anal. Chem.*, 54 (1982) 2618–2620.
277. P.M. Kovach, M.R. Deakin, R.M. Wightman, *J. Phys. Chem.*, 90 (1986) 4612–4617.
278. G. Eckhardt, S. Goenechea, W. Gielsdorf, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 15 (1977) 115–120.
279. O. Matvieiev, R. Šelešovská, M. Marton, M. Hatala, R. Metelka, M. Weis, M. Vojs, *Sci. Rep.*, 13 (2023) 21525.
280. R. Vedalakshmi, V. Saraswathy, H.-W. Song, N. Palaniswamy, *Corros. Sci.*, 51 (2009) 1299–1307.
281. D.D. Macdonald, *Electrochim. Acta*, 51 (2006) 1376–1388.
282. J. Huang, *Electrochim. Acta*, 281 (2018) 170–188.
283. S. Li, Q. Luo, Z. Zhang, G. Shen, H. Wu, A. Chen, X. Liu, M. Li, A. Zhang, *Molecules*, 23 (2018) 2998.
284. V.S. Muralidharan, *Anti-Corros. Methods Mater.*, 44 (1997) 26–29.
285. M.H.S. McLaughlin, A.C. Pakpour-Tabrizi, R.B. Jackman, *Sci. Rep.*, 11 (2021) 9505.

286. M. Weis, K. Lee, D. Taguchi, T. Manaka, M. Iwamoto, *Synth. Met.*, 162 (2012) 2236–2241.
287. M. Weis, J. Lin, D. Taguchi, T. Manaka, M. Iwamoto, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 49 (2010) 071603.
288. S. Eloul, R.G. Compton, *J. Phys. Chem. C*, 119 (2015) 27540–27549.
289. P. Čambal, S. Baluchová, A. Taylor, L. Míka, M. Vondráček, Z. Gedeonová, P. Hubík, V. Mortet, K. Schwarzová-Pecková, *Electrochim. Acta*, 469 (2023) 143214.
290. M. Baroch, S. Baluchová, A. Taylor, L. Míka, J. Fischer, H. Dejmková, V. Mortet, S. Sedláková, L. Klimša, J. Kopeček, K. Schwarzová-Pecková, *Electrochim. Acta*, 426 (2022) 140758.
291. E.O. Barnes, X. Chen, P. Li, R.G. Compton, *J. Electroanal. Chem.*, 720–721 (2014) 92–100.
292. J. Sochr, K. Cinkova, Svorc, *Austin. J. Anal. Pharm. Chem.*, 1 (2014).
293. J. Weng, J. Xue, J. Wang, J. Ye, H. Cui, F. Sheu, Q. Zhang, *Adv. Funct. Mater.*, 15 (2005) 639–647.
294. X. Mei, Q. Wei, H. Long, Z. Yu, Z. Deng, L. Meng, J. Wang, J. Luo, C.-T. Lin, L. Ma, K. Zheng, N. Hu, *Electrochim. Acta*, 271 (2018) 84–91.
295. M. Wei, L.-G. Sun, Z.-Y. Xie, J.-F. Zhii, A. Fujishima, Y. Einaga, D.-G. Fu, X.-M. Wang, Z.-Z. Gu, *Adv. Funct. Mater.*, 18 (2008) 1414–1421.
296. M.-J. Song, S.-K. Lee, J.-H. Kim, D.-S. Lim, *Anal. Sci.*, 28 (2012) 583–587.
297. Z.T. Al-thagafi, M.I. Awad, *Int. J. Electrochem. Sci.* (2020) 5860–5877.
298. P. Cervini, I.A. Mattioli, É.T.G. Cavalheiro, *RSC Adv.*, 9 (2019) 42306–42315.
299. B. Zhang, J. Zhang, M. Qie, X. Bai, M. Pan, G. Fang, S. Wang, *Microchim. Acta*, 186 (2019) 746.
300. Z. Wang, H.Y. Yue, S. Huang, Z.M. Yu, X. Gao, H.T. Chen, W.Q. Wang, S.S. Song, E.H. Guan, H.J. Zhang, *Microchim. Acta*, 186 (2019) 573.
301. X. Huang, W. Shi, N. Bao, C. Yu, H. Gu, *Microchim. Acta*, 186 (2019) 310.
302. Y. Zhao, J. Zhou, Z. Jia, D. Huo, Q. Liu, D. Zhong, Y. Hu, M. Yang, M. Bian, C. Hou, *Microchim. Acta*, 186 (2019) 92.
303. H. Zhao, Y. Zhu, F. Liao, A. Gao, Y. Shao, M. Shao, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 18 (2018) 4495–4500.
304. X. Zhuang, D. Chen, S. Zhang, F. Luan, L. Chen, *Microchim. Acta*, 185 (2018) 166.
305. Z. Yao, X. Yang, Y. Niu, F. Wu, Y. Hu, Y. Yang, *Microchim. Acta*, 184 (2017) 2081–2088.
306. J. Liu, Y. Xie, K. Wang, Q. Zeng, R. Liu, X. Liu, *Microchim. Acta*, 184 (2017) 1739–1745.
307. S. Yang, Y. Yin, G. Li, R. Yang, J. Li, L. Qu, *Sens. Actuators B Chem.*, 178 (2013) 217–221.
308. L. Zhang, X. Jiang, *J. Electroanal. Chem.*, 583 (2005) 292–299.

PŘÍLOHA 1

Přehled publikační činnosti autora

Články v odborných časopisech související s tématem disertační práce

1. Hrdlička V., **Matvieiev O.**, Navrátil T., Šelešovská R.: *Recent advances in modified boron-doped diamond electrodes: A review*. *Electrochimica Acta* 456, 142435 (2023). DOI: 10.1016/j.electacta.2023.142435, **Q2 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 6,6**.
2. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Sokolová R., Jerga R., Skopalová J., Barták P., Chýlková J., Vojs M.: *Voltammetric analysis of mephenoxalone drug in pharmaceutical and biological samples using novel screen-printed sensor with boron-doped diamond electrode*. *Sensors and Actuators B: Chemica* 397, 134700 (2023). DOI: 10.1016/j.snb.2023.134700. **Q1 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 8,4**.
3. 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* 403, 139642 (2022). DOI: 10.1016/j.electacta.2021.139642, **Q1 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 6,6**.
4. **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* 12, 241 (2022). DOI: 10.3390/bios12040241, **Q1 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 5,743**.
5. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Marton M., Hatala M., Metelka R., Weis M., Vojs M.: *Effect of different modification by gold nanoparticles on the electrochemical performance of screen-printed sensors with boron-doped diamond electrode*. *Scientific Reports* 13, 21525 (2023). DOI: 10.1038/s41598-023-48834-7. **Q2 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 4,6**.

Další články v odborných časopisech

1. Šelešovská R., Sokolová R., Krejčová K., Schwarzová-Pecková K., Mikysek T., **Matvieiev O.**: *Electrochemical behavior of fungicide tebuconazole and its voltammetric determination on an oxygen-terminated boron-doped diamond electrode*. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 930, 117155, (2023). ISSN 1572-6657. DOI: 10.1016/j.jelechem.2023.117155, **Q2 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 4,5**.

2. Usenko A., Chýlková J., Váňa J., **Matvieiev O.**, Janíková L., Šelešovská R.: *A new voltammetric approach for the determination of the growth retardant paclobutrazol in the presence of difenoconazole in pesticide preparations*. Journal of Electroanalytical Chemistry 935, 117360 (2023). ISSN 1572-6657. DOI: 10.1016/j.jelechem.2023.117360, **Q2 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 4,5**.
3. Kelišková P., **Matvieiev O.**, Janíková L., Šelešovská R.: *Recent advances in the use of screen-printed electrodes in drug analysis: A review*. Current Opinion in Electrochemistry 42, 101408 (2023). ISSN 2451-9103. DOI: 10.1016/j.coelec.2023.101408, **Q1 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 8,5**.
4. Jiroutová (Usenko) A., Chýlková J., Váňa J., Bartáček J., **Matvieiev O.**, Janíková L., Šelešovská R.: *Sensitive voltammetric approach for selective determination of a new generation fungicides mefenotriazin and fluxapyroxad*. Microchemical Journal 199, 11048 (2024). ISSN 0026-265X. DOI: 10.1016/j.microc.2024.110048, **Q2 (dle WOS), IF₂₀₂₂ 4,8**.

Příspěvky ve sbornících z mezinárodních i domácích konferencí – prezentující autor

1. **Matvieiev O.**, Šelešovská R.: *The first study of triazole fungicide triticonazole oxidation and its voltammetric determination on boron doped diamond electrode*. 3rd Cross-Border Seminar on Electroanalytical Chemistry, Virtual Seminar, 8.-9. dubna 2021, str. 77.
2. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Vojs M., Michniak P., Vrška M., Chýlková J.: *Electrochemical properties of a lab-made screen-printed sensors with chemically deposited boron doped diamond electrode*. 73. Zjazd chemikov, Vysokých Tatrách, 6.-10. září 2021, str. 168-169.
3. **Matvieiev O.**, Šelešovská R.: *Electrochemical properties of screen-printed sensors with chemically deposited boron doped diamond electrode and their applications in electroanalysis*. 1st International Meeting for Young Analytical Chemists, Krakow (virtual seminar), 27.-28. září 2021, str. 19.
4. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Vojs M., Marton M., Chýlková J.: *The first study of the electrochemical behavior of mephenoxalone and its determination using screen-printed sensors with chemically deposited boron doped diamond electrode*. XL. Modern electrochemical methods, Jetřichovice, Czech Republic, 8.-12. listopadu 2021, str. 159-163, ISBN 978-80-905221-8-3.

5. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Chýlková J.: *Electrodeposition of gold nanoparticles to modify the boron-doped diamond electrode*. 41st Modern electrochemical methods, Jetřichovice, Czech Republic, 22.-26. květnu 2022, str. 135-139, ISBN 978-80-905221-9-0.
6. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Chýlková J.: *New screen-printed sensors with chemically deposited boron-doped diamond electrode modified by gold nanoparticles*. 18th International Conference on Electroanalysis, Vilnius, Litva, 5.-9. června 2022, str. 138.
7. **Matvieiev O.**, Šelešovská R.: *Voltammetric determination of triazole pesticide triticonazole using screen-printed sensors with boron-doped diamond electrode*. 1st Regional Meeting of the International Society of Electrochemistry, Prague, Czech Republic, 15.-19. srpna 2022, str. 220661.
8. **Matvieiev O.**, Šelešovská R.: *Determination of neuropharmaceutical drug mephenoxalone in human serum using screen-printed sensors with boron doped diamond electrode*. 74. Sjezd Chemiků, Olomouc, Czech Republic, 4.-7. září 2022, str. 199-200, ISSN 2336-7202. **Cena za nejlepší poster.**
9. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Vojs M., Marton M., Chýlková J.: *Screen-printed sensors with chemically deposited boron-doped diamond electrode: the effect of the ratio of the area of the working to the auxiliary electrode*. 42st Modern electrochemical methods, Jetřichovice, Czech Republic, 22.-26. květnu 2023, str. 133-137, ISBN 978-80-908947-0-9.
10. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Vojs M., Kosohin O.: *Voltammetric behavior of 2,6-dichlorophenol on a boron-doped diamond electrode*. 1st Rosteme s chemií, Pardubice, Czech Republic, 15.-16. června 2023, str. 37, ISBN 978-80-7560-462-0.
11. **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Vojs M., Kelíšková P., Janíková L., Chýlková J.: *Electrochemical impedance spectroscopy for the quantitative determination of drugs*. 75. Zjazd chemikov, Vysoké Tatry, Slovensko, 4.-9. září 2023, p. 132. **Cena za nejlepší poster.**

Příspěvky ve sbornících z mezinárodních i domácích konferencí – spoluautor

1. **Šelešovská R.**, Navrátil T., **Matvieiev O.**, Vojs M., Michniak P., Marton M., Chýlková J., Janíková L.: *Voltamerické stanovení léčiva atomoxetinu s využitím laboratorně připraveného tištěného senzoru s chemicky deponovanou borem dopovanou diamantovou elektrodou*, 73. Zjazd chemikov, Vysokých Tatrách, 6.-10. září 2021, str. 82-83.

2. Šelešovská R., **Matvieiev O.**, Vojs M., Chýlková J.: *New screen-printed sensors with chemically deposited boron doped diamond electrode – electrochemical properties and application*. XL. Modern electrochemical methods, Jetřichovice, Czech Republic, 8.-12. listopadu 2021, str. 225-229, ISBN 978-80-905221-8-3.
3. Šelešovská R., **Matvieiev O.**, Petřiková K., Vojs M., Marton M., Vrška M., Janíková L., Chýlková J.: *Novel screen-printed sensors with chemically deposited boron-doped diamond electrode modified with gold nanoparticles for point-of-care testing*. 41st Modern electrochemical methods, Jetřichovice, Czech Republic, 22.-26. květnu 2022, str.135-139, ISBN 978-80-905221-9-0.
4. Vojs M., **Matvieiev O.**, Hatala M., Šelešovská R., Vrška M., Michniak P., Behúl M., Marton M.: *Electrochemical deposition of palladium nanoparticles on a boron doped diamond electrode*. 41st Modern electrochemical methods, Jetřichovice, Czech Republic, 22. – 26. květnu 2022, str. 217-221, ISBN 978-80-905221-9-0.
5. Šelešovská R., **Matvieiev O.**, Vojs M.: *Electrochemical properties of screen-printed sensors with boron-doped diamond working electrode for point-of-care testing*. Matrafured – International Meeting on Chemical Sensors, Visegrad, Hungary, 12.-17. června 2022, str. 147.
6. Šelešovská R., **Matvieiev O.**, Petřiková K.: *Electrochemical properties of novel screen-printed sensors with bare and modified boron-doped diamond working electrode*. 1st Regional Meeting of the International Society of Electrochemistry, Prague, Czech Republic, 15.-19. srpna 2022, str. 220317.
7. Kramplová Z., **Matvieiev O.**, Purdešová A., Šelešovská R.: *Environmental monitoring of fungicide dichlofluanid using boron-doped diamond electrochemical sensor*. 1st Regional Meeting of the International Society of Electrochemistry, Prague, Czech Republic, 15.-19. srpna 2022, str. 220662.
8. Šelešovská R., **Matvieiev O.**, Vojs M.: *Tištěné senzory s borem dopovanou diamantovou elektrodou modifikovanou zlatými nanočásticemi v elektroanalýze*. 74. Sjezd Chemiků, Olomouc, Czech Republic, 4.-7. září 2022, str. 195, ISSN 2336-7202.
9. Kramplová Z., **Matvieiev O.**, Šelešovská R., Purdešová A., Vojs M.: *Voltammetric determination of pesticide dichlofluanid on a boron-doped diamond electrode*. 74. Sjezd Chemiků, Olomouc, Czech Republic, 4.-7. září 2022, str. 190, ISSN 2336-7202.

10. Šelešovská R., **Matvieiev O.**, Fendrichová A., Janíková L., Chýlková J.: *Electrochemical oxidation of systemic fungicide metalaxyl and its determination in natural waters*. 42st Modern electrochemical methods, Jetřichovice, Czech Republic, 22.-26. květnu 2023, str. 195-199, ISBN 978-80-908947-0-9.
11. Chýlková J., Usenko A., **Matvieiev O.**, Bartáček J., Jehlička V., Šelešovská R.: *Voltammetric determination of selected estrogen mixtures in waters*. 42st Modern electrochemical methods, Jetřichovice, Czech Republic, 22.-26. květnu 2023, str. 91-94, ISBN 978-80-908947-0-9.
12. Kelišková P., **Matvieiev O.**, Šelešovská R.: *Voltammetric analysis of guaifenesin in pharmaceutical and biological samples using boron-doped diamond electrodes*. 17th Karel Vytřas Seminar/Workshop on Sensing in Electroanalysis. Pardubice, Czech Republic, 13.-17. listopadu 2023.
13. Šelešovská R., **Matvieiev O.**: *Screen-Printed Sensors with Boron-Doped Diamond Electrode: Characterization, Modification, and Application*. 17th Karel Vytřas Seminar/Workshop on Sensing in Electroanalysis. Pardubice, Czech Republic, 13.-17. listopadu, 2023.