

# **Využití nanomateriálů v elektrochemické detekci polutantů**

Ing. Jitka Sotolářová, Ph.D.

Teze disertační práce



**Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně**  
**Fakulta technologická**

Téze disertační práce

# **Využití nanomateriálů v elektrochemické detekci polutantů**

**Nanomaterials for electrochemical detection of pollutants**

**Autor: Ing. Jitka Sotolářová, Ph.D.**

**Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí**

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

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

**prof. RNDr. Jan Hrbáč, Ph.D.**

Zlín, Srpen 2025

© Jitka Sotolářová

Vydala **Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně** v edici **Doctoral Thesis Summary**.  
Publikace byla vydána v roce 2025

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.

ISBN 978-80-7678-348-5

## **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  $0,075 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  grafen 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  $\beta$ -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  $\text{Pb}^{2+}$  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  $\beta$ -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 Detekce polutantů ve vzorcích vody pomocí voltametrických senzorů	10
1.1.1 Modifikace povrchu elektrod .....	11
2. Cíle disertační práce .....	12
3. Metodika .....	13
3.1 Modifikace povrchu elektrody ze skelného uhlíku .....	13
3.1.1 Modifikace hydrogely na bázi derivátů celulózy .....	14
3.1.2 Elektrochemická aktivace elektrody ze skelného uhlíku .....	15
3.2 Modifikace povrchu tištěné elektrody zlatými nanočásticemi a glukóza oxidázou .....	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>
3.3 Stanovení polutantů .....	17
3.3.1 Ionty těžkých kovů a ibuprofenu .....	17
3.3.2 Modifikované SPE pro inhibici glukóza oxidázy pomocí $\text{Cu}^{2+}$ ...	19
4. Výsledky a diskuse .....	20
4.1 Elektrochemické stanovení polutantů .....	20
4.1.1 Stanovení těžkých kovů pomocí elektrody ze skleného uhlíku modifikované hydrogelem hydroxyethylcelulózy-kyseliny citrónové s přísadkem grafen oxidu .....	20
4.1.2 Stanovení kalibrační závislosti ibuprofenu .....	24
4.1.3 Stanovení měďnatých iontů pomocí zlatých nanočástic .....	27
Závěr a přínos práce .....	29
Seznam použité literatury .....	30
Seznam obrázků .....	35
Seznam tabulek .....	36
Seznam zkratk .....	36
Publikační aktivity autora .....	37
Konference .....	37

Autor	37
Spoluautor.....	38
Profesní životopis .....	39

## 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 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 tříelektrodovém systému sestávajícím z pracovní elektrody (WE), referenční elektrody (RE) a pomocné elektrody (CE). Všechny tyto elektrody jsou ponořeny do stejného elektrolytu. (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 sestrojen 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 C<sub>70</sub> 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)

### **1.1.1 Modifikace povrchu elektrod**

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)

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 okysličených 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 zlatých nanočástic (AuNPs) a glukóza oxidázy (GOx) na povrch tištěné uhlíkové elektrody (SPE) pro detekci  $\text{Cu}^{2+}$ .
- 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 měřicích 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 AuNPs za účelem zvýšení citlivosti a selektivity detekce. Detekce cílového analytu, konkrétně iontů mědi ve formě  $\text{Cu}^{2+}$ , 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  $\text{Al}_2\text{O}_3$  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 hydrogely 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 °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  $\beta$ -cyklodextrin ( $\beta$ -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  $\beta$ -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  $15 \mu\text{l}$  na povrch GCE, který byl následně, stejně jako v předchozím případě, tepelně upraven v laboratorní sušárně při  $110 \text{ }^\circ\text{C}$  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  $-1,0 \text{ V}$  do  $+1,6 \text{ V}$  vůči referenční elektrodě, přičemž rychlost skenování je nastavena na  $0,05 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ . Krok měření činí  $0,01 \text{ V}$ . 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 pomocí zlatých nanočástic 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  $\text{Au}^{3+}$  (elektrodepozice)

pomocí chronoamperometrie. Na pracovní plochu elektrody bylo aplikováno 100  $\mu\text{L}$  roztoku obsahujícího kyselinu chlorozlatitou ( $\text{HAuCl}_4$ ), která slouží jako zdroj  $\text{Au}^{3+}$ . Následně byla elektroda připojena k potenciostatu a byla provedena samotná depozice AuNPs. Během chronoamperometrie dochází při aplikaci záporného potenciálu k redukci iontů  $\text{Au}^{3+}$  na elementární kovové zlato ( $\text{Au}^0$ ), 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  $\text{HAuCl}_4$  (3 mM):

- Roztok  $\text{HAuCl}_4$  rozpuštěný v 0,2 M kyselině sírové ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).
- Roztok  $\text{HAuCl}_4$  rozpuštěný v 0,1 M dusičnanu draselném ( $\text{KNO}_3$ ).

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

- Pro roztok s  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : byl aplikován potenciál -0,2 V po dobu 60 sekund, s intervalem měření 1 s.
- Pro roztok s  $\text{KNO}_3$ : 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 ( $\text{N}_2$ ).

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  $\mu\text{l}$  0,5 M kyseliny sírové ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), která byla nanesena na

pracovní plochu elektrody. Měření probíhalo v rozsahu potenciálů od 0 V do 1,2 V s rychlostí skenování  $0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$  a celkovým počtem 10 cyklů. Tento proces slouží k elektrochemickému "očistění" a stabilizaci povrchu zlatých nanočástic. Po ukončení aktivace byla elektroda opět důkladně opláchnuta DV a osušena proudem  $\text{N}_2$ .

V závěrečné fázi byla provedena imobilizace enzymu GOx na připravený povrch SPE pokrytý aktivovanými AuNPs. Na pracovní oblast elektrody bylo nanášeno 5  $\mu\text{l}$  roztoku GOx o koncentraci  $10 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . 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 hydrogелеm 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 jednokrokovou metodou, kdy bylo přesně odměřené množství ibuprofenu z dávkovacího nebo referenčního roztoku přidáno přímo do elektrochemické cely obsahující acetátový pufr o  $\text{pH} = 4$ , 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 SPE pro inhibici glukóza oxidázy pomocí $\text{Cu}^{2+}$**

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 pufrem 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 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 Cu<sup>2+</sup> (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 Cu<sup>2+</sup> na aktivitu GOx v reálném čase. Přítomnost měďnatých iontů může ovlivnit jak samotnou enzymatickou reakci, tak i účinnost elektronového přenosu mezi GOx a mediátorem.

## **4. VÝSLEDKY A DISKUSE**

### **4.1 Elektrochemické stanovení polutantů**

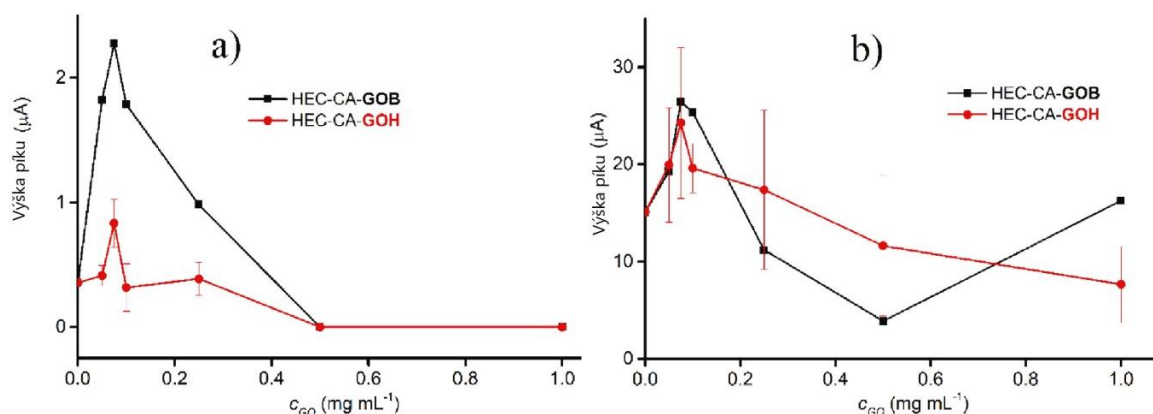
#### **4.1.1 Stanovení těžkých kovů pomocí elektrody ze skleného uhlíku modifikované hydrogелеm hydroxyethylcelulózy-kyseliny citronové s přidavkem grafen oxidu**

V rámci mé diplomové práce byly testovány elektrody modifikované hydrogелеm 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 1).

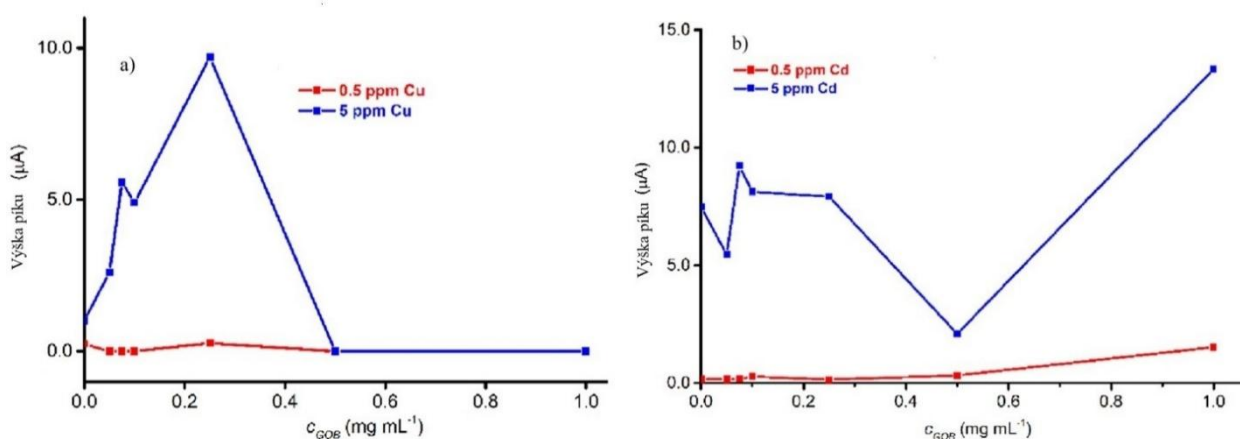
Při koncentraci 0,5  $mg \cdot l^{-1}$   $Pb^{2+}$  byla nejvyšší odezva pozorována u hydrogelu obsahujícího GOB v koncentraci 0,075  $mg \cdot ml^{-1}$ . Přidáním takto malého množství GOB se výška píku zvýšila až šestinásobně oproti hydrogelu bez GO. Hydrogel s GOH vykazoval ve srovnání s GOB nižší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



Obrázek 1: 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)

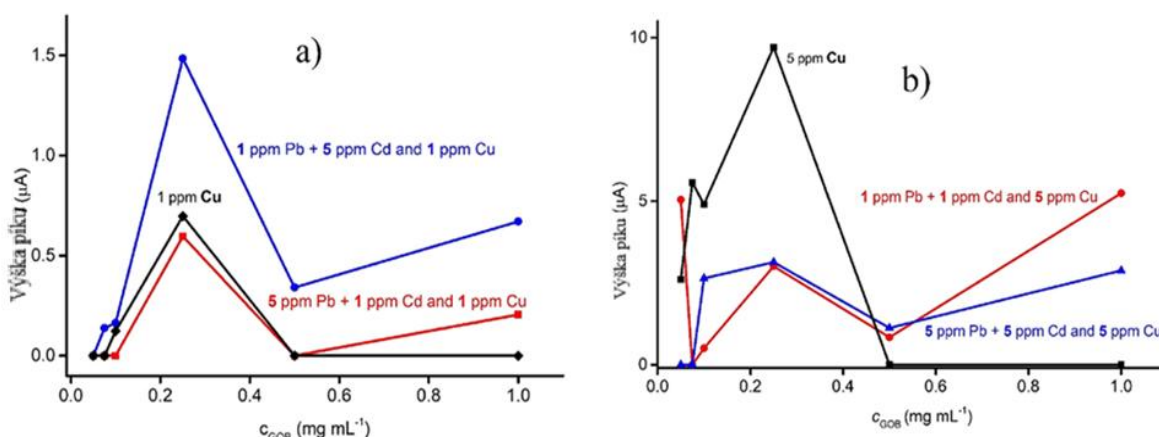
koncentraci  $0,075 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  GOB. Pro další měření byl proto zvolen hydrogel obsahující GOB.

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

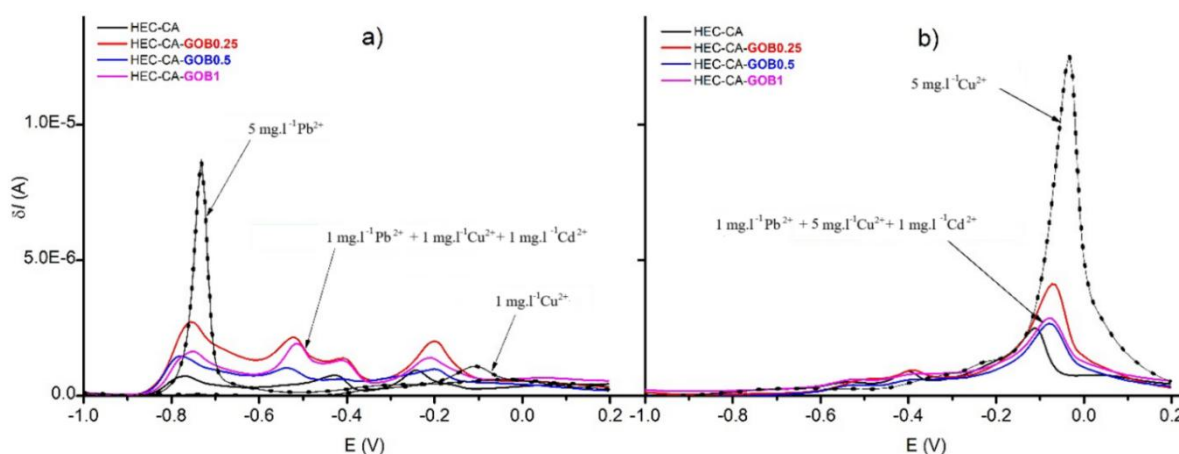


Obrázek 2: Závislost výšky píků ASSWV na koncentraci GOB dosažená při 0,5 (červená) a 5 (modrá) ppm  $\text{Cu}^{2+}$  (a) a  $\text{Cd}^{2+}$  (b). (Sotolarova et al., 2024)

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



Obrázek 3: Výšky píků ASSWV pro  $\text{Cu}^{2+}$  vynesené v závislosti na koncentraci GOB v matrici HEC-CA. a) černá-samotný  $\text{Cu}^{2+}$  o koncentraci  $1 \text{ mg.l}^{-1}$ ; modrá –  $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  v kombinaci z  $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$  a  $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ ; červená –  $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  v kombinaci z  $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$  a  $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ ; b) černá-samotný  $\text{Cu}^{2+}$  o koncentraci  $5 \text{ mg.l}^{-1}$ ; modrá –  $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  v kombinaci z  $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$  a  $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ ; červená –  $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$  v kombinaci z  $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$  a  $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$  (Sotolarova et al., 2024)



Obrázek 4: Ilustrativní voltamogramy ASSWV u získané na elektrodách potažených nanokompozity HEC-CA-GOB s různou koncentrací GOB (vyznačeno v jednotlivých grafech). Měření provedená ve „dvoustupňovém“ uspořádání, přičemž prvním krokem byla 5minutová sorpce kovů na povrch elektrody ze směsi. Druhým krokem byla ASSWV ve  $100 \text{ mM KCl}$  okyseleném na  $\text{pH}=2$ . Pro srovnání jsou uvedeny ilustrační voltamogramy získané s HEC-CA-GOB0,075 (pouze pro  $5 \text{ ppm Pb}^{2+}$  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 3 a 4 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  $\text{Cu}^{2+}$  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  $\text{Pb}^{2+}$  mohou účinněji obsazovat vazebná místa v HEC-CA-GOB než kationty  $\text{Cd}^{2+}$ .

Přítomnost  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  vedla k výraznému potlačení voltametrické odezvy  $\text{Cu}^{2+}$  ( $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) 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  $\text{Cu}^{2+}$  i v přítomnosti  $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$  a  $\text{Pb}^{2+}$ .

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

#### 4.1.2 Stanovení kalibrační závislosti ibuprofenu

Kalibrační závislosti byly vyhodnoceny na základě elektrochemické odezvy tří typů elektrod:

- GCE modifikované hydrogelem obsahujícím  $\beta\text{-CD-NaCMC-CA}$  (CNS-UREA),
- elektrochemicky aktivované GCE (parametry v bodě 3.1.2.)
- nemodifikované GCE

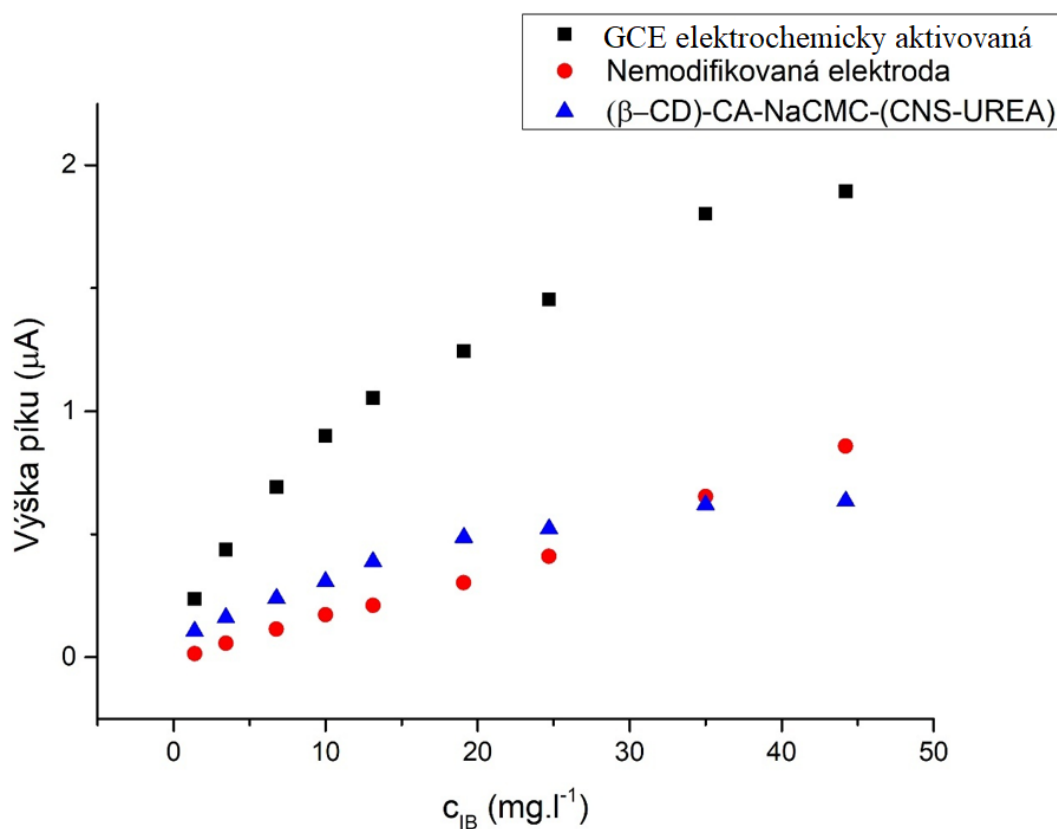
Pro kalibraci bylo použito rozmezí koncentrací IB od  $1,4 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  do  $45 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Z analýzy získaných kalibračních křivek (Obrázek 5) je patrné, že lineární vztah mezi koncentrací IB a elektrochemickou odezvou se u jednotlivých modifikovaných elektrod projevuje 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 1. Z

těchto údajů vyplývá, že modifikace GCE pomocí hydrogelu ( $\beta$ -CD)-NaCMC-CA-(CNS-UREA) vedla pouze k nepatrnému zlepšení výšky píku v lineární oblasti kalibrační křivky.

Citlivost této elektrody dosáhla hodnoty  $0,0236 \mu\text{A}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ , což je sice zlepšení oproti nemodifikované GCE ( $0,0168 \mu\text{A}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ ), 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 5: Kalibrační křivky pro IB

Tabulka 1: 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
( $\beta$ -CD)-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 2: Naměřené koncentrace IB obsažené v tabletě Ibalginu® pro elektrochemicky aktivovanou GCE

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

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

Při prvním měření (Tabulka 2) 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 vykázalo výrazný pokles a to na 69 % oproti údaji udávaném 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.

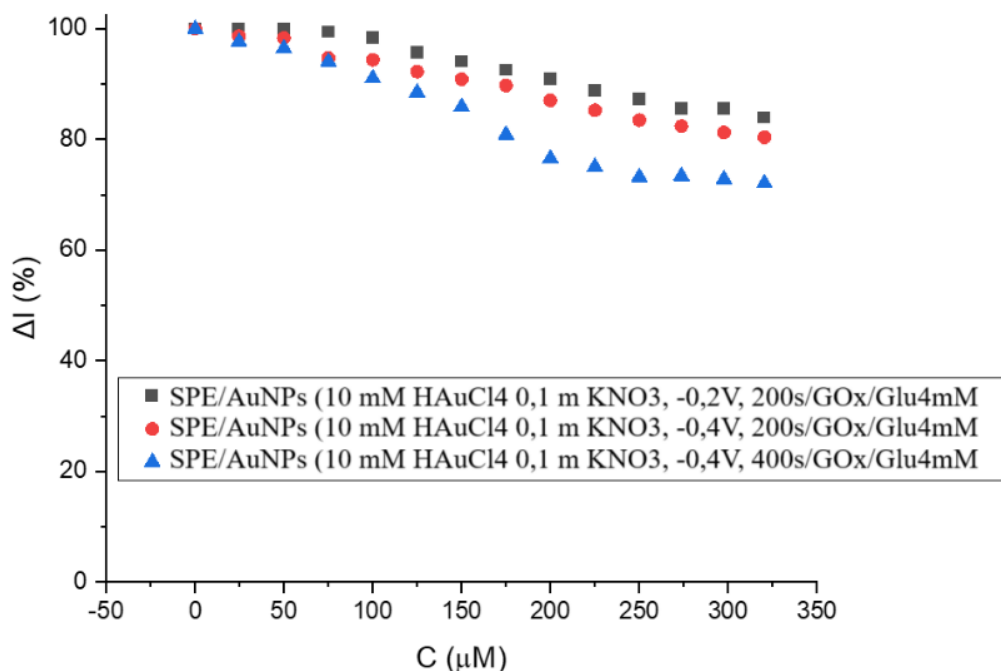
#### **4.1.3 Stanovení měďnatých iontů pomocí zlatých nanočástic**

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 obrázku 6 je prezentována srovnávací analýza inhibičního účinku iontů  $\text{Cu}^{2+}$  na aktivitu GOx za různých podmínek depozice AuNPs depozičního potenciálu a době trvání depozice. Testovány byly tři různé podmínky syntézy z roztoku 10 mM  $\text{HAuCl}_4$  smíchaným s 0,1 M  $\text{KNO}_3$ :

- -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 6: Analýza inhibičního účinku  $\text{Cu}^{2+}$  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 ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ) 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  $\text{Pb}^{2+}$  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  $\beta$ -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  $\text{Cu}^{2+}$ . Nejlepší výsledky byly dosaženy při chronoamperometrické syntéze AuNPs pomocí použití filtrovaného 10 mM roztoku  $\text{HAuCl}_4$  v 0,1 M  $\text{KNO}_3$  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  $\text{Cu}^{2+}$  byl rovněž součástí experimentu. Na základě našich testů se ukázalo, že nejvhodnější koncentrací glukózy pro efektivní inhibici iontů  $\text{Cu}^{2+}$  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](https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.0C01337/SUPPL_FILE/AC0C01337_SI_001.PDF)

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

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

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

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

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, 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, 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

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

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

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

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>

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

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

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

ZHANG, F., Gu, S., Ding, Y., Zhang, Z., & Li, L. (2013). A novel sensor based on electropolymerization of  $\beta$ -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>

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Závislost výšky píku ASSWV na koncentraci GOB (černá) a GOH (červená) v matrici HEC-CA dosažená v $0,5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ (a) a $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ (b) (Sotolarova et al., 2024).....	21
Obrázek 2: Závislost výšky píků ASSWV na koncentraci GOB dosažená při $0,5$ (červená) a $5$ (modrá) ppm $\text{Cu}^{2+}$ (a) a $\text{Cd}^{2+}$ (b)). (Sotolarova et al., 2024) .....	22
Obrázek 3: Výšky píků ASSWV pro $\text{Cu}^{2+}$ vynesené v závislosti na koncentraci GOB v matrici HEC-CA. a) černá-samotný $\text{Cu}^{2+}$ o koncentraci $1 \text{ mg.l}^{-1}$ ; modrá – $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ v kombinaci z $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ a $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ ; červená – $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ v kombinaci z $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ a $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ ; b) černá-samotný $\text{Cu}^{2+}$ o koncentraci $5 \text{ mg.l}^{-1}$ ; modrá – $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ v kombinaci z $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}$ a $1 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ ; červená – $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ v kombinaci z $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cd}$ a $5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Pb}^{2+}$ (Sotolarova et al., 2024) .....	23
Obrázek 4: Ilustrativní voltamogramu ASSWV u získané na elektrodách potažených 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 $100 \text{ mM KCl}$ okyseleném na $\text{pH}=2$ . Pro srovnání jsou uvedeny ilustrační voltamogramy získané s HEC-CA-GOB $_{0,075}$ (pouze pro $5 \text{ ppm Pb}^{2+}$ v c) a d)) a HEC-CA-GOB $_{0,25}$ (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) .....	23
Obrázek 5: Kalibrační křivky pro IB .....	25
Obrázek 6: Analýza inhibičního účinku $\text{Cu}^{2+}$ při použití různých podmínek depozice AuNPs .....	28

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Získané citlivosti a LOD pro jednotlivé modifikace GCE.....	26
Tabulka 2: Naměřené koncentrace IB obsažené v tabletě Ibalginu® pro elektrochemicky aktivovanou GCE.....	26

## 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 <sub>x</sub>	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, Ph.D.  
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

Ing. Jitka Sotolářová, Ph.D.

## **Využití nanomateriálů v elektrochemické detekci polutantů**

Nanomaterials for electrochemical detection of pollutants

Teze disertační práce

Vydala Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,  
nám. T. G. Masaryka 5555, 760 01 Zlín.

Náklad: vyšlo elektronicky

Sazba: Ing. Jitka Sotolářová, Ph.D.

Publikace neprošla jazykovou ani redakční úpravou.

Rok vydání 2025

ISBN 978-80-7678-348-5

