



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Disertační práce

Využití nanomateriálů v elektrochemické detekci polutantů

Nanomaterials for electrochemical detection of pollutants

Autor: Ing. Jitka Sotolářová

Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí

Studijní obor:

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Filip, Ph.D.

Oponenti: prof. Ing. Kamila Kočí, Ph.D.

prof. RNDr. Jan Hrbáč, Ph.D.

Zlín, 2025

© Jitka Sotolářová

Klíčová slova: voltametrické senzory, polutanty ve vodě, uhlikaté nanomateriály, polysacharidy, zlaté nanočástice

Key words: voltammetric sensors, pollutants in water, carbon nanomaterials, polysaccharides, gold nanoparticles

Plná verze disertační práce je dostupná v Knihovně UTB ve Zlíně.

Poděkování

Tímto bych ráda vyjádřila své upřímné poděkování doc. Ing. Jaroslavu Filipovi, Ph.D., za jeho cenné rady, odborné vedení a podporu během celého mého doktorského studia. Velké poděkování patří také mé rodině za jejich trpělivost, povzbuzení a neustálou podporu, bez které by mé studium nebylo možné.

Tato disertační práce vznikla za podpory vnitřní grantové agentury UTB ve Zlíně čísla IGA/2022/006, IGA/FT/2023/002, IGA/FT/2024/004 a IGA/FT/2025/008 a za podpory Grantové agentury České republiky [GAČR 20-27735Y].

ABSTRAKT

Různé nanočástice – ať už uhlíkaté, kovové nebo magnetické – se ukázaly být výbornými sorbenty různých polutantů, což lze využít nejen pro čištění vody, ale i pro detekci těchto látek. Tato disertační práce je zaměřena na modifikaci různých druhů elektrod (diskových, jednorázově tištěných, mikrotuhových aj.) nanočásticemi za účelem zlepšení jejich vlastností a následné odezvy na různé polutanty.

Pro modifikaci elektrod byly zvoleny uhlíkové nanočástice, a to z důvodu jejich strukturních, termofyzikálních a chemických vlastností, jakož i jejich stability. Pro další zlepšení vlastností elektrod byly tyto uhlíkové nanomateriály smíchány s polysacharidy, které obsahují mnoho různých funkčních skupin a jsou navíc strukturně stabilní, biokompatibilní a biologicky odbouratelné.

Konkrétně byl v této práci využit grafen oxid vyrobený metodou podle Brodieho a také metodou podle Hummerse, dále uhlíkaté nanosféry, které byly smíchány s deriváty celulózy (karboxymethylcelulóza a hydroxyethylcelulóza) nebo cyklodextriny. Modifikované elektrody byly následně využity ke stanovení iontů těžkých kovů a ibuprofenu.

Byla zkoušena také aktivace elektrody ze skelného uhlíku pomocí cyklické voltametrie z roztoku chloridu draselného pro detekci ibuprofenu.

Z výsledků stanovení Pb^{2+} vyplynulo, že přidáním $0,075 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ grafenu oxidu vyrobeného Brodieho metodou do směsi obsahující hydroxyethylcelulózu a kyselinu citronovou lze výrazně zvýšit citlivost elektrod oproti použití samotné směsi hydroxyethylcelulózy a kyseliny citronové.

Dalšími zkoumanými uhlíkovými nanočásticemi byly uhlíkové nanosféry, které byly přimíchány do hydrogelu obsahujícího β -cyklodextrin a karboxycelulózu zesíťovanou pomocí kyseliny citronové. Takto připravený hydrogel byl testován pro detekci ibuprofenu. Porovnáním limitů detekce a

citlivosti s nemodifikovanou elektrodou ze skelného uhlíku bylo zjištěno, že se pro detekci ibuprofenu nehodí kvůli zhoršení limitu detekce a jen nepatrnému zlepšení citlivosti. Na druhou stranu elektrochemicky aktivovaná elektroda vykazovala zlepšení limitu detekce i citlivosti na ibuprofen oproti nemodifikované elektrodě.

Kromě uhlíkových nanočástic byly použity i zlaté nanočástice pro výrobu glukózového biosenzoru. Tyto nanočástice nacházejí uplatnění v elektrochemických měřeních díky svým vlastnostem, jako jsou vysoká vodivost, malé rozměry, velký poměr povrchu k objemu a biokompatibilita.

ABSTRACT

Various nanoparticles—whether carbon-based, metallic, or magnetic—have proven to be excellent sorbents for different pollutants, which can be utilized not only for water purification but also for pollutant detection. This dissertation focuses on the modification of various types of electrodes (disc, disposable screen-printed, micro graphite, etc.) with nanoparticles to improve their properties and the subsequent response of these electrodes to different pollutants.

Carbon nanoparticles were chosen for electrode modification due to their structural, thermophysical, and chemical properties, as well as their stability. To further enhance the electrode properties, these carbon nanomaterials were mixed with polysaccharides, which contain many different functional groups and are structurally stable, biocompatible, and biodegradable.

Specifically, graphene oxide produced by the Brodie method and also by the Hummers method was used in this work, along with carbon nanospheres, which were mixed with cellulose derivatives (carboxymethylcellulose and hydroxyethylcellulose) or cyclodextrins. The modified electrodes were subsequently used for the determination of heavy metal ions and ibuprofen.

Activation of the glass-carbon electrode by cyclic voltammetry from potassium chloride solution was also tested for the detection of ibuprofen.

The results for Pb^{2+} determination showed that adding $0.075 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ of graphene oxide produced by the Brodie method to a mixture containing hydroxyethylcellulose and citric acid significantly increased the sensitivity of the electrodes compared to using only the hydroxyethylcellulose and citric acid mixture.

Other carbon nanoparticles studied were carbon nanospheres, which were incorporated into a hydrogel containing β -cyclodextrin and carboxycellulose crosslinked with citric acid. This hydrogel was tested for ibuprofen detection. A comparison of detection limits and sensitivity with the unmodified glassy carbon electrode revealed that it was not suitable for ibuprofen detection due to a worsened detection limit and only a slight improvement in sensitivity. On the other hand, the electrochemically activated electrode showed improved limit of detection and sensitivity to ibuprofen compared to the unmodified electrode.

In addition to carbon nanoparticles, gold nanoparticles were also used for the fabrication of a glucose biosensor. These nanoparticles are useful in electrochemical measurements due to their properties such as high conductivity, small size, large surface-to-volume ratio, and biocompatibility.

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
úvod	9
1. Teorie	10
1.1 Polutanty ve vodě	10
1.1.1 Těžké kovy	10
1.1.2 Farmaceutické sloučeniny	11
1.2 Detekce polutantů ve vzorcích vody pomocí voltametrických senzorů	13
1.2.1 Uhlíkaté nanomateriály	15
1.2.2 Zlaté nanočástice	20
1.2.3 Aktivace elektrody ze skelného uhlíku	22
2. Cíle disertační práce	23
3. Metodika	23
3.1 Modifikace povrchu elektrody ze skelného uhlíku	24
3.1.1 Modifikace hydrogely na bázi derivátů celulózy	25
3.1.2 Elektrochemická aktivace elektrody ze skelného uhlíku	26
3.2 Modifikace povrchu tištěné elektrody zlatými nanočásticemi a glukóza oxidázy	26
3.3 Stanovení polutantů	28
3.3.1 Ionty těžkých kovů a ibuprofenu	28
3.3.2 Modifikované tištěné elektrody pro pro inhibici glukóza oxidázy pomocí měďnatých iontů	30
3.4 Charakterizace připravených materiálů pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací	31
4. Výsledky a diskuse	32
4.1 Charakterizace použitých materiálů pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací a skenovací elektronové mikroskopie	32
4.1.1 Hydrogel hydroxyethyl celulózy sesíťovaný kyselinou citronovou a přísávkem grafen oxidu	32
4.1.2 Uhlíkaté nanosféry	39

4.1.3	Charakterizace zlatých nanočástic.....	42
4.2	Elektrochemická charakterizace	43
4.2.1	Elektrochemická aktivace elektrod ze skelného uhlíku	43
4.2.2	Elektrochemická impedanční spektroskopie	44
4.3	Elektrochemické stanovení polutantů.....	49
4.3.1	Stanovení těžkých kovů pomocí elektrody ze skleného uhlíku modifikované hydrogelem hydroxyethylcelulózy-kyseliny citronové s přídavkem grafen oxidu	49
4.3.2	Stanovení ibuprofenu.....	53
4.3.3	Stanovení měďnatých iontů pomocí zlatých nanočástic	61
	Závěr a přínos práce	71
	Seznam použité literatury	72
	Seznam obrázků.....	88
	Seznam tabulek.....	91
	Seznam zkratk.....	91
	Publikační aktivity autora.....	92
	Konference.....	93
	Autor 93	
	Spoluautor.....	93
	Profesní životopis	94

ÚVOD

Ve srovnání s tradičními metodami, jako je hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem nebo atomová absorpční spektroskopie, které se běžně používají k detekci polutantů ve vodných vzorcích, nabízejí elektrochemické senzory několik výhod. Jsou kompaktní, snadno ovladatelné a nevyžadují složité předúpravy vzorku, přičemž si zachovávají vysokou citlivost detekce. Elektrochemické senzory mají navíc potenciál pro analýzu v reálném čase, a to i in-situ. (Y. Liu et al., 2022; F. Zhang et al., 2013)

Pracovní elektroda hraje klíčovou roli ve voltametrickém senzoru. V současnosti se vyrábí z různých materiálů, jako je rtuť, platina, zlato nebo uhlíkové materiály, přičemž každý z nich má specifické vlastnosti. Pro zlepšení funkčních vlastností pracovní elektrody se často provádí její modifikace pomocí různých technik a vhodně zvolených materiálů. (Bagyalakshmi et al., 2022; Y. Liu et al., 2022)

V současnosti se pozornost soustřeďuje především na modifikaci těchto elektrod nanomateriály, jako jsou kovové nanočástice, kvantové tečky, magnetické nanočástice a uhlíkové nanomateriály. Tyto materiály zvyšují selektivitu, citlivost a reprodukovatelnost elektrod při detekci různých polutantů. Lze je také kombinovat s dalšími materiály, například s polysacharidy, které slouží jako fixační matrice a umožňují imobilizaci většího množství nanočástic na povrchu elektrody. (Kumar et al., 2017; Maciel et al., 2019)

1. TEORIE

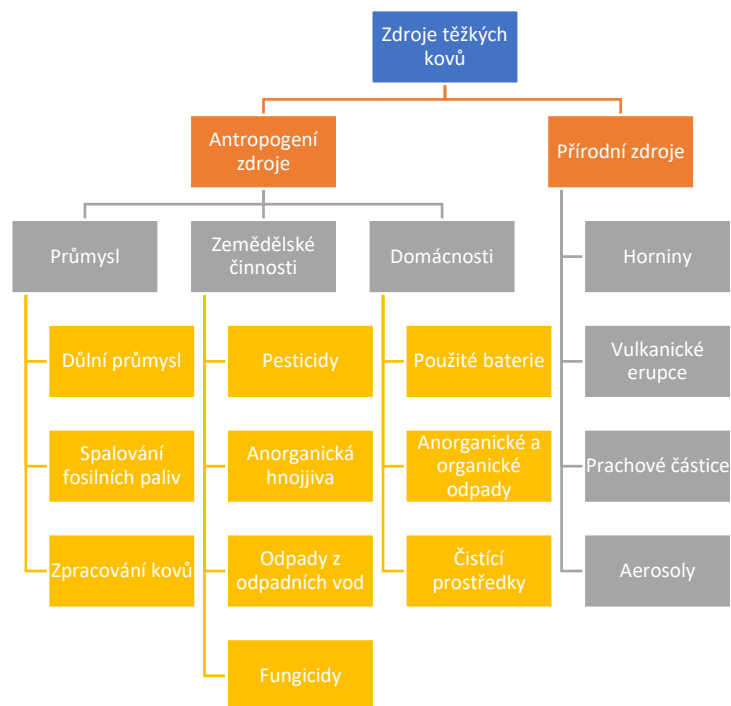
1.1 Polutanty ve vodě

Voda je základním zdrojem života na Zemi. Znečištění vody je velkým problémem na celém světě. Ovlivňuje nejen kvalitu lidského života a zdraví zvířat, ale také růst a vývoj rostlin. V posledních desetiletích je kvalita vody negativně ovlivňována neustále rostoucím počtem obyvatel, rychlou industrializací, rostoucí urbanizací a nešetrným využíváním přírodních zdrojů. Mezi znečišťující látky, které vzbuzují největší obavy, patří organické látky, živiny, farmaceutické výrobky a výrobky osobní péče, biocidy, těžké kovy, barviva, radionuklidy, plasty, nanočástice a patogeny. (Hanif et al., 2020; Zamora-Ledezma et al., 2021)

1.1.1 Těžké kovy

Těžké kovy jsou v dnešní době hojně využívány v elektronice, strojích a artefaktech každodenního života, stejně jako v high-tech aplikacích. V důsledku toho se mohou dostávat do vodního a potravního řetězce lidí a zvířat z různých antropogenních zdrojů, ale i přirozeným geochemickým zvětráváním půdy a hornin (Obrázek 1), a mohou tak představovat vážnou hrozbu jak pro ekosystém, tak pro lidské zdraví. (Gautam et al., 2014; Hanif et al., 2020)

Kovy jako Zn, Mn, Fe a Cu jsou označovány jako esenciální kovy, které jsou v nízkých koncentracích potřebné pro fungování lidského těla a rostlin, ale ve vyšších koncentracích jsou toxické. Na druhé straně jsou některé těžké kovy (Pb, Hg, As, Cd) považovány za kontaminanty a toxické látky i při velmi nízkých koncentracích. Kromě toxicity se těžké kovy vyznačují i tím, že nejsou biologicky odbouratelné. (Rubino & Queirós, 2023; Shadman et al., 2019)



Obrázek 1: Zdroje těžkých kovů

U podzemních vod jsou v ČR stanoveny vyhláškou č. 5/2011 Sb. limity pro As ($10 \mu\text{g.l}^{-1}$), Cd ($0,25 \mu\text{g.l}^{-1}$), Co ($3 \mu\text{g.l}^{-1}$), Ni ($20 \mu\text{g.l}^{-1}$), Pb ($5 \mu\text{g.l}^{-1}$) a Hg ($0,2 \mu\text{g.l}^{-1}$). (Vyhláška č. 5/2011 Sb., 2011) Limity pro těžké kovy pro povrchové a odpadní vody jsou uvedeny v nařízení vlády č. 401/2015 Sb. (Nařízení vlády č. 401/2015 Sb., 2015)

Podle Hydrologické ročenky ČR z roku 2022 byl na tocích v severních a severozápadních Čechách (Jáchymovský potok, Polava, Desná) zaznamenán zvýšený výskyt Cd. Vyšší koncentrace Ni byly naměřeny v povodí Ohře a povodí Dyje. Kovy nejvíce zatíženým tokem zůstala Litavka (přítok Berounky), která vykazuje dlouhodobé zatížení Cd, Zn a Pb. (HYDROLOGICKÁ ROČENKA ČESKÉ REPUBLIKY 2022, 2023., 2023)

1.1.2 Farmaceutické sloučeniny

Farmaceutické sloučeniny zahrnují širokou škálu látek, které se používají k prevenci nebo léčbě lidských a zvířecích onemocnění. Podle jejich povahy a účelu

je lze obecně rozdělit na antibiotika, estrogeny a hormony, nesteroidní protizánětlivé léky, regulátory lipidů, β -blokátory, neurostimulátory a cytostatika. (Dey et al., 2019) K běžně detekovaným antibiotikům patří amoxicilin, ciprofloxacin, erytromycin a penicilin. (W. C. Li, 2014)(W. C. Li, 2014) Estrogen, estriol a estron jsou přirozeně se vyskytující hormony. α -ethinylestradiol je běžná ženská perorální antikoncepce, u níž bylo zjištěno, že je spojena s feminizací samců ryb. (Kolpin et al., 2002)

Aspirin, ketoprofen, ibuprofen, naproxen, paracetamol, diklofenak a kyselina mefenamová jsou nejčastěji detekované nesteroidní protizánětlivé léky v povrchových a podzemních vodách, protože běžné metody čištění odpadních vod jsou při jejich odstraňování neúčinné. (Feng et al., 2013) Mezi hlavní zdroje kontaminace vody patří odpadní vody z nemocnic, domácností a farmaceutického průmyslu. Dalším významným zdrojem jsou splachy ze zemědělských ploch. (Masanabo et al., 2022)

Většina léčiv má vysokou polaritu a nízkou těkavost, což vede k jejich migraci do vodního prostředí. Přestože jsou hladiny farmaceutických sloučenin ve vodě nízké (obvykle od ng.l^{-1} do $\mu\text{g.l}^{-1}$), mohou způsobovat závažné ekotoxikologické problémy a představovat vážné hrozby pro ekosystémy a organismy. (H. Wang et al., 2021) Mnohé farmaceutické sloučeniny mohou přetrvávat ve vodě a bioakumulovat se v organismech, což může vést k endokrinním poruchám, rezistenci vůči léčivům, urychlit nerovnováhu ekosystémů a způsobit nevratné dopady na ekosystémy i člověka. (Xu et al., 2019)

V ČR nejsou pro povrchové vody stanoveny limitní koncentrace. Podle Hydrologické ročenky ČR byl v roce 2022 nejčastěji v povrchových vodách detekován lék oxypurinol, jenž se používá k léčbě dny. Následoval lék na vysoký krevní tlak – telmisartan a antidepresivum oxazepam. (HYDROLOGICKÁ ROČENKA ČESKÉ REPUBLIKY 2022, 2023., 2023)

1.2 Detekce polutantů ve vzorcích vody pomocí voltametrických senzorů

Voltametrické senzory jsou zařízení, která převádějí informace získané z přenosu elektronů mezi povrchem senzoru a cílovým analytem na čitelné elektrické signály, jako je proud, potenciál, elektrochemická impedance a elektroluminiscence. Generovaný signál je úměrný buď koncentraci analytu, nebo jeho tendenci přenášet elektrony směrem k povrchu senzoru. Redukční a/nebo oxidační reakce (redoxní reakce) cílového analytu jsou základním jevem, který generuje tyto signály odezvy. Elektrochemická měření se obvykle provádějí v tříelektrodevém systému sestávajícím z pracovní elektrody (WE), referenční elektrody (RE) a pomocné elektrody (CE). Všechny tyto elektrody jsou ponořeny do stejného elektrolytu. V tomto systému se mezi WE a RE přivádí referenční potenciál, zatímco mezi WE a CE se měří proud. Měřený proud obvykle odpovídá detekčnímu signálu. (Jjagwe et al., 2024; Sawan et al., 2020) Voltametrické senzory jsou často považovány za ideální nástroje pro citlivou detekci různých analytů díky své přenosnosti, rychlé odezvě, jednoduché konstrukci a schopnosti specificky a citlivě detekovat cílové sloučeniny v komplexních maticích vzorků. (Kumunda et al., 2021; Song et al., 2024)

Charakter WE je velmi důležitý pro dosažení selektivity, citlivosti a detekčních limitů cílového analytu. V současnosti se WE vyrábí z různých materiálů (rtuť, platina, zlato, uhlíkové materiály), které se vyznačují různými vlastnostmi. (Meng et al., 2023) WE však vykazují určitá omezení, jako je nízká rychlost přenosu elektronů, pasivace povrchu v důsledku akumulace analytu, citlivost na teplotní výkyvy, které mohou snižovat jejich detekční schopnost, vysoké přepětí a překrývání píků v potenciálovém rozsahu. Dále mají méně funkčních skupin a nízkou specifickou povrchovou plochu. (Jjagwe et al., 2024) Kromě toho vzorky

z životního prostředí obvykle obsahují řadu interferujících znečišťujících látek v různých koncentracích, a proto je nutné dále

zlepšovat selektivitu, citlivost a detekční limity voltametrických senzorů. (Barhoum et al., 2023) Tyto vlastnosti lze zlepšit pomocí vhodného modifikátoru, který by měl účinně interagovat s cílovým analytem a usnadňovat přenos elektronů. Tím lze dosáhnout zvýšené citlivosti, selektivity, rychlé odezvy, dobré linearity, nižšího detekčního limitu, vysoké stability a dlouhé životnosti senzoru. (Munonde & Nomngongo, 2020; Shen et al., 2021) Příkladem je studie Pandeye a kolektivu, ve které byl sestaven voltametrický senzor pro detekci herbicidu triklopyru ve vzorcích vody a rajčat. V této práci byla použita elektroda ze skelného uhlíku (GCE) modifikovaná směsí polyanilinu a C₇₀ fullerenu. (Pandey et al., 2019) Ve své studii Congura a kolektiv modifikovali tuhovou uhlíkovou elektrodu povrchově aktivní látkou dodecyltrimethylamonium bromidem za účelem detekce fenolu ve vzorcích vody. (Congur & GÜL, 2021) Mulaba-Bafubiandi a kolektiv sestrojili senzor pro detekci *p*-nitrofenolu ve vzorcích vody za použití elektrody z uhlíkové pasty, která byla modifikována kompozitem složeným z nanočástic NiO a N-hexyl-3-methylimidazolium hexafluorofosfátu. (Mulaba-Bafubiandi et al., 2019)

K nanesení modifikátoru na povrch pracovních elektrod se používají různé techniky, například kapkové nanášení. Jak název napovídá, kapka suspenze částic se nejprve aplikuje (doslova „kápne“) na povrch elektrody určené k modifikaci – ideálně výhradně na vodivou část elektrody, aniž by došlo k přelití na izolační okolí. Po nanesení suspenze se nechá kapalná složka odpařit, čímž na povrchu zůstane film obsahující nanočástice. (Kaliyaraj Selva Kumar et al., 2020) Další metodou nanesení modifikátoru na povrch elektrody je elektro-depozice. U této metody je materiál nanášen na povrch elektrody z vodného roztoku působením elektrického pole. Lze elektro-deponovat ionty, molekuly i (nano)částice s elektrickým nábojem (polovodiče, oxidy kovů, vodivé polymery). Jednou z

hlavních výhod elektro-depozice je, že umožňuje upravovat vlastnosti a strukturu výsledného depozitu změnou elektrochemických parametrů, jako je proudová hustota a aplikovaný potenciál. (Sebastián et al., 2018) Pro modifikaci lze použít i elektro-polymerizaci. Ta se používá nejen pro výrobu polymerních, ale i anorganických filmů a provádí se v elektrochemické cele se standardním tříelektrodovým uspořádáním. Po přivedení potenciálu se na povrchu WE vytvoří tenký polymerní film. (Gorup et al., 2020) V současnosti směřuje pozornost především na modifikaci těchto elektrod nanomateriály, jako jsou např. kovové nanočástice nebo uhlíkové nanomateriály, a to z důvodu zlepšení selektivity, citlivosti a reprodukovatelnosti těchto elektrod pro detekci různých polutantů. (Kumar Dey & Dey, 2021; Maciel et al., 2019)

1.2.1 Uhlíkaté nanomateriály

Uhlík je jedním z nejrozšířenějších prvků, který se nachází v biosféře. Od roku 1991, kdy S. Iijima poprvé pozoroval uhlíkové nanočástice ve formě nanovláken (Iijima, 1991), začali vědci studovat tento nový materiál a jeho využití v různých oblastech. Jedním z nejnovějších objevů v oblasti uhlíkových nanočástic je grafen, který objevili Geim a Novoselov. (Geim & Novoselov, 2007)

Uhlíkaté nanomateriály se uplatňují ve voltametrických senzorech pro své strukturální, termo-fyzikální a chemické vlastnosti a také jejich stabilitu. Navíc uhlíkaté materiály mohou být získávány z přírodních organických surovin. (Goswami et al., 2021)

Mezi uhlíkové nanomateriály, které se často používají k modifikaci WE, se řadí uhlíkové nanotrubičky, diamant, fuleren, grafen, redukovaný grafen oxid, uhlíkové nanosféry a uhlíkové kvantové tečky. (Bagyalakshmi et al., 2022) Například uhlíkové nanočástice dopované dusíkem v kombinaci s kobalt tetraaminofenoxyftalokyaniny byly použity pro modifikaci GCE k simultánní

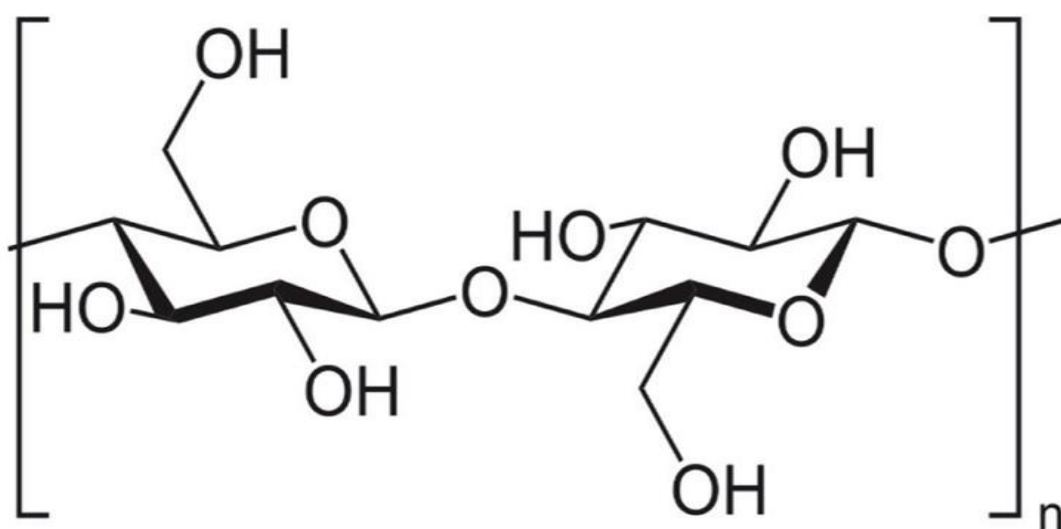
detekci aspirinu, ibuprofenu a indometacinu v práci od Dondo a kolektivu s limity detekce (LOD) $1,74 \mu\text{g.l}^{-1}$, $0,8 \mu\text{g.l}^{-1}$ a $2,5 \mu\text{g.l}^{-1}$. (Dondo et al., 2020)

Grafen oxid (GO) je jedinečný materiál, který lze považovat za jednu monomolekulární vrstvu grafitu s různými funkčními skupinami obsahujícími kyslík, jako jsou epoxidové, karbonylové, karboxylové a hydroxylové skupiny. (Ray, 2015; Stankovich et al., 2006) Je vhodný pro zlepšování vlastností u WE díky svým fyzikálním a chemickým vlastnostem, jako je například obrovský povrch, vysoká adsorpční kapacita, chemická a tepelná stabilita, elektrické vlastnosti a vysoká mechanická pevnost. (Adel et al., 2022) Například ve své práci použili Penning a Padalkar pro detekci iontů Pb^{2+} a Cd^{2+} elektrochemicky redukovaný GO za použití detekční metody diferenciální pulzní voltametrie. LOD byl stanoven na $1 \mu\text{g.l}^{-1}$ pro Pb^{2+} a $8 \mu\text{g.l}^{-1}$ pro Cd^{2+} . (De Penning & Padalkar, 2023) Nanokompozit oxidu cínatého a redukovaného GO byl použit pro simultánní elektrochemickou detekci Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} a Hg^{2+} ve studii od Wei a kolektivu s LOD $11,4 \text{ ng.l}^{-1}$, $38,07 \text{ ng.l}^{-1}$, $14,41 \text{ ng.l}^{-1}$ a 55 ng.l^{-1} . (Wei et al., 2011) Voltametrický senzor malachitové zeleně na bázi ethylendiaminu a GO sestrojili Zhang a kolektiv. Zde byl zjištěn LOD $1,824 \mu\text{g.l}^{-1}$. (K. Zhang et al., 2012)

K dalším uhlíkatým nanomateriálům, které nacházejí uplatnění pro modifikaci WE, patří uhlíkové nanosféry (CNS), které se vyznačují nízkou toxicitou, vysokou biokompatibilitou, jsou chemicky stabilní a mohou obsahovat různé funkční skupiny (Ipte, 2020). Konkrétně CNS například použili v práci Li a kolektivu pro detekci Cu^{2+} s LOD $3,28 \times 10^{-5} \text{ ng.l}^{-1}$. (R. Li et al., 2023) Dále Wang a kolektiv sestrojili senzor s bórem dopovanou diamantovou elektrodu modifikovanou CNS pro detekci Pb^{2+} s LOD $0,01 \mu\text{g.l}^{-1}$. (N. Wang et al., 2024)

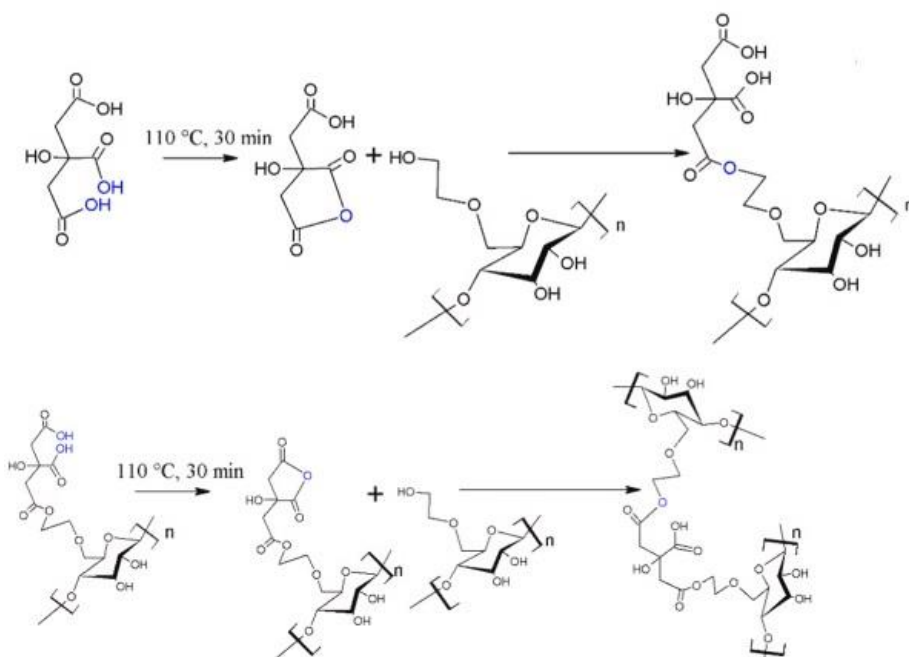
Uhlíkaté materiály lze také kombinovat s různými dalšími materiály pro zlepšení vlastností. Jedním z těchto materiálů, který lze kombinovat s uhlíkatými

nanomateriály, jsou polysacharidy, což jsou atraktivní biopolymery, které mohou nést funkční skupiny, jako jsou hydroxyl (-OH), amid (-CONH₂), sulfonát (-SO₃), amin (-NH₂) a karboxyl (-COOH). Mezi vlastnosti, které je řadí mezi materiály vhodné k použití pro aplikace v životním prostředí, patří strukturní stabilita, biokompatibilita a biologická odbouratelnost. K nejčastěji používaným polysacharidům se řadí celulóza, která se skládá z β-1,4- vázaných glukopyranózových jednotek (viz obrázek 2) tvořících vysokomolekulární lineární homopolymer, ve kterém je každá monomerní jednotka otočená o 180° vzhledem k jejím sousedům. Celulóza patří mezi nejrozšířenější a nejobnovitelnější biopolymery v přírodě a je také velmi slibnou surovinou dostupnou za nízkou cenu pro přípravu různých funkčních materiálů. (Almustapha et al., 2014; George & Sabapathi, 2015) Například kombinace GO a nanovláken celulózy byla použita ve studii Wanga a kolektivu pro kvantifikaci p-nitrofenolu s LOD 0,1113 μg·l⁻¹. (X. Wang et al., 2023) Teodoro a kolektiv sestrojili elektrochemický senzor pro detekci iontů Hg²⁺ složeného z redukováného GO, celulózových nanovláken a elektrospínaných nanovláken polyamidu 6. LOD dosáhl hodnoty 1,043 μg·l⁻¹. (Teodoro et al., 2019)



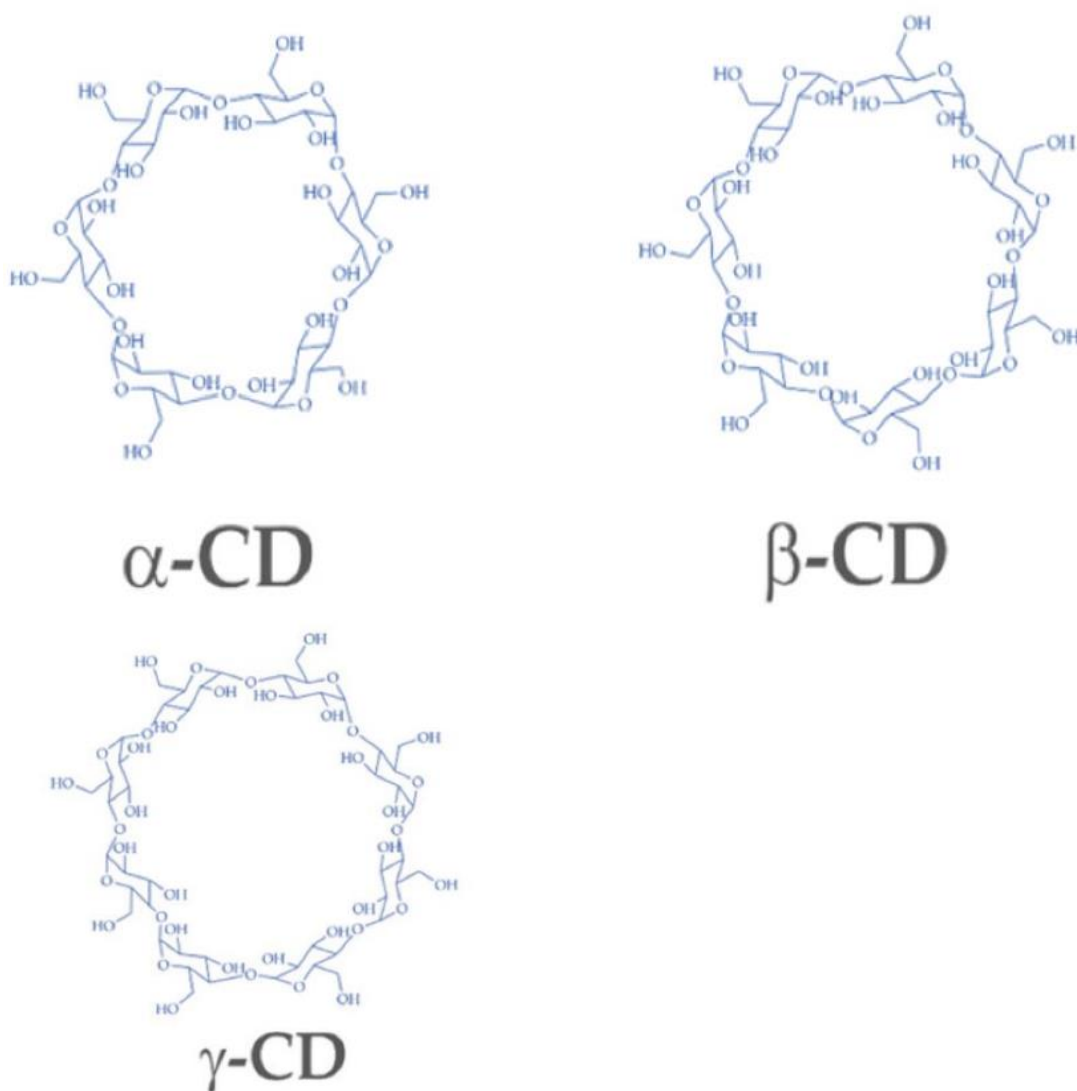
Obrázek 2: Struktura celulózy (Kumar Dey & Dey, 2021)

Avšak nízká rozpustnost nativní celulózy ve vodě a ve většině systémů organických rozpouštědel představuje hlavní překážku pro její použití v mnoha průmyslových aplikacích. Tento problém lze vyřešit použitím derivátů celulózy. Jedná se obvykle o estery nebo ethery, které jsou rozpustné ve vodě i v organických rozpouštědlech. (Richardson & Gorton, 2003) Pro zvýšení stability a snížení rozpustnosti se u derivátů celulózy používají různé postupy. Jedním z nich je zesíťování pomocí kyseliny citronové (CA), což je slabá organická trikarboxylová kyselina, která se přirozeně vyskytuje v citrusových plodech, jako jsou citrony, limetky, pomeranče a grapefruity. Zesíťování (Obrázek 3) spočívá v chemickém spojování jednotlivých řetězců derivátu celulózy, čímž se vytváří trojrozměrná síťová struktura, která zvyšuje odolnost materiálu vůči vodě. Kromě toho vykazuje schopnost vytvářet příčné vazby mezi hydroxylovými skupinami přítomnými v derivátech celulózy prostřednictvím esterifikačního procesu. Tento mechanismus zahrnuje tvorbu anhydridu kyseliny karboxylové prostřednictvím intramolekulární dehydratace, který následně interaguje s hydroxylovou skupinou ve struktuře derivátu celulózy, což vede k vytvoření esterové skupiny. (Demitri et al., 2008; Zhou et al., 1995)



Obrázek 3: Navrhované reakční schéma pro síťování hydroxyethyl celulózy s kyselinou citronovou (Sotolářová et al., 2021)

Dalším vhodným materiálem, který nachází uplatnění v kombinaci s uhlíkatými nanomateriály pro voltametrickou detekci, je cyklodextrin (CD). Jedná se o cyklický oligosacharid složený ze šesti, sedmi nebo osmi glukózových jednotek (označovaných jako α -, β - a γ -CD), propojených vazbami α -(1,4) (viz Obrázek 4).



Obrázek 4: Struktura CD (cyklický oligosacharid sestávající ze šesti, sedmi nebo osmi glukózových jednotek (označovaných jako α , β a γ) (Păduraru et al., 2022)

Zájem o cyklodextriny roste, protože mohou vytvářet inkluzní komplexy prostřednictvím interakcí typu hostitel–host s různými znečišťujícími látkami. (Fenyvesi & Sohajda, 2022) Příkladem je práce Guo a kolektivu, kteří pro detekci kyseliny askorbové, dopaminu a kyseliny močové modifikovali GCE β -CD a GO. Současné LOD kyseliny askorbové, dopaminu a kyseliny močové byly 0,8; 0,24 a 1,27 mg.l⁻¹. (Guo et al., 2022) Chai a kolektiv zase použili nanokompozit redukovaného GO/ β -CD/stříbrných nanočástic/polyoxometalátu pro detekci kyseliny močové a tyrozinu. LOD pro kyselinu močovou byl stanoven na 18,5 mg.l⁻¹ a 41,7 mg.l⁻¹ pro tyrosin. (Chai et al., 2023) Ve své práci Lv a kolektiv použili CD v kombinaci s redukovaným GO a hydroxypropylem pro simultánní stanovení Pb²⁺ a Cd²⁺ s LOD 19,51 ng.l⁻¹ a 7,56 ng.l⁻¹. (Lv et al., 2013)

Z porovnání LOD ukázkových prací, např. v práci Lv a kolektivu, kde byl LOD pro Pb²⁺ 19,51 ng.l⁻¹, s přípustnými hodnotami pro těžké kovy uvedenými v nařízení vlády č. 401/2015 Sb., kde např. pro odpadní vody z těžby a úpravy železných a ostatních neželezných rud je přípustná hodnota Pb²⁺ 0,5 mg.l⁻¹, vyplývá, že voltametrické senzory, jež jsou modifikovány uhlíkatými nanočásticemi, by se mohly používat jako standardní metody pro monitoring jakosti vod. (Lv et al., 2013; Nařízení Vlády č. 401/2015 Sb., 2015)

1.2.2 Zlaté nanočástice

Zájem roste i o voltametrické senzory na bázi zlatých nanočástic (AuNPs) pro detekci různých kontaminantů ve vodě, a to především kvůli jejich vlastnostem, jako je vysoká vodivost, malé rozměry, velký poměr povrchu k objemu a biokompatibilita. (Nandhakumar et al., 2023) Např. Zhang a kolektiv využili Au nanočástice syntetizované na uhlíkových nanovláčkách pro současné detekování Cd²⁺, Pb²⁺ a Cu²⁺. (B. Zhang et al., 2016) Jednorázová tištěná elektroda modifikovaná nanočásticemi zlata byla použita Liu a kolektivem pro detekci Cr⁶⁺. (G. Liu et al., 2007)

Kromě využití ve voltametrických senzorech nachází AuNPs také uplatnění v biosenzorech. Zatímco chemický senzor obsahuje chemický (molekulární) rozpoznávací systém, u biosenzoru rozpoznávací systém využívá biochemický mechanismus. Biosenzory lze rozdělit podle biokatalyticky rozpoznávacího prvku na enzymové, tkáňové, imunosenzory a DNA biosenzory. Podle typu převodníku se dále dělí například na elektrochemické, kalorimetrické a piezoelektrické. (Thévenot et al., 2001) Příkladem může být studie Germana a kolektivu, ve které použili zlaté nanočástice (AuNPs) a glukóza oxidázy (GOx) k přípravě glukózového biosenzoru. (German et al., 2014)

Nanočástice lze využít při konstrukci elektrochemických biosenzorů jako substráty pro imobilizaci biomolekul, katalyzátory elektrochemických reakcí nebo jako zesilovače přenosu elektronů. (Luo et al., 2006) Syntézu nanočástic lze provádět chemickými (nukleace a růst, roztok-gel, precipitace a koloidní metody), fyzikálními (proces shora dolů a tepelný rozklad) a biologickými metodami (pomocí enzymů z mikroorganismů nebo rostlinných extraktů). (Siciliano et al., 2024) Různé podmínky syntézy však vedou k různým tvarům a velikostem AuNPs, např. nejběžnější tvar používaný při elektrochemické detekci těžkých kovů je kulový. (Hassan et al., 2012)

Pro využití AuNPs v katalytických a substrátových biosenzorických aplikacích je nutné je připojit k vodivým substrátům. Byly vyvinuty různé metody, jak toho dosáhnout, např. použití procesu samouspořádání, při kterém celý neuspořádaný systém složek vytváří organizovanou strukturu nebo vzor bez potřeby vnějšího řízení. Samouspořádané monovrstvy jsou jednotlivé vrstvy molekul, které jsou schopny spontánního samouspořádání na pevném povrchu po ponoření pevného substrátu do roztoku obsahujícího amfifilní molekuly. Samouspořádané monovrstvy obsahující různé funkční skupiny poskytují dobře definovanou a stabilní platformu pro imobilizaci AuNPs. (Peng et al., 2020) Dále se používá metoda vrstva po vrstvě, kde se na povrch nanášejí střídavě vrstvy polyelektrolytů

a AuNPs. Tento přístup umožňuje přesnou kontrolu nad počtem a uspořádáním AuNPs na substrátu. (Kudaibergenov et al., 2017) Přímé depozice nanočástic lze dosáhnout pomocí elektrochemické depozice nebo Langmuirovy-Blodgettovy metody. Elektrochemická depozice zahrnuje použití elektrického potenciálu k připojení AuNPs k substrátu, zatímco Langmuirova-Blodgettova metoda zahrnuje přenos monovrstvy AuNPs z povrchu kapaliny na substrát. (Hou et al., 2021) Kombinace AuNPs s jinými kompozitními materiály umožňuje jejich zabudování na povrchu elektrody. Tento přístup nabízí flexibilitu při přizpůsobování vlastností kompozitního materiálu, jako je zvýšená vodivost nebo specifická funkčnost, při současném začlenění AuNPs. (Siciliano et al., 2024)

Pro stanovení polutantů se výzkum často zaměřuje na biosenzory na bázi AuNPs v kombinaci s enzymy. V biosenzorech založených na enzymech pro stanovení těžkých kovů, reagují cílové ionty kovů s thiolovou nebo sulfhydrylovou skupinou přítomnou v enzymové struktuře, což způsobuje konformační změny a ovlivňuje katalytickou aktivitu. Tyto průběžné změny aktivity enzymu lze odečítat jako signál. (Krawczyński vel Krawczyk et al., 2000; Mehta et al., 2016; Tabibi et al., 2022) Ghica a Brett použili biosensor založený na uhlíkových filmových elektrodových nosičích s imobilizovanou GOx zesíťovanou glutaraldehydem (GA) na vrstvě poly(neutrální červeně) jako redoxního mediátoru pro stanovení Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} a Zn^{2+} . (Ghica et al., n.d.)

1.2.3 Aktivace elektrody ze skelného uhlíku

Další možností, jak modifikovat GCE, je elektrochemická aktivace, která zahrnuje vystavení elektrody vysokým potenciálům. Jedním z hlavních výsledků této aktivace je tvorba redoxně aktivních povrchových funkčních skupin, které významně zvyšují elektroaktivní povrch elektrod (Abdel-Aziz et al., 2020a).

Li a kol. například prokázali, že elektrochemická aktivace uhlíkových materiálů, včetně skelného uhlíku, vede ke zlepšení kinetiky různých redoxních

procesů v důsledku tvorby oksličených funkčních skupin, jako jsou karboxylové kyseliny, které zvyšují účinnost přenosu elektronů (Li et al., 2014).

2. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cílem této disertační práce je využití nanomateriálů (například uhlíkatých nebo kovových nanočástic) k modifikaci povrchu elektrod za účelem vytvoření elektrochemických senzorů pro detekci různých polutantů, jako jsou těžké kovy, pesticidy či farmaceutické sloučeniny. Dílčí cíle jsou následující:

- Příprava hydrogelů na bázi polysacharidů syntetizovaných na povrchu GCE pomocí kapkové metody a optimalizace podmínek pro voltametrické stanovení těžkých kovů.
- Zakomponování uhlíkatých nanomateriálů do polysacharidových hydrogelů a následná optimalizace pro voltametrické stanovení těžkých kovů.
- Příprava biosenzoru založeného na imobilizaci AuNPs a GOx na povrch tištěné uhlíkové elektrody (SPE) pro detekci Cu^{2+} .
- Elektrochemická aktivace GCE pro detekci Ibuprofenu.
- Charakterizace použitých nanomateriálů.

3. METODIKA

Veškerá voltametrická měření, včetně cyklické voltametrie (CV), anodické rozpouštěcí voltametrie čtvercové vlny (AS SWV), adsorpční diferenční pulzní voltametrie (AdDPV) a elektrochemické impedanční spektroskopie (EIS), byla realizována pomocí tříelektrodového systému v elektrochemické cele. Jako pracovní elektroda (WE) byla použita elektroda ze skelného uhlíku (GCE), referenční elektrodu (RE) tvořila argentchloridová elektroda (Ag/AgCl v 3M KCl) a jako pomocná elektroda (CE) sloužila platinová drátová elektroda. Všechny elektrody byly ponořeny do vhodného elektrolytického roztoku a

elektricky propojeny s potenciostatem PGSTAT204 (Metrohm, Švýcarsko), který byl řízen počítačem vybaveným softwarem NOVA 2.1. Tento software umožňuje přesné nastavení parametrů jednotlivých měřících metod a zaznamenávání odpovídajících voltametrických křivek.

Měření EIS byla dále prováděna pomocí přístroje ZIVE1 (WonAtech, Korea) a kompaktního zařízení EmStat4 (PalmSens B.V., Nizozemsko), což umožnilo porovnání výsledků mezi různými elektrochemickými platformami.

Pro modifikaci SPE, která obsahuje integrovaný systém tří elektrod – pracovní, referenční a pomocné, byla voltametrická měření (zejména CV a chronoamperometrie) prováděna na elektrochemickém systému, kde byla SPE horizontálně fixována. Na její pracovní ploše byly přímo syntetizovány zlaté nanočástice (AuNPs) za účelem zvýšení citlivosti a selektivity detekce. Detekce cílového analytu, konkrétně iontů mědi ve formě Cu^{2+} , byla následně prováděna v samostatné elektrochemické cele, do níž byla ponořena aktivní část modifikované tištěné elektrody.

3.1 Modifikace povrchu elektrody ze skelného uhlíku

Před samotnou modifikací povrchu GCE je nezbytné zajistit důkladné vyčištění elektrody, aby se odstranily všechny povrchové nečistoty, zbytky z předchozích modifikací a případné oxidované vrstvy, které by mohly negativně ovlivnit reprodukovatelnost a citlivost následných elektrochemických měření.

Čisticí procedura začíná mechanickým leštěním povrchu GCE pomocí lešticí pasty na bázi Al_2O_3 s velikostí částic 300 nm. Leštění se provádí na speciální lešticí podložce kruhovými pohyby po dobu několika minut. Tento krok je zásadní pro odstranění mikroskopických nerovností a nečistot, které by mohly ovlivnit tok elektronů mezi elektrodou a roztokem.

Po mechanickém leštění následuje mechanická desorpce částic aluminy z povrchu GCE pomocí ultrazvukové lázně, kde je GCE ponořena do demineralizované vody (DV) a vystavena ultrazvukovému působení po dobu přibližně 2 minut. Nakonec je elektroda důkladně opláchnuta proudem demineralizované vody, aby byly zcela odstraněny veškeré zbytkové kontaminanty. Takto připravený a vyčištěný povrch GCE je ihned připraven k aplikaci modifikačního materiálu, čímž je zajištěn dobrý kontakt a přilnavost modifikátoru k povrchu elektrody.

3.1.1 Modifikace hydrogelu na bázi derivátů celulózy

Pro účely modifikace povrchu elektrody ze skelného uhlíku (GCE) byly připraveny hydrogelové kompozity na bázi hydroxyethylcelulózy (HEC), kyseliny citronové (CA) a grafen oxidu (GO) v různých modifikovaných formách. Konkrétně byla připravena směs vodných roztoků HEC ($10 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) a CA (10 mM) v objemovém poměru 1:1, která byla následně smíchána se zásobními disperzemi buď GOB nebo GOH o koncentraci $4 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Takto vzniklá směs byla homogenizována pomocí ultrazvukové lázně po dobu 10 minut, což zajistilo rovnoměrné rozptýlení nanočástic GO v polymerní matici.

Výsledná disperze byla následně nanášena mikropipetou na povrch předem vyčištěné GCE a elektrody byly tepelně ošetřeny v laboratorní sušárně při teplotě $110 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 30 minut. Tento postup umožnil vysušení a zesíťování molekul HEC na povrchu elektrody, čímž došlo ke stabilnímu ukotvení aktivní vrstvy.

Kromě toho byl testován také hydrogel z polymerní matrice sodné soli karboxymethylcelulózy (NaCMC) sesíťované CA a obsahující β -cyklodextrin (β -CD) a uhlíkové nanosféry modifikované močovinou (CNS-Urea). Tento kompozitní hydrogel byl připraven smícháním vodných roztoků NaCMC ($1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), CA (10 mM) a β -CD (10 mM) ve stejném objemovém poměru 1:1:1. Do této směsi byla následně přidána zásobní disperze CNS-Urea o koncentraci $12 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Homogenizace byla provedena v ultrazvukové lázni po dobu 10 minut.

Po ultrazvukovém zpracování byla vzniklá disperze nanosená v objemu 15 μl na povrch GCE, který byl následně, stejně jako v předchozím případě, tepelně upraven v laboratorní sušárně při 110 $^{\circ}\text{C}$ po dobu 30 minut.

Tento způsob přípravy vedl k vytvoření rovnoměrné, stabilní a elektrochemicky aktivní vrstvy, vhodné pro další analytické aplikace, zejména v oblasti detekce stopových koncentrací kovových iontů.

3.1.2 Elektrochemická aktivace elektrody ze skelného uhlíku

Modifikace GCE se provádí elektrochemickou metodou CV za použití vodného roztoku KCl o koncentraci 0,18 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ jako podpůrného elektrolytu. Voltametrická modifikace probíhá v potenciálovém rozsahu od -1,0 V do +1,6 V vůči referenční elektrodě, přičemž rychlost skenování je nastavena na 0,05 $\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$. Krok měření činí 0,01 V. Celý proces zahrnuje celkem 50 cyklů (skenů). V průběhu skenování pomocí CV byl roztok 0,18 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ KCl promícháván.

3.2 Modifikace povrchu tištěné elektrody zlatými nanočásticemi a glukóza oxidázy

V první fázi modifikace byla na povrch SPE elektrochemicky nanosená vrstva AuNPs za účelem zlepšení vodivosti a elektrochemické aktivity povrchu. Syntéza AuNPs byla provedena metodou elektrochemické redukce Au^{3+} (elektrodepozice) pomocí chronoamperometrie. Na pracovní plochu elektrody bylo aplikováno 100 μL roztoku obsahujícího kyselinu chlorozlatitou (HAuCl_4), která slouží jako zdroj Au^{3+} . Následně byla elektroda připojena k potenciostatu a byla provedena samotná depozice AuNPs. Během chronoamperometrie dochází při aplikaci záporného potenciálu k redukci iontů Au^{3+} na elementární kovové zlato (Au^0), které se formuje na povrchu elektrody ve formě nanočástic. Tímto způsobem se vytvoří nanostrukturovaný vodivý film, který slouží jako vhodný substrát pro následnou imobilizaci biologických komponent.

Pro testování byly připraveny dva různé elektrolyty obsahující H₂AuCl₄ (3 mM):

- Roztok H₂AuCl₄ rozpuštěný v 0,2 M kyselině sírové (H₂SO₄).
- Roztok H₂AuCl₄ rozpuštěný v 0,1 M dusičnanu draselném (KNO₃).

Chronoamperometrické parametry pro jednotlivé roztoky byly nastaveny odlišně s ohledem na rozdílné elektrochemické vlastnosti elektrolytů:

- Pro roztok s H₂SO₄: byl aplikován potenciál -0,2 V po dobu 60 sekund, s intervalem měření 1 s.
- Pro roztok s KNO₃: byl aplikován potenciál -0,4 V po dobu 200 sekund, s intervalem měření rovněž 1 s.

Po ukončení elektrodepozice byla elektroda důkladně opláchnuta DV, aby se odstranily zbytky reaktantů, a následně vysušena pomocí jemného proudu dusíku (N₂).

Ve druhém kroku byla provedena elektrochemická aktivace povrchu nanosených AuNPs za účelem zvýšení jejich elektrochemické stability a zajištění lepší interakce s následně imobilizovaným enzymem. Aktivace probíhala metodou CV v 100 μl 0,5 M kyseliny sírové (H₂SO₄), která byla nanesena na pracovní plochu elektrody. Měření probíhalo v rozsahu potenciálů od 0 V do 1,2 V s rychlostí skenování 0,1 V·s⁻¹ a celkovým počtem 10 cyklů. Tento proces slouží k elektrochemickému "očišťení" a stabilizaci povrchu zlatých nanočástic. Po ukončení aktivace byla elektroda opět důkladně opláchnuta DV a osušena proudem N₂.

V závěrečné fázi byla provedena imobilizace enzymu GOx na připravený povrch SPE pokrytý aktivovanými AuNPs. Na pracovní oblast elektrody bylo naneseno 5 μl roztoku GOx o koncentraci 10 mg·ml⁻¹. Roztok se nechal při

laboratorní teplotě volně zaschnout, aby se enzym mohl fyzikálně adsorbovat na povrch nanočástic. Pro zajištění stabilní kovalentní imobilizace enzymu byl následně použitý páry GA, který slouží jako síťovací činidlo. Elektroda byla umístěna nad otevřenou nádobu s 25% roztokem GA, čímž byla vystavena GA parám po dobu 20 minut v digestoři. Tento proces umožňuje vytvoření stabilních vazeb mezi primárními aminoskupinami enzymu a funkcionalizovaným povrchem AuNPs. Na závěr byla elektroda opět opláchnuta DV po dobu přibližně 1 minuty, aby se odstranily případné volně vázané molekuly, a nechána oschnout. Takto připravená modifikovaná elektroda byla připravena k použití pro elektrochemickou detekci analytu.

3.3 Stanovení polutantů

3.3.1 Ionty těžkých kovů a ibuprofenu

Detekce kovových kationtů byla provedena dvoufázovou metodou, která kombinuje inkubační krok s následným elektrochemickým měřením. V první fázi byla modifikovaná elektroda (např. GCE pokrytá hydrogelem HEC-CA-GO) inkubována po dobu 1 minuty ve vzorku obsahujícím kovové ionty. Během tohoto kroku docházelo k absorpci a akumulaci kovových iontů do struktury vrstvy hydrogelu s modifikovaným nanomateriálem, především díky interakci s funkčními skupinami hydrogelu a přítomnosti GO, který zvyšuje adsorpční kapacitu. Po uplynutí inkubační doby byla elektroda jemně opláchnuta DV, aby se odstranily volné ionty, a následně přenesena do elektrochemické cely obsahující 100 mM roztok KCl, jehož pH bylo upraveno na hodnotu 2 pomocí vhodného okyselujícího činidla (např. HCl). Toto kyselé prostředí podporuje následnou elektrochemickou redukci kovových iontů.

Samotná detekce kovových iontů proběhla pomocí anodické rozpouštěcí voltametrie čtvercové vlny (AS SWV). V rámci této metody byl nejprve aplikován depoziční potenciál -1,0 V po dobu 30 sekund, což umožnilo

elektrochemickou redukci kovových iontů na nenabitě atomy, které se deponují na povrchu elektrody. Následovalo voltametrické měření v rozsahu potenciálů od -1,2 V do +0,2 V, s následujícími parametry:

- krok potenciálu: 0,008 mV
- amplituda modulace: 0,01 V
- frekvence: 25 Hz

Na základě zaznamenaných píků byla kvantitativně stanovena koncentrace kovových iontů akumulovaných v hydrogelové vrstvě.

Pro kvantitativní stanovení IB byla použita AdDPV, která umožňuje citlivou detekci elektroaktivních organických látek. Na rozdíl od kovových kationtů zde nebyl aplikován inkubační krok. Měření bylo provedeno jedнокrokovou metodou, kdy bylo přesně odměřené množství ibuprofenu z dávkovacího nebo referenčního roztoku přidáno přímo do elektrochemické cely obsahující acetátový pufr o pH = 4, který byl zvolen jako optimální elektrolyt s ohledem na stabilitu ibuprofenu a jeho redoxní aktivitu.

Voltametrické měření proběhlo podle následujících parametrů:

- depoziční potenciál: -1,6 V
- doba depozice: 20 s
- měřicí rozsah potenciálu: 0,7 až 1,5 V
- krok potenciálu: 0,01 V
- amplituda modulace: 0,03 V
- doba modulace: 0,03 s
- interval měření: 0,5 s

Kromě zásobního roztoku ibuprofenu připraveného ze standardního analytického materiálu byl rovněž připraven reálný vzorek rozpuštěním jedné

tablety komerčně dostupného léčiva Ibalgin® ve vhodném množství DV. Tento roztok se dále používal k ověření praktické použitelnosti elektrochemické metody při analýze léčiv.

3.3.2 Modifikované tištěné elektrody pro pro inhibici glukóza oxidázy pomocí měďnatých iontů

Pro sledování elektrochemické odezvy systému založeného na enzymatické reakci GOx byla zvolena metoda chronoamperometrie, která umožňuje sledovat změny proudové odpovědi v reálném čase při konstantním potenciálu. Tato metoda je vhodná zejména pro kinetická měření a studium interakcí mezi enzymem, substrátem a případnými inhibičními nebo modulačními látkami, jako jsou kovové ionty.

Chronoamperometrické měření bylo prováděno při aplikovaném potenciálu 0,2V (vs. referenční elektroda integrovaná na SPE) po dobu 10 000 sekund s časovým krokem (intervalem záznamu) 1 sekunda. Elektrochemická cela obsahovala celkový objem elektrolytu 10 ml, tvořeného 10 mM fosfátovým pufrům o pH 6,0, do kterého byl přidán KCl za účelem zvýšení iontové vodivosti (PBS) — výsledná koncentrace KCl v roztoku činila 0,1 M. Jako mediátor elektronového přenosu byl zvolen fenazin methosulfát (PMS) v koncentraci 0,1 M, který zprostředkovává přenos elektronů mezi redoxně aktivním centrem enzymu GOx a elektrodovým povrchem, čímž dochází k tvorbě elektrochemického signálu.

Po ponoření testované elektrody do cely s elektrolytem obsahujícím mediátor PMS bylo měření zahájeno aplikací výše uvedeného potenciálu. V první fázi bylo sledováno ustálení systému, tj. dosažení stabilní hodnoty proudové odezvy, která odpovídala tzv. základní (bazální) hladině, sloužící jako výchozí referenční bod pro další měření. Následně bylo do systému přidáno přesně odměřené množství 0,1 M roztoku D-glukózy (Glu) tak, aby výsledná koncentrace Glu v

elektrolytické cele činila 4 mM. Po přidání Glu bylo opět vyčkáváno na ustálení proudové odezvy, která odráží enzymatickou aktivitu GOx – konkrétně oxidaci Glu za vzniku glukonolaktonu a H₂O₂, přičemž PMS jako mediátor přenáší elektrony na elektrodu, čímž vzniká měřitelný anodický proud.

V další fázi byla do systému postupně přidávána přesně definovaná množství roztoku obsahujícího ionty Cu²⁺ (0,01 M). Po každém přidavku bylo vždy vyčkáváno na dosažení nové stabilní hodnoty proudu, která byla následně zaznamenána. Tento postup umožnil sledovat inhibiční efekt Cu²⁺ na aktivitu GOx v reálném čase. Přítomnost měďnatých iontů může ovlivnit jak samotnou enzymatickou reakci, tak i účinnost elektronového přenosu mezi GOx a mediátorem.

3.4 Charakterizace připravených materiálů pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací

Spektroskopická analýza vzorků pomocí FTIR byla provedena za účelem identifikace přítomných funkčních skupin a ověření chemických interakcí mezi jednotlivými složkami v kompozitech HEC-CA-GO a v nanostrukturách CNS.

Hydrogely HEC-CA obsahující různé koncentrace GO připraveného metodou Brodieho (GOB) nebo metodou Hummerse (GOH) byly připravovány jako tenké vrstvy na předem vyčištěnou hliníkovou fólii. Směsi HEC-CA-GOB a HEC-CA-GOH byly rovnoměrně nanoseny pomocí pipetování a následně umístěny do laboratorní sušárny, kde byly vysušeny a tepelně upraveny při 110 °C po dobu 30 minut. Po ukončení tepelného zpracování byla potažená strana hliníkové fólie umístěna přímo na ATR krystal přístroje Nicolet iS10 FTIR (Thermo Fisher Scientific, USA) pro analýzu v režimu tlumeného celkového odrazu (ATR). Tento způsob měření umožnil přímou analýzu povrchové vrstvy bez nutnosti další přípravy vzorku, což minimalizovalo riziko kontaminace nebo strukturálního

poškození. FTIR spektra byla zaznamenávána v rozsahu $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ s rozlišením 4 cm^{-1} a průměrováním 32 skenů.

Pro charakterizaci uhlíkových nanosfér modifikovaných močovinou (CNS-Urea) byly použity vzorky v práškové formě. Malé množství suchého vzorku (cca 1–2 mg) bylo přímo nanášeno na ATR krystal stejného FTIR přístroje (Nicolet iS10). Měření probíhalo bez jakékoli další úpravy vzorku, čímž byla zajištěna vysoká integrita a reprodukovatelnost získaných spekter.

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Charakterizace použitých materiálů pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací a skenovací elektronové mikroskopie

4.1.1 Hydrogel hydroxyethyl celulózy sesíťovaný kyselinou citronovou a přídavkem grafen oxidu

FTIR

FTIR spektroskopie byla použita k podrobnému studiu chemických vlastností hydrogelů HEC-CA obsahujících GOB(H). Kromě samotných hydrogelů byly analyzovány také jednotlivé složky – GO připravený. Pro analýzu byly použity dvě koncentrace GOB(H): $1\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ a $0,1\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, označené jako GOB(H)1 a GOB(H)0,1. Výsledky (FTIR spektra) jsou zobrazeny na obr. 5.

Oba typy GO (GOB a GOH) vykazují několik společných absorpčních pásů charakteristických pro oxidovaný grafen. Nejvýraznější je široký pás v oblasti $3500\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$, odpovídající vibracím hydroxylových skupin (-OH), běžně přítomných na povrchu GO. Další významný pás se nachází v oblasti $1715\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$ a odpovídá karbonylovým vibracím (C=O) v karboxylových skupinách, což potvrzuje oxidaci grafenu.

Mezi oběma typy GO však existují specifické rozdíly. U GOB je patrný absorpční pás v oblasti 1610 cm^{-1} , pravděpodobně spojený s vibracemi benzenového jádra, zatímco u GOH je tento pás posunut na 1580 cm^{-1} . Tento posun může souviset s rozdílnou mírou oxidace nebo strukturou grafenu, včetně přítomnosti hydroxylů z adsorbované vody nebo C=C vazeb v neoxidovaných oblastech. Tyto rozdíly potvrzují odlišnou chemickou povahu obou typů GO, jak uvádějí i studie Stankoviche a Szabóa (Stankovich et al., 2006; Szabó et al., 2006).

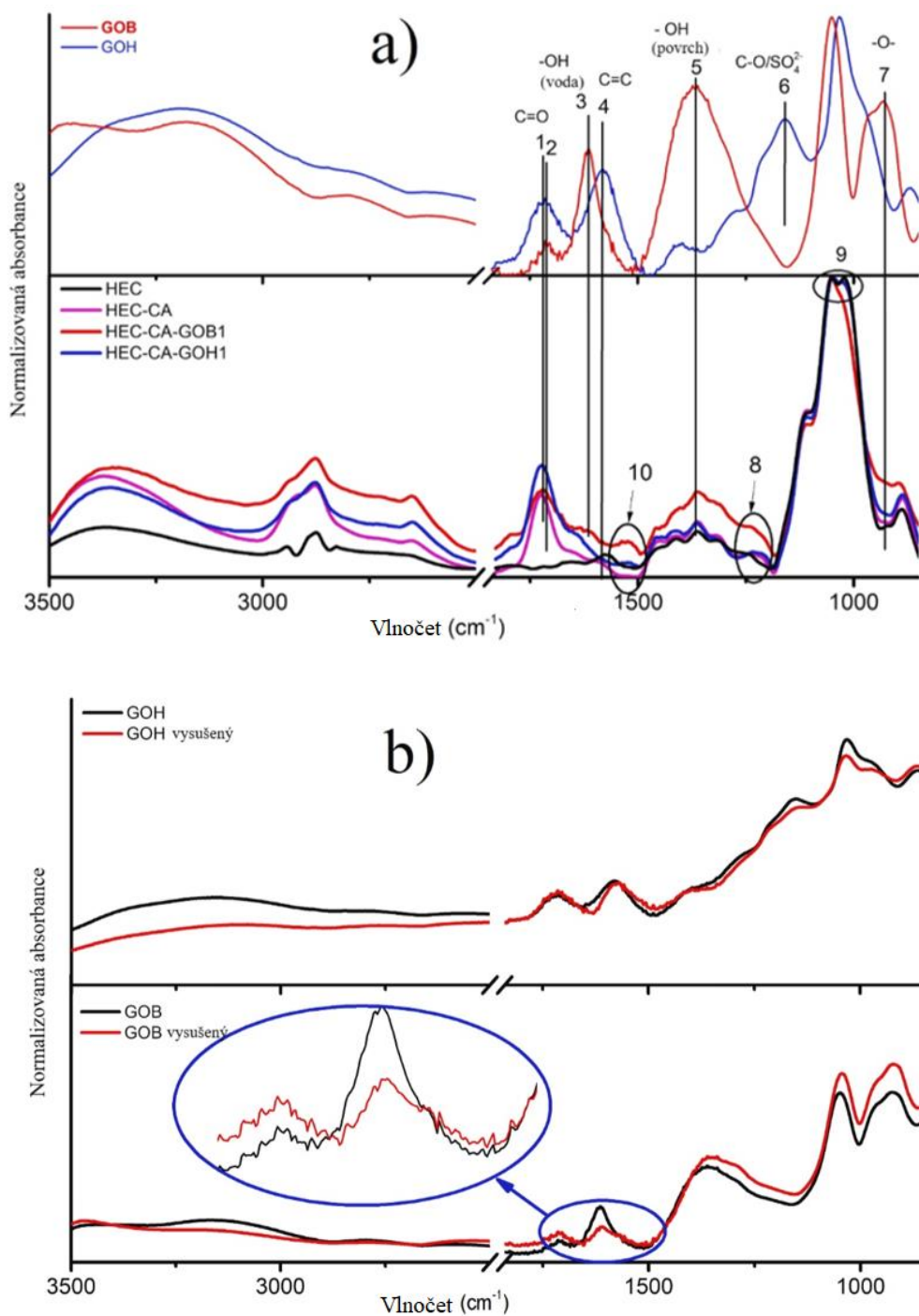
Porovnání FTIR spekter GO před a po sušení (obr. 5b) ukázalo, že u GOH nedošlo v pásu 1580 cm^{-1} k významným změnám, což naznačuje stabilitu tohoto pásu i po odstranění adsorbované vody. Naproti tomu u GOB došlo k výraznému poklesu intenzity v oblasti 1610 cm^{-1} , což lze interpretovat jako ztrátu vody adsorbované na povrchu grafenových vrstev během sušení. Tento jev je v souladu s literaturou, která uvádí, že adsorbovaná voda může významně ovlivnit spektrální charakteristiky GO, zejména v oblasti kolem 1600 cm^{-1} (Szabó et al., 2006).

Další charakteristický pás GOB se nachází kolem 1370 cm^{-1} a je typický pro O-H vibrace hydroxylových skupin. U GOH byl naopak zaznamenán pás přibližně na 1160 cm^{-1} , pravděpodobně související s C-O vibracemi nebo přítomností sulfátových zbytků vzniklých během syntézy (Dimiev et al., 2012).

Na základě těchto FTIR analýz lze konstatovat, že GOB obsahuje vyšší množství hydroxylových a epoxidových skupin rovnoměrně rozložených v celé struktuře, což svědčí o vyšší homogenitě oxidace. Naproti tomu GOH vykazuje více lokalizované oblasti oxidace s vyšším podílem karboxylových skupin, což naznačuje nerovnoměrnou oxidaci grafenových vrstev.

V případě HEC-CA hydrogelu zesíťovaného CA byly ve FTIR spektru zaznamenány absorpční pásy v oblasti 1720 cm^{-1} , charakteristické pro esterové vazby (RCOOR'), vzniklé reakcí anhydridu s hydroxylovými skupinami. Tento pás potvrzuje úspěšné zesíťování HEC s CA. Další výrazný pás v oblasti 1255 cm^{-1} odpovídá C-O-C vazbám v esterové struktuře. Spolu s pásy v oblasti 1350

cm^{-1} (hydroxylové skupiny) a intenzivními absorpcemi při 1049 a 1020 cm^{-1} (O-C-O vazby) tyto spektrální znaky potvrzují chemickou modifikaci HEC během zesíťování (El-Sayed et al., 2020)



Obrázek 5: a) Normalizovaná FTIR spektra HEC (černá), zesíťovaného HEC-CA (purpurová), HEC-CA-GOB1 (červená), HEC-CA-GOH1 (modrá). Nejvýznamnější absorpční pásy označeny čísly a popisem. V horní části jsou zobrazena normalizovaná FTIR spektra původního GOB (červená) a

GOH (modrá). b) FTIR spektra GOH (horní část) a GOB (spodní část) před (černé křivky) a po (červené křivky) sušení při 110 °C po dobu 1 h. (Sotolarova et al., 2024)

Po přidání GO k HEC-CA hydrogelům byly pozorovány výrazné změny ve FTIR spektrech, které odhalily interakce mezi GO a polymerní maticí HEC. U vzorků HEC-CA-GOB1 a HEC-CA-GOH1 došlo k objevování nových absorpčních pásů, což naznačuje, že přítomnost GO měla vliv na chemickou strukturu a funkční skupiny v hydrogelu. Jedním z pozorovaných jevů byla nízká absorpce v oblasti kolem 1800 cm^{-1} , což by mohlo být spojeno s tvorbou nových chemických vazeb mezi GO a HEC, které nebyly přítomny v původních vzorcích HEC-CA.

Důležitým zjištěním byla změna intenzity a pozice pásu v oblasti 1580 cm^{-1} , který je charakteristický pro GOH (číslo 10 na obr. 5a). U vzorku HEC-CA-GOH1 došlo k téměř úplnému zmizení tohoto pásu, což naznačuje, že mezi GOH a HEC vznikly nové interakce, které vedly k transformaci vazeb původního pásu. Tato změna může být způsobena vznikem π - π interakcí mezi neoxidovanými oblastmi GOH a sacharidovými strukturami v HEC. Tato interakce je známá pro grafenové materiály, které mohou interagovat s aromatickými kruhy nebo π -elektronovými systémy, což způsobuje změny v jejich FTIR spektru.

Na druhé straně, u vzorku HEC-CA-GOB1, který obsahuje GOB, zůstal absorpční pás při 1615 cm^{-1} (označený jako „3“ na obrázku 5a)) relativně intenzivní. Tento pás, typický pro GOB, naznačuje, že interakce mezi HEC a GOB jsou jiné než u GOH, a pravděpodobně dochází k jinému typu chemické interakce. Navíc pás v oblasti 1370 cm^{-1} (označený jako „5“ na obrázku 5a)) zůstal výrazně přítomen, což ukazuje na vysoký obsah hydroxylových skupin v GOB, které stále zůstávají na povrchu materiálu i po přidání do HEC-CA hydrogelu.

Další zajímavou změnou, která byla pozorována u obou vzorků (HEC-CA-GOB1 a HEC-CA-GOH1), je vznik nového absorpčního pásu v oblasti kolem 1525 cm^{-1} (označeného jako „10“ na obrázku 5a)). Tento pás není jednoznačně přiřazen k žádné známé vazbě na základě dostupné literatury, což naznačuje, že může být výsledkem nově vzniklých interakcí mezi funkcionalizovanými částmi GO a HEC. Výraznější intenzita tohoto pásu u HEC-CA-GOB1 než u HEC-CA-GOH1 může indikovat, že GOB, díky své vyšší koncentraci hydroxylových skupin a epoxidových skupin, interaguje s HEC silněji než GOH, což může vést k tvorbě stabilnějších interakcí mezi těmito komponenty.

Další pozorování se týká pásu v oblasti 1020 cm^{-1} , který byl zaznamenán u HEC-CA-GOB1, kde došlo k jeho změně v porovnání s původním HEC-CA. Tento pás je charakteristický pro O-C-O vazby v sacharidovém kruhu HEC, a jeho posun nebo změna intenzity naznačuje, že došlo k interakci mezi sacharidovým řetězcem HEC a GOB. Tato změna v absorpčním spektru může být důsledkem elektrostatických nebo vodíkových vazeb mezi hydroxylovými skupinami v GOB a hydroxylovými nebo jinými funkčními skupinami v HEC, což může modifikovat strukturu polymerního řetězce HEC a ovlivnit jeho chemickou stabilitu.

SEM

Přítomnost GO v matrici HEC-CA byla ověřena pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM), která umožnila detailní pozorování morfologie vzorků na mikroúrovni. Výsledky ukázaly, že čisté GOB(H), vykazovaly výrazně odlišné charakteristiky, pokud jde o formu a strukturu částic. GOB tvořil plošší agregáty, které se skládaly z několika vrstev GO, což naznačuje, že GO byl ve formě vícevrstevných nanovrstev, které se spojují do větších, ale relativně kompaktnějších struktur. Naopak částice GOH byly větší, vlnité a více oddělené, což může svědčit o jiném stupni oxidace a struktuře materiálu. Tyto rozdíly byly jasně viditelné na

SEM snímcích (viz obrázky 5b a 5c), kde byly jednotlivé typy částic dobře rozeznatelné podle jejich specifických geometrických a texturních vlastností.

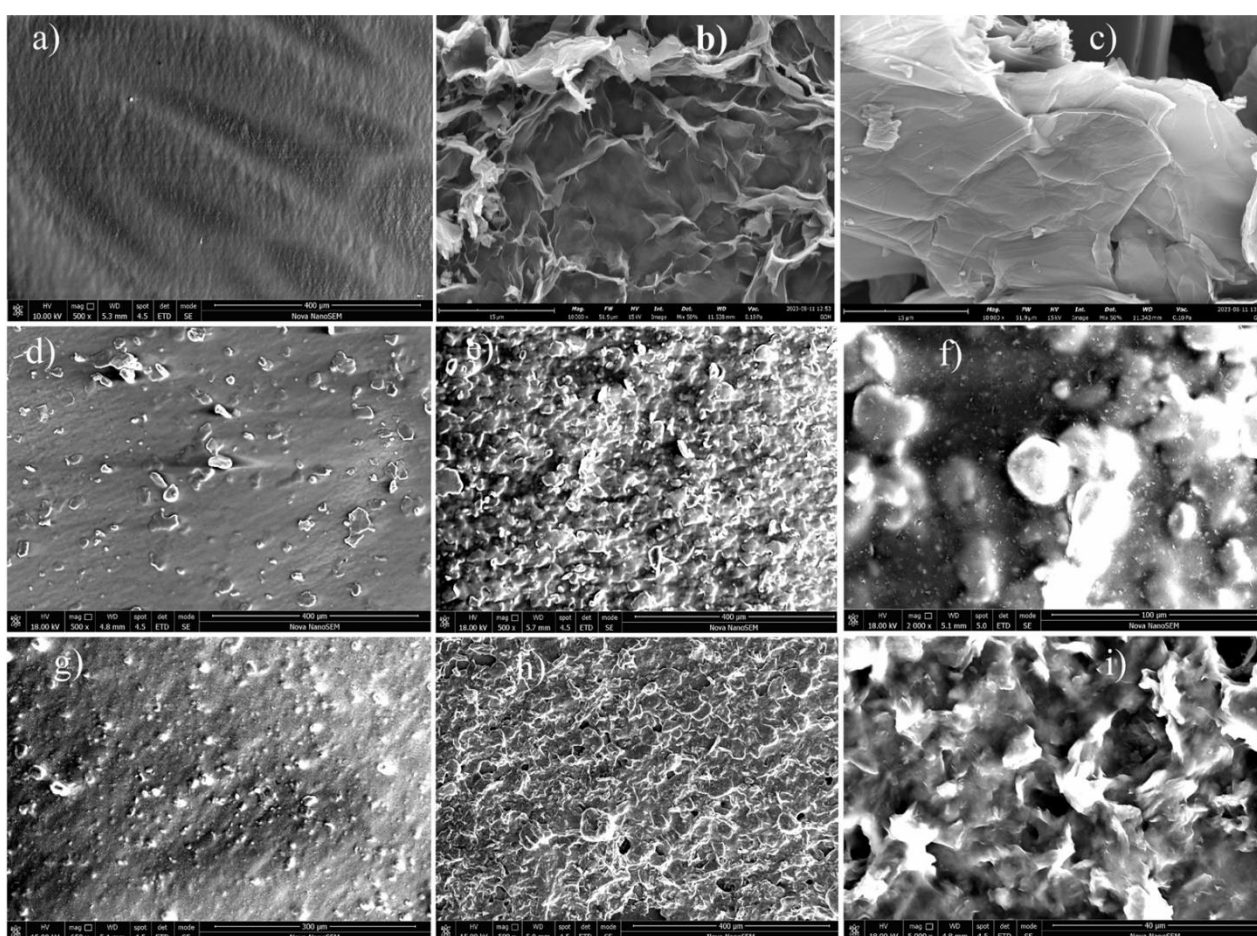
Povrch čistého hydrogelu HEC-CA byl hladký a homogenní, s jemně zvrásněným vzorem, což naznačuje, že struktura byla dobře uspořádaná bez výrazných povrchových defektů (viz obrázek 5a). Tento vzhled byl v souladu s očekáváním pro čistý HEC-CA, který neměl přímé příměsi a byl charakterizován pravidelnou a jednotnou morfologií.

Po přidání 0,1 mg/ml GOH a GOB do HEC-CA hydrogelu se na povrchu objevily významné změny. Vzorky HEC-CA-GOH a HEC-CA-GOB vykazovaly výskyt nepravidelných a ostrých tvarů, které byly výsledkem přítomnosti GO. Tyto struktury byly dobře viditelné na SEM snímcích (viz obrázky 6d a 6g), kde bylo zřejmé, že GO se integrovalo do struktury hydrogelu a vytvořilo heterogenní, strukturované povrchy s charakteristickými ostrými okraji a texturou. Dále byly na povrchu pozorovány drobné póry rozptýlené po celé jeho ploše. Tyto póry pravděpodobně vznikly uvolňováním vodní páry během procesu tepelného sítování, kdy došlo k odpařování vody a vytvoření malých mikropórů v materiálu. Tyto mikrostruktury jsou často spojovány s tvorbou porézní sítě v hydrogelech, což může zlepšit jejich schopnost absorbovat a zadržovat vodu.

Vzorky HEC-CA-GOB1 a HEC-CA-GOH1 vykazovaly výrazné seskupení částic což bylo v souladu s očekáváním vzhledem k množství přidaného GO. Ze SEM obrázků 6d-6i je patrné, že jak GOB, tak GOH částice si v hydrogelové matici zachovaly svoji strukturu a celkově je u obou materiálů převažující morfologie původního GO než homogenního HEC-CA. Zároveň byly i v těchto vzorcích patrné póry vzniklé nejspíše odpařováním vody při tepelném sítování.

Vzorky HEC-CA-GOB1 a HEC-CA-GOH1 tak vykazovaly zcela novou texturu povrchu, která byla více heterogenní, a to jak v důsledku přítomnosti GO, tak díky novým interakcím mezi těmito dvěma komponentami.

U vzorků s nižší koncentrací GO, konkrétně HEC-CA-GOH_{0,1} a HEC-CA-GOB_{0,1}, byla struktura hydrogelu stále zachována a povrch měl méně výrazné změny. Tyto vzorky vykazovaly menší vliv přítomnosti GO na povrchovou strukturu, což naznačuje, že nižší koncentrace GO vedly k menší agregaci a méně výrazné interakci mezi GO a HEC. SEM snímky těchto vzorků (viz obrázky 6d a 6g) ukázaly, že i když byly nanolístky GO stále přítomné na povrchu, jejich distribuce byla rovnoměrnější a nebyly pozorovány tak výrazné změny v povrchové textuře jako u vzorků s vyšší koncentrací GO.



Obrázek 6: snímky HEC-CA (a; zvětšení 500x), GOH (b); zvětšení 10 000x), GOB (c); zvětšení 10 000x), HEC-CA-GOH (d-f)) a HEC-CA-GOB (g-i)).

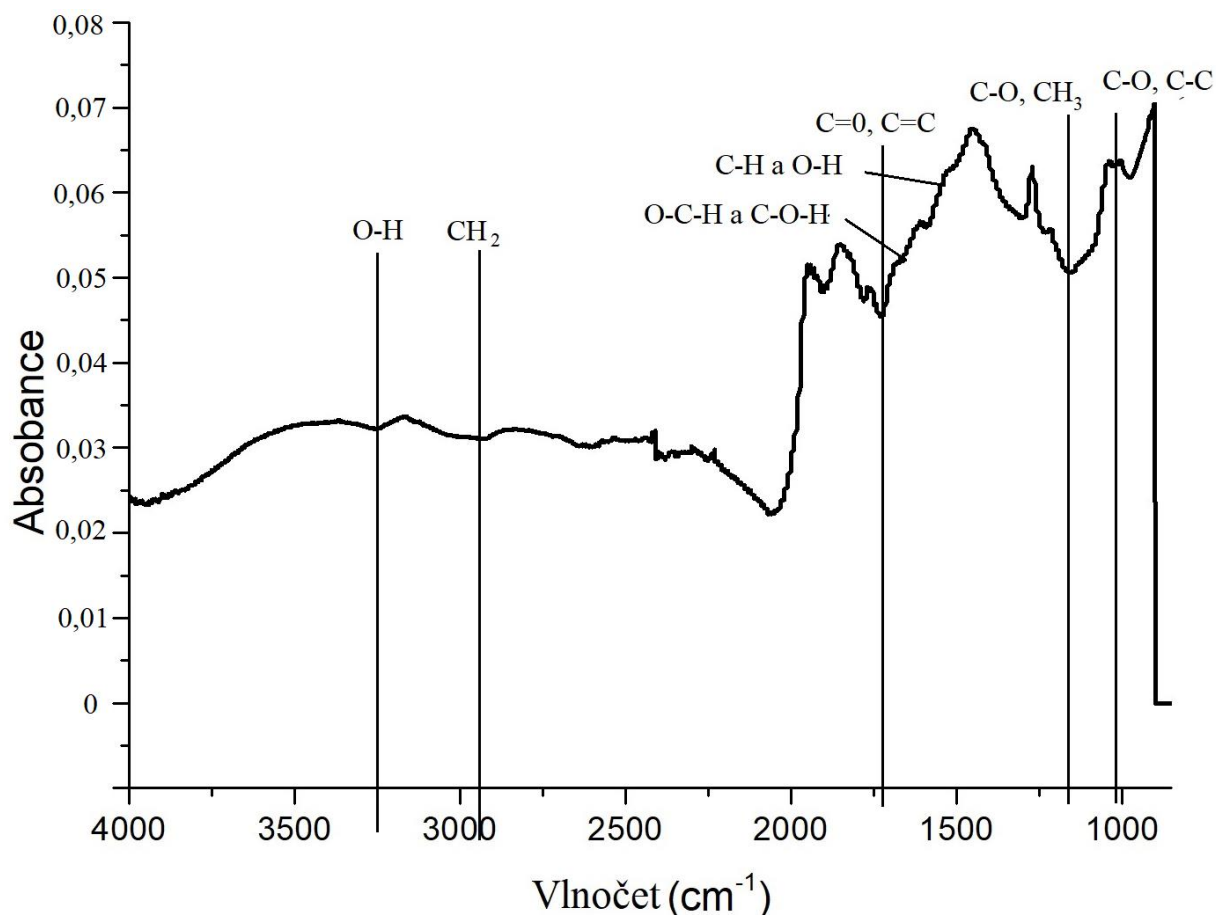
Koncentrace GOH i GOB je 0,1 (d, g)) a 1 (e, f, h, i)) mg ml⁻¹ zvětšení i):
5000x (Sotolarova et al., 2024)

4.1.2 Uhlíkaté nanosféry

FTIR charakterizace byla rovněž využita k analýze uhlíkatých nanočástic (CNS), které byly připraveny karbonizací glukózy při různých teplotách, konkrétně 500, 600 a 800 °C. Kromě toho byly analyzovány také CNS dopované močovinou (CNS-UREA). FTIR spektrum pro CNS-UREA je zobrazeno na obrázku 7, přičemž spektra dalších vzorků CNS vykazují podobné charakteristiky, což naznačuje, že karbonizace glukózy při těchto teplotách vedla k vytvoření podobných funkčních skupin na povrchu nanočástic.

Podle dostupné literatury (Kandra & Bajpai, 2020; Manoj et al., 2018; Papaioannou et al., 2018) je pás v oblasti 3600–3200 cm^{-1} spojen s valenčními vibracemi O-H skupin, které jsou typické pro hydroxylové skupiny přítomné na povrchu uhlíkatých nanočástic. Pás při 2922 cm^{-1} je výsledkem asymetrické vibrace vazby sp^3 v CH_2 a CH_3 skupinách, které se nacházejí v uhlovodíkové síti tvořící strukturu těchto nanočástic. Tento pás je charakteristický pro alifatické uhlovodíky, které jsou součástí organického rámce CNS. Další významný pás se nachází v oblasti 1620–1600 cm^{-1} a je přičítán konjugovaným valenčním vibracím C=C a karbonylovým skupinám, které jsou přítomny v uhlíkových nanočásticích. V oblasti 1525–1350 cm^{-1} se objevuje kombinace absorpčních pásů, které jsou spojeny s vibracemi O-C-H a C-O-H. Tyto pásy naznačují přítomnost hydroxylových a etherových skupin, které mohou být výsledkem neúplné karbonizace nebo mohou pocházet z přidavku močoviny v případě CNS-UREA. Pás v oblasti 1350–1250 cm^{-1} signalizuje deformace C-H a O-H v rovině, což naznačuje přítomnost např. karboxylových skupin. Pík v oblasti kolem 1200 cm^{-1} je způsoben přítomností cyklických uhlíkových skupin. Dále je oblast mezi 1191 cm^{-1} a 995 cm^{-1} spojena s C-O a C-C valenčními vazbami. Tyto pásy indikují přítomnost různých funkčních skupin, jako jsou etherové nebo alkoholové skupiny. Pásy v oblasti 875–750 cm^{-1} jsou přiřazeny aromatickým ohybovým vibracím C-H mimo rovinu. Tyto FTIR výsledky ukazují na

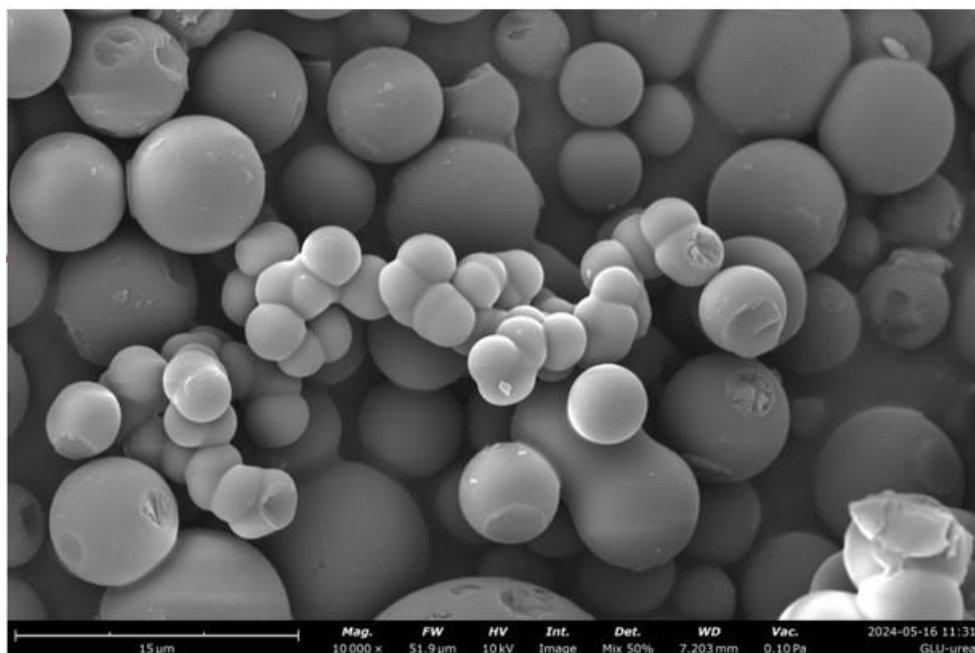
komplexní strukturu uhlíkatých nanočástic, které obsahují širokou škálu funkčních skupin, jež jsou důležité pro tvorbu interakcí s jinými molekulami a materiály.



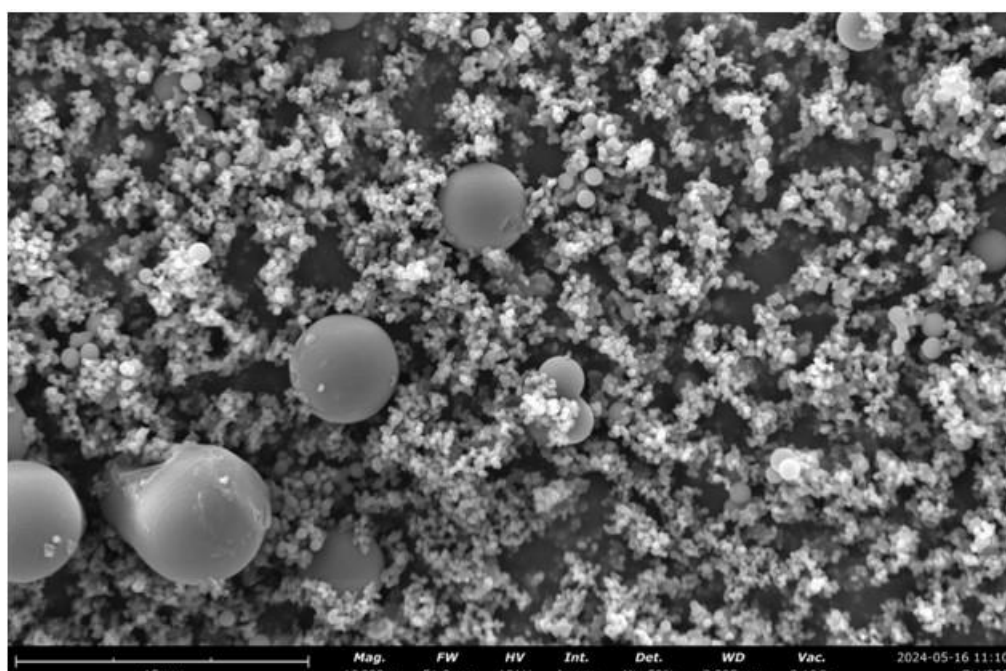
Obrázek 7: FTIR spektrum pro CNS-UREA

Na přiložených SEM obrázcích (Obrázek 8 a 9) je patrný vliv přítomnosti močoviny během procesu karbonizace na morfologii výsledných uhlíkových nanostruktur (CNS). Zatímco karbonizace bez přítomnosti močoviny vede k vytvoření částic s určitou specifickou morfologií (která není detailně popsána, ale vizuálně odlišná od kulatějších částic), použití močoviny během karbonizace prokazatelně vede k syntéze větších a kulatějších částic. Tato pozorovaná změna v morfologii naznačuje, že močovina hraje významnou roli v mechanismu růstu a formování uhlíkových nanostruktur. Jedním z možného vysvětlení je že rozklad močoviny může vést k inkorporaci atomů dusíku do vznikající uhlíkové sítě.

Přítomnost dusíkových atomů může ovlivnit elektronovou strukturu uhlíku, jeho povrchovou energii a tím i způsob, jakým se částice agregují a rostou. EDAX analýza CNS dopovaných močovinou ukázala, že obsah N ve vzorku se pohybuje okolo 12 hmotnostních %, u uhlíkatých nanočástic bez močoviny nebyl obsah N prokázán. (Chen et al., 2013; Inagaki et al., 2018)



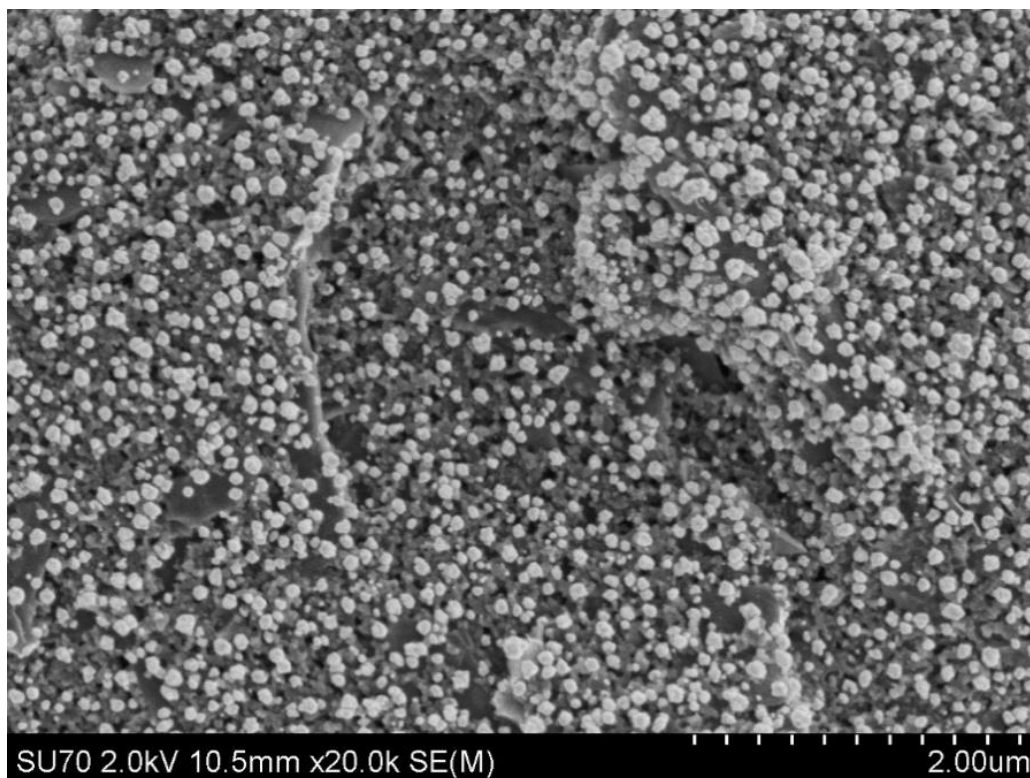
Obrázek 8: CNC dopované močovinou



Obrázek 9: CNC karbonizované při 800 °C

4.1.3 Charakterizace zlatých nanočástic

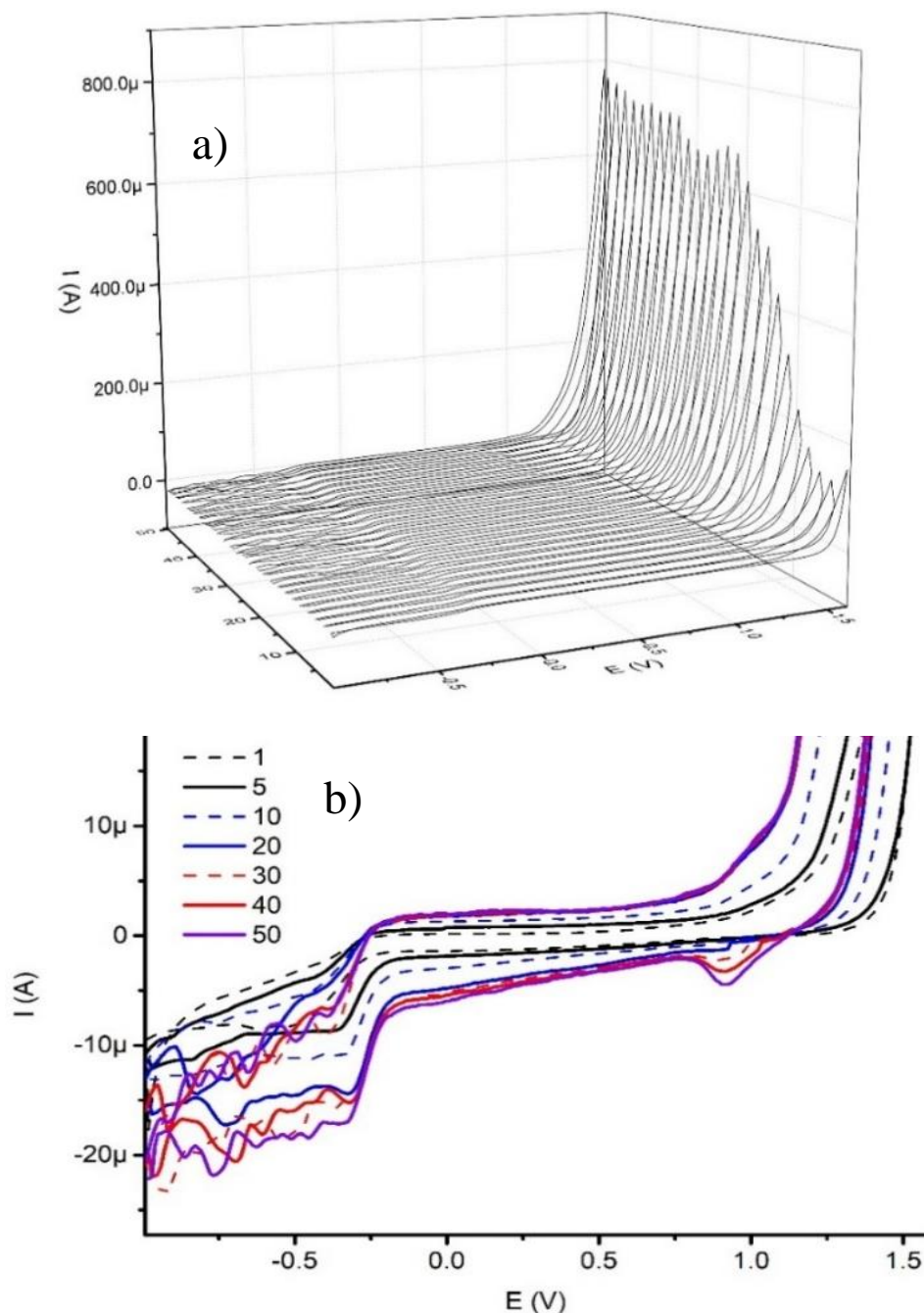
SPE modifikované pomocí AuNPs byly analyzovány pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Na SEM obrázku (Obrázek 10) jsou AuNPs zobrazeny jako přibližně kulovité částice o průměru asi 100nm, které jsou dispergovány na povrchu elektrody.



Obrázek 10: SPE s AuNPs deponované z 10 mM HAuCl₄ v 0,1 M roztoku KNO₃

4.2 Elektrochemická charakterizace

4.2.1 Elektrochemická aktivace elektrod ze skelného uhlíku



Obrázek 11: Ilustrační CV voltamogramy GCE. a) plné měřítko voltamogramů, ilustrující růst anodického proudu; b) 2D pohled na zvětšenou část voltamogramů s čísly vyznačenými v grafu. CV provedené v 0,18M KCl, od -1 do 1,6 V. Rychlost skenování 50 $mV \cdot s^{-1}$.

Na obrázku 11 jsou znázorněny cyklické voltamogramy v rozsahu napětí od -1 do 1,6 V, získané při aktivaci GCE pomocí cyklické voltametrie (CV) v roztoku

0,18 M KCl. Analýza těchto skenů odhaluje tři klíčové změny ve voltamogramech během opakovaného cyklování.

Nejvýraznější změnou je nárůst anodického proudu na horních mezích voltamogramů. Tento jev lze, v souladu s předchozími studiemi (např. Abdel-Aziz et al., 2020), přičíst postupně rostoucí elektrokatalytické aktivitě elektrody. Nárůst anodického proudu je patrný přibližně do 25. cyklu, po kterém dochází k ustálení, což naznačuje dosažení maximální úrovně oxidace elektrody za daných podmínek.

Druhým pozorovaným rysem je vývoj katodického píku při potenciálu kolem 1 V, který naznačuje redukci funkčních skupin vzniklých během oxidačního kroku. Na rozdíl od anodického procesu, který dosahuje maxima kolem 25. cyklu, katodický pík od tohoto bodu dále plynule narůstá (viz obr. 11a). Tento katodický pík je pravděpodobně spojen s nově vznikajícím anodickým píkem v přibližně stejné oblasti, který se začíná projevovat rovněž od cca 20. cyklu. U některých elektrod však zůstává tento pík méně výrazný.

Z těchto pozorování lze vyvodit, že anodizace za daných podmínek probíhá ve dvou fázích. První fáze představuje oxidaci v nejvyšším anodickém rozsahu, která trvá přibližně 20–25 cyklů. Po dosažení maximálního anodického proudu nastupuje druhý redoxní proces, při kterém se anodický proud stabilizuje, zatímco výška katodického píku nadále roste. Z obrázku 11b je patrná zvyšující se kapacitance elektrody a současná redukce kyslíku z přibývajícím počtem cyklů.

4.2.2 Elektrochemická impedanční spektroskopie

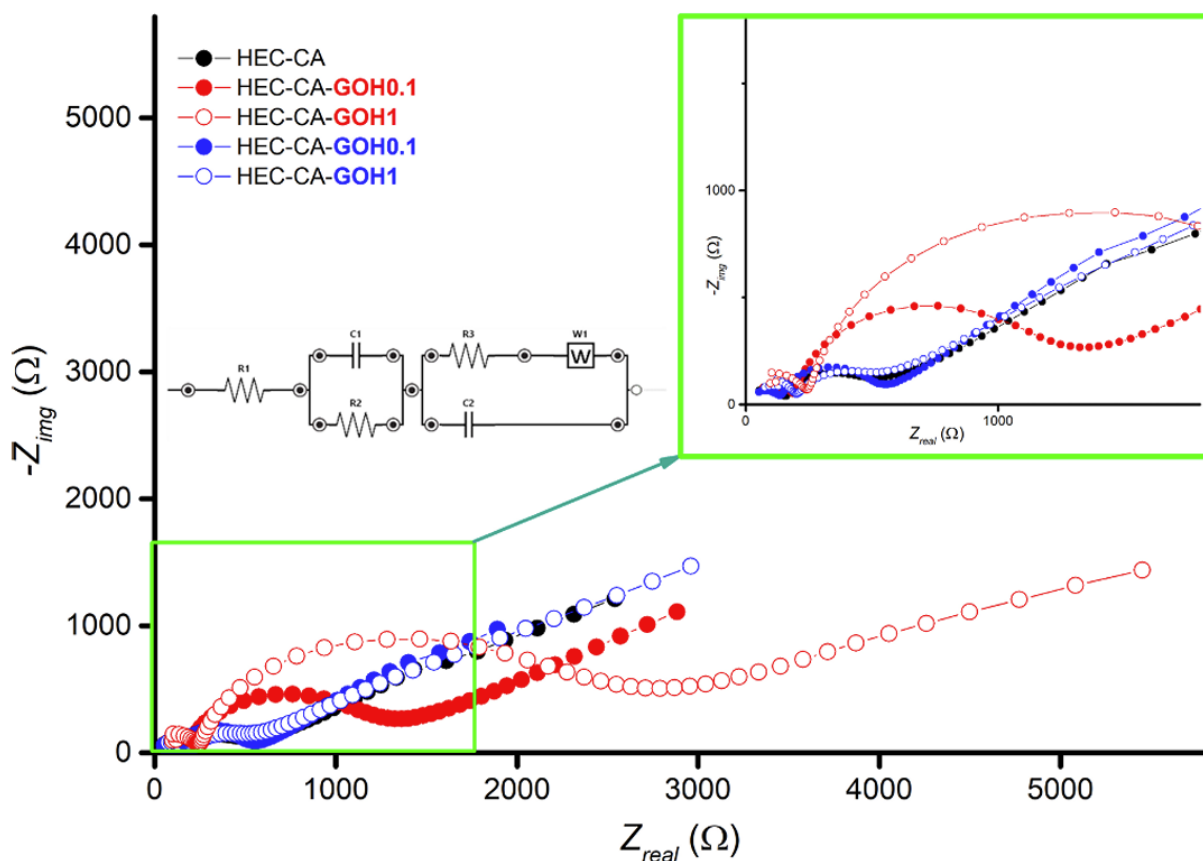
Elektrody modifikované hydrogely

U GCE modifikované hydrogelem HEC-C-GOB(H) nebylo možné Nyquistovy grafy vyhodnotit pomocí jednoduchého fitování s využitím Randlesova ekvivalentního obvodu. Místo toho byl použit složený obvod tvořený sériovým

zapojením impedance roztoku R_s a dvou R/C prvků, přičemž druhý z nich zahrnoval i Warburgův prvek W (viz výšeč na obr. 12).

Parametry získané fitováním jsou uvedeny v tabulce 1. Hodnoty R_1 (odpor přenosu náboje na rozhraní elektroda/elektrolyt) zůstávaly během všech měření prakticky konstantní (přibližně 160Ω nebo $2,3 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$). Tento odpor je v sérii s kapacitou C_1 (kapacitance dvojvrstvy nebo pseudokapacitance na rozhraní elektroda/elektrolyt), jejíž hodnoty se u všech vzorků pohybují kolem $0,25 \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$ (viz Tabulka 1).

Naopak kapacitance C_2 , která je téměř o dva řády vyšší (v rozmezí $12,3$ až $23,1 \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$), pravděpodobně odráží větší elektrochemicky aktivní plochu, což lze přičíst nanokompozitní vrstvě. Skutečnost, že parametry C_2 , R_2 a W pocházejí z modifikace elektrody, potvrzuje i výrazná závislost R_2 na typu a koncentraci GO v hydrogelové matici.



Obrázek 12: Ilustrativní Nyquistovy grafy získané s elektrodami modifikovanými HEC – CA (černá), HEC-CA naplněnými 0,1 (vyplněné body) a 1 (prázdné body)

mg ml⁻¹ GOB (modrá) a GOH (červená). Výšeč – zvětšená část křivek označená zeleným rámečkem a schematické znázornění ekvivalentního obvodu použitého pro fitování dat. (Sotolarova et al., 2024)

Například odpor R_2 u vzorku HEC-CA-GOH0,1 ($13,3 \pm 6,2 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$) je vyšší než u samotného HEC-CA ($4,58 \pm 0,98 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$). Zajímavé je, že přidavek GOB měl na hodnotu R_2 jen minimální vliv, s výjimkou většího rozptylu dat u HEC-CA-GOB0,1 ve srovnání s HEC-CA-GOB1. Na rozdíl od GOB vedlo i nízké množství GOH ($0,1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) ve výchozím roztoku HEC-CA k výraznému nárůstu R_2 až na $13,3 \pm 6,2 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$, přičemž při vyšší koncentraci (HEC-CA-GOH1) vzrostl odpor dále až na $33,0 \pm 6,0 \text{ k}\Omega \cdot \text{cm}^{-2}$ (viz Tabulka 1)

Tabulka 1: Hodnoty parametrů získané fitováním Nyquistových grafů elektrod modifikovaných nanokompozity uvedenými v horním řádku tabulky. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr z několika po sobě jdoucích měření provedených se 3 stejně připravenými elektrodami. Všechny hodnoty jsou normalizovány vzhledem k deklarované geometrické ploše elektrody ze skelného uhlíku ($0,0707 \text{ cm}^2$) (Sotolarova et al., 2024)

Parametr	HEC-CA	HEC-CA-GOB0.1	HEC-CA-GOB1	HEC-CA-GOH0.1	HEC-CA-GOH1
$R_s (\Omega \text{ cm}^{-2})$	338±49	352±62	377±48	376±56	290±12
$R_1 (\text{k}\Omega \text{ cm}^{-2})$	2.32±0.32	2.21±0.29	2.3±0.3	2.4±0.3	2.56±0.73
$C_1 (\mu\text{F cm}^{-2})$	0.27±0.02	0.26±0.02	0.26±0.03	0.26±0.02	0.23±0.05
$R_2 (\Omega \text{ cm}^{-2})$	4.58±0.98	5.6±1.8	4.3±0.8	13.3±6.2	33.0±6.0
$W \times 10^{-3} (\Omega \text{ s}^{-1/2} \text{ cm}^{-2})$	9.4±1.0	9.9±0.5	7.1±0.8	9.0±1.1	4.4±0.7
$C_2 (\mu\text{F cm}^{-2})$	18.4±1.7	12.3±1.3	23.1±4.3	18.4±1.6	15.0±1.5

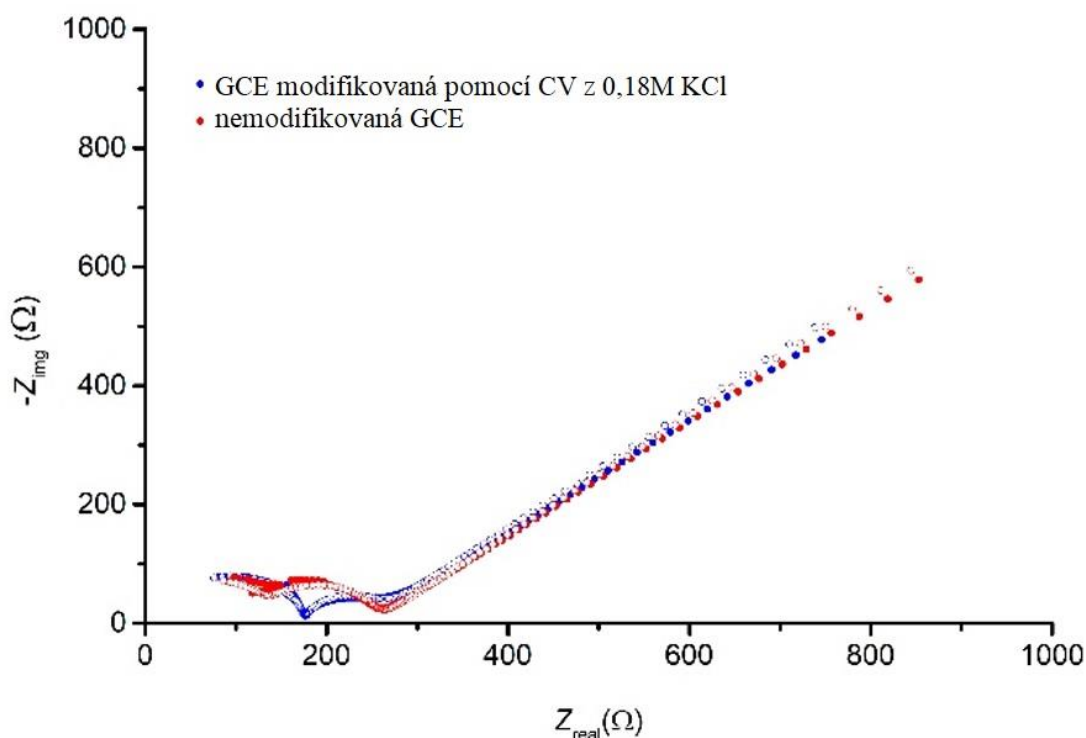
Elektrochemicky aktivované elektrody

Metoda EIS byla použita také pro charakterizaci GCE, která byla elektrochemicky aktivována. Po aktivaci byla elektroda důkladně opláchnuta deionizovanou vodou (DW), aby se odstranily zbytky elektrolytů nebo jiných nečistot, které by mohly ovlivnit výsledky měření.

Následně byla modifikovaná elektroda umístěna do elektrochemické cely, kde byl jako elektrolyt použit roztok obsahující 2,5 mM ferrikyanid a ferrokyanid. Po dokončení prvního měření byla elektroda opět opláchnuta DW a ponořena na 20 minut do acetátového pufru (AP) o pH 4. Tento krok simuloval podmínky, ve kterých bude senzor dále používán. Po této expozici byla elektroda znovu analyzována pomocí EIS, aby se zjistilo, jak změna pH ovlivňuje její elektrochemické vlastnosti.

Ve třetí fázi byla elektroda opět opláchnuta DW a ponořena na 20 minut do stejného AP roztoku (pH 4), tentokrát však s přidavkem IB v koncentraci $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Po této expozici následovalo další měření EIS, které mělo za cíl zjistit, jak přítomnost IB ovlivňuje elektrochemické vlastnosti modifikované elektrody.

Vzhledem ke specifickým vlastnostem použitého potenciostatu a zapojení se v Nyquistových diagramech (Obrázek 13) objevila další vlastnost, která si vyžádala úpravu modelu – konkrétně nahrazení R_s kombinací R_s-C_s a zavedení prvku R_1 jako první součástky obvodu. Tento prvek však nebyl považován za součást systému elektroda/elektrolyt a nebyl zahrnut do prezentovaných výsledků.



Obrázek 13: Nyquistovy diagramy dosažené s GCE modifikované pomocí CV z 0,18mol.l⁻¹KCl (modré body) a nemodifikované GCE (červené body) bezprostředně po přípravě. Plné body – skutečná data; nevyplněné body – vygenerovaná data. EIS byla provedena ve 100mM KCl s 5mM ferrokyanidem – ferrikyanidem.

Tabulka 2: Parametry vypočítané na základě modelování Nyquistových grafů

	Nemodifikovaná GCE	Elektrochemicky aktivovaná GCE	Elektrochemicky aktivovaná GCE inkubovaná v AP	Elektrochemicky aktivovaná GCE inkubovaná v IB
R_{CT} (Ω)	196±51	83±17	41±2	57±7
W ($m\Omega \cdot s^{-1/2}$)	1.4±0.4	1.70±0.09	1.67±0.05	1.64±0.03
C_{DL} (μF)	0.43±0.08	11±3	19±5	14±4

Po aktivaci elektrody došlo k výraznému snížení odporu přenosu náboje (R_{CT} , viz Tabulka 2) z 196 ± 51 Ω (nemodifikovaná GCE) na 83 ± 17 Ω (Elektrochemicky aktivovaná GCE), což naznačuje zlepšenou kinetiku

elektronového přenosu. Tento jev je běžně pozorován u elektrod, jejichž povrch byl aktivován elektrochemickými metodami, které zvyšují hustotu funkčních skupin a zlepšují vodivost. (Ardakani et al., 2007)

Hodnota Warburgova koeficientu se mírně zvýšila z $1,4 \pm 0,4$ na $1,70 \pm 0,09$ $\text{m}\Omega \cdot \text{s}^{-1/2}$, což může být důsledkem změn v porézności nebo struktuře povrchu elektrody po aktivaci. Tento rozdíl je však relativně malý a neindikuje zásadní omezení difuze iontů. (Pournaghi-Azar & Ojani, 2000)

Nejvýraznější změna byla pozorována v kapacitanci dvojité vrstvy (C_{DL}), která se zvýšila z $0,43 \pm 0,08$ μF na 11 ± 3 μF . Tento nárůst svědčí o výrazném zvětšení elektrochemicky aktivní plochy elektrody, což je typické pro povrchy s vyšší porozitou nebo větší hustotou funkčních skupin vzniklých během voltametrické aktivace. (Basant Lal & Pankaj Chauhan, 2023)

Dále elektrochemicky aktivované GCE vykazovaly pokles R_{CT} o 50 ± 9 % po inkubaci v acetátovém pufru. Tento jev lze přičíst protonizaci povrchových skupin v kyselém prostředí, která usnadnila transport ferrikyanidových aniontů směrem k povrchu elektrody.

Naopak po inkubaci v roztoku obsahujícím IB ($10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) došlo k nárůstu R_{CT} o 39 ± 13 %, pravděpodobně v důsledku adsorpce molekul IB na povrchu elektrody, která mohla částečně blokovat aktivní místa a tím omezit přenos náboje.

4.3 Elektrochemické stanovení polutantů

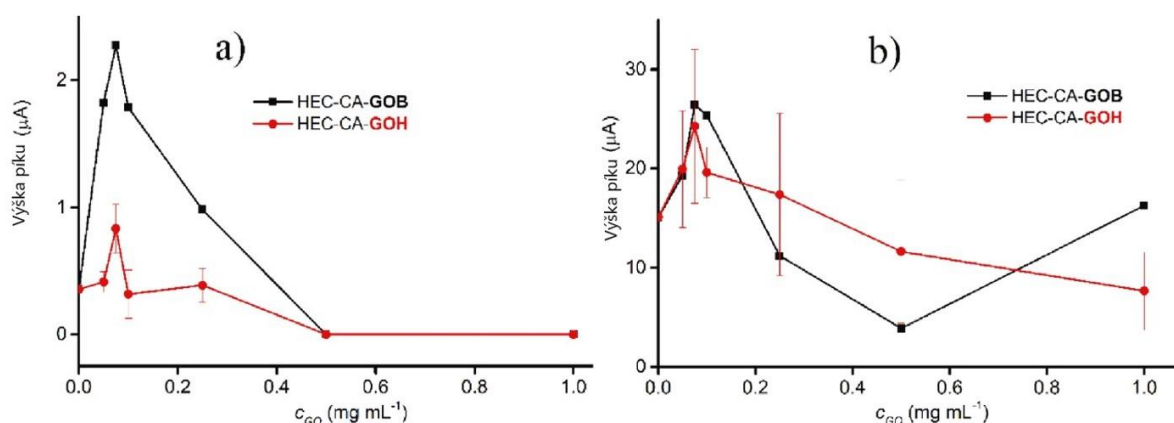
4.3.1 Stanovení těžkých kovů pomocí elektrody ze skleného uhlíku modifikované hydrogelem hydroxyethylcelulózy-kyseliny citronové s přídavkem grafen oxidu

V rámci mé diplomové práce byly testovány elektrody modifikované hydrogelem HEC-CA (Sotolářová Jitka, 2020). Do tohoto hydrogelu byl přidán

GO, připravený buď Brodieho nebo Hummersovou metodou s cílem zjistit, zda přítomnost GOB(H) v hydrogelu HEC-CA-GOB(H) ovlivňuje detekci iontů Pb^{2+} .

GCE elektrody byly modifikovány hydrogely HEC-CA s různými koncentracemi GOB(H): 0,05; 0,075; 0,1; 0,25; 0,5 a 1 $mg \cdot ml^{-1}$. Tyto elektrody byly následně inkubovány po dobu 1 minuty v roztocích obsahujících Pb^{2+} o koncentracích 0,5 $mg \cdot l^{-1}$ a 5 $mg \cdot l^{-1}$.

Po sorpci byly elektrody přeneseny do jiné elektrochemické cely, kde byla provedena anodická rozpouštěcí voltametrie se čtvercovou vlnou (ASSWV). Výška voltametrických píků, která odráží množství olova nasorbovaného do vrstvy HEC-CA-GO během prvního kroku, byla zaznamenána a zobrazena v grafech v závislosti na koncentraci GO v hydrogelu (viz obrázek 14).

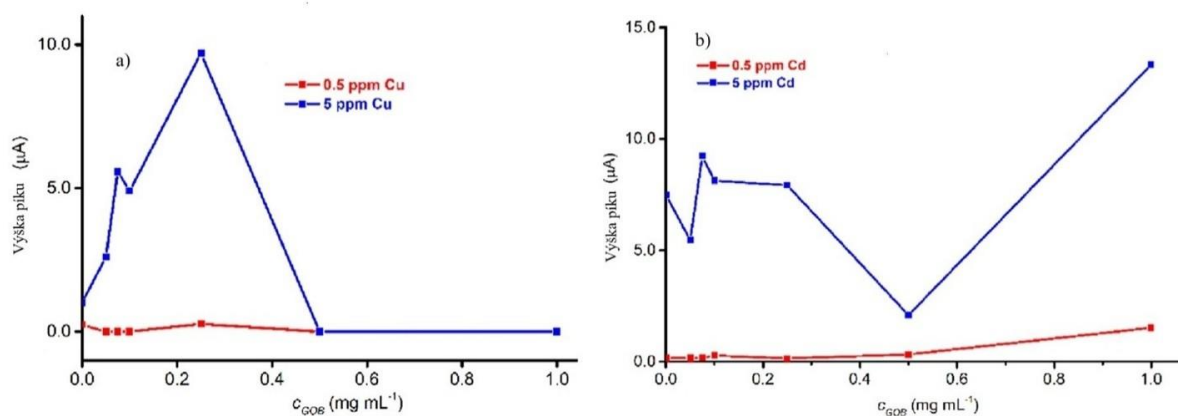


Obrázek 14: Závislost výšky píku ASSWV na koncentraci GOB (černá) a GOH (červená) v matrici HEC-CA dosažená v 0,5 $mg \cdot l^{-1}$ Pb^{2+} (a) a 5 $mg \cdot l^{-1}$ Pb^{2+} (b) (Sotolarova et al., 2024)

Při koncentraci 0,5 $mg \cdot l^{-1}$ Pb^{2+} byla nejvyšší odezva pozorována u hydrogelu obsahujícího GOB v koncentraci 0,075 $mg \cdot ml^{-1}$. Přidáním takto malého množství GOB se výška píku zvýšila až šestinásobně oproti hydrogelu bez GO. Hydrogel s GOH vykazoval ve srovnání s GOB nižší odezvu. Podobný trend byl pozorován i při koncentraci 5 $mg \cdot l^{-1}$ Pb^{2+} , kdy opět nejvyšší výška píku odpovídala

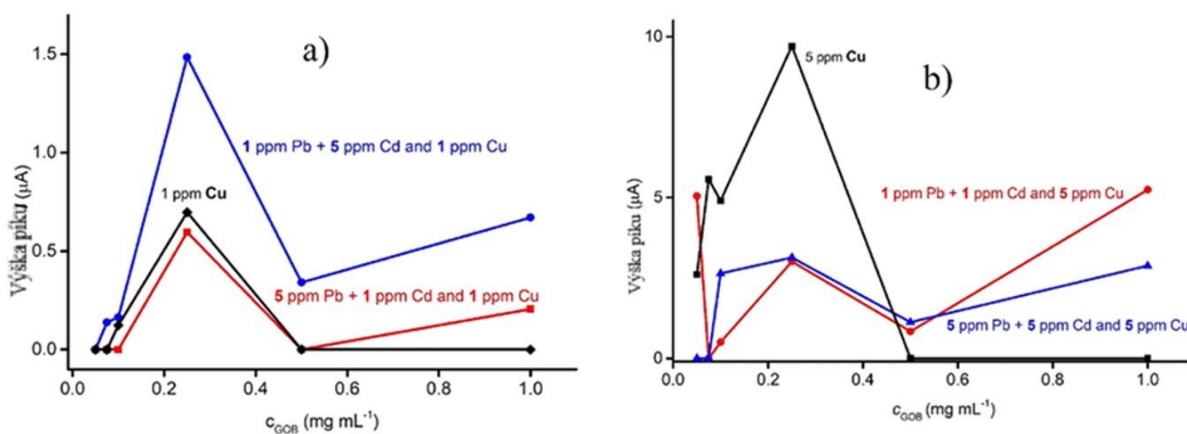
koncentraci $0,075 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ GOB. Pro další měření byl proto zvolen hydrogel obsahující GOB.

Kromě iontů Pb^{2+} byly GCE modifikované hydrogely HEC-CA s různými koncentracemi GOB testovány také pro detekci iontů Cu^{2+} a Cd^{2+} (viz. Obrázek 15). Koncentrace těchto iontů byla rovněž $0,5$ a $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. U Cd^{2+} nebyl vliv přídavku GOB významný a výsledky byly poměrně nejednoznačné. Naproti tomu u Cu^{2+} ($5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) došlo při koncentraci $0,25 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ GOB k výraznému zvýšení výšky píku – z $1,01 \mu\text{A}$ u nemodifikovaného HEC-CA až na $9,7 \mu\text{A}$, tedy téměř desetinásobně.

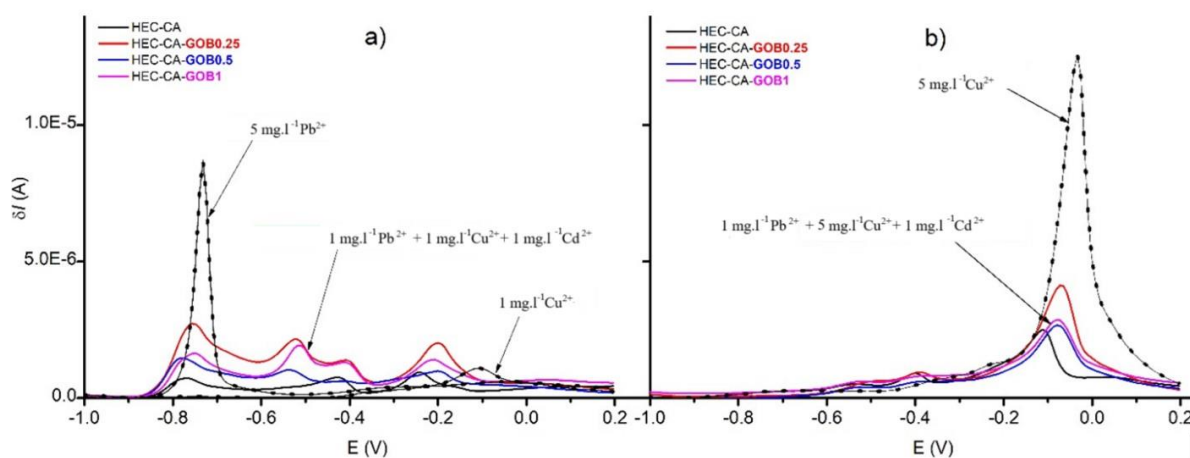


Obrázek 15: Závislost výšky píků ASSWV na koncentraci GOB dosažená při 0,5 (červená) a 5 (modrá) ppm Cu^{2+} (a) a Cd^{2+} (b). (Sotolarova et al., 2024)

Testovány byly také možné interakce mezi jednotlivými kovovými ionty, pokud byly přítomny ve stejném roztoku v různých koncentracích.



Obrázek 16: Výšky píků ASSWV pro Cu^{2+} vynesené v závislosti na koncentraci GOB v matrici HEC-CA. a) černá-samotný Cu^{2+} o koncentraci 1mg.l^{-1} ; modrá – 1mg.l^{-1} Cu^{2+} v kombinaci z 5mg.l^{-1} Cd^{2+} a 1mg.l^{-1} Pb^{2+} ; červená – 1mg.l^{-1} Cu^{2+} v kombinaci z 1mg.l^{-1} Cd^{2+} a 5mg.l^{-1} Pb^{2+} ; b) černá-samotný Cu^{2+} o koncentraci 5mg.l^{-1} ; modrá – 5mg.l^{-1} Cu^{2+} v kombinaci z 1mg.l^{-1} Cd a 1mg.l^{-1} Pb^{2+} ; červená – 5mg.l^{-1} Cu^{2+} v kombinaci z 5mg.l^{-1} Cd a 5mg.l^{-1} Pb^{2+} (Sotolarova et al., 2024)



Obrázek 17: Ilustrativní voltamogram ASSWV získané pro elektrody potažené nanokompozity HEC-CA-GOB s různou koncentrací GOB (vyznačeno v jednotlivých grafech). Měření provedená ve „dvoustupňovém“ uspořádání, přičemž prvním krokem byla 5minutová sorpce kovu na povrch elektrody ze směsi. Druhým krokem byla ASSWV ve 100mM KCl okyseleném na $\text{pH}=2$. Pro srovnání jsou uvedeny ilustrační voltamogramy získané s HEC-CA-GOB0,075 (pouze pro 5ppm Pb^{2+} v c) a d)) a HEC-CA-GOB0,25 (pro všechny ostatní kovy) (kombinované čárkované a tenké plné čáry) jako

odezvy elektrody za stejných podmínek, ale v přítomnosti pouze jednoho kovu.: (Sotolarova et al., 2024)

Z obrázků 16 a 17 je patrný pozitivní vliv GOB při koncentraci $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ v kombinaci s $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ a $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$, kdy elektrochemická odezva pro Cu^{2+} byla přibližně dvojnásobně zvýšena při použití optimální koncentrace GOB. Zajímavé je, že tento nárůst nebyl pozorován v přítomnosti $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ a $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$, což naznačuje, že kationty Pb^{2+} mohou účinněji obsazovat vazebná místa v HEC-CA-GOB než kationty Cd^{2+} .

Přítomnost Pb^{2+} a Cd^{2+} vedla k výraznému potlačení voltametrické odezvy Cu^{2+} ($5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) v přítomnosti $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ a $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$. Naopak elektrody s nejvyšší koncentrací GOB ($1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) v hydrogelu HEC-CA vykazovaly mírně až výrazně vyšší odpověď pro Cu^{2+} i v přítomnosti $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ a Pb^{2+} .

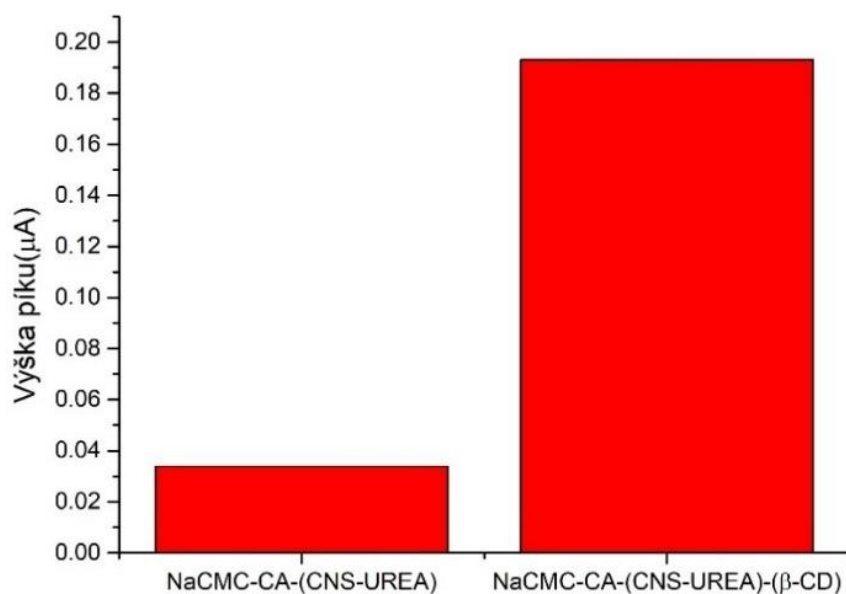
V nepřítomnosti těchto kovů nebyla pozorována žádná elektrochemická odezva pro Cu^{2+} . Lze tedy konstatovat, že přidavek GOB neměl výrazný vliv na selektivitu vůči Cd^{2+} , mírně zlepšil selektivitu vůči Pb^{2+} a výrazně zlepšil selektivitu vůči Cu^{2+} .

4.3.2 Stanovení ibuprofenu

Pro detekci molekul IB byl jako elektrolyt zvolen acetátový pufr (AB), který se podle literatury jeví jako nejvhodnější médium pro tento typ analýzy. Jeho vhodnost byla potvrzena například ve studii Matijašević et al. (2023) a rovněž ve výzkumu Mekassa et al. (2018), kde byl AB úspěšně použit při elektrochemických detekcích IB.

Nejprve byla testován vliv přítomnosti β -CD v hydrogelu NaCMC-CA, který obsahoval CNS-UREA. Směsi, z nichž byly připravovány hydrogely (viz Metodika) byly připraveny smícháním v objemovém poměru 1:1:1 roztoků NaCMC ($1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), CA (10 mM), β -CD (10 mM) a CNS-Urea o koncentraci ve

finální směsi $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Koncentrace IB v elektrolytu AB byla $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a pH AB bylo 5.

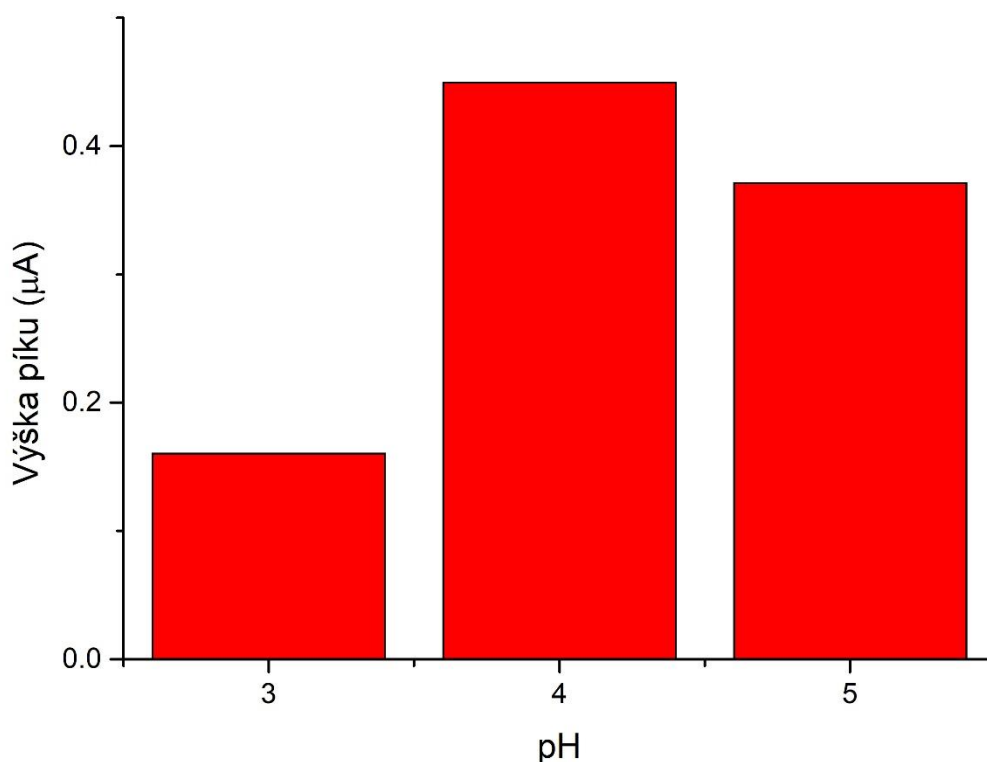


Obrázek 18: Závislost výšky píku za použití hydrogelu NaCMC-CA-(CNS-UREA) a hydrogelů obohaceného o β -CD

Jak je patrné z obrázku 18, výška voltametrického píku se díky přítomnosti β -CD zvýšila až šestinásobně – z $0,03 \mu\text{A}$ na $0,19 \mu\text{A}$. Na základě tohoto výsledku byla pro další experimenty zvolena směs NaCMC-CA-(CNS-UREA)-(β-CD) jako nejvhodnější modifikační hydrogel.

Byly provedeny experimenty zaměřené na stanovení optimálního pH acetátového pufru (AB) pro detekci IB. Testovány byly tři hodnoty pH: 3, 4 a 5, přičemž byla použita GCE elektroda modifikovaná hydrogelem NaCMC-CA-(CNS-UREA)-(β-CD). Složení hydrogelu bylo následující:

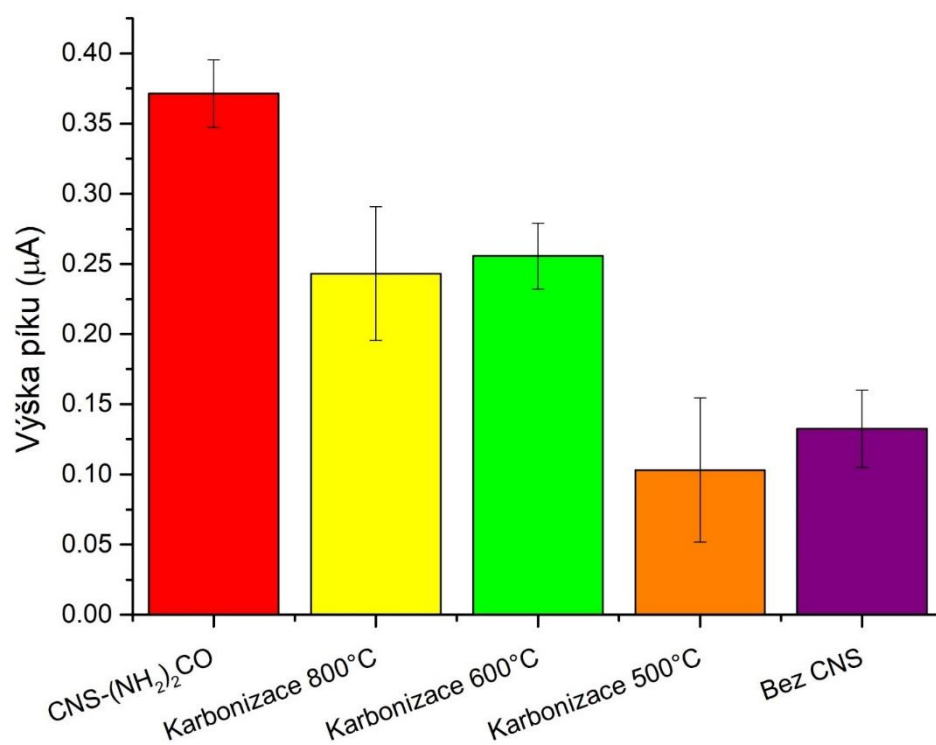
- NaCMC: $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$
- CA (kyselina citronová): 10 mM
- β -CD (β -cyklodextrin): 10 mM
- CNS-UREA: $5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$



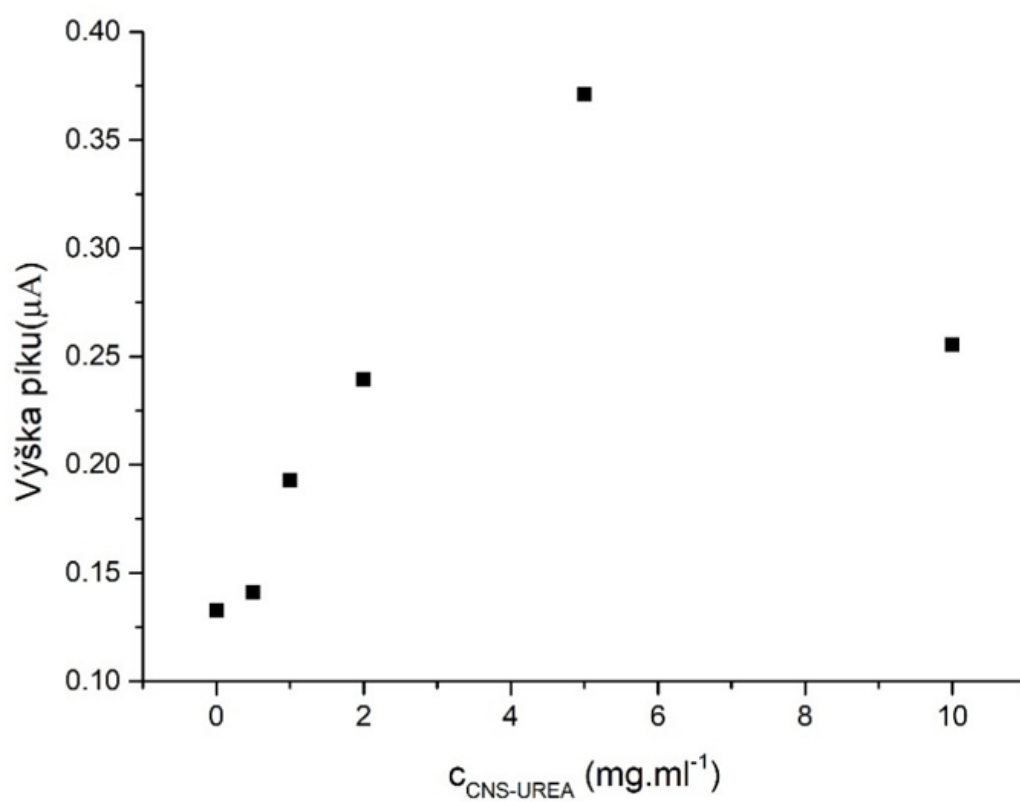
Obrázek 19: Závislost výšky píku pro AB o různém pH

Jak vyplývá z výsledků zobrazených na obrázku 19, nejlepší elektrochemická odezva byla dosažena při pH 4. Tento výsledek potvrzuje, že pH je klíčovým faktorem ovlivňujícím efektivitu detekce IB.

Kromě CNS dopovaných močovinou byly k dispozici i další typy CNS, které se lišily teplotou karbonizace (500, 600 a 800 °C). Ve všech těchto testech zůstalo složení hydrogelu, pH AB a koncentrace IB konstantní; výsledná koncentrace CNS byla místo $1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ nově nastavena na $5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Z výsledků (obr. 20) vyplývá, že žádné z testovaných CNS neposkytovaly lepší výsledek než CNS-UREA. Následně byl testován vliv jejich koncentrace v hydrogelu na elektrochemickou odezvu. Testována koncentrace CNS-UREA v hydrogelu byla konkrétně 0,5; 1; 2; 5 a $10 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.



Obrázek 20: CNS připravené různými způsoby v (β -CD)-NaCMC-CA hydrogelu



Obrázek 21: Závislost výšky píku na koncentraci CNS-UREA

Z obrázku 21 je patrné, že z testovaných koncentrací CNS-UREA se jako optimální jeví koncentrace $5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Ostatní koncentrace – jak nižší, tak vyšší – nevykazovaly tak silnou elektrochemickou odezvu, což může souviset s optimální interakcí mezi nanočásticemi a molekulami IB právě v tomto rozmezí koncentrace. Na základě těchto výsledků byla koncentrace CNS-UREA pro další experimenty nastavena na $5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Po výběru optimálního typu CNS a nastavení měřicích podmínek byly sestrojeny kalibrační závislosti. Ty byly vyhodnoceny na základě elektrochemické odezvy tří typů elektrod:

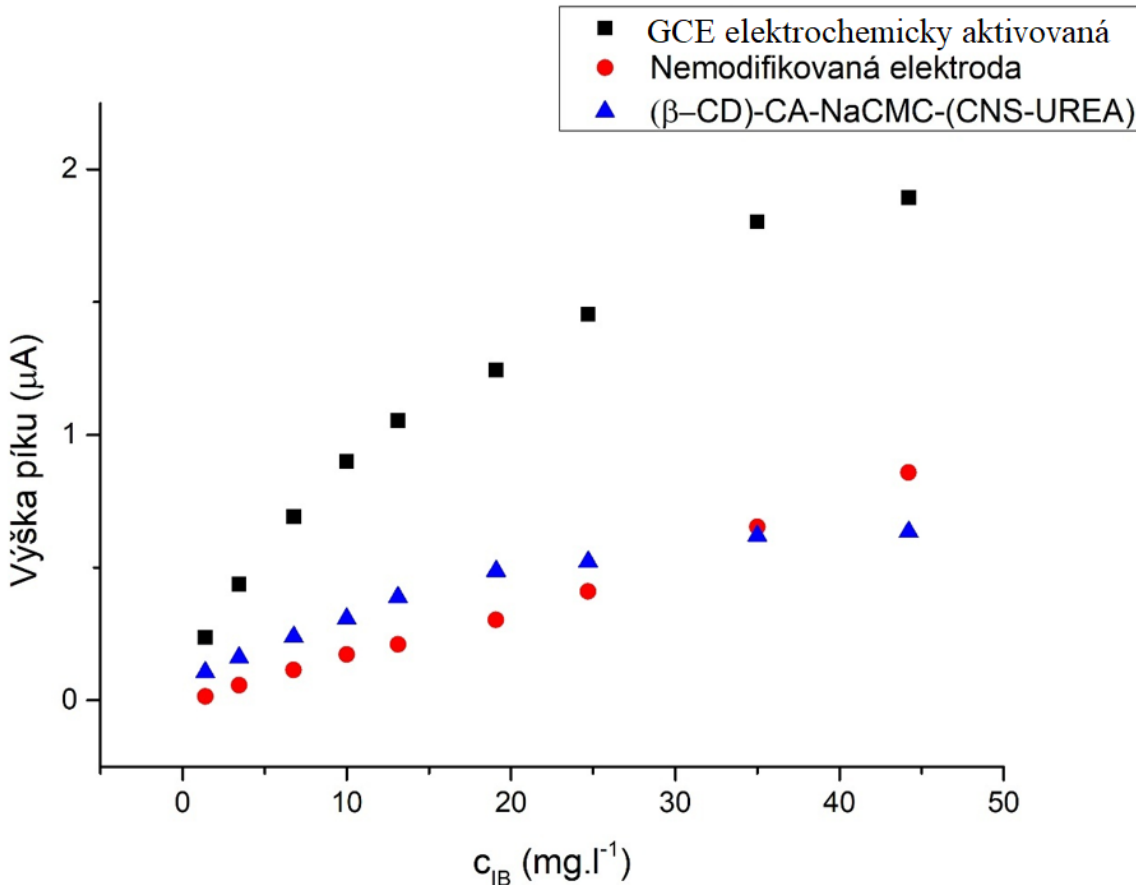
- GCE modifikované hydrogелем obsahujícím β -CD–NaCMC–CA–(CNS-UREA),
- elektrochemicky aktivované GCE (parametry v bodě 3.1.2.)
- nemodifikované GCE

Pro kalibraci bylo použito rozmezí koncentrací IB od $1,4 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ do $45 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Z analýzy získaných kalibračních křivek (Obrázek 22) je patrné, že lineární vztah mezi koncentrací IB a elektrochemickou odezvou se u jednotlivých modifikovaných elektrod projevuje v rozmezí $1,4 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ až $13 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

Z lineárních částí kalibračních křivek byly vypočítány parametry citlivosti a meze detekce (LOD), které jsou uvedeny v Tabulce 3. Z těchto údajů vyplývá, že modifikace GCE pomocí hydrogelu (β -CD)-NaCMC-CA-(CNS-UREA) vedla pouze k nepatrnému zlepšení výšky píku v lineární oblasti kalibrační křivky.

Citlivost této elektrody dosáhla hodnoty $0,0236 \text{ }\mu\text{A}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$, což je sice zlepšení oproti nemodifikované GCE ($0,0168 \text{ }\mu\text{A}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$), avšak hodnota LOD se naopak zhoršila – z $2,009 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (nemodifikovaná GCE) na $11,20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. To naznačuje, že přídavek tohoto hydrogelu nezajistil požadované zlepšení detekce pro danou analytickou aplikaci.

Naopak u elektrochemicky aktivované GCE bylo pozorováno zvýšení výšky píku v lineární oblasti kalibrační křivky, což svědčí o lepší elektrochemické odezvě ve srovnání s nemodifikovanou elektrodou. Z vypočtených hodnot vyplývá, že tato modifikace vedla ke zlepšení citlivosti ($0,068 \mu\text{A}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$) i LOD ($1,487 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$), což činí tuto úpravu výhodnější pro detekci IB v širším rozsahu koncentrací.



Obrázek 22: Kalibrační křivky pro IB

Tabulka 3: Získané citlivosti a LOD pro jednotlivé modifikace GCE

	LOD [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	Citlivost [$\mu\text{A}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$]
GCE elektrochemicky aktivovaná	1,486635	0,068
Nemodifikovaná GCE	2,009	0,01680
$(\beta\text{-CD})\text{-NaCMC-CA-(CNS-UREA)}$	11,20	0,0236

Pro porovnání s jinými studii lze uvést práci Mekassy et al. (Mekassa et al., 2018), ve které byl pro detekci IB použit GCE modifikovaný poly(L-asparagovou kyselinou). V této studii byla uvedena mez detekce (LOD) ve výši $0,1527 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. V jiné studii od Rivera-Hernández et al. (Rivera-Hernández et al., 2016) byla pro detekci IB použita kompozitní uhlíková pasta s vícestěnnými uhlíkovými nanotrubičkami, přičemž dosažená LOD činila $1,87 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

Po získání kalibračních křivek pro jednotlivé elektrody bylo následně zkoumáno, zda lze elektrochemicky aktivovanou GCE použít pro měření reálného obsahu IB v tabletách, konkrétně v tabletách Ibalginu®. Měření reálného obsahu IB bylo provedeno tři krát po sobě, pro zajištění přesnosti měření a spolehlivosti výsledků. Tento experiment tak sloužil jako první krok k validaci elektrody pro reálné aplikace v analytických procesech, zaměřených na detekci léčiv a jiných bioaktivních sloučenin ve farmaceutických vzorcích.

Tabulka 4: Naměřené koncentrace IB obsažené v tabletě Ibalginu® pro elektrochemicky aktivovanou GCE

	1. měření	%	2. měření	%	3. měření	%
C_{IB} v tabletě ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	373,3	93	367,3	92	274,6	69

Tabulka 5: Naměřené koncentrace IB obsažené v tabletě Ibalginu® pro nemodifikovanou GCE

	1. měření	%	2. měření	%	3. měření	%
C_{IB} v tabletě ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	682,7	171	588,2	147	615,3	154

Výrobce deklaruje, že každá tableta léčivého přípravku Ibalgin® obsahuje 400 mg účinné látky – ibuprofenu (IB).

Při prvním měření (Tabulka 4) bylo dosaženo přibližně 93 % hodnoty deklarované výrobcem, což svědčí o velmi dobré schopnosti senzoru přesně kvantifikovat obsah IB ve vzorcích tablet. Tato hodnota je v souladu s očekávanými výsledky a potvrzuje vhodnost senzoru pro analytické aplikace v oblasti farmaceutické analýzy. Při druhém měření bylo zaznamenáno mírně snížení oproti první detekci, a to na 92 %. Tento drobný pokles lze přičíst interferenčním účinkům dalších složek přítomných v tabletě a snížením elektrokatalyticky funkčních skupin. Přesto se jedná o uspokojivý výsledek, který nadále potvrzuje spolehlivost senzoru. Třetí měření však vykazovalo výrazný pokles a to na 69 % oproti údajům udávaným výrobcem, což může indikovat problémy spojené s opotřebením či kontaminací povrchu elektrody. K možným příčinám patří znečištění elektrody během předchozích analýz, změna elektrochemických vlastností povrchu modifikované elektrody nebo saturace aktivního materiálu senzoru. Další významný vliv mohou mít i pomocné látky obsažené v tabletě, které mohou interagovat s povrchem elektrody a tím ovlivnit její selektivitu a stabilitu.

Pro srovnání byla měření provedena rovněž s nemodifikovanou elektrodou (Tabulka 5). Výsledky ukázaly, že naměřené koncentrace ibuprofenu byly výrazně nadhodnoceny ve srovnání s výrobcem deklarovanou hodnotou. Konkrétně:

- při prvním měření byla koncentrace vyšší o 71 %
- při druhém o 47 %
- a při třetím o 54 %

Tyto hodnoty naznačují, že nemodifikovaná elektroda vykazuje nižší selektivitu a vyšší náchylnost k interferencím z jiných složek vzorku. Je pravděpodobné, že

v důsledku absence specifické úpravy povrchu dochází k zesílené odezvě i na jiné látky přítomné v tabletě, což vede k systematickému nadhodnocení výsledné koncentrace. Tento fakt podtrhuje význam modifikace elektrody pro dosažení specifické, přesné a reprodukovatelné detekce ibuprofenu.

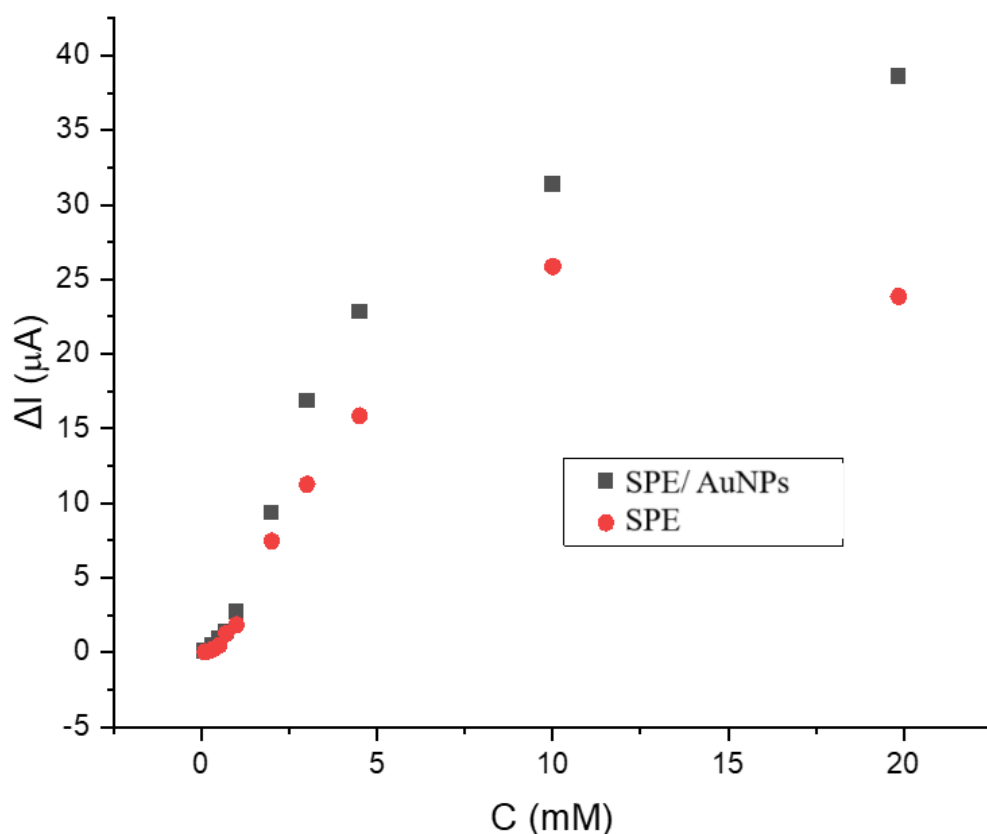
Z těchto výsledků je patrné, že modifikovaný senzor vykazuje výrazně lepší analytické vlastnosti než nemodifikovaná elektroda, a to zejména z hlediska přesnosti a selektivity. Další vývoj by se měl zaměřit na zvýšení stability a odolnosti senzoru při opakovaném použití.

4.3.3 Stanovení měďnatých iontů pomocí zlatých nanočástic

Byl vyvinut elektrochemický biosenzor pro detekci glukózy (Glu), který využívá tištěné uhlíkové elektrody (SPE) ve spojení se syntetizovanými zlatými nanočásticemi (AuNPs) a imobilizovaným enzymem glukóza oxidázou (GOx). Cílem tohoto výzkumu bylo otestovat, zda takto připravený biosenzor bude fungovat i jako senzor těžkých kovů, které reverzibilně inhibují GOx a tudíž snižují odezvu biosenzoru v přítomnosti konstantní koncentrace Glu. Na začátku byly připraveny dva typy biosenzorů:

- Biosenzor bez AuNPs,
- Biosenzor s AuNPs, které byly nanášeny na povrch SPE pomocí elektrochemické depozice.

Syntéza AuNPs probíhala z 3 mM roztoku HAuCl₄ rozpuštěného v 0,2 M H₂SO₄, přičemž elektroda byla polarizována na -0,2 V po dobu 60 sekund. Tento krok měl za cíl ověřit, zda přítomnost AuNPs zvyšuje elektrochemický signál biosenzoru při stejné koncentraci glukózy.



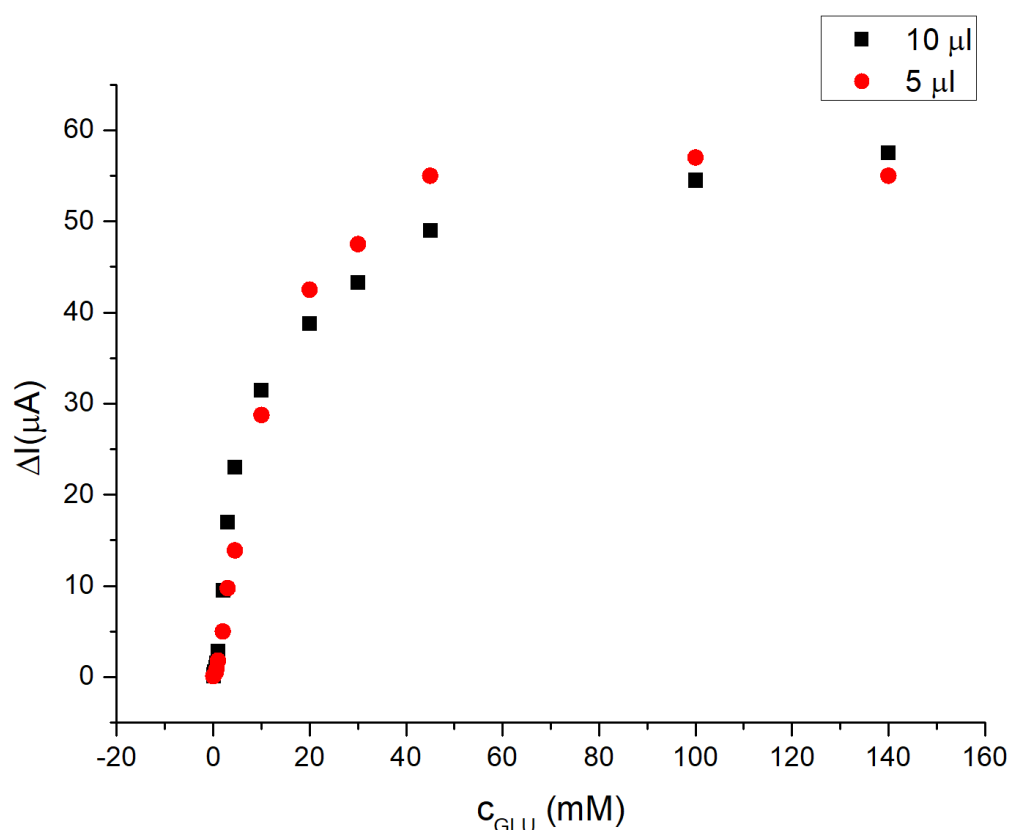
Obrázek 23: Chronoampérometrická odezva biosensoru bez a s AuNPs na různé koncentrace glukózy

Obrázek 23 ilustruje, že elektrody se syntetizovanými AuNPs vykazují vyšší proudovou odezvu než elektrody bez AuNPs, a to při různých koncentracích glukózy. Tento výsledek naznačuje, že přítomnost AuNPs zlepšuje elektrochemickou aktivitu biosenzoru, což vede k vyšší citlivosti při detekci glukózy. Vyšší proudová odezva může být způsobena zlepšenou elektrickou vodivostí a větší dostupností aktivních míst pro enzymatické reakce díky nanostrukturovanému povrchu elektrody, který AuNPs vytvářejí.

Na základě těchto pozorování a dosažených výsledků bylo rozhodnuto, že AuNPs připravené syntézou budou využívány i v dalších experimentech.

V dalším kroku experimentu byla pozornost zaměřena na optimalizaci objemu enzymu GOx potřebného pro modifikaci SPE. Byly provedeny testy s různými objemy roztoku GOx (koncentrace 40 mg/ml), konkrétně 5 μl a 10 μl . Cílem bylo zjistit, který objem poskytne nejlepší elektrochemickou odezvu, klíčovou pro maximální citlivost biosenzoru.

Výsledky (obrázek 24) ukázaly, že biosenzor připravený s použitím 5 μl GOx generoval vyšší proudovou odezvu než biosenzor s 10 μl GOx. Např. hodnota u 40 mM Glu je o 12% větší u objemu 5 μl než 10 μl . Lze to vysvětlit lepším uspořádáním enzymu, při depozici z menšího objemu roztoku.



Obrázek 24: Různý objem GOx (40 mg/ml). Podmínky: AuNPs byly elektrodeponovány z 3 mM H_{AuCl}4 obsahujícího 0,2M H₂SO₄ při -0,2 V po dobu 60 s

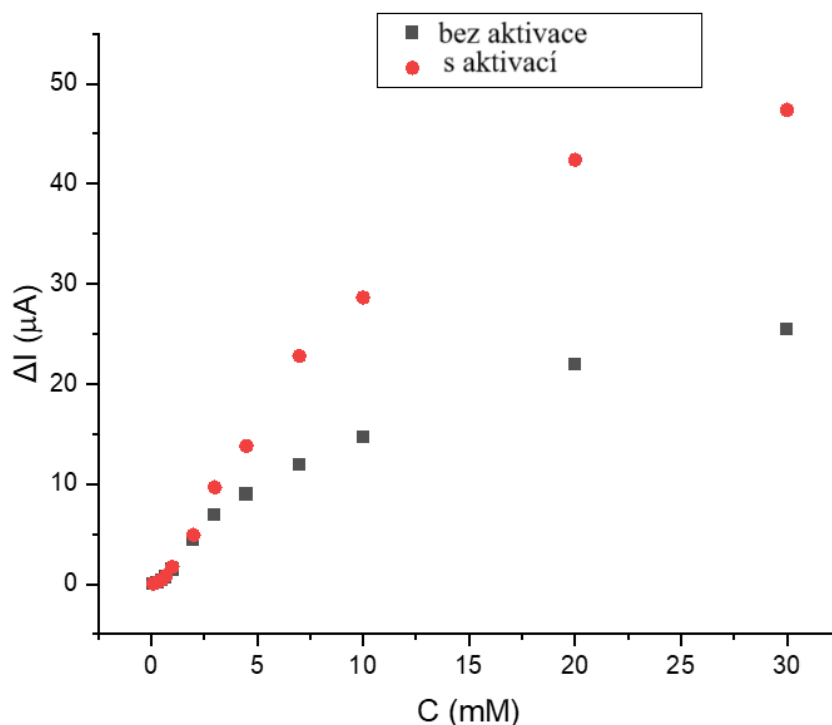
Dalším krokem v optimalizaci výkonu biosenzoru bylo zaměření na aktivaci povrchu SPE elektrody se syntetizovanými AuNPs. Aktivace povrchu elektrody

je klíčovým procesem, který může významně ovlivnit elektrochemické vlastnosti biosenzoru, zejména jeho citlivost a stabilitu.

K aktivaci povrchu byla použita cyklická voltametrie v 0,5 M roztoku kyseliny sírové (H_2SO_4). Tento postup je běžně využíván (Jusys et al. 2000) k odstranění kontaminantů, vyčištění povrchu elektrody a vytvoření optimální struktury pro adsorpci dalších materiálů, jako je enzym GOx, který je zásadní pro detekci glukózy.

Cyklická voltametrie byla prováděna v rozsahu napětí, který umožňuje efektivní aktivaci zlatého povrchu. Tento proces vyvolal oxidačně-redukční reakce na povrchu AuNPs, což vedlo k vytvoření vrstvy vhodné pro další modifikaci a interakci s enzymy.

Pro vyhodnocení účinnosti aktivace byly porovnány výsledky elektrochemických měření provedených na elektrodách s aktivací a bez aktivace. Porovnání (Obrázek 25) ukázalo, že aktivované elektrody vykazovaly výrazně lepší elektrochemické parametry, např. u koncentrace Glu 20 mM bylo zvýšení téměř o 50 % , včetně vyšší proudové odezvy a lepší stability signálu během měření.



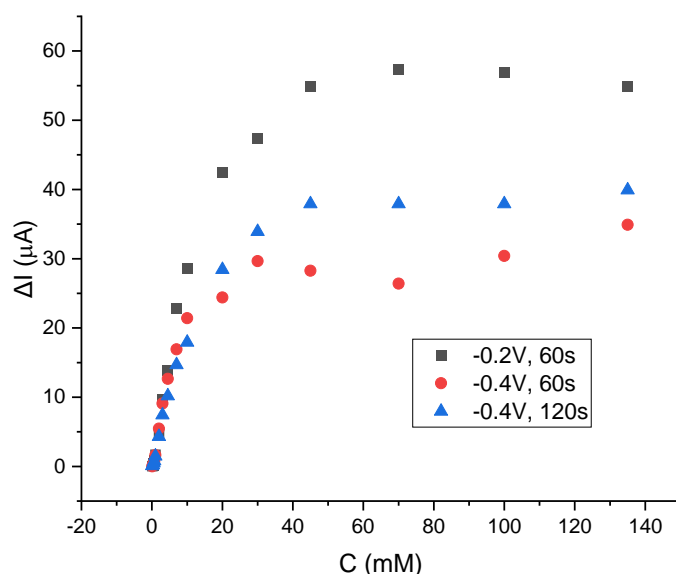
Obrázek 25: Účinek aktivace pomocí H_2SO_4

Další krok experimentu byl zaměřen na porovnání různých podmínek syntézy AuNPs na povrchu elektrody, pro identifikaci parametrů vedoucí k dosažení nejvyšší proudové odezvy a citlivosti biosenzoru. Klíčové bylo otestovat různé hodnoty potenciálu a doby trvání depozice, protože tyto faktory zásadně ovlivňují kvalitu přípravy elektrody a její citlivost při detekci glukózy.

Pro tento účel byla použita chronoamperometrie, elektrochemická technika, která měří proud jako funkci času při konstantním napětí. V rámci této metody byly testovány tři různé podmínky syntézy AuNPs:

- $-0,2$ V po dobu 60 sekund
- $-0,4$ V po dobu 60 sekund
- $-0,4$ V po dobu 120 sekund

Všechny tři metody byly vyhodnoceny na základě proudové odezvy biosenzoru získané chronoamperometricky v přítomnosti zvyšujících se přídavků glukózy. Cílem bylo zjistit, která kombinace napětí a doby depozice poskytuje nejvyšší citlivost pro detekci glukózy.



Obrázek 26: Srovnání různých parametrů elektrodepozice AuNPs

Obrázek 26 zobrazuje různé proudové odezvy, které byly dosaženy při různých podmínkách syntézy AuNPs. Získaná data naznačují, že nejvyšší proudová odezva byla pozorována při použití depozičního potenciálu -0,2 V po dobu 60 sekund. Vzhledem k těmto výsledkům bylo rozhodnuto tento režim (depozice při -0,2 V po dobu 60 s) zvolit pro všechny následující experimenty, protože přinesl nejvyšší citlivost a stabilitu biosenzoru.

Byla provedena úprava imobilizačního procesu, aby se zlepšila stabilizace enzymu na povrchu elektrody. Prvním krokem bylo snížení koncentrace GOx z původních 40 mg/ml na 10 mg/ml.

Další úprava se týkala prodloužení doby působení GA, který slouží jako fixační činidlo pro imobilizaci GOx. Původně byla doba působení GA nastavena na 15 minut, což se ukázalo jako nedostatečné pro zajištění dostatečně silného a stabilního uchycení enzymu na povrchu elektrody. Pro zlepšení stability a pevnosti imobilizace byla doba působení GA prodloužena na 20 minut. Tento

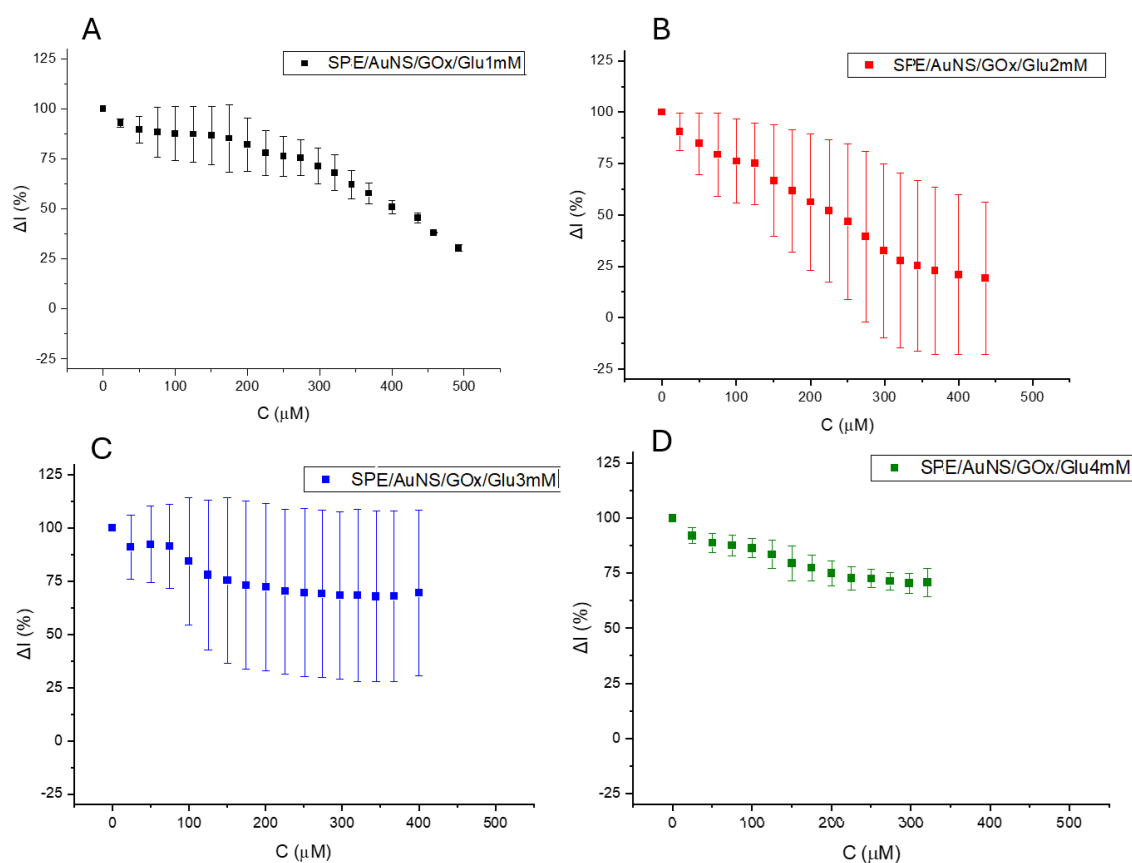
krok umožnil lepší kovalentní vazby mezi GA a GOx, čímž se zajistila stabilnější imobilizace a zlepšila se dlouhodobá stabilita biosenzoru.

Tato kombinace snížené koncentrace GOx a prodloužené doby působení GA vedla ke zlepšení konzistence odezvy biosenzoru. Po těchto úpravách byly elektrody s imobilizovaným GOx schopny generovat stabilnější a opakovatelné signály, což výrazně zlepšilo jejich citlivost v dalších experimentech.

Při zkoumání inhibice aktivity enzymu GOx ionty Cu^{2+} bylo nezbytné nejprve stanovit optimální koncentraci glukózy (Glu) pro následná měření a analýzu inhibičního efektu. Za tímto účelem byly testovány různé koncentrace Glu: 1 mM, 2 mM, 3 mM a 4 mM, aby se zjistilo, při které koncentraci biosenzor vykazuje nejlepší a nejstabilnější elektrochemickou odezvu.

Během těchto experimentů byly k roztokům glukózy přidávány různé koncentrace iontů Cu^{2+} , aby se vyhodnotil jejich inhibiční vliv na GOx, což se projevuje snížením proudové odezvy biosenzoru. Cílem bylo zjistit, jaké koncentrace Cu^{2+} způsobují nejvýznamnější inhibici a jak tento proces koreluje s různými koncentracemi Glu.

AuNPs, které byly použity v těchto experimentech, byly připraveny elektrochemickou syntézou z 3 mM HAuCl_4 v kombinaci s 0,2 M H_2SO_4 . Syntéza probíhala za podmínek aplikovaného napětí -0,2 V po dobu 60 sekund.



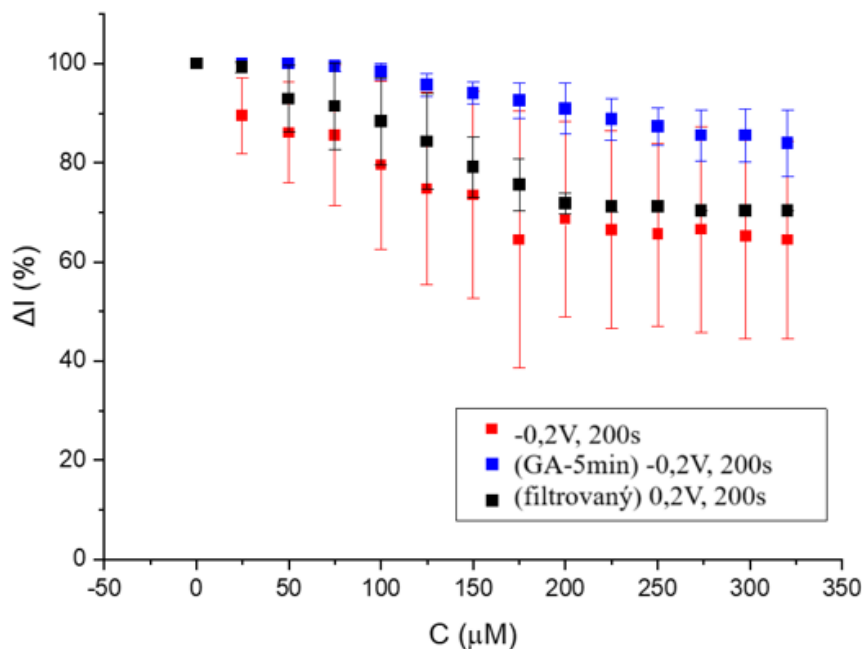
Obrázek 27: Závislost proudu na koncentraci Cu^{2+} při různé koncentraci glukózy. A–1 mM Glu, B–2 mM Glu, C–3 mM Glu a D–4 mM Glu.

Obrázek 27 znázorňuje závislost proudové odezvy biosenzoru na koncentraci iontů Cu^{2+} při různých koncentracích glukózy, měřenou pomocí elektrody typu SPE/AuNPs/GOx. Na obrázcích A, B a C jsou zobrazeny měření při koncentracích glukózy 1 mM, 2 mM a 3 mM. Tyto grafy ukazují relativně špatnou opakovatelnost měření, což je doprovázeno širšími chybovými úsečkami.

Na obrázku 27D, který zobrazuje výsledky měření při koncentraci Glu 4 mM, byla pozorována výrazně lepší opakovatelnost měření. V tomto případě byly chybové úsečky podstatně menší, což ukazuje na stabilnější a konzistentní elektrochemickou odezvu biosenzoru.

Na základě těchto výsledků, které ukazují na lepší opakovatelnost a stabilitu při 4 mM Glu, byly pro následné experimenty vybrány právě 4 mM Glu jako optimální koncentrace pro testování vlivu iontů Cu^{2+} na aktivitu GOx.

Vzhledem k tomu, že odezva z biosenzoru na přítomnost Cu^{2+} nebyla uspokojivá byly testovány i jiné způsoby přípravy nanočástic. Kromě roztoku 3 mM HAuCl_4 v kombinaci s 0,2 M H_2SO_4 , byl otestován i 10 mM roztok HAuCl_4 smíchaným s 0,1 M KNO_3 za podmínek syntézy -0,2V po dobu 200 s. Také byla upravena metodika imobilizace enzymu GOx. Původní protokol imobilizace, který zahrnoval standardní vystavení elektrody roztoku GA, byl vylepšen tím, že elektrody byly vystaveny parám GA po dobu 5 minut před zahájením standardního imobilizačního procesu. Tato úprava měla za cíl zlepšit vazbu mezi GA a povrchem elektrody, což vedlo k pevnější a stabilnější imobilizaci GOx. Po této úpravě bylo dosaženo výrazného snížení chybových úseček a zlepšení stability elektrochemické odezvy biosenzoru, jak ukazují výsledky na obrázku 28.

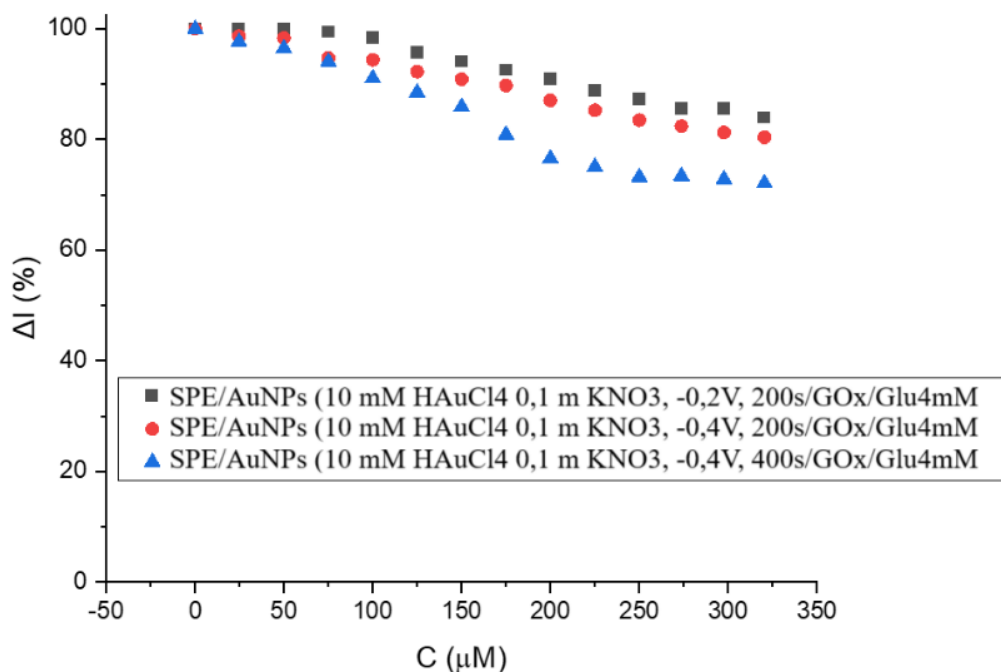


Obrázek 28: Vliv úpravy metodiky imobilizace enzymu GOx

Na obrázku 29 je prezentována srovnávací analýza inhibičního účinku iontů Cu^{2+} na aktivitu GOx za různých podmínek depozice AuNPs depozičního potenciálu a době trvání depozice. Testovány byly tři různé podmínky syntézy:

- -0,2 V po dobu 200 sekund
- -0,4 V po dobu 200 sekund
- -0,4 V po dobu 400 sekund

Výsledky ukázaly, že AuNPs deponované při napětí -0,4 V po dobu 400 sekund vykazovaly nejvyšší elektrochemickou odezvu napříč všemi testovanými koncentracemi Glu, což znamená, že tato podmínka depozice vedla k nejefektivnější tvorbě zlatých nanočástic, které poskytly nejlepší výkon biosenzoru. Naopak depozice AuNPs při napětí -0,2 V po dobu 200 sekund vedla k nejnižší odezvě biosenzoru, což naznačuje, že podmínky s nižším napětím a kratší dobou depozice vedou k menší hustotě nebo kvalitě syntetizovaných nanočástic, což má za následek nižší elektrochemickou aktivitu.



Obrázek 29: Analýza inhibičního účinku Cu^{2+} při použití různých podmínek depozice AuNPs

ZÁVĚR A PŘÍNOS PRÁCE

V této disertační práci byly navrženy a vyvinuty elektrochemické senzory na bázi nanomateriálů určené k detekci různých polutantů. Výzkum se zaměřil na využití pokročilých materiálů, jako jsou uhlíkové nanočástice (grafen oxid, uhlíkaté nanosféry) a zlaté nanočástice, s cílem zlepšit citlivost a selektivitu elektrochemických senzorů pro detekci specifických kontaminantů.

Pro přípravu senzorů byly využity různé formy uhlíkových nanomateriálů, přičemž zvláštní pozornost byla věnována grafen oxidu připraveného Brodieho a Hummersovou metodou. Grafen oxid je díky své velké ploše povrchu a schopnosti adsorbovat různé molekuly vhodným materiálem pro elektrochemické aplikace. Dále byly využity uhlíkaté nanosféry, které rovněž vykazují vhodné elektrochemické vlastnosti.

Zlaté nanočástice byly testovány pro jejich stabilitu a schopnost zvyšovat elektrochemickou vodivost. Jejich přítomnost vedla ke zlepšení citlivosti senzorů.

Modifikované elektrody (ze skelného uhlíku a tištěné) byly použity k detekci iontů těžkých kovů (Pb^{2+} , Cu^{2+}) a farmaceutických kontaminantů (ibuprofen). Detekce těžkých kovů je zásadní pro ochranu životního prostředí a zdraví, zatímco ibuprofen, běžně přítomný v odpadních vodách, představuje riziko pro ekosystémy.

Pro detekci Pb^{2+} byla použita elektroda modifikovaná hydrogelem hydroxyethylcelulóza-kyselina citronová s přídavkem grafen oxidu za použití dvoukrokové metody, spočívající v prvním kroku na inkubaci iontů těžkých kovů z roztoku a ve druhém kroku přenesení do cely, kde bylo provedeno měření pomocí ASSWV. Výsledky ukázaly, že i malé množství grafen oxidu připraveného Brodieho metodou ($0,075 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) výrazně zlepšilo citlivost elektrody vůči těžkým kovům. Grafen oxid přispěl ke zvýšení citlivosti a

selektivity díky své schopnosti adsorbovat ionty a zvyšovat aktivní povrch elektrody.

Naopak při detekci ibuprofenu se ukázalo, že hydrogelová matrice β -cyklodextrín-sodná sůl karboxymethylcelulózy-kyseliny citronové s přidáním uhlíkatými nanosférami dopovanými močovinou není vhodná, protože vedla ke zhoršení limitu detekce oproti nemodifikované elektrodě ze skelného uhlíku. Naproti tomu elektrochemicky aktivovaná elektroda ze skelného uhlíku vykazala výrazné zlepšení citlivosti i limitu detekce a byla úspěšně použita k detekci ibuprofenu v tabletách Ibalgin®, kde bylo dosaženo detekce 0,7 % menší než je hodnota uvedena výrobcem při prvním měření. Při opakovaných měřeních však došlo ke snížení detekce hodnoty, což poukazuje na potřebu zlepšení stability elektrody.

V rámci výzkumu byl také vyvinut glukózový biosenzor, využívající SPE se syntetizovanými zlatými nanočásticemi a imobilizovaným enzymem glukóza oxidázou, určený k monitorování inhibice enzymu ionty Cu^{2+} . Nejlepší výsledky byly dosaženy při chronoamperometrické syntéze AuNPs pomocí použití filtrovaného 10 mM roztoku HAuCl_4 v 0,1 M KNO_3 a s parametry chronoamperometrie $-0,4$ V po dobu 400 s, což vedlo k vytvoření stabilní a homogenní vrstvy AuNPs. Výběr optimální koncentrace glukózy pro inhibici Cu^{2+} byl rovněž součástí experimentu. Na základě našich testů se ukázalo, že nejvhodnější koncentrací glukózy pro efektivní inhibici iontů Cu^{2+} je 4 mM.

Seznam použité literatury

ABDEL-AZIZ, A. M., HASSAN, H. H., & BADR, I. H. A. (2020). Glassy Carbon Electrode Electromodification in the Presence of Organic Monomers: Electropolymerization versus Activation. *Analytical Chemistry*, 92(11), 7947–7954.

https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.0C01337/SUPPL_FILE/AC0C01337_SI_001.PDF

ADEL, M., Mohamed A. AHMED, Mohamed A. ELABIAD a Ashraf A. MOHAMED, 2022. Removal of heavy metals and dyes from wastewater using graphene oxide-based nanomaterials: A critical review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management* [online]. **18** [cit. 2024-08-02]. ISSN 22151532. Dostupné z: doi:10.1016/j.enmm.2022.100719

ALMUSTAPHA, Sakinatu, Aamir Amanat ALI KHAN, Abdul Aziz OMAR, Bamban ARIWAHJOEDI a Mohd Azmuddin ABDULLAH, 2014. Cellulose-Modified Carbon Electrode for iIn Situ/i Lead Detection. *Applied Mechanics and Materials* [online]. 2014-09-12, **625**, 136-139 [cit. 2024-08-02]. ISSN 1662-7482. Dostupné z: doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.625.136

BAGYALAKSHMI, S., A. SIVAKAMI, Kaushik PAL, R. SARANKUMAR a C. MAHENDRAN, 2022. Manufacturing of electrochemical sensors via carbon nanomaterials novel applications: a systematic review. *Journal of Nanoparticle Research* [online]. **24**(10) [cit. 2024-08-02]. ISSN 1388-0764. Dostupné z: doi:10.1007/s11051-022-05576-3

BARHOUM, Ahmed, Selma HAMIMED, Hamda SLIMI, Amina OTHMANI, Fatehy M. ABDEL-HALEEM a Mikhael BECHELANY, 2023. Modern designs of electrochemical sensor platforms for environmental analyses: Principles, nanofabrication opportunities, and challenges. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* [online]. **38** [cit. 2024-08-07]. ISSN 22141588. Dostupné z: doi:10.1016/j.teac.2023.e00199

BRASIUNAS, Benediktas, Anton POPOV, Gabija KRAUJELYTE a Almira RAMANAVICIENE, 2024. The effect of gold nanostructure morphology on label-free electrochemical immunosensor design. *Bioelectrochemistry* [online]. **156** [cit. 2024-08-19]. ISSN 15675394. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioelechem.2023.108638

CONGUR, Gulsah a Ülküye Dudu GÜL, 2021. Phenol monitoring in water samples using an inexpensive electrochemical sensor based on pencil electrodes modified with DTAB surfactant. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [online]. **9**(5) [cit. 2024-08-12]. ISSN 22133437. Dostupné z: doi:10.1016/j.jece.2021.105804

DE PENNING, Rebekah a Sonal PADALKAR, 2023. Heavy metal sensing in water using electrochemically reduced graphene oxide. *MRS Communications* [online]. **13**(4), 531-537 [cit. 2024-08-13]. ISSN 2159-6867. Dostupné z: doi:10.1557/s43579-023-00369-8

DEMITRI, Christian, Roberta DEL SOLE, Francesca SCALERA, Alessandro SANNINO, Giuseppe VASAPOLLO, Alfonso MAFFEZZOLI, Luigi AMBROSIO a Luigi NICOLAIS, 2008. Novel superabsorbent cellulose-based hydrogels crosslinked with citric acid. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2008-11-15, **110**(4), 2453-2460 [cit. 2024-08-05]. ISSN 0021-8995. Dostupné z: doi:10.1002/app.28660

DEY, Saptarshi, Farhat BANO a Anushree MALIK, 2019. Pharmaceuticals and personal care product (PPCP) contamination—a global discharge inventory. In: *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology* [online]. Elsevier, s. 1-26 [cit. 2024-08-05]. ISBN 9780128161890. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816189-0.00001-9

DONDO, Nyaradzai, Munyaradzi SHUMBA, Mambo MOYO a Stephen NYONI, 2020. Simultaneous non-steroidal anti-inflammatory drug electro detection on nitrogen doped carbon nanodots and nanosized cobalt phthalocyanine conjugate modified glassy carbon electrode. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. **13**(11), 7809-7819 [cit. 2024-08-15]. ISSN 18785352. Dostupné z: doi:10.1016/j.arabjc.2020.09.012

FENG, Ling, Eric D. VAN HULLEBUSCH, Manuel A. RODRIGO, Giovanni ESPOSITO a Mehmet A. OTURAN, 2013. Removal of residual anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals from aqueous systems by electrochemical advanced oxidation processes. A review. *Chemical Engineering Journal* [online]. **228**, 944-964 [cit. 2024-08-06]. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2013.05.061

FENYVESI, Éva a Tamás SOHAJDA, 2022. Cyclodextrin-enabled green environmental biotechnologies. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. **29**(14), 20085-20097 [cit. 2024-08-05]. ISSN 0944-1344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-021-18176-w

GAUTAM, Ravindra K., Sanjay K. SHARMA, Suresh MAHIYA a Mahesh C. CHATTOPADHYAYA, 2014. CHAPTER 1. Contamination of Heavy Metals in Aquatic Media: Transport, Toxicity and Technologies for Remediation. In: SHARMA, Sanjay, ed. *Heavy Metals In Water* [online]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, s. 1-24 [cit. 2024-08-05]. ISBN 978-1-84973-885-9. Dostupné z: doi:10.1039/9781782620174-00001

GEIM, A. K. a K. S. NOVOSELOV, 2007. The rise of graphene. *Nature Materials* [online]. **6**(3), 183-191 [cit. 2024-08-15]. ISSN 1476-1122. Dostupné z: doi:10.1038/nmat1849

GEORGE, Johnsy a Sabapathi S N, 2015. Cellulose nanocrystals: synthesis, functional properties, and applications. *Nanotechnology, Science and Applications* [online]. [cit. 2024-08-02]. ISSN 1177-8903. Dostupné z: doi:10.2147/NSA.S64386

GERMAN, Natalija, Arunas RAMANAVICIUS a Almira RAMANAVICIENE, 2014. Electrochemical deposition of gold nanoparticles on graphite rod for glucose biosensing. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online].

203, 25-34 [cit. 2024-08-15]. ISSN 09254005. Dostupné z: doi:10.1016/j.snb.2014.06.021

GORUP, Luiz Fernando, Luís Henrique AMORIN, Emerson Rodrigues CAMARGO, Thiago SEQUINEL, Fernando Henrique CINCOTTO, Glenda BIASOTTO, Naomi RAMESAR a Felipe de Almeida LA PORTA, 2020. Methods for design and fabrication of nanosensors: the case of ZnO-based nanosensor. In: *Nanosensors for Smart Cities* [online]. Elsevier, s. 9-30 [cit. 2024-08-13]. ISBN 9780128198704. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-819870-4.00002-5

GOSWAMI, Abhijeet D., Dhwanil H. TRIVEDI, Nilesh L. JADHAV a Dipak V. PINJARI, 2021. Sustainable and green synthesis of carbon nanomaterials: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering* [online]. **9**(5) [cit. 2024-08-02]. ISSN 22133437. Dostupné z: doi:10.1016/j.jece.2021.106118

GUO, Qiwen, Siyuan LIU, Xinpeng MEN, et al., 2022. Sensitive determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid by glassy carbon electrodes modified with β -cyclodextrin and graphene oxide. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* [online]. **33**(30), 23566-23579 [cit. 2024-08-14]. ISSN 0957-4522. Dostupné z: doi:10.1007/s10854-022-09116-6

HANIF, Muhammad Asif, Farwa NADEEM, Ijaz Ahmad BHATTI a Hafiz Muhammad TAUQEER, 2020. *Environmental Chemistry* [online]. Wiley [cit. 2024-08-05]. ISBN 9781119650911. Dostupné z: doi:10.1002/9781119651055

HASSAN, Syeda Sara, SIRAJUDDIN, Amber Rehana SOLANGI, Tasneem Gul KAZI, Muhammad Siddique KALHORO, Yasmeen JUNEJO, Zulfiqar Ali TAGAR a Nazar Hussain KALWAR, 2012. Nafion stabilized ibuprofen–gold nanostructures modified screen printed electrode as arsenic(III) sensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry* [online]. **682**, 77-82 [cit. 2024-08-08]. ISSN 15726657. Dostupné z: doi:10.1016/j.jelechem.2012.07.006

HOU, Conghui, Qiufen LUO, Yaping HE a Hongfang ZHANG, 2021. Potentiostatic electrodeposition of gold nanoparticles: variation of electrocatalytic activity toward four targets. *Journal of Applied Electrochemistry* [online]. **51**(12), 1721-1730 [cit. 2024-08-16]. ISSN 0021-891X. Dostupné z: doi:10.1007/s10800-021-01604-7

HYDROLOGICKÁ ROČENKA ČESKÉ REPUBLIKY 2022, 2023. In: .

CHAI, Xu, Yongbiao LI, Chaonan MA, Minjie GUO, Zhi FAN, Jin ZHAO a Bowen CHENG, 2023. A voltammetric sensor based on a reduced graphene oxide/ β -cyclodextrin/silver nanoparticle/polyoxometalate nanocomposite for detecting uric acid and tyrosine. *Analytical Methods* [online]. 2023-05-25, **15**(20), 2528-2535 [cit. 2024-08-15]. ISSN 1759-9660. Dostupné z: doi:10.1039/D3AY00207A

IJIMA, Sumio, 1991. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* [online]. **354**(6348), 56-58 [cit. 2024-08-15]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/354056a0

IPTE, Priyanka R., Sriram KUMAR a Ashis K. SATPATI, 2020. Electrochemical synthesis of carbon nano spheres and its application for detection of ciprofloxacin. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* [online]. 2020-01-28, **55**(2), 142-150 [cit. 2024-08-02]. ISSN 1093-4529. Dostupné z: doi:10.1080/10934529.2019.1674591

JALILZADEH, Hassan, Bahareh FEYZI-BARNAJI, Ali MOHAMMADI a Hamid SALEHZADEH, 2024. Gold nanoparticles/graphene oxide/ β -Cyclodextrin nanocomposite for electrochemical determination of Novafen, a new dosage form, in human serum and pharmaceuticals. *Journal of Applied Electrochemistry* [online]. **54**(5), 1109-1124 [cit. 2024-08-19]. ISSN 0021-891X. Dostupné z: doi:10.1007/s10800-023-02017-4

JJAGWE, Joseph, Peter Wilberforce OLUPOT, Robinah KULABAKO a Sandro CARRARA, 2024a. Electrochemical sensors modified with iron oxide nanoparticles/nanocomposites for voltammetric detection of Pb (II) in water: A review. *Heliyon* [online]. **10**(8) [cit. 2024-08-02]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2024.e29743

JJAGWE, Joseph, Peter Wilberforce OLUPOT, Robinah KULABAKO a Sandro CARRARA, 2024b. Electrochemical sensors modified with iron oxide nanoparticles/nanocomposites for voltammetric detection of Pb (II) in water: A review. *Heliyon* [online]. **10**(8) [cit. 2024-08-06]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2024.e29743

JUSYS, Z., & BRUCKENSTEIN, S., 2000. Electrochemical quartz crystal microbalance study of perchlorate and perrhenate anion adsorption on polycrystalline gold electrode. *Electrochemistry Communications*, **2**(6), 412–416. [https://doi.org/10.1016/S1388-2481\(00\)00044-8](https://doi.org/10.1016/S1388-2481(00)00044-8)

KALIYARAJ SELVA KUMAR, Archana, Yifei ZHANG, Danlei LI a Richard G. COMPTON, 2020. A mini-review: How reliable is the drop casting technique? *Electrochemistry Communications* [online]. **121** [cit. 2024-08-13]. ISSN 13882481. Dostupné z: doi:10.1016/j.elecom.2020.106867

KOLPIN, Dana W., Edward T. FURLONG, Michael T. MEYER, E. Michael THURMAN, Steven D. ZAUGG, Larry B. BARBER a Herbert T. BUXTON, 2002. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance. *Environmental Science & Technology* [online]. 2002-03-01, **36**(6), 1202-1211 [cit. 2024-08-06]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es011055j

KRAWCZYŃSKI VEL KRAWCZYK, Tadeusz, Małgorzata MOSZCZYŃSKA a Marek TROJANOWICZ, 2000. Inhibitive determination of mercury and other metal ions by potentiometric urea biosensor. *Biosensors and*

Bioelectronics [online]. **15**(11-12), 681-691 [cit. 2024-08-09]. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/S0956-5663(00)00085-3

KUDAIBERGENOV, Sarkyt, Gulnur TATYKHANOVA, Nurlan BAKRANOV a Rosa TURSUNOVA, 2017. Layer-by-Layer Thin Films and Coatings Containing Metal Nanoparticles in Catalysis. In: THIRUMALAI, Jagannathan, ed. *Thin Film Processes - Artifacts on Surface Phenomena and Technological Facets* [online]. InTech [cit. 2024-08-16]. ISBN 978-953-51-3067-3. Dostupné z: doi:10.5772/67215

KUMAR DEY, Amit a Abhijit DEY, 2021. Selection of Optimal Processing Condition during Removal of Methylene Blue Dye Using Treated Betel Nut Fibre Implementing Desirability Based RSM Approach. In: KAYAROGANAM, Palanikumar, ed. *Response Surface Methodology in Engineering Science* [online]. IntechOpen [cit. 2024-08-02]. ISBN 978-1-83968-917-8. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.98428

KUMAR, Pawan, Ki-Hyun KIM, Vasudha BANSAL, Theodore LAZARIDES a Naresh KUMAR, 2017. Progress in the sensing techniques for heavy metal ions using nanomaterials. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* [online]. **54**, 30-43 [cit. 2024-08-02]. ISSN 1226086X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jiec.2017.06.010

KUMUNDA, Coster, Abolanle S. ADEKUNLE, Bhekie B. MAMBA, Ntuthuko W. HLONGWA a Thabo T. I. NKAMBULE, 2021. Electrochemical Detection of Environmental Pollutants Based on Graphene Derivatives: A Review. *Frontiers in Materials* [online]. 2021-2-15, **7** [cit. 2024-08-02]. ISSN 2296-8016. Dostupné z: doi:10.3389/fmats.2020.616787

LI, Rui-zhen, Lei QIN, Dong-ju FU, Mei-ling WANG, Xing-fu SONG, Yong-hui BAI, Wei-feng LIU a Xu-guang LIU, 2023. A highly selective and sensitive electrochemical Cu(II) detector based on ion-imprinted magnetic carbon

nanospheres. *New Carbon Materials* [online]. **38**(6), 1092-1103 [cit. 2024-08-13]. ISSN 18725805. Dostupné z: doi:10.1016/S1872-5805(23)60772-3

LI, W.C., 2014. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental Pollution* [online]. **187**, 193-201 [cit. 2024-08-06]. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2014.01.015

LIU, Guodong, Ying-Ying LIN, Hong WU a Yuehe LIN, 2007. Voltammetric Detection of Cr(VI) with Disposable Screen-Printed Electrode Modified with Gold Nanoparticles. *Environmental Science & Technology* [online]. 2007-12-01, **41**(23), 8129-8134 [cit. 2024-08-12]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es071726z

LIU, Yao, Qiang XUE, Chunwen CHANG, Rong WANG, Zeyu LIU a Lin HE, 2022. Recent progress regarding electrochemical sensors for the detection of typical pollutants in water environments. *Analytical Sciences* [online]. **38**(1), 55-70 [cit. 2024-08-02]. ISSN 0910-6340. Dostupné z: doi:10.2116/analsci.21SAR12

LUO, Xiliang, Aoife MORRIN, Anthony J. KILLARD a Malcolm R. SMYTH, 2006. Application of Nanoparticles in Electrochemical Sensors and Biosensors. *Electroanalysis* [online]. **18**(4), 319-326 [cit. 2024-08-08]. ISSN 1040-0397. Dostupné z: doi:10.1002/elan.200503415

LV, Meijiao, Xianbao WANG, Jing LI, Xuyu YANG, Chang'an ZHANG, Jia YANG a Hao HU, 2013. Cyclodextrin-reduced graphene oxide hybrid nanosheets for the simultaneous determination of lead(II) and cadmium(II) using square wave anodic stripping voltammetry. *Electrochimica Acta* [online]. **108**, 412-420 [cit. 2024-08-15]. ISSN 00134686. Dostupné z: doi:10.1016/j.electacta.2013.06.099

MACIEL, Juliana V., Ana Maria M. DURIGON, Michele M. SOUZA, Rafael F.N. QUADRADO, André R. FAJARDO a Daiane DIAS, 2019. Polysaccharides derived from natural sources applied to the development of chemically modified

electrodes for environmental applications: A review. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* [online]. **22** [cit. 2024-08-05]. ISSN 22141588. Dostupné z: doi:10.1016/j.teac.2019.e00062

MASANABO, Ntombenhle, Benjamin ORIMOLADE, Azeez O. IDRIS, Thabo T. I. NKAMBULE, Bhekie B. MAMBA a Usisipho FELENI, 2023. Advances in polymer-based detection of environmental ibuprofen in wastewater. *Environmental Science and Pollution Research* [online]. **30**(6), 14062-14090 [cit. 2024-08-05]. ISSN 1614-7499. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-022-24858-w

MEHTA, Jyotsana, Sanjeev K. BHARDWAJ, Neha BHARDWAJ, A.K. PAUL, Pawan KUMAR, Ki-Hyun KIM a Akash DEEP, 2016. Progress in the biosensing techniques for trace-level heavy metals. *Biotechnology Advances* [online]. **34**(1), 47-60 [cit. 2024-08-09]. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2015.12.001

MEKASSA, Birhanu, Merid TESSEMA, Bhagwan Singh CHANDRAVANSI a Molla TEFERA, 2018. Square Wave Voltammetric Determination of Ibuprofen at Poly(L-Aspartic Acid) Modified Glassy Carbon Electrode. *IEEE Sensors Journal* [online]. 2018-1-1, **18**(1), 37-44 [cit. 2024-08-19]. ISSN 1530-437X. Dostupné z: doi:10.1109/JSEN.2017.2769137

MENG, Ruonan, Qiujin ZHU, Tingyu LONG, Xuli HE, Zewei LUO, Ronghui GU, Wenzhong WANG a Ping XIANG, 2023. The innovative and accurate detection of heavy metals in foods: A critical review on electrochemical sensors. *Food Control* [online]. **150** [cit. 2024-08-07]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2023.109743

MULABA-BAFUBIANDI, Antoine F., Hassan KARIMI-MALEH, Fatemeh KARIMI a Morteza REZAPOUR, 2019. A voltammetric carbon paste sensor modified with NiO nanoparticle and ionic liquid for fast analysis of p-nitrophenol

in water samples. *Journal of Molecular Liquids* [online]. **285**, 430-435 [cit. 2024-08-12]. ISSN 01677322. Dostupné z: doi:10.1016/j.molliq.2019.04.084

MUNONDE, Tshimangadzo S. a Philiswa N. NOMNGONGO, 2021. Nanocomposites for Electrochemical Sensors and Their Applications on the Detection of Trace Metals in Environmental Water Samples. *Sensors* [online]. **21**(1) [cit. 2024-08-07]. ISSN 1424-8220. Dostupné z: doi:10.3390/s21010131

NANDHAKUMAR, Manjubaashini, Daniel Thangadurai THANGAIAN a Nehru KASI, 2023. Topical progress of gold nanoparticles towards diverse metal ion sensing through optical spectrometry and electrochemical techniques – A short review. *Journal of Materials Research and Technology* [online]. **22**, 1185-1209 [cit. 2024-08-05]. ISSN 22387854. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmrt.2022.11.182

Nářizení vlády č. 401/2015 Sb.: Nařizení vlády o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, 2015. In: . ročník 2015, číslo 401.

PĂDURARU, Dan Nicolae, Adelina-Gabriela NICULESCU, Alexandra BOLOCAN, Octavian ANDRONIC, Alexandru Mihai GRUMEZESCU a Rodica BÎRLĂ, 2022. An Updated Overview of Cyclodextrin-Based Drug Delivery Systems for Cancer Therapy. *Pharmaceutics* [online]. **14**(8) [cit. 2024-08-05]. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics14081748

PANDEY, Annu, Swati SHARMA a Rajeev JAIN, 2019. Voltammetric sensor for the monitoring of hazardous herbicide triclopyr (TCP). *Journal of Hazardous Materials* [online]. **367**, 246-255 [cit. 2024-08-12]. ISSN 03043894. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2018.12.083

PENG, Yi-Yang, Shruti SRINIVAS a Ravin NARAIN, 2020. Modification of polymers. In: *Polymer Science and Nanotechnology* [online]. Elsevier, s. 95-104

[cit. 2024-08-16]. ISBN 9780128168066. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816806-6.00005-4

RAY, Sekhar C., 2015. Application and Uses of Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide. In: *Applications of Graphene and Graphene-Oxide Based Nanomaterials* [online]. Elsevier, s. 39-55 [cit. 2024-08-02]. ISBN 9780323375214. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-37521-4.00002-9

RICHARDSON, Sara a Lo GORTON, 2003. Characterisation of the substituent distribution in starch and cellulose derivatives. *Analytica Chimica Acta* [online]. **497**(1-2), 27-65 [cit. 2024-08-02]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2003.08.005

RIVERA-HERNÁNDEZ, S. I., ÁLVAREZ-ROMERO, G. A., CORONA-AVENDAÑO, S., PÁEZ-HERNÁNDEZ, M. E., GALÁN-VIDAL, C. A., & ROMERO-ROMO, M. (2016). Voltammetric determination of ibuprofen using a carbon paste – multiwalled carbon nanotube composite electrode. *Instrumentation Science & Technology*, **44**(5), 483–494. <https://doi.org/10.1080/10739149.2016.1173061>

RUBINO, Antonio a Raquel QUEIRÓS, 2023. Electrochemical determination of heavy metal ions applying screen-printed electrodes based sensors. A review on water and environmental samples analysis. *Talanta Open* [online]. **7** [cit. 2024-08-02]. ISSN 26668319. Dostupné z: doi:10.1016/j.talo.2023.100203

SAWAN, Simona, Rita MAALOUF, Abdelhamid ERRACHID a Nicole JAFFREZIC-RENAULT, 2020. Metal and metal oxide nanoparticles in the voltammetric detection of heavy metals: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. **131** [cit. 2024-08-02]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2020.116014

SEBASTIÁN, P., V. CLIMENT, J.M. FELIU a E. GÓMEZ, 2018. Ionic Liquids in the Field of Metal Electrodeposition. In: *Encyclopedia of Interfacial*

Chemistry [online]. Elsevier, s. 690-700 [cit. 2024-08-13]. ISBN 9780128098943.
Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.13379-7

SHADMAN, Seyedeh Malahat, Marzieh DANESHI, Fatemeh SHAFIEI, Maryam AZIMIMEHR, Mehrdad Rayati KHORASGANI, Mehdi SADEGHIAN, Hasan MOTAGHI a Masoud Ayatollahi MEHRGARDI, 2019. Aptamer-based electrochemical biosensors. In: *Electrochemical Biosensors* [online]. Elsevier, s. 213-251 [cit. 2024-08-02]. ISBN 9780128164914. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816491-4.00008-5

SHEN, Yanling, Huiying OUYANG, Weifeng LI a Yumei LONG, 2021. Defect-enhanced electrochemical property of h-BN for Pb²⁺ detection. *Microchimica Acta* [online]. **188**(2) [cit. 2024-08-07]. ISSN 0026-3672. Dostupné z: doi:10.1007/s00604-020-04691-z

SICILIANO, Giulia, Ahmed ALSADIG, Maria Serena CHIRIACÒ, Antonio TURCO, Alessia FOSCARINI, Francesco FERRARA, Giuseppe GIGLI a Elisabetta PRIMICERI, 2024. Beyond traditional biosensors: Recent advances in gold nanoparticles modified electrodes for biosensing applications. *Talanta* [online]. **268** [cit. 2024-08-09]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2023.125280

SONG, Huijun, Mingzhu HUO, Mengmeng ZHOU, et al., 2022. Carbon Nanomaterials-Based Electrochemical Sensors for Heavy Metal Detection. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 1-20 [cit. 2024-08-02]. ISSN 1040-8347. Dostupné z: doi:10.1080/10408347.2022.2151832

SOTOLAROVA, Jitka, Josef OSIČKA, Tomas PLACHY a Jaroslav FILIP, 2024. Tailoring electrochemical properties of hydrogel by different types of graphene oxide. *Applied Surface Science* [online]. **661** [cit. 2024-08-20]. ISSN 01694332. Dostupné z: doi:10.1016/j.apsusc.2024.160064

SOTOLÁŘOVÁ, Jitka, Štěpán VINTER a Jaroslav FILIP, 2021. Cellulose derivatives crosslinked by citric acid on electrode surface as a heavy metal absorption/sensing matrix. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. **628** [cit. 2024-08-23]. ISSN 09277757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2021.127242

STANKOVICH, Sasha, Richard D. PINER, SonBinh T. NGUYEN a Rodney S. RUOFF, 2006. Synthesis and exfoliation of isocyanate-treated graphene oxide nanoplatelets. *Carbon* [online]. **44**(15), 3342-3347 [cit. 2024-08-06]. ISSN 00086223. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbon.2006.06.004

TABIBI, Zahra, Jafar MASSAH a Keyvan ASEFPOUR VAKILIAN, 2022. A biosensor for the sensitive and specific measurement of arsenite using gold nanoparticles. *Measurement* [online]. **187** [cit. 2024-08-15]. ISSN 02632241. Dostupné z: doi:10.1016/j.measurement.2021.110281

TEODORO, Kelcilene B.R., Fernanda L. MIGLIORINI, Murilo H.M. FACURE a Daniel S. CORREA, 2019. Conductive electrospun nanofibers containing cellulose nanowhiskers and reduced graphene oxide for the electrochemical detection of mercury(II). *Carbohydrate Polymers* [online]. **207**, 747-754 [cit. 2024-08-14]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2018.12.022

THÉVENOT, Daniel R., Klara TOTH, Richard A. DURST a George S. WILSON, 2001. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification1International Union of Pure and Applied Chemistry: Physical Chemistry Division, Commission I.7 (Biophysical Chemistry); Analytical Chemistry Division, Commission V.5 (Electroanalytical Chemistry).1. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. **16**(1-2), 121-131 [cit. 2024-08-05]. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/S0956-5663(01)00115-4

Vyhláška č. 5/2011 Sb.: Vyhláška o vymezení hydrogeologických rajonů a útvarů podzemních vod, způsobu hodnocení stavu podzemních vod a náležitostech programů zjišťování a hodnocení stavu podzemních vod, 2011. In: .

WANG, Huan, Hao XI, Linling XU, Mingkang JIN, Wenlu ZHAO a Huijun LIU, 2021. Ecotoxicological effects, environmental fate and risks of pharmaceutical and personal care products in the water environment: A review. *Science of The Total Environment* [online]. **788** [cit. 2024-08-05]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2021.147819

WANG, Nan, Jiaqi LI, Yitian MA, et al. Electrochemical Detection of Pb(II) Ions in Aqueous Solution by Carbon Nanospheres Modified Boron-Doped Diamond Electrode. *Journal of Analysis and Testing* [online]. [cit. 2024-08-14]. ISSN 2096-241X. Dostupné z: doi:10.1007/s41664-024-00320-3

WANG, Xuan, Ceren KARAMAN, Yaoli ZHANG a Changlei XIA, 2023. Graphene oxide/cellulose nanofibril composite: A high-performance catalyst for the fabrication of an electrochemical sensor for quantification of p-nitrophenol, a hazardous water pollutant. *Chemosphere* [online]. **331** [cit. 2024-08-14]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2023.138813

WEI, Yan, Chao GAO, Fan-Li MENG, Hui-Hua LI, Lun WANG, Jin-Huai LIU a Xing-Jiu HUANG, 2012. SnO₂/Reduced Graphene Oxide Nanocomposite for the Simultaneous Electrochemical Detection of Cadmium(II), Lead(II), Copper(II), and Mercury(II): An Interesting Favorable Mutual Interference. *The Journal of Physical Chemistry C* [online]. 2012-01-12, **116**(1), 1034-1041 [cit. 2024-08-13]. ISSN 1932-7447. Dostupné z: doi:10.1021/jp209805c

XU, Meijia, Huiting HUANG, Na LI, Fang LI, Donghong WANG a Qian LUO, 2019. Occurrence and ecological risk of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and pesticides in typical surface watersheds, China.

Ecotoxicology and Environmental Safety [online]. **175**, 289-298 [cit. 2024-08-05]. ISSN 01476513. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoenv.2019.01.131

ZAMORA-LEDEZMA, Camilo, Daniela NEGRETE-BOLAGAY, Freddy FIGUEROA, Ezequiel ZAMORA-LEDEZMA, Ming NI, Frank ALEXIS a Victor H. GUERRERO, 2021. Heavy metal water pollution: A fresh look about hazards, novel and conventional remediation methods. *Environmental Technology & Innovation* [online]. **22** [cit. 2024-08-05]. ISSN 23521864. Dostupné z: doi:10.1016/j.eti.2021.101504

ZHANG, Bin, JiaDong CHEN, Han ZHU, TingTing YANG, MeiLing ZOU, Ming ZHANG a MingLiang DU, 2016. Facile and green fabrication of size-controlled AuNPs/CNFs hybrids for the highly sensitive simultaneous detection of heavy metal ions. *Electrochimica Acta* [online]. **196**, 422-430 [cit. 2024-08-12]. ISSN 00134686. Dostupné z: doi:10.1016/j.electacta.2016.02.163

ZHANG, F., Gu, S., Ding, Y., Zhang, Z., & Li, L. (2013). A novel sensor based on electropolymerization of β -cyclodextrin and l-arginine on carbon paste electrode for determination of fluoroquinolones. *Analytica Chimica Acta*, 770, 53–61. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2013.01.052>

ZHANG, Kai, Ge SONG, Lingxi YANG, Jing ZHOU a Baoxian YE, 2012. A novel self-assembly voltammetric sensor for malachite green based on ethylenediamine and graphene oxide. *Analytical Methods* [online]. **4**(12) [cit. 2024-08-13]. ISSN 1759-9660. Dostupné z: doi:10.1039/c2ay26039e

ZHANG, Wei, Ruiguo WANG, Fang LUO, Peilong WANG a Zhenyu LIN, 2020. Miniaturized electrochemical sensors and their point-of-care applications. *Chinese Chemical Letters* [online]. **31**(3), 589-600 [cit. 2024-08-02]. ISSN 10018417. Dostupné z: doi:10.1016/j.ccllet.2019.09.022

ZHOU, Y. J., P. LUNER a P. CALUWE, 1995. Mechanism of crosslinking of papers with polyfunctional carboxylic acids. *Journal of Applied Polymer Science*

[online]. 1995-11-28, **58**(9), 1523-1534 [cit. 2024-08-05]. ISSN 0021-8995.
Dostupné z: doi:10.1002/app.1995.070580915

Seznam obrázků

Obrázek 1: Zdroje těžkých kovů	11
Obrázek 2: Struktura celulózy (Kumar Dey & Dey, 2021).....	17
Obrázek 3: Navrhované reakční schéma pro síťování hydroxyethyl celulózy s kyselinou citronovou (Sotolářová et al., 2021).....	18
Obrázek 4: Struktura CD (cyklický oligosacharid sestávající ze šesti, sedmi nebo osmi glukózových jednotek (označovaných jako α , β a γ) (Păduraru et al., 2022)	19
Obrázek 5: a) Normalizovaná FTIR spektra HEC (černá), zesíťovaného HEC- CA (purpurová), HEC-CA-GOB1 (červená), HEC-CA-GOH1 (modrá). Nejvýznamnější absorpční pásy označeny čísly a popisem. V horní části jsou zobrazena normalizovaná FTIR spektra původního GOB (červená) a GOH (modrá). b) FTIR spektra GOH (horní část) a GOB (spodní část) před (černé křivky) a po (červené křivky) sušení při 110 °C po dobu 1 h. (Sotolarova et al., 2024)	34
Obrázek 6: snímky HEC-CA (a; zvětšení 500x), GOH (b); zvětšení 10 000x), GOB (c); zvětšení 10 000x), HEC-CA-GOH (d-f) a HEC-CA-GOB (g-i)). Koncentrace GOH i GOB je 0,1(d, g) a 1 (e, f, h, i)) mg ml ⁻¹ zvětšení i): 5000x (Sotolarova et al., 2024)	38
Obrázek 7: FTIR spektrum pro CNS-UREA	40
Obrázek 8: CNC dopované močovinou.....	41
Obrázek 9: CNC karbonizované při 800 °C	41
Obrázek 10: SPE s AuNPs deponované z 10 mM HAuCl ₄ v 0,1 M roztoku KNO ₃	42
Obrázek 11: Ilustrační CV voltamogramy GCE. a) plné měřítko voltamogramů, ilustrující růst anodického proudu; b) 2D pohled na zvětšenou část	

voltamogramů s čísly vyznačenými v grafu. CV provedené v 0,18M KCl, od -1 do 1,6 V. Rychlost skenování 50 mV.s ⁻¹	43
Obrázek 12: Ilustrativní Nyquistovy grafy získané s elektrodami modifikovanými HEC – CA (černá), HEC-CA naplněnými 0,1 (vyplněné body) a 1 (prázdné body) mg ml ⁻¹ GOB (modrá) a GOH (červená). Výseč – zvětšená část křivek označená zeleným rámečkem a schematické znázornění ekvivalentního obvodu použitého pro fitování dat. (Sotolarova et al., 2024)	45
Obrázek 13: Nyquistovy diagramy dosažené s GCE modifikované pomocí CV z 0,18mol.l ⁻¹ KCl (modré body) a nemodifikované GCE (červené body) bezprostředně po přípravě. Plné body – skutečná data; nevyplněné body – vygenerovaná data. EIS byla provedena ve 100mM KCl s 5mM ferrokyanidem – ferrikyanidem.	48
Obrázek 14: Závislost výšky píku ASSWV na koncentraci GOB (černá) a GOH (červená) v matrici HEC-CA dosažená v 0,5 mg.l ⁻¹ Pb ²⁺ (a) a 5 mg.l ⁻¹ Pb ²⁺ (b) (Sotolarova et al., 2024)	50
Obrázek 15: Závislost výšky píků ASSWV na koncentraci GOB dosažená při 0,5 (červená) a 5 (modrá) ppm Cu ²⁺ (a) a Cd ²⁺ (b)). (Sotolarova et al., 2024)	51
Obrázek 16: Výšky píků ASSWV pro Cu ²⁺ vynesené v závislosti na koncentraci GOB v matrici HEC-CA. a) černá-samotný Cu ²⁺ o koncentraci 1mg.l ⁻¹ ; modrá – 1mg.l ⁻¹ Cu ²⁺ v kombinaci z 5 mg.l ⁻¹ Cd ²⁺ a 1 mg.l ⁻¹ Pb ²⁺ ; červená – 1mg.l ⁻¹ Cu ²⁺ v kombinaci z 1 mg.l ⁻¹ Cd ²⁺ a 5 mg.l ⁻¹ Pb ²⁺ ; b) černá-samotný Cu ²⁺ o koncentraci 5mg.l ⁻¹ ; modrá – 5mg.l ⁻¹ Cu ²⁺ v kombinaci z 1 mg.l ⁻¹ Cd a 1 mg.l ⁻¹ Pb ²⁺ ; červená – 5mg.l ⁻¹ Cu ²⁺ v kombinaci z 5 mg.l ⁻¹ Cd a 5 mg.l ⁻¹ Pb ²⁺ (Sotolarova et al., 2024).....	52
Obrázek 17: Ilustrativní voltamogram ASSWV získané pro elektrody potažené nanokompozity HEC-CA-GOB s různou koncentrací GOB (vyznačeno v jednotlivých grafech). Měření provedená ve „dvoustupňovém“ uspořádání, přičemž prvním krokem byla 5minutová sorpce kovu na povrch elektrody ze	

směsi. Druhým krokem byla ASSWV ve 100mM KCl okyseleném na pH=2. Pro srovnání jsou uvedeny ilustrační voltamogramy získané s HEC-CA-GOB0,075 (pouze pro 5ppm Pb ²⁺ v c) a d)) a HEC-CA-GOB0,25 (pro všechny ostatní kovy) (kombinované čárkované a tenké plné čáry) jako odezvy elektrody za stejných podmínek, ale v přítomnosti pouze jednoho kovu.: (Sotolarova et al., 2024)	52
Obrázek 18: Závislost výšky píku za použití hydrogelu NaCMC-CA-(CNS-UREA)a hydrogelů obohaceného o β-CD.....	54
Obrázek 19: Závislost výšky píku pro AB o různém pH	55
Obrázek 20: CNS připravené různými způsoby v (β-CD)-NaCMC-CA hydrogelu	56
Obrázek 21: Závislost výšky píku na koncentraci CNS-UREA	56
Obrázek 22: Kalibrační křivky pro IB.....	58
Obrázek 23: Chronoampérometrická odezva biosensoru bez a s AuNPs na různé koncentrace glukózy	62
Obrázek 24: Různý objem GOx (40 mg/ml). Podmínky: AuNPs byly elektrodeponovány z 3 mM HAuCl ₄ obsahujícího 0,2M H ₂ SO ₄ při -0,2 V po dobu 60 s.....	63
Obrázek 25: Účinek aktivace pomocí H ₂ SO ₄	65
Obrázek 26: Srovnání různých parametrů elektrodepozice AuNPs.....	66
Obrázek 27: Závislost proudu na koncentraci Cu ²⁺ při různé koncentraci glukózy. A–1 mM Glu, B–2 mM Glu, C–3 mM Glu a D–4 mM Glu.	68
Obrázek 28: Vliv úpravy metodiky imobilizace enzymu GOx.....	69
Obrázek 29: Analýza inhibičního účinku Cu ²⁺ při použití různých podmínek depozice AuNPs	70

Seznam tabulek

Tabulka 1: Hodnoty parametrů získané fitováním Nyquistových grafů elektrod modifikovaných nanokompozity uvedenými v horním řádku tabulky. Hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr z několika po sobě jdoucích měření provedených se 3 stejně připravenými elektrodami. Všechny hodnoty jsou normalizovány vzhledem k deklarované geometrické ploše elektrody ze skelného uhlíku ($0,0707 \text{ cm}^2$) (Sotolarova et al., 2024).....	46
Tabulka 2: Parametry vypočítané na základě modelování Nyquistových grafů	48
Tabulka 3: Získané citlivosti a LOD pro jednotlivé modifikace GCE	58
Tabulka 4: Naměřené koncentrace IB obsažené v tabletě Ibalginu® pro elektrochemicky aktivovanou GCE	59
Tabulka 5: Naměřené koncentrace IB obsažené v tabletě Ibalginu® pro nemodifikovanou GCE	59

Seznam zkratk

AdDPV	Adsorpční diferenční pulzní voltametrie
ASSWV	Anodická stripovací voltametrie se čtvercovou vlnou
AuNPs	Zlaté nanočástice
CA	Kyselina citronová
CD	Cyklodextrín
CMC	Karboxymethyl celulóza
CNS	Uhlíkaté nano sféry
CV	Cyklická voltametrie
DPV	Diferenční pulzní voltametrie
DV	Demineralizovaná voda
GA	Glutaraldehyd
GCE	Elektroda ze skelného uhlíku

Glu	Glukóza
GO	Grafen oxid
GOB	Grafen oxid připravený Brodiho metodou
GOH	Grafen oxid připravený Hummersovou metodou
GO _x	Glukóza oxidáza
HEC	Hydroxyethyl celulóza
IB	Ibuprofen
LOD	Limit detekce
PSA	Polysacharidy
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
SPE	Tištěná uhlíková elektroda
SWV	Voltametrie se čtvercovou vlnou
EIS	Impedanční spektroskopie

Publikační aktivity autora

Filip, J., Vinter, Š., Čechová, E., & Sotolářová, J. (2021). Materials interacting with inorganic selenium from the perspective of electrochemical sensing. *Analyst*, 146(21). <https://doi.org/10.1039/d1an00677k>

Filip, J., Vinter, S., Skacelik, P., Sotolarova, J., Borska, K., & Osicka, J. (2021). Silver Integrated with Carbonaceous 2D Nanomaterials as an Electrocatalyst for Reductive Dechlorination of Chloroacetanilide Herbicide. *Journal of the Electrochemical Society*, 168(3). <https://doi.org/10.1149/1945-7111/abe8ec>

Sotolářová, J., Vinter, S., & Filip, J. (2021). Cellulose derivatives crosslinked by citric acid on electrode surface as a heavy metal absorption/sensing matrix. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 628. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127242>

Sotolarova, J., Osicka, J., Plachy, T., & Filip, J. (2024). Tailoring electrochemical properties of hydrogel by different types of graphene oxide. *Applied Surface Science*, 661, 160064. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2024.160064>

Konference

Autor

Sotolářová, J., Vinter, S., & Filip, J. Elektrochemické senzory pro detekci olova. Interaktivna Konferencia Mladých Vedcov 2023. Občianske združenie Preveda, 2023, ISBN 978-80-974608-0-8

Sotolářová, J., Filip, J., Plachý, T., Carbon Nanospheres Combined with Polysaccharides for Voltammetric Detection of Ibuprofen, First International Doctoral Conference on Advances in Chemistry (IDCAC 2024), 9.11.2024, Praha

Spoluautor

Filip.J., Osicka.J., Sotolarova.J., Wechsler.P., Interactions of Graphene Oxide in Bio - Based Hydrogel for Heavy Metal Detection, 2nd World Nanotechnology Summit (WorldNano-2021), 15-16.11. 2021, Miami-USA, Phronesis [online]

Blazevic. K., Sotolarova. J., Brasiunas. B., Filip. J., Ramanaviciene. A., Gold Nanostructure Mediated Copper Ion Detection Based on Glucose Oxidase Inhibition, 2024 IEEE 14th International Conference “Nanomaterials: Applications & Properties”(IEEE NAP-2024), 8-13.9.2024, Riga-Lotyško

Filip.J., Zabierowski. P., Sotolarova. J., Osicka. J., Plachy. T., The importance of being aware of your graphene oxide type, International Conference on Graphene Technology and 2D Materials (Graphene Tech 2024), 22-23.8.2021, Lisabon-Portugalsko

Filip.J., Julinova. M., Sotolarova. J., Mahmudova. N., Zizkova. P., Osicka. J. and Plachy.T., Biopolymers in advanced environmental engineering techniques,

International Meet and Expo on Bio-Polymers and Polymer Science, 10-12.4.2025, Budapešť-Maďarsko

PROFESNÍ ŽIVOTOPIS

Jméno a příjmení: Ing. Jitka Sotolářová
Datum narození: 03.06.1994
Kontakt: j_sotolarova@utb.cz

Pracovní zkušenosti

7/2020-12/2021 výzkumný projektový pracovník pro projekt GAČR (20-27735y)
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, fakulta technologická, Zlín

Vzdělání

9/2021- aktuální Doktorské studium v oboru chemie a technologie ochrany životního prostředí
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

9/2018–6/2020 Magisterský stupeň (Ing.); UTB ve Zlíně Chemie a technologie materiálů Ústav Inženýrství ochrany životního prostředí

7/2014–6/2018 Bakalářský stupeň (Bc.); UTB ve Zlíně Chemie a technologie materiálů Ústav Inženýrství ochrany životního prostředí

Odborná stáž

3/2024-5/2024

Vilnius University, Faculty of Chemistry and
Geosciences