

# Možnosti elektrochemické detekce těžkých kovů v potravinách

Bc. Adriana Navrátilová

---

Diplomová práce  
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie potravin  
akademický rok: 2018/2019

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Adriana Navrátilová**  
Osobní číslo: **T17240**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie potravin**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Možnosti elektrochemické detekce těžkých kovů v potravinách**

Zásady pro vypracování:

- 1. Prostudovat dostupnou literaturu týkající se obecně elektrochemických metod, možností modifikace elektrod a mineralizace vzorků.**
- 2. Příprava modifikovaných elektrod a optimalizace parametrů detekce těžkých kovů v modelové matici.**
- 3. Výběr vzorků potravin a aplikace optimalizované metody detekce těžkých kovů v těchto vzorcích.**
- 4. Ze získaných dat formulovat konzistentní závěr.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] SEBASTIAN, M., MATHEW, B. Ion imprinting approach for the fabrication of an electrochemical sensor and sorbent for lead ions in real samples using modified multiwalled carbon nanotubes. *Journal of Materials Science*. 2018, 53 (5), 3557-3572. DOI: 10.1007/s10853-017-1787-x.

[2] DAHAGHIN, Z., MOUSAVI, H. Z., SAJJADI, S. M. A novel magnetic ion imprinted polymer as a selective magnetic solid phase for separation of trace lead(II) ions from agricultural products, and optimization using a Box-Behnken design. *Food Chemistry*. 2017, 237, 275-281. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.118>.

[3] LIU, G., CHEN, J., HOUA, X. HUANG, W. A highly-sensitive electrochemical sensor for the simultaneous detection of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> using liquid phase-exfoliated graphene. *Analytical Methods*. 2014, 6(15). DOI: 10.1039/C4AY00405A.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Jaroslav Filip, PhD.**

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce:

**2. února 2019**

Termín odevzdání diplomové práce:

**3. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*

doc. Ing. Jiří Miček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 30. 4. 2019

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:



(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédá k vyšší výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Teoretická část je rozdělena do čtyř kapitol, které se zabývají těžkými kovy – jejich definicí, výskytem v životním prostředí a potravinách a toxicitou, dále iontově vtisknutými polymery, nanomateriály pro elektrochemickou detekci těžkých kovů včetně nanočástic grafenu a jeho modifikací a následně samotnými elektrochemickými metodami pro detekci těžkých kovů. Praktická část diplomové práce se zabývá vytvořením a otestováním elektrochemického senzoru na bázi nově vytvořené iontově vtisknuté nanostruktury grafen oxidu/Pb<sup>2+</sup> pro elektrochemickou detekci olova. Bylo zjištěno, že připravená iontově vtisknutá nanostruktura má žádaný pozitivní vliv na selektivitu těžkých kovů při jejich elektrochemickém stanovení v "čistém" elektrolytu a rovněž byl pozorován jednoznačný pozitivní vliv při elektrochemickém stanovení olova v reálných vzorcích potravin.

Klíčová slova: těžké kovy, olovo, grafen oxid, voltametrie, iontový vtisk

## **ABSTRACT**

The theoretical part of this thesis consists of four chapters focusing firstly on heavy metals – their definition, occurrence in environment and food and their toxicity, secondly on ion-imprinted polymers, thirdly on the use of nanomaterials for electrochemical detection of heavy metal ions including graphene and its modifications, and lastly on electrochemical methods for detection of heavy metal ions. The practical part of this thesis focuses on fabrication and testing of electrochemical sensor based on a novel ion-imprinted nanostructure graphene oxide/Pb<sup>2+</sup> for electrochemical detection of lead. It has been observed that the prepared ion-imprinted nanostructure positively increases selectivity of heavy metals during their electrochemical detection in "pristine" electrolyte and positive influence has also been observed in the electrochemical detection of lead in real food samples.

Keywords: heavy metals, lead, graphene oxide, voltammetry, ion imprinting

Ráda bych tímto chtěla poděkovat Ing. Jaroslavu Filipovi, Ph.D., který mi pomohl při zpracování této diplomové práce. Zároveň děkuji za jeho cenné rady, čas, ochotu a trpělivost. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za jejich podporu během celého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

|  |           |
|--|-----------|
| <b>ÚVOD</b> .....  | <b>10</b> |
| <b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....   | <b>11</b> |
| <b>1 TĚŽKÉ KOVY</b> .....  | <b>12</b> |
| 1.1    DEFINICE.....   | 12        |
| 1.2    ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ .....   | 12        |
| 1.3    POTRAVINY .....   | 14        |
| 1.3.1    Hygienické limity těžkých kovů v potravinách .....            | 15        |
| 1.3.2    Pitná voda.....   | 15        |
| 1.4    TOXICITA .....  | 16        |
| <b>2 IONTOVĚ VTISKNUITÉ POLYMERY</b> .....                             | <b>18</b> |
| <b>3 NANOMATERIÁLY PRO ELEKTROCHEMICKOU DETEKCI TĚŽKÝCH KOVŮ</b> ..... | <b>20</b> |
| 3.1    GRAFEN A JEHO MODIFIKACE .....                                  | 20        |
| 3.1.1    Grafen oxid.....  | 22        |
| 3.1.2    Redukovaný grafen oxid .....                                  | 24        |
| 3.1.3    Grafenové kvantové tečky (GQDs).....                          | 25        |
| 3.2    UHLÍKOVÁ NANOVLÁKNA .....                                       | 25        |
| 3.3    UHLÍKOVÉ NANOTRUBICE .....                                      | 26        |
| <b>4 ELEKTROCHEMICKÉ METODY</b> .....                                  | <b>27</b> |
| 4.1    VOLTAMETRIE.....  | 27        |
| 4.1.1    Cyklická voltametrie (CV).....                                | 27        |
| 4.1.2    Pulzní voltametrie .....                                      | 29        |
| 4.1.2.1    Square wave voltametrie (SWV) .....                         | 29        |
| 4.1.3    Rozpouštěcí (stripping) voltametrie.....                      | 31        |
| 4.1.3.1    Anodická rozpouštěcí voltametrie .....                      | 31        |
| 4.2    POTENCIOMETRIE .....  | 33        |
| 4.3    AMPEROMETRIE .....  | 33        |
| <b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....   | <b>34</b> |
| <b>5 CÍL PRÁCE</b> .....   | <b>35</b> |
| <b>6 INSTRUMENTACE</b> .....   | <b>36</b> |
| 6.1    PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ VOLTAMETRICKÉ DETEKCE .....                | 36        |
| <b>7 CHEMIKÁLIE</b> .....  | <b>37</b> |
| <b>8 METODIKA</b> .....  | <b>38</b> |
| 8.1    PŘÍPRAVA ROZTOKŮ .....  | 38        |
| 8.1.1    Elektrolyty.....  | 38        |
| 8.1.1.1    Acetátový pufr .....  | 38        |
| 8.1.1.2    Roztok HNO <sub>3</sub> s NaOH.....                         | 38        |
| 8.1.1.3    Roztok HNO <sub>3</sub> s KCl.....                          | 38        |



|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| 8.2      | PŘÍPRAVA VZORKŮ POTRAVIN A JEJICH CHARAKTERISTIKA.....  | 39        |
| 8.2.1    | Příprava roztoků bílého a červeného vína.....   | 39        |
| 8.2.2    | Příprava vzorků zeleniny.....   | 40        |
| 8.3      | PŘÍPRAVA STRUKTURY GRAFEN OXIDU.....  | 40        |
| 8.4      | ČIŠTĚNÍ A MODIFIKACE PRACOVNÍCH ELEKTROD.....   | 41        |
| 8.5      | VOLTAMETRICKÁ DETEKCE.....  | 41        |
| <b>9</b> | <b>VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>  | <b>43</b> |
| 9.1      | CHARAKTERISTIKA NANOSTRUKTUR GO A GO/PB <sup>2+</sup> .....   | 43        |
| 9.1.1    | Spektroskopická analýza.....  | 43        |
| 9.1.2    | Elektrochemická charakteristika.....  | 45        |
| 9.2      | VLIV PODMÍNEK ZPŮSOBU ELEKTROCHEMICKÉ REDUKCE GO NA<br>VOLTAMETRICKOU DETEKCI PB <sup>2+</sup> IONTŮ..... | 47        |
| 9.3      | VLIV SLOŽENÍ ELEKTROLYTU NA VOLTAMETRICKOU DETEKCI PB <sup>2+</sup> IONTŮ.....                            | 49        |
| 9.4      | VLIV ZPŮSOBU MODIFIKACE PRACOVNÍ ELEKTRODY NA VOLTAMETRICKOU<br>DETEKCI PB <sup>2+</sup> IONTŮ.....       | 50        |
| 9.5      | VLIV DEPOZIČNÍHO ČASU NA VOLTAMETRICKOU DETEKCI PB <sup>2+</sup> IONTŮ.....                               | 51        |
| 9.6      | SELEKTIVITA PB <sup>2+</sup> IONTŮ VŮČI OSTATNÍM IONTŮM TĚŽKÝCH KOVŮ.....                                 | 52        |
| 9.7      | STANOVENÍ KALIBRAČNÍ KŘIVKY.....  | 59        |
| 9.8      | OTESTOVÁNÍ PŘIPRAVENÝCH NANOSTRUKTUR VE VZORCÍCH POTRAVIN.....  | 60        |
| 9.8.1    | Voltametrická odezva Pb <sup>2+</sup> iontů ve vzorcích vína.....   | 61        |
| 9.8.2    | Voltametrická odezva Pb <sup>2+</sup> iontů ve vzorcích zeleniny.....                                     | 66        |
|          | <b>ZÁVĚR.....</b>   | <b>69</b> |
|          | <b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>   | <b>70</b> |
|          | <b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>  | <b>78</b> |
|          | <b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>  | <b>79</b> |
|          | <b>SEZNAM TABULEK.....</b>  | <b>82</b> |
|          | <b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>   | <b>83</b> |

## ÚVOD

Těžké kovy jsou přirozenou součástí přírody. Do půdy se dostávají nejen z přírodních zdrojů, ale také antropogenní činností (vlivem průmyslu nebo jako složka agrochemikálií). Ionty těžkých kovů nepodléhají na rozdíl od organických látek degradaci a kumulují se v životním prostředí. Do potravin, které tvoří největší zdroj expozice těžkých kovů, se těžké kovy dostávají z půdy. V potravinách se vyskytují jako kontaminanty a jejich množství závisí na jejich koncentraci v půdě. Do lidského organismu vstupují ionty těžkých kovů dýchacím a trávicím ústrojím. Jsou škodlivé pro lidský organismus, a proto je důležité sledovat jejich výskyt jak v potravinách, tak i v životním prostředí.

Jednou z možností analýzy těžkých kovů v potravinách je elektrochemická detekce, jejíž princip spočívá v přenosu elektronů na rozhraní mezi elektrodou a analyzovaným roztokem. Vyznačuje se levnou instrumentací, poměrně vysokou citlivostí, krátkou dobou analýzy a jednoduchostí detekce. Mezi nejpoužívanější elektrochemické metody pro analýzu potravin patří zejména voltametrické metody, potenciometrie a amperometrie.

K elektrochemické detekci iontů těžkých kovů se využívají mimo jiné iontově vtisknuté polymery, kterými se modifikují pracovní elektrody. Tyto polymery se vyznačují zvláštní schopností uchovávat ve své struktuře otisk ve tvaru a velikosti analyzovaného iontu. V poslední době roste zájem i o další struktury schopné efektivně adsorbovat těžké kovy, např. grafen oxid (GO). Jedná se o oxidovanou formu grafenu. Skládá se z jednovrstvé struktury hexagonálně uspořádaných atomů uhlíku vytvářející planární rovinu, nad kterou ční navázané atomy kyslíku. Navázáním na atomy kyslíku imobilizuje GO kladně nabitě ionty, mj. kationty těžkých kovů. Aplikací dvoumocných kationtů ( $\text{Pb}^{2+}$ ) by pak mělo dojít k takovému prostorovému uspořádání jednotlivých vrstev GO, že po jejich odstranění vzniknou specifická vazebná místa pro zpětnou adsorpci téhož kationtu stejným způsobem jako u iontově vtisknutých polymerů, což může být využito ke zvýšení selektivity elektrochemické detekce  $\text{Pb}^{2+}$  iontů v potravinách. Přípravou a charakterizací této struktury se zabývá praktická část diplomové práce.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

# 1 TĚŽKÉ KOVY

## 1.1 Definice

Kovy tvoří velkou skupinu chemických prvků v periodické soustavě. Mezi kovy se řadí přibližně 80 prvků. Zatímco je pojem *kov* dobře znám, termín *těžké kovy* není jednotně definován. Často je volně formulován, nesprávně užíván a většinou odkazuje jak na prvek, tak i na jeho sloučeniny.

Tento termín je nejčastěji definován na základě specifické hmotnosti, atomové hmotnosti a atomového čísla. Z hlediska specifické hmotnosti jsou jako těžké kovy určeny ty, které mají tuto hmotnosti v rozmezí 3,5–7 g/cm<sup>3</sup>; obecně jsou označovány jako kovy s vysokou hustotou. S ohledem na atomovou hmotnost jsou těžké kovy definovány jako kovy, které mají hmotnost vyšší, než je atomová hmotnost sodíku. Co se týče atomového čísla, těžké kovy mají toto číslo větší než 20. Za těžké kovy mohou být považovány také ty kovy, které jsou toxické.

Spojení obou termínů (těžkých a toxických kovů) není spolehlivé. Souvislost mezi hustotou kovu a toxickým účinkem totiž není známa. Někdy jsou tyto dva pojmy zaměňovány, ale ne všechny těžké kovy jsou toxické. Takovým příkladem je měď, která se řadí do těžkých kovů. Do obou skupin však patří kovy: olovo, rtuť a kadmium. Na tyto zmíněné těžké kovy (zejména na olovo) se bude tato diplomová práce blíže zaměřovat [1, 2, 3].

## 1.2 Životní prostředí

Těžké kovy jsou přirozenou součástí přírody. V půdách jsou obsaženy v nízkých koncentracích. V životním prostředí těžké kovy nezůstávají na stálém místě; ve vodě, půdě nebo vzduchu migrují. Podléhají tedy v přírodě určitým migračním cyklům, které mohou mít přirozený nebo antropogenní původ. Kovy se na rozdíl od organických látek nerozkládají a hromadí se v životním prostředí zejména při pobřeží a v sedimentech [2, 4, 5].

Přírodní vody tvoří spíše přechodné prostředí, kde se těžké kovy nachází v kapalně fázi. Při vyšší koncentraci dochází k jejich postupné precipitaci (např. ve formě sulfidů) a adsorpci na tuhé částice v sedimentech. Proto je stanovován obsah těžkých kovů v sedimentech a půdách, neboť lépe poukazuje na kontaminaci životního prostředí těžkými kovy. V půdách a sedimentech se těžké kovy vyskytují ve formě iontové nebo vázané. Nejčastěji se těžké kovy vážou na uhličitany, oxidy kovů (př. železa a manganu), organické látky, sulfidy nebo

se vyskytují v silikátové matici. V jaké formě se těžké kovy nachází, určuje jejich mobilitu v půdě, a tím jejich biologickou dostupnost [5].

Intawongse a Dean [6] se zabývali absorpcí těžkých kovů (kadmia, olova, zinku, mědi a manganu) z půdy do listové a kořenové zeleniny (salát, špenát, ředkvičky a mrkev) a následné absorpci gastrointestinálním traktem *in vitro*. Koncentrace těžkých kovů v půdě byla měřena pomocí atomové absorpční spektrometrie. V zelenině byl jejich obsah stanoven pomocí elektrochemické metody diferenční pulzní anodické rozpouštěcí voltametrie a gastrointestinální extrakcí byla posuzována absorpce těžkých kovů *in vitro*. Bylo potvrzeno, že obsah těžkých kovů v zelenině vyrůstající na kontaminované půdě byl významně vyšší než na půdě nekontaminované. Následně docházelo k absorpci těžkých kovů obsažených v zelenině gastrointertinálním traktem *in vitro*.

Do půdy se dostávají těžké kovy nejen z přírodních vod, ale také z atmosférické depozice tuhých částic a antropogenní činností (průmysl a agrochemikálie). V odvětví průmyslu se jedná o zpracování rud, přičemž vznikají kontaminované páry a prach, které znečišťují životní prostředí. V odvětví zemědělství se jedná o používání průmyslových hnojiv, zejména fosfátových, kdy se do půdy dostává zejména olovo a kadmium. Další hrozbu pak tvoří pesticidy (herbicidy, insekticidy, fungicidy) [2, 4, 5]. Seznam nejdůležitějších zdrojů kontaminace životního prostředí těžkými kovy shrnuje tab. 1.

Tab. 1: Zdroje kontaminace životního prostředí těžkými kovy [2]

| Těžký kov | Zdroje kontaminace  |
|-----------|---|
| Olovo     | úpravny rud, hutě, rafinerie, chemický průmysl, akumulátory, pigmenty do barev, olovnaté sklo, přísady do glazur, zemědělství (hnojiva, insekticidy), spalování fosilních paliv, automobilový provoz (používání olovnatého benzínu) |
| Arsen     | zpracování rud, aditiva do skla, zemědělství (hnojiva, insekticidy), kouření, léčiva pro veterinární medicínu, ochranné prostředky na dřevo   |
| Selen     | zpracování rud, komunální odpady, spalování fosilních paliv, povrchové úpravy kovů, polovodiče  |
| Měď       | elektrotechnický materiál, slitiny (mosazi, bronzy), komunální odpad, chemický průmysl, zemědělství (fungicidy), měděné dráty a plechy  |
| Zinek     | galvanizace, pigmenty do barev a keramických glazur, slitiny (mosazi, bronzy), zemědělství, komunální odpad, kouření  |
| Kadmium   | doprovodný kov v zinkových a olovných rudách, zemědělství (fosfátová hnojiva), pigmenty pro barvy a plasty, baterie, spalování fosilních paliv, kouření   |
| Rtuť      | zpracování rud, zemědělství (herbicidy, fungicidy), elektrochemie, katalytické procesy, baterie, lékařství (teploměry, zubní amalgamy), spalování fosilních paliv   |
| Chrom     | chemický průmysl, pigmenty do barev, ochranné prostředky na dřevo, zpracování kůže, výroba cementu, pokovování, slitiny, spalování fosilních paliv  |
| Nikl      | úpravny rud, hutě, rafinerie, baterie, pokovování, slitiny, kosmetické přípravky (šampony, laky na vlasy), kouření  |

### 1.3 Potraviny

Potraviny jsou pro člověka největším zdrojem expozice olova. Olovo se v potravinách vyskytuje jako kontaminant a jeho množství závisí na koncentraci olova v půdě. Prozatímní (provizorní) tolerovatelný týdenní příjem olova byl stanoven Světovou zdravotnickou organizací (WHO) spolu s Organizací pro výživu a zemědělství (FAO) na 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti. Průměrná spotřeba olova dietární expozicí se pro dospělého jedince v evropských zemích odhaduje na 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti. K dietární expozici nejvíce přispívají výrobky z obilovin, brambory, voda a alkoholické i nealkoholické nápoje – nejvíce čaj, káva, pivo a víno [7]. Průměrný obsah olova ve vybraných potravinách je uveden v tab. 2.



Tab. 2: Průměrný obsah olova ve vybraných potravinách [7]

| Potravina              | Obsah olova [ $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ] |
|------------------------|---------------------------------------|
| Maso                   | 16                                    |
| Ryby                   | 22                                    |
| Mléko a mléčné výrobky | 10                                    |
| Vejte                  | 12                                    |
| Výrobky z obilovin     | 29                                    |
| Brambory               | 19                                    |
| Ovoce                  | 15                                    |
| Kořenová zelenina      | 19                                    |
| Listová zelenina       | 41                                    |
| Čaj                    | 12                                    |
| Káva                   | 4                                     |
| Pivo                   | 12                                    |
| Víno                   | 25                                    |

### 1.3.1 Hygienické limity těžkých kovů v potravinách

Maximální přípustné limity těžkých kovů v potravinách jsou stanovené Nařízením Komise (EU) č. 1881/2006 [9] ze dne 19. prosince 2006. V příloze jsou hygienické limity pro vybrané kontaminující látky stanoveny v oddílech rozdělených do jednotlivých kategorií potravin. Oddíl týkající se limitů pro olovo je dále upraven a rozšířen ve znění pozdějších předpisů – Nařízení Komise (EU) č. 420/2011 [10] ze dne 29. dubna 2011, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, a Nařízení Komise (EU) 2015/1005 [11] ze dne 25. června 2015, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, co se týče maximální koncentrace olova v některých potravinách.

### 1.3.2 Pitná voda

Koncentrace olova je v povrchových i podzemních vodách nízká, a proto není kontaminace olovem ze zdroje pitné vody běžná. Kontaminace by byla možná pouze v případě použití vody jako pitné v oblasti těžby, avšak taková voda se jako pitná nepoužívá. Z tohoto důvodu se bere v úvahu znečištění pitné vody během její distribuce od zdroje až k samotnému spotřebiteli.

Z hlediska distribuce je možná kontaminace olovem přímo ve vnitřních sítích domovních vodovodů, kde bylo použito vodovodní potrubí nebo přípojky z olova. Použití olovených trubek bylo obvyklé před 2. světovou válkou, poté bylo olovo, které se mimo jiné využívalo při výrobě střeliva, jako nedostatkové zboží. I přes tuto skutečnost se stále v České republice najdou domy s vodovody zhotovených z olova. Těchto domů se odhaduje na méně než 10 % [12].

Dnes se pro výrobu vodovodního potrubí využívají kovové slitiny (mosaz, bronz), do kterých se olovo přidává z důvodu zlepšení mechanických vlastností i jako protikorozní materiál. Přídavek tohoto olova je však omezený. Dříve bylo také olovo přidáváno do PVC jako stabilizátor. Tyto přídavky olova jsou také zdrojem kontaminace, ale ta je daleko menší než v případě zhotovení vodovodu přímo z olova [12].

Maximální obsah olova v pitné vodě je stanoven ve vyhlášce č. 252/2004 Sb. [13], která určuje hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontrol pitné vody v platném znění. Nejvyšší mezní hodnota je stanovena na 10  $\mu\text{g/l}$ . Určuje se z reprezentativního vzorku odebraného vhodnou metodou a při jejím překročení je voda vyloučena jako pitná. Dle Zprávy o kvalitě pitné vody v ČR za rok 2017 [14] byla sledována jakost pitné vody zásobující oblasti České republiky. Aritmetický průměr obsahu olova činil 1,1  $\mu\text{g/l}$ . Z vybraných látek v pitné vodě zaujímá olovo 1–10 % expozičního limitu a nepředstavuje riziko ohrožení lidského zdraví.

## 1.4 Toxicita

Toxické těžké kovy (olovo, rtuť a kadmium) nejsou esenciální, kumulují se v lidském těle a působí nepříznivě v lidském organismu. Možnosti expozice mohou být prostřednictvím trávicího, dýchacího ústrojí (kůží se těžké kovy prakticky nevstřebávají) a v případě teratogenního účinku přes placentu do vyvíjejícího se plodu. Ionty těžkých kovů se vstřebávají do krve, odkud se dostávají k cílovým orgánům, kde působí toxicky.

Obávaným potenciálním rizikem pro lidské zdraví je chronická toxicita těžkých kovů v cílových orgánech. Těžké kovy v cílových orgánech (tab. 3) narušují metabolické funkce dvojitým způsobem. Buď narušují jejich fyziologickou funkci, nebo vytěsňují esenciální minerální látky a zaujímají jejich původní místo [2, 4, 15, 16].

Tab. 3: Toxicita jednotlivých těžkých kovů [2]

| Těžký kov | Cílový orgán                                  |
|-----------|---|
| Olovo     | dlouhé kosti, mozek, játra, ledviny, placenta |
| Arsen     | centrální nervový systém, kůže, vlasy         |
| Kadmium   | ledviny, játra, varlata                       |
| Rtuť      | mozek, játra, ledviny, imunitní systém        |
| Chrom     | plíce, játra, ledviny, pohlavní orgány, kůže  |
| Nikl      | plíce, srdce, imunitní systém, kůže           |

Olovo se do organismu dostává absorpcí z kontaminovaného jídla, vody, vzduchu, aerosolu, půdy a prachu. Z celkového přijatého množství olova je 60 % přijato prostřednictvím trávicího ústrojí a 30 % inhalací [2]. Dle Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) [7] je odhad přívodu olova mezi roky 2003–2010 o 23 % nižší. Důvodem jsou jistá opatření, která vedla k prevenci jeho přívodu. Mezi tato opatření patří zákaz užívání olova nebo jeho přídavku do pohonných hmot, barev a nátěrů a dále zákaz výroby potrubí a přípojek z olova, které přichází do přímého kontaktu s pitnou vodou.

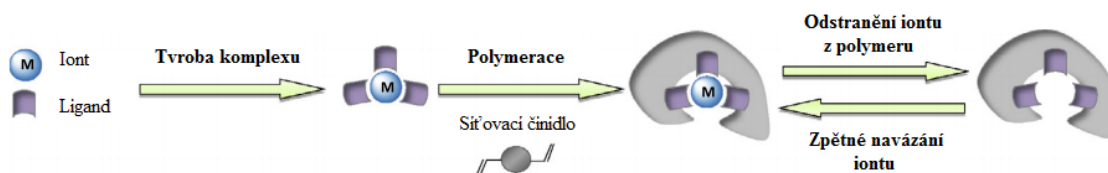
Hlavním cílovým orgánem olova jsou kosti, kde je kumulováno až 90 % jeho přijatého množství. Olovo je považováno za antagonistu vápníku, vytěsňuje jej v kostech a zaujímá jeho místo. Jeho biologický poločas se v kostech pohybuje v rozmezí 10–30 let. Olovo se kromě kostí dále distribuuje do měkkých tkání. Nejvíce se dostává do ledvin, následně do jater, srdce a mozku, kde způsobuje lokální poškození. I nízké hodnoty koncentrace olova v krvi jsou spojovány se systolickou hypertenzí a chronickou renální insuficiencí. Nejcitlivějším orgánem vůči kontaminaci olova je centrální nervová soustava. Při vysoké expozici olova se jako časná symptomy objevují bolesti hlavy, podrážděnost, snížení pozornosti, ztráta paměti a apatie. Vyvíjející se centrální nervová soustava je vnímavější na expozici olova než centrální nervová soustava dospělého člověka. Olovo poškozuje nervovou soustavu plodu, zvyšuje prevalenci potratů a předčasného porodu a snižuje porodní váhu dítěte [2, 8, 15].

## 2 IONTOVĚ VTISKNUTÉ POLYMERY

Iontově vtisknuté polymery jsou polymery schopné selektivně navázat pouze specifický iont. Ve své struktuře vytváří tzv. aktivní místo, do kterého se určitý iont přednostně váže oproti ostatním přítomným iontům v matrici. Takové polymery se vyznačují vysokou selektivitou, neboť vysoká afinita k vybranému iontu je zde dána přesně nastavenou velikostí a tvarem aktivního místa. Iontově vtisknuté polymery se využívají k separaci nebo kvalitativní nebo kvantitativní detekci iontů. Uplatňují se v senzorech, selektivních membránách nebo při extrakci jako vysoce selektivní adsorbenty. Jejich výhodou je relativně jednoduchá příprava, snadná použitelnost, vysoká stabilita a možnost opakovatelnosti, která umožňuje po odstranění iontu z polymeru jeho opětovné navázání díky tzv. paměťové stopě, kterou iont zanechává v polymeru ve tvaru aktivního místa [17, 18].

Obecně se iontově vtisknuté polymery připravují za použití monomeru (ligandu), síťovacího činidla, které spojuje polymer příčnými vazbami, a vytváří tak síť polymeru, iniciátoru polymerizace a templátu (iontu). Nejprve interaguje monomer s iontem za vzniku komplexu, který je v dalším kroku obklopen síťovacím činidlem. Nastává polymerace za vzniku trojrozměrné polymerní sítě obsahující ve své struktuře ionty templátu obklopené molekulami ligandu. Iont je následně odstraněn extrakcí a zanechává v polymeru vtisknuté aktivní místo, které odpovídá jeho tvaru. Postup přípravy iontově vtisknutých polymerů, který znázorňuje obr. 1, lze shrnout do následujících tří kroků [17, 18]:

- komplexace iontu s monomerem,
- polymerizace komplexu,
- odstranění iontu z polymeru.



Obr. 1: Upravené schéma syntézy iontově vtisknutých polymerů [17]

Iontově vtisknuté polymery mohou být součástí elektrochemických senzorů, které jsou široce využívány pro detekci iontů v oblasti potravinářství, životního prostředí, ale také v oblasti klinické diagnostiky. Tato zařízení podávají rychlou informaci o složení systému za pomoci chemicky selektivních materiálů, kterými mohou být iontově nebo molekulárně

vtisknuté polymery. Jejich rozdíl spočívá v navázaných templátech, které zanechávají v polymerech svůj tvar. Zatímco u iontově vtisknutých polymerů tvoří templát ionty, u molekulárně vtisknutých polymerů jsou to celé molekuly detekovaných chemických látek. Kromě elektrochemických senzorů také existují elektrochemické biosenzory, u kterých plní rozpoznávací schopnost biologické molekuly, jako jsou nukleové kyseliny, enzymy, protilátky, receptory nebo celé buňky [19, 20].

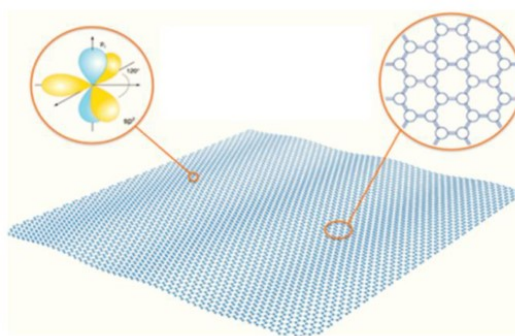
### 3 NANOMATERIÁLY PRO ELEKTROCHEMICKOU DETEKCI TĚŽKÝCH KOVŮ

Příprava iontově vtisknutých polymerů spadá již do oblasti nanotechnologií, resp. nanomateriálů. Nanomateriál je obecně definován Evropskou komisí [21] a rozumí se jím „přirodní materiál, materiál vzniklý jako vedlejší produkt nebo materiál vyrobený obsahující částice v nesloučeném stavu nebo jako agregát či aglomerát, ve kterém je u 50 % nebo více částic ve velikostním rozdělení jeden nebo více vnějších rozměrů v rozmezí velikosti 1–100 nm“. Při elektrochemické detekci se využívá elektrod modifikovaných těmito materiály, neboť může docházet ke zvýšení citlivosti a selektivity elektrochemické metody. Vzhledem k malé velikosti nanočástic, resp. nanopórů, dochází ke zvětšení aktivní plochy pracovní elektrody, čímž také roste počet elektrodoých reakcí a rychlost transportu elektronů probíhající na jejím povrchu [20, 22, 23, 69].

Nanomateriály zaváděné při elektrochemické detekci iontů těžkých kovů lze rozdělit na nanomateriály na bázi uhlíku, kovu či jiného materiálu. Nejvíce využívané jsou nanomateriály na bázi uhlíku. Jejich hlavní výhoda tkví v tom, že slouží jako adsorbent k zakoncentrování těžkých kovů při rozpouštěcí voltametrii a zároveň slouží jako indikátor působící při square wave voltametrii. Mezi takové nanomateriály patří např. grafen spolu s jeho modifikacemi, uhlíková nanovlákna a uhlíkové nanotrubičky [22].

#### 3.1 Grafen a jeho modifikace

Grafen je jednovrstvá struktura atomů uhlíku uspořádaných do hexagonální mřížky. Vazby mezi jednotlivými atomy uhlíku jsou kovalentní a charakteristické  $sp^2$  hybridizací. Vytváří planární (rovinné) útvary, jejichž strukturu znázorňuje obr. 2. Grafen je také považován za dvojrozměrný atomový krystal a polovodič [24, 25, 26].



Obr. 2: Struktura grafenu [26]



Příprava vysoce kvalitního grafenu je komplikovaná jeho velmi tenkou strukturou. Existuje však několik metod pro jeho izolaci. Grafen se připravuje z grafitu, který je složený z několika grafenových vrstev, které je nutno od sebe oddělit. První technikou přípravy grafenu je mikromechanické štípání (metoda izolepy). Její princip spočívá v oddělení vrchní vrstvy grafitu (exfoliaci) kouskem lepicí pásky. Vynaložená síla pro oddělení vrstev musí být větší, než je energie van den Waalsových interakcí, které jednotlivé vrstvy spojují. Lepicí páska se zachycenými vrstvami grafitu je pak přitlačena k substrátu se zvýšenou afinitou k vrstvám grafenu. Jako substrát se používá podklad na bázi oxidu křemíku. Touto poměrně jednoduchou metodou lze získat vysoce kvalitní grafenové krystaly [24].

Další poměrně rozšířenou metodou izolace grafenu je jeho chemické vylučování z plynné fáze. Metoda spočívá v rozpuštění plynných reaktantů (metan, etan nebo propan) na rozeřtý substrát kovu – niklu nebo mědi. Grafenová vrstva se utvoří na povrchu použitého substrátu během procesu chlazení. Získaná vrstva se pak přemisťuje na vhodný materiál, ze kterého se pak získává grafen [24].

Grafen se vyznačuje mnoha pozitivními vlastnostmi. Jde o velmi tenký, přitom však pevný a pružný materiál. Je nerozpustný ve vodě. Grafen dobře vede teplo a disponuje vysokou elektronovou mobilitou, která se projevuje vysokou elektrickou vodivostí. V elektrochemii se využívá ke zvýšení selektivity elektrochemického měření [24, 25].

Na bázi grafenu jsou vytvářeny elektrochemické senzory. Příkladem je využití grafenu jako elektrochemického senzoru aplikací L-cystein/grafenu pro modifikaci pracovní elektrody ze skelného uhlíku pro současnou detekci těžkých kovů. L-cystein je aminokyselina obsahující thiolové skupiny ve své molekule, které jsou elektroaktivní. Váže se na grafen na základě  $\pi$ - $\pi$  interakce. Oxidovaná forma L-cysteinu vytváří adsorpční film na povrchu elektrody pro detekci  $Pb^{2+}$  a  $Cd^{2+}$  iontů. Pro následnou detekci nasorbovaných iontů byla použita elektrochemická metoda diferenční pulzní anodické rozpouštěcí voltametrie. Detekční limit byl stanoven na 0,12  $\mu\text{g/l}$  pro  $Pb^{2+}$  a 0,45  $\mu\text{g/l}$  pro  $Cd^{2+}$  [27].

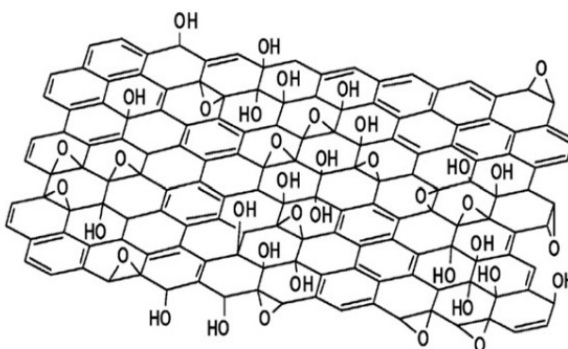
Dalším způsobem chemické modifikace pracovní elektrody s grafenem je použití nafionu a iontové kapaliny (1-butyl-2,3-dimetylimidazolium tetrafluoroborát). Nafion je perfluorovaný polymer obsahující sulfonové funkční skupiny a slouží při elektrochemické detekci jako kationtový výměník. Iontové kapaliny mají vysokou schopnost iontové vodivosti a používají se jako elektrochemické rozpouštědlo nebo jako modifikátory pracovní elektrody. Pro současnou detekci  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  a  $Zn^{2+}$  iontů za pomoci anodické rozpouštěcí square

wave voltametrie byl vyvinut elektrochemický senzor na bázi nafion/iontová kapalina/grafenu. Jako substrát byla použita bismutová elektroda. Hodnoty detekčních limitů pro jednotlivé ionty byly velmi nízké. Pro  $Pb^{2+}$  ionty činil detekční limit 0,08 ng/l, pro  $Cd^{2+}$  ionty 0,06 ng/l a pro  $Zn^{2+}$  ionty 0,09 ng/l [29].

Pro elektrochemickou detekci se využívá čistého grafenu nebo jeho chemicky modifikované formy – grafen oxid, redukovaný grafen oxid a grafenové kvantové tečky [24, 25, 26, 71].

### 3.1.1 Grafen oxid

Grafen oxid je oxidovanou formou grafenu. V jeho struktuře jsou včleněné atomy kyslíku, které vyčnívají mimo jeho planární rovinu. Jsou navázány na atomech uhlíku dvojnou vazbou nebo ve formě hydroxylových, karboxylových a epoxidových skupin [24]. Navázané atomy kyslíku ve struktuře grafen oxidu jsou ukázány na obr. 3.



Obr. 3: Schéma grafen oxidu [30]

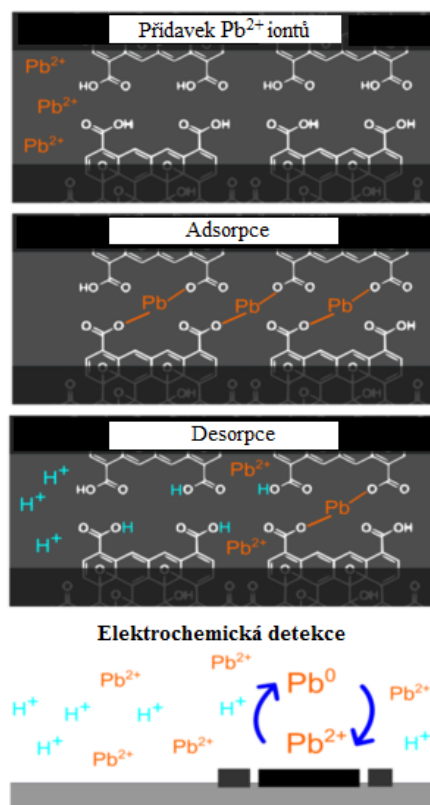
Využití grafen oxidu je upřednostňováno oproti samotnému grafenu, a to ze dvou hlavních důvodů. Prvním z nich je jeho jednoduchá syntéza z grafitu, ve které je grafit oxidován za pomoci oxidačních činidel. V současné době se využívá modifikovaná Hummerova metoda [31], kde je grafen oxid připravován ze směsi grafitu, dusičnanu sodného, manganistanu draselného a kyseliny sírové. Oxidovaný grafit obsahuje ve své struktuře kyslíkové skupiny. Tyto navázané kyslíkové skupiny usnadňují vznik grafen oxidu tím, že oddalují jeho jednotlivé vrstvy od sebe a činí grafit rozpustnějším ve vodě. Jednotlivé vrstvy grafen oxidu jsou následně separovány ve vodném roztoku za použití ultrazvukových vln nebo mechanického míchání [32, 33].

Dalším hlavním důvodem je hydrofilita grafen oxidu. Zatímco je samotný grafen ve vodě nerozpustný, grafen oxid je díky svým hydrofilním skupinám ve vodě rozpustný. Ve

vodném roztoku vytváří disperze, kde se grafen oxid rozpadne na tzv. miniaturní tenké „vločky“ různého tvaru. Ty vytváří roztok i suspenzi hnědé barvy v závislosti na jeho koncentraci [32].

Určitou nevýhodou grafen oxidu je jeho elektrická vodivost, která je oproti grafenu nižší. Vodivost grafenu se totiž opírá o síť konjugovaného systému hexagonálního uspořádání, kterou v grafen oxidu narušují navázané kyslíkové skupiny. Tím se snižuje mobilita elektronů a jeho celková elektrická vodivost [30].

Grafen oxid je využíván v elektrochemických senzorech jako adsorbent iontů těžkých kovů, neboť na sebe váže dvojmocné ionty těžkých kovů ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) pomocí funkčních skupin obsahujících kyslík [34]. Schéma adsorpce a následné desorpce  $\text{Pb}^{2+}$  iontů nastávajících při elektrochemické detekci znázorňuje obr. 4.



Obr. 4: Upravené schéma elektrochemické detekce – adsorpce a desorpce  $\text{Pb}^{2+}$  iontů [34]

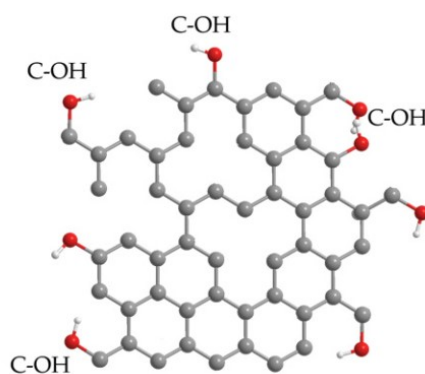
Studie autorů Sitko et al. [35] se zabývala využitím grafen oxidu pro adsorpci dvojmocných iontů těžkých kovů z vodného roztoku. Z testovaných dvojmocných iontů těžkých kovů byla zjištěna nejvyšší afinita  $\text{Pb}^{2+}$  iontů a nejnižší afinita  $\text{Zn}^{2+}$  iontů ke grafen oxidu.

Grafen oxid byl využit také pro elektrochemickou detekci iontů těžkých kovů v analýze potravin. Ůstündađ et al. [36] ve své studii využili pracovní elektrody ze skelného uhlíku (GCE) modifikované oxidem manganičitým s grafen oxidem pro elektrochemickou detekci  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  iontů ve vzorcích rýže za pomoci diferenční pulzní anodické rozpouštěcí voltametrie. Ionty měly v připraveném elektrochemickém senzoru limit detekce 0,08  $\mu\text{g/l}$  pro  $\text{Pb}^{2+}$  ionty a 0,04  $\mu\text{g/l}$  pro ionty  $\text{Cd}^{2+}$ .

Další studie [37] využila GCE modifikované nanomateriálem obsahujícím grafen oxid/ $\kappa$ -karagenan/L-cystein pro elektrochemickou detekci  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  iontů za pomoci anodické rozpouštěcí square wave voltametrie. Testovány byly vzorky pitné vody a mléka, kde byl stanoven detekční limit pro vytvořený voltametrický senzor na 1,08 nM a 0,58 nM pro  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  ionty.

### 3.1.2 Redukovaný grafen oxid

Další modifikací grafenu je redukovaný grafen oxid. Ten vzniká odstraněním kyslíkových skupin (redukcí) z grafen oxidu. Kyslíkové skupiny nejsou zcela odstraněny, ale některé z nich zůstávají a ční mimo jeho hexagonální rovinu. Jeho struktura (obr. 5) je charakterizována poměrem celkového počtu atomů uhlíku k celkovému počtu atomů kyslíku C:O. Zatímco tento poměr v grafen oxidu činí 4:1–2:1, redukovaný grafen oxid má tento poměr vysoký – většinou dosahuje 12:1 [30].



Obr. 5: Schéma redukovaného grafen oxidu [24]

Existuje několik možností redukce grafen oxidu. První z nich je termální redukce, kdy je grafen oxid zahříván na vysokou teplotu. Nejčastěji se vysoké teplotě podrobuje vodný roztok grafit oxidu ve vakuu nebo v inertní atmosféře. Rychlé zvýšení teploty zapříčiňuje rozklad kyslíkových skupin uvnitř struktury grafit oxidu na plyny. Tyto plyny pak

zvyšují tlak mezi jednotlivými vrstvami grafitu, který se rozpadá za vzniku jednovrstevných nanočástic redukovaného grafen oxidu.

Druhou možností je chemická redukce, která na rozdíl od termální redukce nepotřebuje vysoké teploty. Dříve se jako silné redukční činidlo používal hydrazin a jeho deriváty, které se přidávaly do vodného roztoku grafen oxidu. Hydrazin a jeho deriváty jsou vysoce toxické, a proto se v dnešní době nepoužívají. V současné době je využívána kyselina jodovodíková, která zajišťuje v porovnání s ostatními užívanými redukčními činidly (tetrahydridoboritanem sodným, kyselinou askorbovou a hydrazinem) redukovanému grafen oxidu značnou flexibilitu, nejvyšší elektrickou vodivost a nejvyšší poměr C:O, který činí okolo 15.

Další možností je elektrochemická redukce, kdy není nutné přidávat žádná redukční činidla a zároveň také není potřeba odstraňovat vedlejší produkty vzniklé při chemické redukci. Elektrochemická redukce se odehrává v elektrochemické cele s vodným roztokem pufru a grafen oxidem, který je nanesen v tenkém filmu na vhodný substrát (elektroda). Sledovaná redukce probíhá výměnou elektronů mezi grafen oxidem a pracovní elektrodou.

Redukovaný grafen oxid má oproti neredukovanému grafen oxidu zcela rozdílné vlastnosti. Především je více hydrofobní, tudíž ve vodném roztoku vytváří agregáty, které způsobují černé zabarvení. Odlišná je také elektrická vodivost, která je u redukovaného grafen oxidu vyšší. Příčinou je obnovení konjugovaného systému v jeho hexagonální struktuře, která zvyšuje elektronovou mobilitu [30].

### 3.1.3 Grafenové kvantové tečky (GQDs)

GQDs tvoří malé fragmenty grafenu obsahující ve své struktuře pouze atomy uhlíku. Většina připravených GQDs však obsahuje také atomy kyslíku (ve formě hydroxylových, karbonylových, karboxylových a epoxidových skupin) a vodíku a jsou složeny z více než jedné grafenové vrstvy. GQDs vytváří strukturu hexagonálního symetrického krystalu a vyznačuje se dobrou rozpustností ve vodě [26, 38].

## 3.2 Uhlíková nanovlákná

Uhlíkové nanovlákná je vlákno tvořené několika grafenovými vrstvami o průměru 50–200 nm. Jednotlivé vrstvy grafenu mohou mít kónické uspořádání, uspořádání ve tvaru písmene U nebo ve formě rovinných desek navrstvených nad sebou.

Uhlíková nanovlákná se vyznačují vysokou pevností v tahu, dále vysokou mechanickou a chemickou odolností. Mají nízkou pórovitost a nízkou permeabilitu [39, 40].

### **3.3 Uhlíkové nanotrubičce**

Uhlíkové nanotrubičce se dělí do dvou základních skupin. První skupinou jsou jednotlivé uhlíkové nanotrubičce (SWNT), které tvoří jednovrstvý grafen stočený do trubičce. Druhou skupinu tvoří vícevrstvé nanotrubičce (MWNT), které mají průměr 5–20 nm s délkou až 1  $\mu\text{m}$ . Mohou mít různé tvary související se způsobem jejich přípravy [22, 39, 70].



## 4 ELEKTROCHEMICKÉ METODY

Obecně se elektrochemie zabývá přenosem elektronů (oxidoredukčními reakcemi) na rozhraní mezi elektrodou a analyzovaným elektrolytem. Elektrochemické (elektroanalytické) metody jsou založené na sledování elektrochemických vlastností zkoumaného roztoku, které závisí na jeho chemickém složení a koncentraci látek. Elektrochemické vlastnosti se měří v elektrochemickém článku, kde je analyzovaný roztok v kontaktu s elektrodami. Z elektrod je veden signál do měřicího přístroje, který zaznamenává některou ze sledovaných elektrických veličin – elektrický proud, potenciál, vodivost, náboj, kapacitu apod. [41, 42].

Velkou výhodou elektrochemických metod je jejich poměrně levná instrumentace a vysoká citlivost pro anorganické i organické sloučeniny. Umožňuje rychlé analýzy (časově měřené v sekundách) a současné stanovení několika analytů. Mezi nejpoužívanější pro analýzu potravin patří hlavně voltametrické metody, dále potenciometrie a amperometrie [43].

### 4.1 Voltametrie

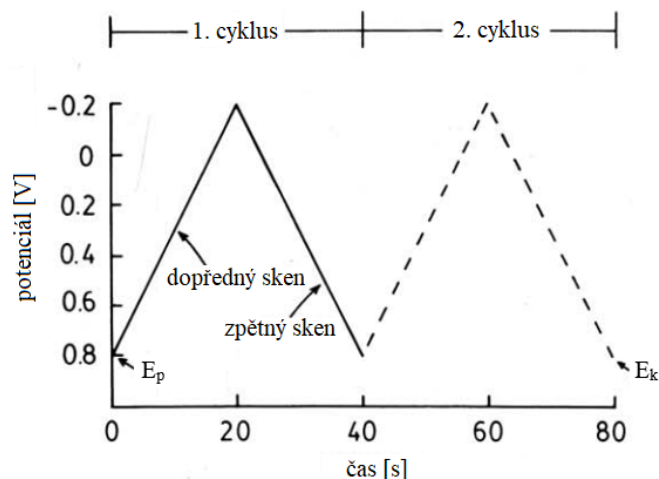
Voltametrie (neboli voltamperometrie) je metoda, při které je proud měřen jako funkce elektrodového potenciálu. Na pracovní elektrodu, která je ponořena do analyzovaného roztoku, je vložen elektrický potenciál z vnějšího zdroje. Je sledována závislost proudu procházejícího pracovní elektrodou na elektrodovém potenciálu. Tuto závislost lze měřit buď v ustáleném stavu, nebo ve stavu neustáleném za nestacionárních podmínek [28, 44].

Voltametrie je široce využívána k měření a detekci těžkých kovů. Měří jejich stopové množství a dosahuje velmi nízkého detekčního limitu – nanomolárních až pikomolárních koncentrací. Pro zvýšení elektrochemické citlivosti této metody se při detekci iontů těžkých kovů využívají různé nanomateriály [22].

#### 4.1.1 Cyklická voltametrie (CV)

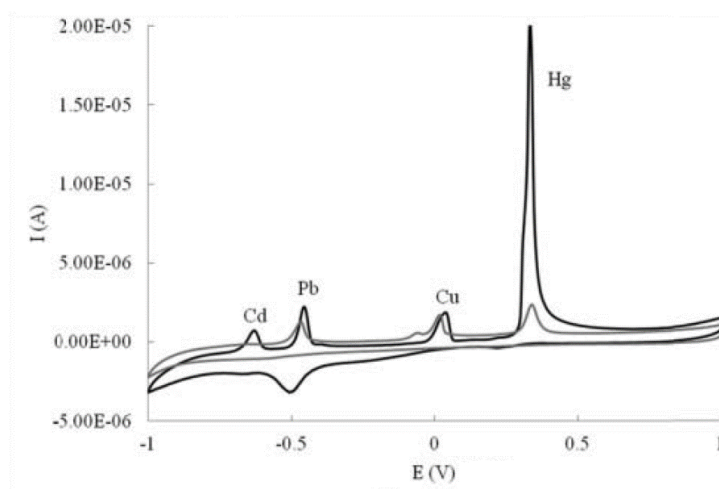
CV patří mezi univerzální metody elektrochemické detekce. Slouží pro stanovení různých elektroaktivních látek – anorganických, organických i biochemických, včetně iontů těžkých kovů. Umožňuje sledovat elektrodové reakce na povrchu pracovní elektrody při aplikaci širokého rozmezí potenciálu. Probíhá v nestacionárních podmínkách, tedy neustáleném stavu, kdy v elektrochemickém článku probíhá elektrolýza [28, 45, 46].

V průběhu CV se na elektrodu vkládá potenciál, který se mění v cyklech. Počet cyklů může být různý. Jeden cyklus, který je charakteristický trojúhelníkovým tvarem ohraničených počátečním a konečným potenciálem, se skládá z dopředného skenu, kde se hodnota potenciálu snižuje, a zpětného skenu, kde se hodnota potenciálu zvyšuje [28, 46]. Potenciálový program CV znázorňuje obr. 6.



Obr. 6: Upravený potenciálový program CV při aplikovaném počátečním potenciálu  $E_p$  a konečném potenciálu  $E_k$  [46]

CV se používá pro detekci těžkých kovů, kde je výsledkem cyklický voltamogram – závislost proudu naměřeného na pracovní elektrodě na vkládaném napětí. Příklad cyklického voltamogramu s jednotlivými píky iontů těžkých kovů je znázorněn na obr. 7.



Obr. 7: Cyklický voltamogram současné detekce iontů olova, kadmia, mědi a rtuti (molární koncentrace  $5,66 \times 10^{-6} \text{ mol.l}^{-1}$ ) za pomoci grafitových pracovních elektrod modifikovaných nanotrubicemi v 0,2 M (černá barva) a 1 M (šedá barva) acetátovém pufru [47]

Cyklický voltamogram se skládá z katodické a anodické části. Katodická část skenu, která vzniká důsledkem redukce iontů  $\text{Me}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Me}^0$ , je kladná a zvyšuje se při dopředném skenu. Jeho maximální hodnota vytváří výšky píků pro jednotlivé ionty těžkých kovů. Naopak během anodické části skenu se redukovaná forma  $\text{Me}^0$  oxiduje ve formě  $\text{Me}^{2+}$  iontů a měřený proud stoupá při zpětném skenu [28, 46, 47].

#### 4.1.2 Pulzní voltametrie

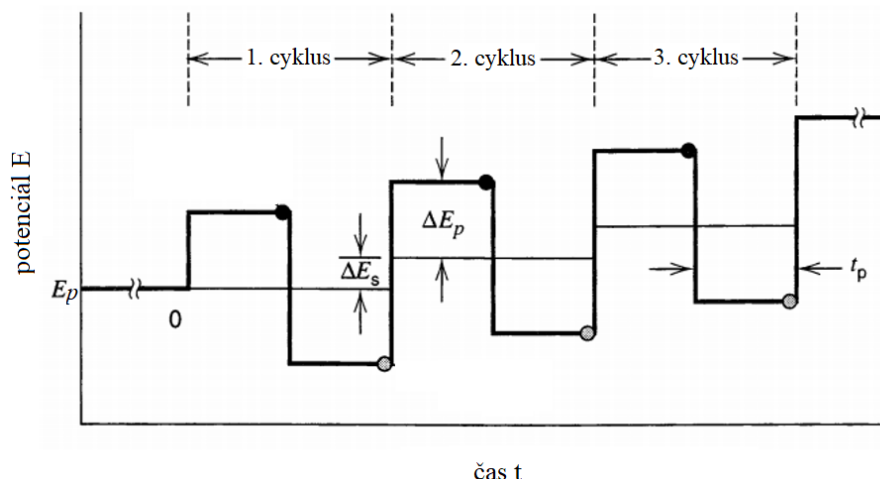
Účelem pulzní metody voltametrie je snížení detekčního limitu, který u těchto metod dosahuje hodnot až  $10^{-8}$  M. Zároveň byla také zavedením této metody vytěsněna dříve široce využívaná klasická polarografie. Pulzní metody jsou založené na vkládání potenciálových pulzů na pracovní elektrodu a měření proudu pouze v určitou, přesně stanovenou dobu [28, 48].

Existují různé modifikace pulzní voltametrie, které se liší tvarem potenciálových pulzů aplikovaných na pracovní elektrodu. Mezi nejpoužívanější modifikace pro detekci iontů těžkých kovů patří square wave voltametrie, a to z důvodu vyšší citlivosti [28, 45].

##### 4.1.2.1 Square wave voltametrie (SWV)

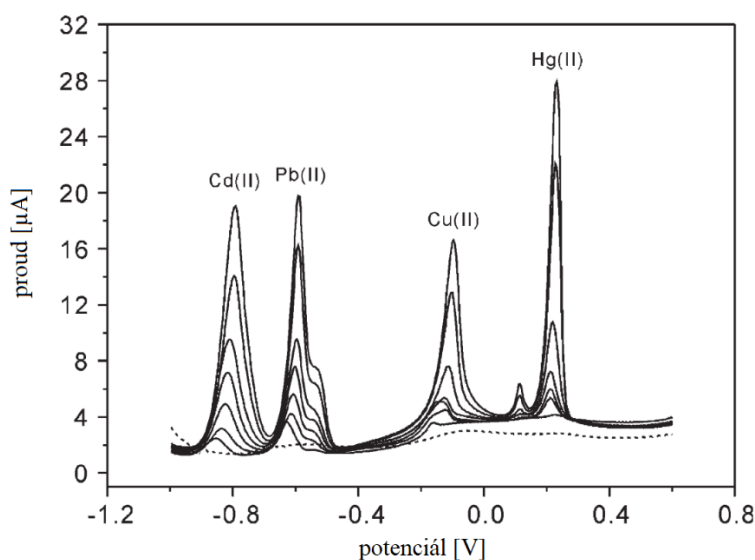
Tato voltametrie patří mezi moderní a univerzální modifikaci pulzních technik voltametrie. SWV je kombinací metod diferenční pulzní a cyklické voltametrie. Vyznačuje se vysokou rychlostí a selektivitou vůči iontům těžkých kovů [45, 49].

Při SWV se přivádí střídavé napětí pravoúhlého tvaru o nízké amplitudě (přibližně 10 mV). Střídavé napětí vnáší na elektrodu potenciál, který se skokově mění s časem. Potenciál v závislosti na čase je znázorněn křivkou ve tvaru čtvercových vln (obr. 8). Tato křivka je složená z jednotlivých potenciálových pulzů, kde jeden cyklus tvoří dva protilehlé potenciálové pulzy. První je označován jako dopředný sken a druhý jako sken zpětný, čímž proces připomíná cyklickou voltametrii. Při SWV se opakuje několik cyklů za sebou, přičemž potenciál každého následujícího cyklu je vyšší o potenciálový skok [28, 49, 50].



Obr. 8: Upravený potenciálový program cyklické voltametrie s počátečním potenciálem  $E_p$ , amplitudou  $\Delta E_p$  a potenciálovým skokem  $\Delta E_s$  [50]

Výsledkem SWV je voltamogram – závislost  $\delta I$  jako rozdílu proudů měřených na konci dopředného a zpětného skenu na vneseném potenciálu. SWV se jako samotná voltametrická metoda pro elektrochemickou detekci iontů těžkých kovů nepoužívá. Často se využívá její kombinace s anodickou rozpouštěcí voltametrií (viz. kapitola uvedená níže) tzv. anodická rozpouštěcí square wave voltametrie (AS SWV) [52]. Jejím výstupem jsou rozpouštěcí píky, které jsou pro jednotlivé ionty těžkých kovů znázorněny na obr. 9.



Obr. 9: Upravený voltamogram AS SWV současné detekce dvojmocných iontů olova, kadmia, mědi a rtuti se zvyšující se koncentrací od 0 do  $1,3 \mu\text{M}$  za pomoci GCE pracovních elektrod modifikovaných  $\text{SnO}_2$ /redukovaným grafen oxidem v  $0,1 \text{ M}$  acetátovém pufru ( $\text{pH } 5$ ) [51]

Velkou výhodou SWV je vysoká citlivost k iontům těžkých kovů. Citlivost SWV souvisí s elektrickou dvojrůstkou, která vzniká na rozhraní elektrody s analyzovaným roztokem. Elektrická dvojrůstka totiž vytváří jakýsi kondenzátor na povrchu elektrody, který dočasně ukládá elektrický náboj. Ten vyvolává na elektrodě proudovou odezvu – tzv. kapacitní (nabíjecí) proud, který na rozdíl od Faradayova (elektrolytického) proudu nesouvisí s elektrodovým dějem. Oba dva proudy, Faradayův ( $I_f$ ) a kapacitní ( $I_c$ ), jsou součástí celkové proudové odezvy na pracovní elektrodě. Kapacitní proud zejména při nízkých koncentracích analyzované látky omezuje citlivost voltametrie, a proto je snaha tento kapacitní proud snížit. SWV snižuje tvorbu elektrické dvojrůstky (a kapacitního proudu) tím, že snižuje přírůstek potenciálových pulzů. Elektrická dvojrůstka se tak nestihne nabít a kapacitní proud se snižuje na zanedbatelnou hodnotu. V důsledku tohoto jevu je zaváděn poměr  $I_f/I_c$ , který s rostoucím časem stoupá [28, 44, 49].

#### 4.1.3 Rozpouštěcí (stripping) voltametrie

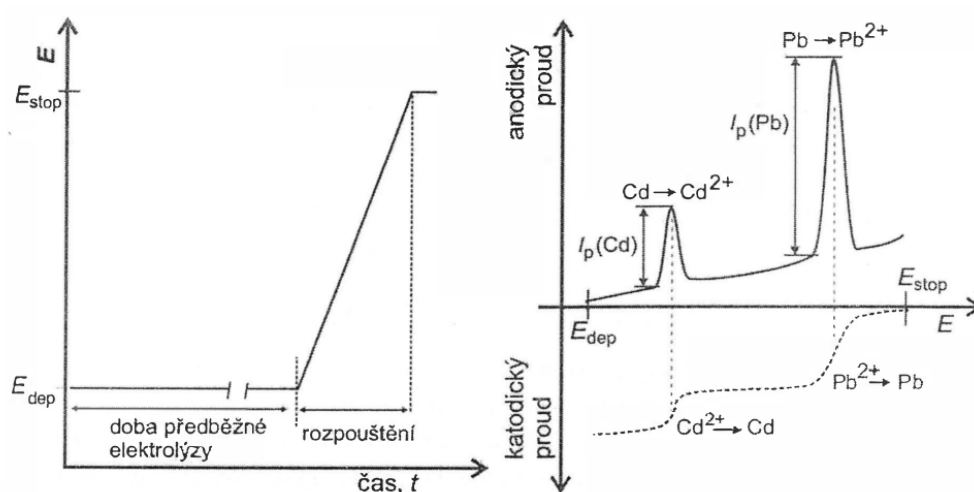
Při rozpouštěcí voltametii dochází k předběžnému zakoncentrování analytu z roztoku na pracovní elektrodě. Analyt se nahromadí v malém objemu na povrchu elektrody, čímž se jeho koncentrace zvýší. Při jeho následném uvolnění (rozpouštění) z povrchu elektrody zpět do roztoku je měřen proud, který je díky vyšší koncentraci analytu na povrchu elektrody vyšší [28, 50].

Zakoncentrování analytu na povrchu elektrody může nastat dvojím způsobem – potenciostatickou elektrolýzou (tzv. předběžnou elektrolýzou) nebo adsorpcí. Podle způsobu zakoncentrování analytu se dělí rozpouštěcí voltametrie na tři základní varianty – anodickou, katodickou a adsorpční, z nichž anodická rozpouštěcí voltametrie je jedna z nejužívanějších elektrochemických metod pro detekci těžkých kovů v potravinách [28, 52].

##### 4.1.3.1 Anodická rozpouštěcí voltametrie

U anodické rozpouštěcí voltametrie je podstatou předběžné elektrolýzy (elektrodepozičního děje) redukce kationtu analytu v roztoku do formy kovu jako pevné látky. Ten vytváří buď film na tuhých elektrodách, nebo je součástí slitiny amalgamu se rtuťovou elektrodou. Depoziční potenciál je konstantní během celého děje předběžné elektrolýzy na rozdíl od naměřeného proudu, který má přibližně lineární charakter. Doba předběžné elektrolýzy závisí na koncentraci iontů kovu v roztoku vzorku a zpravidla nepřesahuje dobu 10 minut [28, 50].

Po předběžné elektrolýze a ustálení analyzovaného roztoku (bez jeho míchání) nastává proces rozpouštění. Rozpouštění spočívá v odstranění vyloučeného kovu z povrchu elektrody vlivem jeho oxidace (anodického rozpouštění) zpět do analyzovaného roztoku. Hodnota potenciálu lineárně roste od depozičního potenciálu směrem ke kladným hodnotám až do konečného potenciálu. Proudová odezva zaznamenává tzv. rozpouštěcí pík, jehož plocha je přímo úměrná koncentraci analytu v roztoku. Vyloučený analyt se rozpouští v omezeném objemu na povrchu elektrody, a proto se místo plochy píku vyhodnocuje jeho výška, která je rovněž přímo úměrná koncentraci analytu [28, 50]. Průběh celého potenciálového programu a proudové odezvy anodické rozpouštěcí voltametrie popisuje obr. 10.



Obr. 10: Potenciálový program a proudová odezva anodické rozpouštěcí voltametrie při současném stanovení iontů těžkých kovů kadmia a olova při aplikovaném depozičním potenciálu  $E_{dep}$  a konečném potenciálu  $E_{stop}$  [28]

Anodická rozpouštěcí voltametrie je obecně užívanou metodou pro kvantitativní analýzu iontů těžkých kovů. Má velmi nízký detekční limit, který dosahuje až pikomolárních koncentrací. Často bývá pro elektrochemickou detekci iontů těžkých kovů používána její kombinace s jinou voltametrickou metodou. Nejvíce se využívá diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie a square wave anodická rozpouštěcí voltametrie [45, 53].

Anodická rozpouštěcí voltametrie se využívá pro analýzu jak v živočišných potravinách – mase, rybách, vejci, mléce a medu, tak v potravinách rostlinného původu – ovoci, zelenině, pšenici, kukuřici, čajových listech, oleji. Rozpouštěcí voltametrie se také uplatňuje pro analýzu nápojů alkoholických (piva, vína a destilátů) a nealkoholických (džusů a ovocných šťáv) [52].

## 4.2 Potenciometrie

Při analýze potravin je uplatňována také potenciometrická rozpouštěcí analýza. Její hlavní využití spočívá ve stanovení stopového množství těžkých kovů. Principem se podobá rozpouštěcí voltametii. Nejprve se stanovovaný iont redukuje do formy kovu na povrchu pracovní elektrody při konstantním napětí, kdy je analyzovaný roztok okyselen a míchán. Následuje zpětná oxidace kovu působením oxidačních činidel. Zaznamenaný časový průběh potenciálu je označován jako tzv. potenciogram, který je sestaven z píků příslušejícím oxidacím jednotlivých kovů. Výška píku potom určuje kvantitu sledovaného iontu [54].

Rozpouštěcí potenciometrie a voltametrie jsou využívány ke stejnému účelu. Při analýze potravin se aplikují ke zjišťování obsahu těžkých kovů především v nápojích (alkoholických i nealkoholických – pivo, víno, destilátech, džusech, mléku), ale také v mouce, obilovinách, rybím mase i zelenině [54, 55].

## 4.3 Amperometrie

Oproti voltametii, kde se potenciál s časem mění, se při amperometrii zavádí konstantní potenciál na pracovní elektrodu. Využívá stejné instrumentace jako při voltametii a sleduje se proudová odezva v závislosti na čase. Z proudové odezvy se stanovuje analyt obsažený v potravině, kterým mohou být kromě těžkých kovů také sacharidy, vitaminy, antioxidanty nebo pesticidy. V případě analýzy potravin patří amperometrie mezi jednu z méně užívaných metod elektrochemické detekce [56].

Další technikou využívanou v oblasti potravin je tzv. chronoamperometrie. Při použití této metody není vložený potenciál na elektrodu konstantní, ale je skokově měněn. Lze ji využít pro stanovení iontů olova v zelenině, kde vykazovala detekční limit 0,19 nM za využití vodivých polymerů poly(3,4-etylendioxythiofen) (PEDOT, polykation) a polystyrensulfonátu (PSS, polyanion) ve formě filmu na uhlíkové pracovní elektrodě [57].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**



## 5 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce byla příprava iontově vtisknuté nanostruktury na bázi grafen oxidu (GO) a iontů  $Pb^{2+}$ . Ionty  $Pb^{2+}$  by měly vytvářet ve struktuře GO vazebná aktivní místa se specifickou afinitou k těmto iontům, čímž by mělo dojít ke zvýšení selektivity jejich elektrochemické detekce. Zmíněný princip pak lze uplatnit při detekci olova, příp. jiných těžkých kovů v potravinách. Hlavním cílem je tedy příprava těchto nanostruktur a jejich následné testování pro detekci těžkých kovů, konkrétně olova. Tento cíl zahrnuje také testování selektivity vůči různým iontům těžkých kovů.

Mezi vedlejší cíle patří optimalizace podmínek voltametrického měření a parametrů přípravy nanostruktury:

- Vliv podmínky způsobu redukce GO na voltametrickou detekci  $Pb^{2+}$  iontů
- Vliv složení elektrolytu na voltametrickou detekci  $Pb^{2+}$  iontů
- Vliv způsobu modifikace pracovní elektrody na voltametrickou detekci  $Pb^{2+}$  iontů
- Vliv depozičního času na voltametrickou detekci  $Pb^{2+}$  iontů
- Otestování připravené nanostruktury v nápojích (víně) a potravinách (špenátu)

## 6 INSTRUMENTACE

Elektrochemická měření byla prováděna na přístroji potenciostat/galvanostat PGSTAT101 (AUTOLAB, Metrohm, Švýcarsko). Pro přípravu roztoků byl použit pH metr (WTW inoLab 735 pH/Ion metr, CB&S, USA) a odstředivka (ROTANTA 460 R, Hettich ZENTRIFUGEN, Německo). Spektra pro charakteristiku připravených nanostruktur byla získána na přístrojích dvoupraskový UV-VIS spektrofotometr (UNICAM UV 500, ChromSpec spol. s r. o., Česká republika) a infračervený spektrometr s Fourierovou transformací FTIR (NIKOLET iS 10, Thermo Fisher Scientific, USA).

### 6.1 Přístrojové vybavení voltametrické detekce

Voltametrická detekce probíhala v elektrochemickém článku (cele) v tříelektrodo-  
vém uspořádání, kde byly k potenciostatu připojeny tři elektrody – referenční, pomocná a pracovní.

Pro elektrochemickou detekci iontů těžkých kovů se běžně používá v oblasti analýzy potravin referenční elektroda argentschloridová (Ag/AgCl) a pomocná elektroda s platinovým plíškem [58, 59]. V praktické části této diplomové práce se pracovalo s referenční argentschloridovou elektrodou plněnou 3 M AgCl a pomocnou elektrodou s platinovým plíškem.

Jako pracovní (měrná) byla použita elektroda ze skelného uhlíku (GCE). Použití pracovních GCE je rozšířené pro voltametrickou detekci iontů těžkých kovů v potravinách [52, 67]. Tyto elektrody byly dále modifikovány nanosením vrstvy na povrch elektrody, ve které jsou obsažené nanočástice působící na elektrochemickou reakci ve smyslu zvýšení elektrochemické detekce. Pro tento účel jsou používány například uhlíkové nanomateriály, jako jsou uhlíkové nanotrubičky, uhlíková nanovlákna a v neposlední řadě grafen včetně jeho derivátů – redukovaný grafen oxid a grafen oxid [22].

## 7 CHEMIKÁLIE

V praktické části byly použity roztoky kyseliny dusičné ( $\text{HNO}_3$ , 65%) od firmy Lach-Ner, další použité roztoky byly kyselina octová ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 99%) z firmy Penta. Dále se využívaly standardní roztoky olova, mědi a kadmia v koncentraci  $1 \text{ g.l}^{-1}$  2%  $\text{HNO}_3$  (Asta-sol) a roztok grafen oxidu s koncentrací 4 mg/ml (Aldrich chemistry).

V práškové formě byly použity následující chemikálie: chlorid draselný KCl (Penta), hydroxid sodný NaOH (Lach-Ner), octan sodný  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (Sigma Aldrich), ferrikyanid draselný  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  (Penta), dusičnan olovnatý  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (Lachema N.P. Brno) a leštící přípravek MicroPolish II alumina  $0,3 \mu\text{m}$  (Buehler).

## 8 METODIKA

V rámci metodiky byly řešeny následující úkoly: příprava roztoků, příprava vzorků potravin a jejich charakteristika, příprava nanostruktur, příprava pracovních elektrod (jejich čištění a následná modifikace) a vlastní elektrochemická měření.

### 8.1 Příprava roztoků

Všechny roztoky byly připravovány a ředěny deionizovanou vodou.

#### 8.1.1 Elektrolyty

Elektrolyty pro voltametrické měření zahrnoval acetátový pufr, roztok  $\text{HNO}_3$  s  $\text{NaOH}$  a  $\text{HNO}_3$  s  $\text{KCl}$ . Dále byl jako elektrolyt využíván roztok 0,04%  $\text{HNO}_3$ .

##### 8.1.1.1 Acetátový pufr

Roztok acetátového pufru se skládal z kyseliny octové a octanu sodného. Namíchaný byly 0,1 M zásobní roztoky zmíněných sloučenin. Roztok octanu sodného byl dotitrován kyselinou octovou na požadovanou hodnotu pH 3.

##### 8.1.1.2 Roztok $\text{HNO}_3$ s $\text{NaOH}$

Roztok  $\text{HNO}_3$  s  $\text{NaOH}$  byl připraven z roztoku 2%  $\text{HNO}_3$ , který byl upraven 0,1 M  $\text{NaOH}$  na hodnotu pH 3.

##### 8.1.1.3 Roztok $\text{HNO}_3$ s $\text{KCl}$

Roztok  $\text{HNO}_3$  s  $\text{KCl}$  byl připraven smícháním 2%  $\text{HNO}_3$  s 0,1 M  $\text{KCl}$  v poměru 2:1. Parametr pH byl upraven 0,1 M  $\text{NaOH}$  na hodnotu 3.

## 8.2 Příprava vzorků potravin a jejich charakteristika

Jako modelové vzorky potravin byly použity víno a zelenina (špenát), které byly zpracovány pro voltametrickou detekci.

### 8.2.1 Příprava roztoků bílého a červeného vína

Roztoky byly připraveny z bílého a červeného vína:

Bílé víno:

- Odrůda: Müller Thurgau
- Polosladké
- Obsahuje oxid siřičitý a siřičitany
- Obsah alkoholu: 12 % obj.
- Víno z České republiky (Čejkovice)

Červené víno:

- Odrůda: Frankovka
- Polosladké
- Obsahuje oxid siřičitý a siřičitany
- Obsah alkoholu: 11 % obj.
- Víno z České republiky (Čejkovice)

Příprava vzorků vín před elektrochemickou detekcí je různá a zahrnuje suchou mineralizaci, mokrou mineralizaci se silnými oxidačními činidly ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ředění vína s kyselinou (nejčastěji  $\text{HCl}$  nebo  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) nebo přímé stanovení iontů těžkých kovů bez předchozí úpravy [60, 61]. Pro praktickou část této diplomové práce byly jednotlivé vzorky vín smíchány s 1%  $\text{HNO}_3$  v poměru víno a kyselina 1:1. Následně byly směsi centrifugovány (11500 RPM, 21 °C, 30 min). Před centrifugací se vzorky vín s kyselinou záměrně kontaminovaly  $\text{Pb}^{2+}$  ionty přidavkem  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ . Výsledná koncentrace  $\text{Pb}^{2+}$  iontů byla v bílém víně 16,33  $\text{mg.l}^{-1}$  a v červeném víně 15,94  $\text{mg.l}^{-1}$ .

Pro výpočet detekčního limitu byla pyknometricky stanovena hustota bílého a červeného vína podle ČSN 56 0216 [62]. Průměrná hustota bílého vína činila 0,9936  $\text{g.ml}^{-1}$  a červeného vína 0,9911  $\text{g.ml}^{-1}$  při 20 °C.

### 8.2.2 Příprava vzorků zeleniny

Vzorky byly připraveny ze špenátu:

- Baby špenát
- I. jakosti
- Země původu: Itálie

Vzorky špenátu byly připraveny extrakcí kyselinou dusičnou. Špenát, jehož hmotnost činila 92,115 g, byl opláchnut deionizovanou vodou a rozmělněn mixérem. Následně byly zhomogenizované vzorky špenátu smíchány s 1% HNO<sub>3</sub> v objemném poměru 1:2 a míchány na třepačce po dobu 70 min [6]. Po míchání byly vzorky centrifugovány (11500 RPM, 21 °C, 30 min). Dekantací byl odlit supernatant, který sloužil jako elektrolyt voltametrické detekce.

### 8.3 Příprava struktury grafen oxidu

Iontově vtisknuté nanostruktury byly připraveny z roztoků grafen oxidu (6, příp. 4 mg.l<sup>-1</sup>) a Pb<sup>2+</sup> iontů (100 mg.l<sup>-1</sup> v 0,2% HNO<sub>3</sub>). Byly připravovány dvě nanostruktury, kde první byla složená z GO a Pb<sup>2+</sup> iontů (GO/Pb<sup>2+</sup>) a druhá nanostruktura byla kontrolní a obsahovala pouze GO. V praktické části této diplomové práce byly testovány dva rozdílné způsoby přípravy obou nanostruktur.

První způsob zahrnoval přímé smíchání obou roztoků na povrchu používaných pracovních elektrod a následného zaschnutí (metoda *in situ*) v množství 7,5 μl. Druhým způsobem se struktura z uvedených roztoků připravovala mimo pracovní elektrody (metoda *ex situ*) dle postupu uvedeném v následujícím odstavci.

Nejprve byly připraveny směsi podle tab. 4, které se nechaly odstát (inkubovat) po dobu 1 hodiny. Následně se směsi centrifugovaly (15 000 RPM, 21 °C, 30 min). Po dekantaci supernatantu byl přidán 1 ml 1 M NaOH, ve kterém se sraženina resuspendovala v ultrazvukové lázni. Opět byla provedena centrifugace se stejnými parametry jako předchozí. Supernatant byl vylit a precipitát byl resuspendován v 50 μl deionizované vody. Tato suspenze byla pak aplikována na elektrody v množství 10 μl.

Tab. 4: Příprava nanostruktur

| Kontrolní nanostruktura GO    | Nanostruktura GO/Pb <sup>2+</sup> |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| 283 µl dest. H <sub>2</sub> O | 283 µl dest. H <sub>2</sub> O     |
| 17 µl GO                      | 17 µl GO                          |
| 200 µl 2% HNO <sub>3</sub>    | 200 µl roztoku Pb <sup>2+</sup>   |

## 8.4 Čištění a modifikace pracovních elektrod

Pracovní GCE elektrody byly čištěny mechanicky. Nejprve byly leštěny v leštící pastě Alumina 0,3 µm (3 min) a poté se elektrody vkládaly s deionizovanou vodou do ultrazvukové lázně po dobu 2 minut [63].

Kontrola čistého povrchu elektrod byla prováděna za pomoci CV při nastaveném potenciálovém rozsahu od -0,8 do 0,6 V v 0,1 M roztoku KCl, kde byla sledována hodnota kapacitního proudu. Za čisté pracovní elektrody se považovaly ty, které nepřekračovaly 0,75 µA. Následně se elektrody ještě změřily při potenciálovém rozsahu od -0,2 V do 0,6 V opět CV v 5 mM roztoku ferrikyanidu, kde se kontrolovala separace anodického a katodického píku s přípustným rozdílem do 90 mV.

Po čištění a kontrole pracovních elektrod následovala jejich modifikace. Připravené směsi GO/Pb<sup>2+</sup> a GO se nanášely na povrch pracovních elektrod. Připravená směs se nechala na povrchu pracovních GCE elektrod zaschnout v uzavřené inertní dusíkové atmosféře po dobu 1,5 hodiny, přičemž kontrola uschnutí byla prováděna vizuálně.

## 8.5 Voltametrická detekce

Po vyčištění a chemické modifikaci pracovních GCE elektrod následovala voltametrická detekce, při které se porovnávala odezva elektrod modifikovaných nanostrukturou GO/Pb<sup>2+</sup> s elektrodami modifikovanými kontrolní nanostrukturou GO. Voltametrická detekce a nastavení všech příslušných parametrů bylo prováděno v software NOVA 2.1 a grafy byly vytvářeny v programech Excel 2013 a OriginPro 8.5.

Jako elektrochemická metoda pro detekci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů byla použita anodická rozpouštěcí square wave voltametrie (AS SWV). Její parametry byly nastaveny na hodnoty depozičního potenciálu  $-0,95$  V, depozičního času  $0$ – $120$  s. Nastavené hodnoty SWV byly počáteční potenciál  $-0,8$  V a konečný potenciál na  $0,6$  V s rychlostí skenování  $0,25$  V/s.

Pro redukci GO byly použity programy CV a chronoamperometrie. Parametry CV byly nastaveny na počáteční potenciál  $-0,9$  V a konečný potenciál  $0$  V. Rychlost skenování byla nastavena na  $0,05$  V/s s počtem skenů  $12,5$ . Chronoamperometrie byla provedena při aplikovaném potenciálu  $-0,95$  V po dobu  $15$  minut. Pokud není uvedeno jinak, byl pro oba dva programy redukce použit elektrolyt  $0,1$  M KCl.



## 9 VÝSLEDKY A DISKUZE

Praktická část byla zaměřena na přípravu a charakterizaci iontově vtisknuté nanostruktury na bázi grafen oxidu a iontů  $\text{Pb}^{2+}$ . Dále se praktická část zabývala stanovením vhodných podmínek voltametrické detekce  $\text{Pb}^{2+}$  iontů připravené nanostruktury, kde se při jednotlivých experimentech porovnávaly nanostruktury  $\text{GO/Pb}^{2+}$  a  $\text{GO}$ . Zkoumal se vliv rozdílných elektrolytů, depozičního času a vliv zařazené redukce na voltametrickou detekci  $\text{Pb}^{2+}$ . Dále byla sledována selektivita vůči ostatním iontům těžkých kovů ( $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$ ). A následně byla nanostruktura  $\text{GO/Pb}^{2+}$  a  $\text{GO}$  otestována na vzorcích nápoje (bílého a červeného vína) a potravin (špenát).

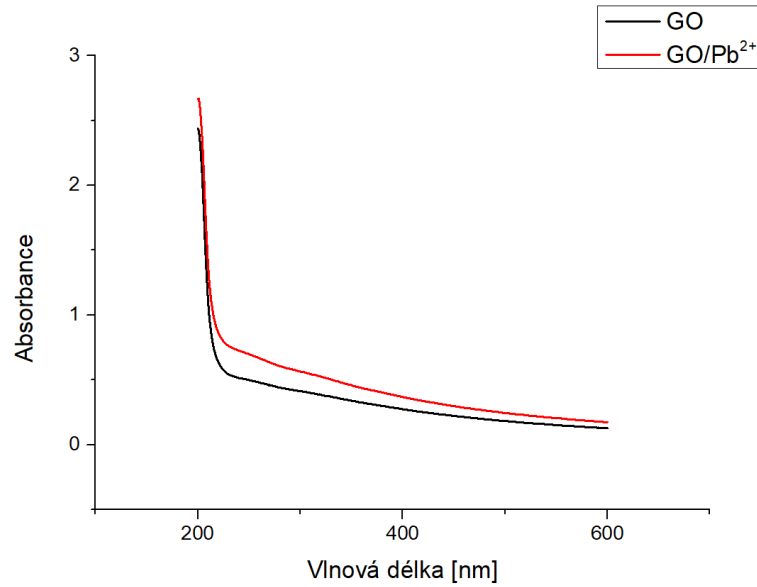
### 9.1 Charakteristika nanostruktur $\text{GO}$ a $\text{GO/Pb}^{2+}$

Iontově vtisknutá nanostruktura  $\text{GO/Pb}^{2+}$  a kontrolní nanostruktura  $\text{GO}$  byly charakterizovány nejprve pomocí UV-VIS spektrofotometrie a FTIR spektroskopie. Pro znázornění obsahu  $\text{Pb}^{2+}$  iontů v iontově vtisknuté struktuře  $\text{GO/Pb}^{2+}$  po aplikaci na GCE elektrody byla následně použita voltametrická metoda AS SWV.

#### 9.1.1 Spektroskopická analýza

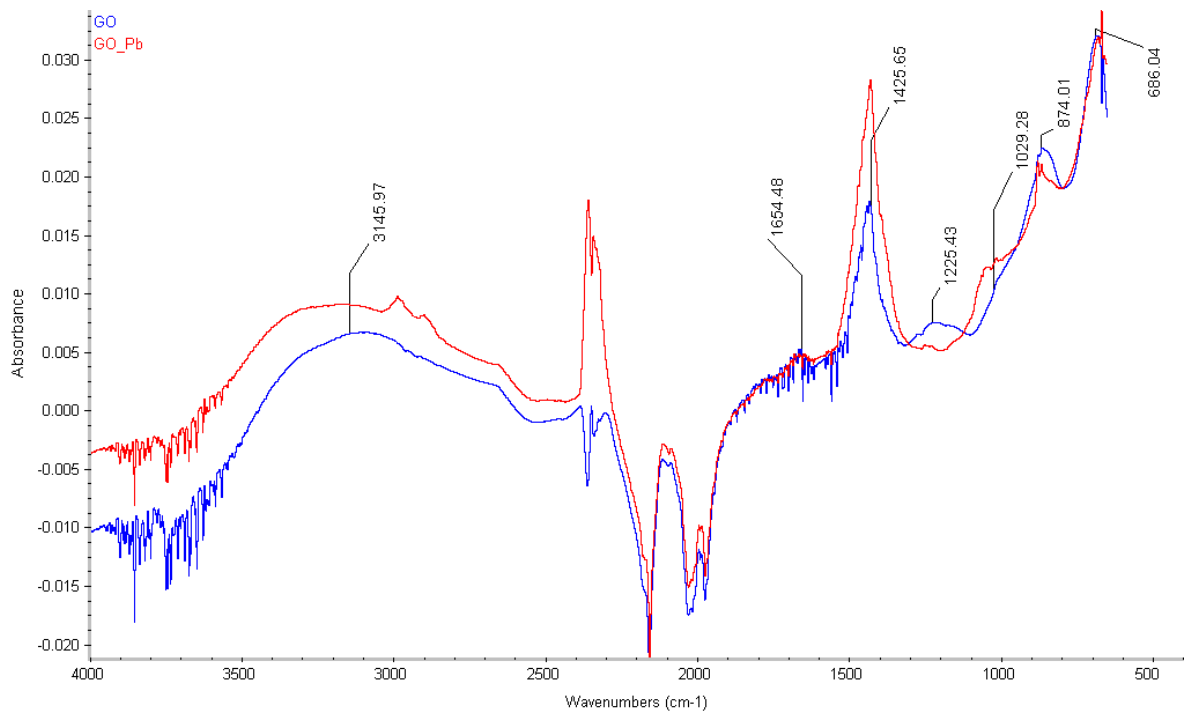
Nanostruktury  $\text{GO}$  a  $\text{GO/Pb}^{2+}$  byly podrobeny strukturní analýze za pomoci UV-VIS spektrofotometrie a FTIR. U metod UV-VIS spektrofotometrie byly roztoky nanostruktur před samotným měřením příslušně naředěny deionizovanou vodou. Pro metodu FTIR bylo napipetováno množství 30  $\mu\text{l}$  na povrch hliníkové folie a po zaschnutí v dusíkové inertní atmosféře byly změřeny metodou ATR – zeslabeného totálního odrazu (attenuated total reflection).

UV-VIS spektra obou struktur (obr. 11) byla snímána v rozmezí vlnových délek 200 – 600 nm. Pro grafen oxidové nanočástice je typická absorpce okolo 230 nm, která je připisována přechodu  $\pi \rightarrow \pi^*$  aromatických C-C vazeb. Absorpční rameno okolo 300 nm tvoří dvojné vazby atomů uhlíku a kyslíku [64]. U vzorků nanostruktur připravených v této práci bylo absorpční maximum posunuto do nižších vlnových délek, což může být způsobeno přidáním roztokem  $\text{HNO}_3$  při přípravě nanostruktur.



Obr. 11: UV-VIS spektra nanostruktur GO a GO/Pb<sup>2+</sup>

FTIR analyzuje strukturu organických látek ve formě infračerveného spektra, které vyjadřuje závislost absorbance na vlnočtu dopadajícího záření. Výsledkem FTIR analýzy nanostruktur GO a GO/Pb<sup>2+</sup> byla charakteristická spektra s jednotlivými pásy (obr. 12), přičemž rozdíly v těchto pásech poukazují na strukturální změny vzniklé navázáním Pb<sup>2+</sup> iontů na GO.



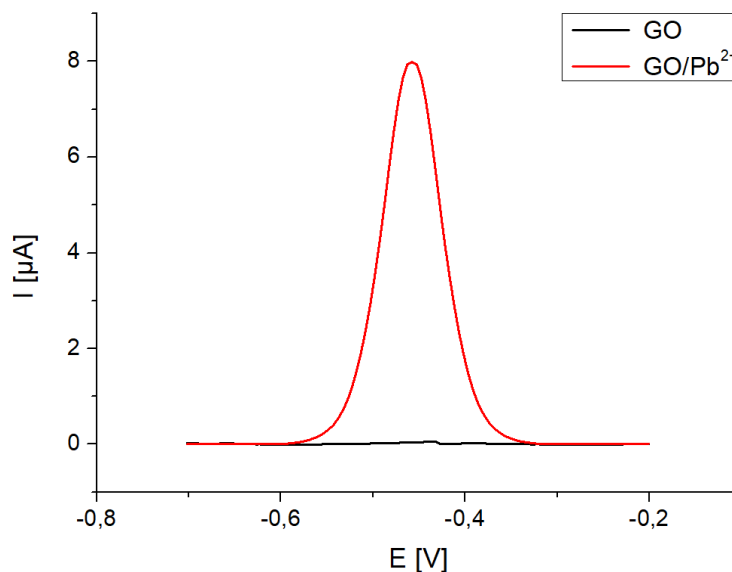
Obr. 12: FTIR spektra nanostruktur GO a GO/Pb<sup>2+</sup>

Ve FTIR spektru GO/Pb<sup>2+</sup> a GO je znatelné široké pásmo v oblasti 3146 cm<sup>-1</sup>, které poukazuje na přítomnost hydroxylových skupin a interkalovanou vodu ve struktuře. Úsek 1655 cm<sup>-1</sup> značí neoxidované vazby atomů uhlíku, zejména jeho dvojných vazeb v aromatickém kruhu ( $\pi$ - $\pi$  interakce). Pás při 1426 cm<sup>-1</sup> pak představuje hydroxyly karboxylových skupin, 1225 cm<sup>-1</sup> značí úsek pro vazby C-OH, epoxidové a karboxylové skupiny, 1029 cm<sup>-1</sup> vazby C-O a 874 cm<sup>-1</sup> pak vazby C-O-C [64, 65, 66].

Široká oblast 3146 cm<sup>-1</sup> poukazuje na hydrofilitu grafen oxidu díky jeho přítomným hydroxylovým skupinám. Při porovnání obou spekter je patrné, že hydrofilita obou nanostruktur se významně nezměnila. Největší pozorovatelné rozdíly jsou v pásu 1426 cm<sup>-1</sup>, který představuje hydroxyly u karboxylových skupin, kde byly hodnoty absorbance vyšší u nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup> oproti samotnému GO. Naopak v pásu 1225 cm<sup>-1</sup>, který značí vazby C-OH, epoxidové a karboxylové skupiny, vykazovala vyšší absorbanci u nanostruktury GO. Na tyto skupiny přítomné ve struktuře GO se přes atomy kyslíku váží Pb<sup>2+</sup> ionty, důkazem čehož je právě nižší absorpční pás u nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup> ve zmíněné oblasti 1225 cm<sup>-1</sup>.

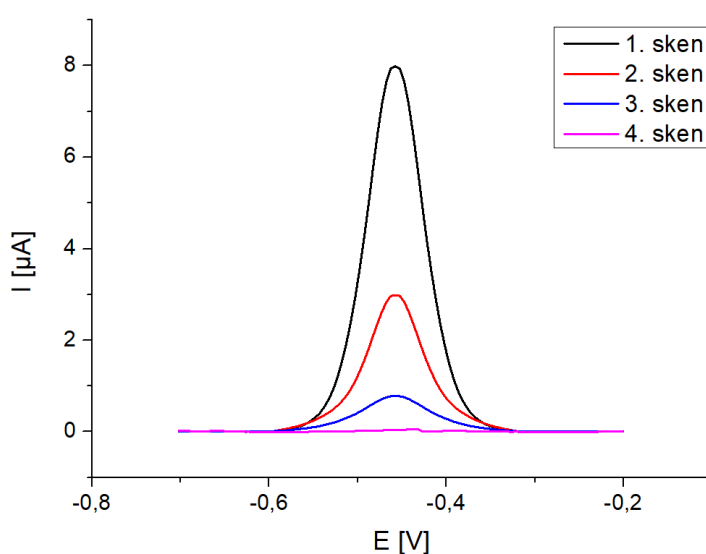
### 9.1.2 Elektrochemická charakteristika

Připravená struktura GO/Pb<sup>2+</sup> byla nejprve charakterizována za pomoci AS SWV aplikované na pracovní GCE elektrody modifikované GO/Pb<sup>2+</sup> a GO nanostrukturou. Výsledkem byl graf závislosti výsledného proudu (rozdíl proudů naměřených na konci dopředného a zpětného skenu) v jednotkách  $\mu$ A na aplikovaném potenciálu (obr. 13), kde se tento výsledný proud v přítomnosti vodivých Pb<sup>2+</sup> iontů zvyšuje ve formě rozpouštěcího píku.



Obr. 13: Důkaz přítomnosti  $Pb^{2+}$  iontů v nanostruktuře  $GO/Pb^{2+}$  připravené *in situ* při aplikované AS SWV (-0,8 až 0,2 V) v 0,04%  $HNO_3$

Rozpouštěcí pík je důkazem přítomnosti  $Pb^{2+}$  iontů v nanostruktuře  $GO/Pb^{2+}$ . Je viditelný při negativním potenciálu  $-459,4 \pm 5,6$  mV a dosahoval výšky  $7,98 \pm 1,26$   $\mu A$ . Počáteční rozpouštěcí pík  $Pb^{2+}$  iontů byl vždy přítomný ve struktuře  $GO/Pb^{2+}$ , a proto byla potřeba před voltametrickou detekcí z povrchu elektrody tyto ionty desorbovat. Toho bylo dosaženo jejich oxidací (anodickým rozpouštěním) při aplikované elektrochemické metodě AS SWV. Pro jeho úplné odstranění bylo zapotřebí 3 skenů AS SWV, které znázorňuje obr. 14.



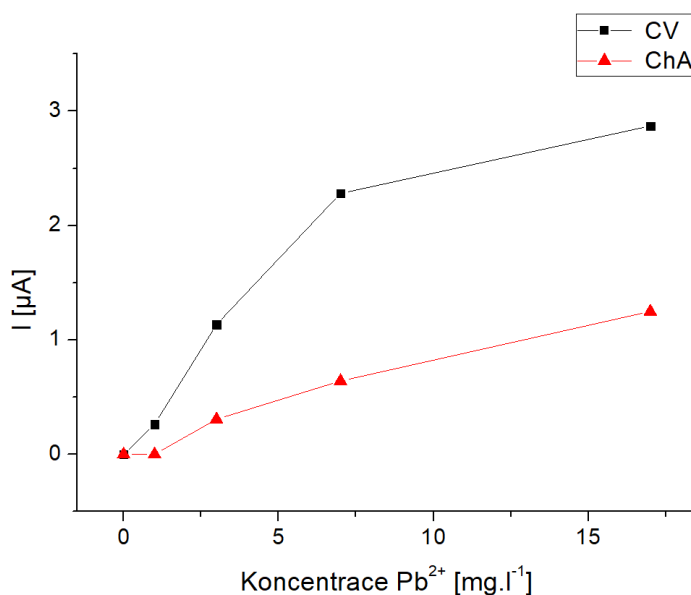
Obr. 14: Ukázka poklesu rozpouštěcích píků  $Pb^{2+}$  iontů původně přítomných v nanostruktuře  $GO/Pb^{2+}$  připravené *in situ* za pomoci AS SWV v elektrolytu 0,04%  $HNO_3$

Nanostruktura GO/Pb<sup>2+</sup> obsahuje po aplikaci na elektrodu Pb<sup>2+</sup> ionty, které jsou viditelné při elektrochemické detekci. Jejich desorpce je důležitá, neboť zanechává v nanostruktuře otisk ve formě aktivního místa, který by měl zvyšovat adsorpci Pb<sup>2+</sup> iontů z analyzovaného roztoku během voltametrické detekce.

## 9.2 Vliv podmínek způsobu elektrochemické redukce GO na voltametrickou detekci Pb<sup>2+</sup> iontů

V této kapitole se zkoumal vliv elektrochemicky redukováného GO na voltametrickou detekci Pb<sup>2+</sup> iontů. Připravené nanostruktury GO a GO/Pb<sup>2+</sup> *in situ* byly tedy podrobeny elektrochemické redukci, kde byly sledovány podmínky této redukce na voltametrickou odezvu Pb<sup>2+</sup> iontů. Testovány byly elektrochemické metody redukce pomocí CV a chronoamperometrie a následně i různé elektrolyty (0,1 M KCl, 0,01 M KCl a 0,4% HNO<sub>3</sub>).

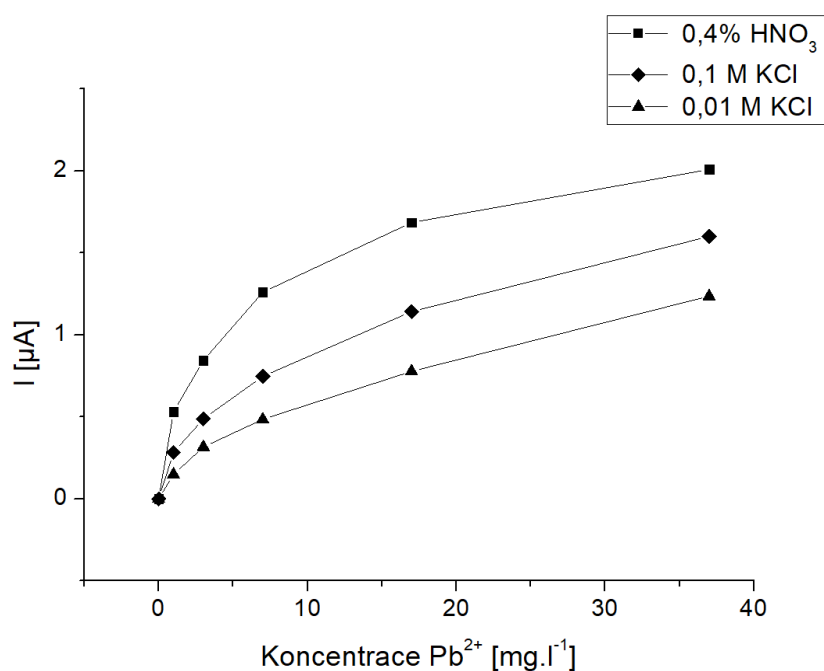
Parametry CV pro redukci byly nastaveny na počáteční potenciál -0,9 V a konečný potenciál 0 V s rychlost skenování 0,05 V/s a počtem skenů 12,5. Chronoamperometrie byla provedena při aplikovaném potenciálu -0,95 V po dobu 15 minut. Pro následnou detekci Pb<sup>2+</sup> iontů v analyzovaném roztoku byl použit program AS SWV, kde byla sledována výška rozpouštěcího píku při stoupající koncentraci Pb<sup>2+</sup> iontů (obr. 15).



Obr. 15: Graf závislosti rozpouštěcích piků Pb<sup>2+</sup> iontů na koncentraci těchto iontů v roztoku HNO<sub>3</sub> s KCl při aplikované elektrochemické redukci pomocí CV a chronoamperometrie (ChA)

Z uvedených výsledků vyplývá, že elektrochemická redukce GO metodou CV zvyšovala voltametričnou odezvu a citlivost v porovnání s redukcí programem chronoamperometrie, kdy elektrody vykazovaly nižší odezvu na  $\text{Pb}^{2+}$  ionty.

Druhý experiment sledoval voltametričnou odezvu  $\text{Pb}^{2+}$  iontů zavedené elektrochemické redukce v rozdílných elektrolytech 0,4%  $\text{HNO}_3$ , 0,1 M KCl a 0,01 M KCl (obr. 16). Ostatní podmínky elektrochemické redukce byly stejné jako u předchozího experimentu při redukcí pomocí CV.



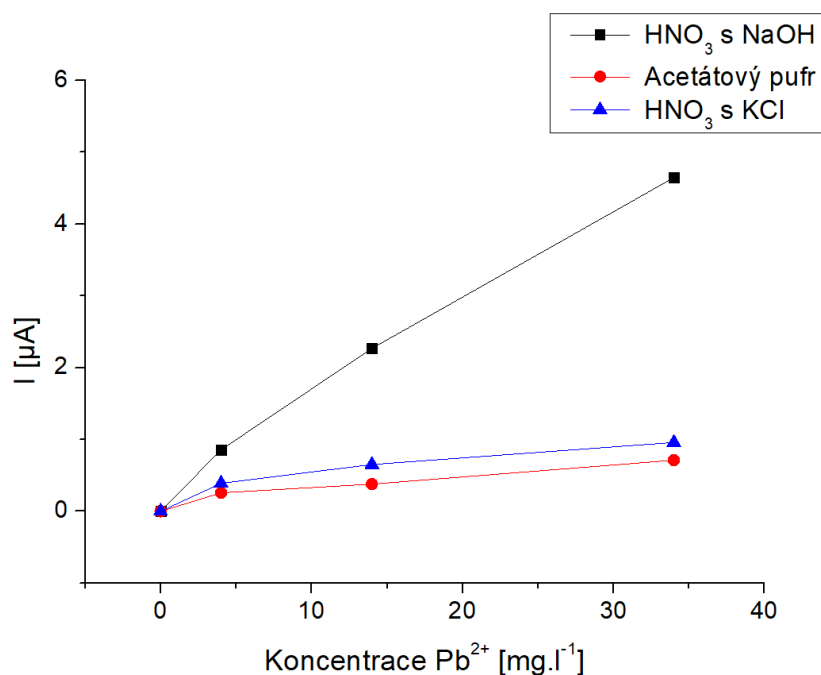
Obr. 16: Graf závislosti rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na koncentraci těchto iontů v roztoku  $\text{HNO}_3$  s KCl při aplikované elektrochemické redukcí v rozdílných elektrolytech

Voltametričká odezva  $\text{Pb}^{2+}$  iontů klesala v elektrolytech: 0,4%  $\text{HNO}_3 > 0,1 \text{ M KCl} > 0,01 \text{ M KCl}$ . Ze zkoumaných elektrolytů měl tedy nejvyšší odezvu elektrolyt 0,4%  $\text{HNO}_3$  a nejnižší 0,01 M KCl.

Složení elektrolytu elektrochemické redukce mělo stejně jako volba její metody vliv na výslednou výšku rozpouštěcích voltametričkových píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů. Z prováděných experimentů vyplývá, že nejvhodnější je aplikace elektrochemické redukce CV v elektrolytu 0,4%  $\text{HNO}_3$ .

### 9.3 Vliv složení elektrolytu na voltametrickou detekci $\text{Pb}^{2+}$ iontů

Voltametrická odezva  $\text{Pb}^{2+}$  iontů se sledovala u rozdílných elektrolytů, kterými byly acetátový pufr (pH = 3), roztok  $\text{HNO}_3$  s  $\text{NaOH}$  (pH = 3) a roztok  $\text{HNO}_3$  s  $\text{KCl}$  (pH = 3). Ionty  $\text{Pb}^{2+}$  se lépe adsorbují v kyselém prostředí a od hodnoty pH 3 a výše zpravidla nedochází k jejich významně vyšší adsorpci [35]. Z tohoto důvodu byly uvedené elektrolyty upraveny na hodnotu pH 3. Pracovní elektrody byly modifikovány pomocí připravených nanostruktur *in situ*. Redukce GO proběhla za pomoci programu CV v elektrolytu 0,4%  $\text{HNO}_3$ . Stejně jako v předchozích experimentech byla pro charakterizaci připravených elektrod použita AS SWV s následným vyhodnocením rozpouštěcích píků. Tato měření byla prováděna při zvyšující se koncentraci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů od 0 do 34  $\text{mg.l}^{-1}$ . Sledované elektrolyty byly při této metodě během depozice míchány a během měření SWV byly elektrolyty ponechány v klidu.



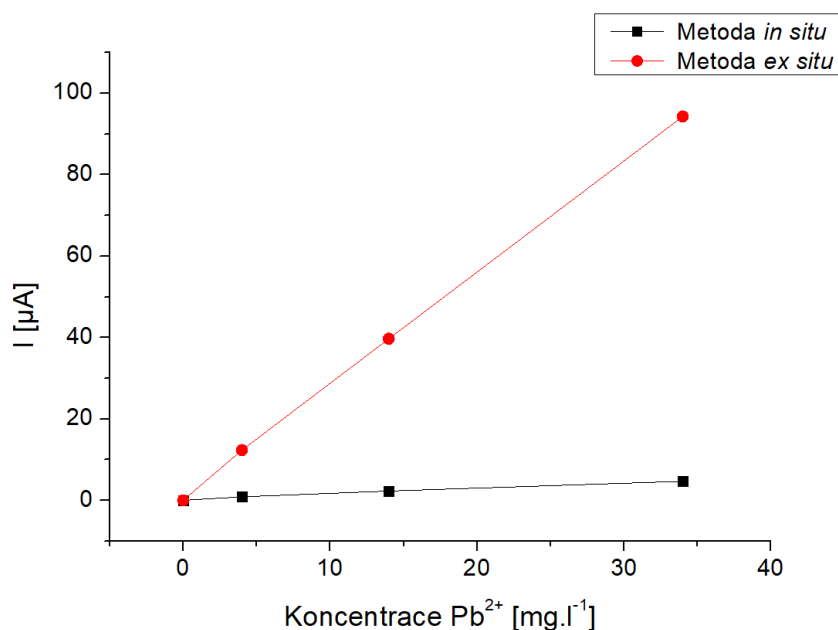
Obr. 17: Graf závislosti voltametrických rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na složení elektrolytu

Z grafu závislosti voltametrických rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na použitém elektrolytu (obr. 17) je patrné, že nejvyšší voltametrickou odezvu na detekci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů měl elektrolyt složený z kyseliny dusičné bez chloridu draselného, kde docházelo k nejvyšší adsorpci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na povrch modifikované pracovní elektrody. Nejmenší rozpouštěcí píky byly naměřeny v roztoku  $\text{HNO}_3$  s  $\text{KCl}$  a acetátovém pufru. Je tedy pravděpodobné, že ionty mohou negativně interagovat s vlastním měřením.

Je třeba ovšem říct, že i přesto, že jsou viditelné rozdíly mezi aplikovanou elektrochemickou redukcí pomocí CV a chronoamperometrie a mezi sledovanými elektrolyty, stále se evidentně nejedná o optimálně nastavené parametry, a to z důvodu nelinearity kalibračních přímk a nízké elektrochemické odezvě na  $\text{Pb}^{2+}$  ionty. Jako další krok tedy byla testována příprava nanostruktur mimo pracovní elektrodu – *ex situ*.

#### 9.4 Vliv způsobu modifikace pracovní elektrody na voltametrickou detekci $\text{Pb}^{2+}$ iontů

Experiment srovnával vliv způsobu modifikace pracovních elektrod na voltametrickou detekci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů, konkrétně metody přípravy nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$  *in situ* a *ex situ*. V metodě *in situ* probíhala modifikace GCE elektrod přímo na jejím povrchu, zatímco v metodě *ex situ* docházelo k zakoncentrování připravené směsi GO a  $\text{Pb}^{2+}$  iontů mimo GCE elektrodu a až poté se GCE elektrody připravenou směsí modifikovaly. Po modifikaci byly pracovní elektrody podrobeny redukcí CV v 0,4%  $\text{HNO}_3$ . Následně byla aplikována voltametrická detekce AS SWV, kde byl jako elektrolyt použit roztok 0,04%  $\text{HNO}_3$ . Byla sledována závislost rozpouštěcích voltametrických píků na koncentraci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů v rozmezí od 0 do 34  $\text{mg.l}^{-1}$ .



Obr. 18: Graf závislosti voltametrických rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na způsobu modifikace pracovních elektrod metodou *in situ* a *ex situ*

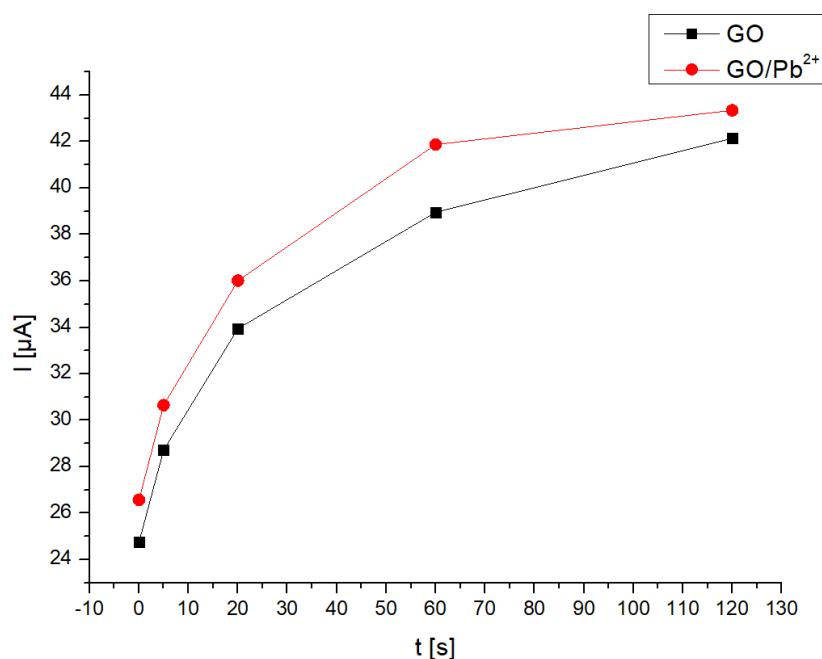


Z grafu závislosti rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů (obr. 18) je zřejmé, že modifikace pracovních elektrod nanostrukturou GO/ $\text{Pb}^{2+}$  metodou *ex situ* významně zvyšovala citlivost voltametrické detekce. Je zřejmé, že vyšší množství  $\text{Pb}^{2+}$  iontů v zakoncentrované nanostruktuře GO/ $\text{Pb}^{2+}$  vytvářelo celkově větší počet zamýšlených aktivních míst pro následnou voltametrickou detekci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů přítomných v analyzovaném roztoku. Z tohoto důvodu byla pro následná voltametrická měření použita modifikace GCE elektrod metodou *ex situ*.

## 9.5 Vliv depozičního času na voltametrickou detekci $\text{Pb}^{2+}$ iontů

Sledovány byly rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  iontů při aplikovaných různých depozičních časech. Při depozičním čase dochází k nárůstu množství sledovaného analytu na povrch modifikovaných pracovních elektrod, čímž se zvyšuje citlivost voltametrické detekce [51]. Pro modifikaci pracovních elektrod byla použita metoda *ex situ* a pro voltametrické měření metoda AS SWV, kde byl aplikován potenciál -1,2 V až +0,6 V s depozičním potenciálem -1,2 V a depozičním časem 0–120 s. Elektrolyt tvořil roztok 0,04%  $\text{HNO}_3$  s koncentrací  $\text{Pb}^{2+}$  iontů  $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Výsledkem byly rozpouštěcí píky v jednotlivých depozičních časech s dobou trvání 0, 5, 20, 60 a 120 s. Výšky jednotlivých rozpouštěcích píků byly zpracovány v grafu jejich závislosti na vloženém depozičním čase (obr. 19).



Obr. 19: Graf závislosti voltametrických rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na depozičním čase při depozičním potenciálem -1,2 V

Z uvedeného grafu je zřetelný nárůst rozpouštěcího píku  $\text{Pb}^{2+}$  iontů s rostoucím časem depozice. Výšky rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů se zvyšují u nanostruktury GO v pořadí  $24,75 \pm 0,47 \mu\text{A}$  (0 s) <  $28,72 \pm 0,34 \mu\text{A}$  (5 s) <  $33,95 \pm 0,94 \mu\text{A}$  (20 s) <  $38,95 \pm 0,31 \mu\text{A}$  (60 s) <  $42,14 \pm 0,34 \mu\text{A}$  (120 s). V případě nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$  rostly výšky píků  $26,57 \pm 0,87 \mu\text{A}$  (0 s) <  $30,65 \pm 0,64 \mu\text{A}$  (5 s) <  $36,01 \pm 0,03 \mu\text{A}$  (20 s) <  $41,88 \pm 0,27 \mu\text{A}$  (60 s) <  $43,35 \pm 0,35 \mu\text{A}$  (120 s). Za zlomovou hodnotu depozičního času lze označit 60 s, kdy kratší depoziční časový interval vykazoval skokové změny rozpouštěcího píku  $\text{Pb}^{2+}$  iontů. Při depozičním čase delším než 60 s k zásadnímu růstu rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů nedocházelo. Z toho důvodu byla další voltametrická měření nastaveny s hodnotou depozičního času 60 s.

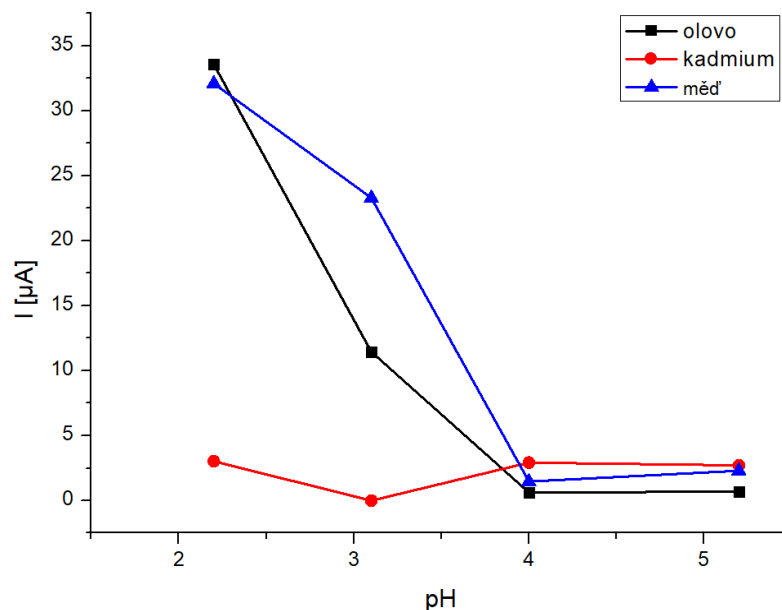
## 9.6 Selektivita $\text{Pb}^{2+}$ iontů vůči ostatním iontům těžkých kovů

Selektivita je dána afinitou iontu k nanostruktuře, dále velikostí a tvarem iontů. V případě iontově vtisknuté nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$  je selektivita také dána velikostí a tvarem aktivního místa, do kterého se přítomné ionty těžkých kovů navazují. Počet těchto aktivních míst je omezený, a tak nastává kompetice těchto iontů v závislosti na jejich velikosti a tvaru. Selektivita připravených nanostruktur pro  $\text{Pb}^{2+}$  ionty se otestovala v přítomnosti jiných dvojmocných iontů těžkých kovů v analyzovaném roztoku –  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  iontů [35, 68]. Rozdělení těchto iontů podle iontového poloměru je následující:  $\text{Cu}^{2+}$  (73 pm) <  $\text{Cd}^{2+}$  (95 pm) <  $\text{Pb}^{2+}$  (119 pm) ionty [72]. U aktivních míst iontově vtisknuté nanostruktury lze přepokládat největší afinitu k  $\text{Pb}^{2+}$  iontům.

Do analyzovaného roztoku, který obsahoval 0,04%  $\text{HNO}_3$  s  $\text{Pb}^{2+}$  ionty, byly přidávány ostatní ionty těžkých kovů ( $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  ionty). Selektivita byla otestována v roztocích obsahujících  $\text{Pb}^{2+}$  ionty spolu s  $\text{Cd}^{2+}$ , dále  $\text{Pb}^{2+}$  ionty vůči  $\text{Cu}^{2+}$  iontům a následně byla sledována voltametrická odezva na všechny přítomné ionty současně ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  ionty). Obě nanostruktury byly připraveny *ex situ* a při voltametrickém měření byla použita metoda AS SWV s depozičním potenciálem -1,2 V a depozičním časem 60 s.

Nejprve byla sledována adsorpce iontů těžkých kovů při rozdílné hodnotě pH. Při různých hodnotách pH se totiž mohou ionty těžkých kovů ve vodném roztoku vázat na hydroxylové ionty, což výrazně ovlivňuje jejich adsorpci na nanostrukturu GO [35]. Zkoumán byl vliv hodnoty pH na selektivitu  $\text{Pb}^{2+}$  iontů v přítomnosti ostatních iontů těžkých kovů, který znázorňuje obr. 20. Aplikované hodnoty pH byly 2,2; 3,1; 4,0 a 5,2. Elektrolyty

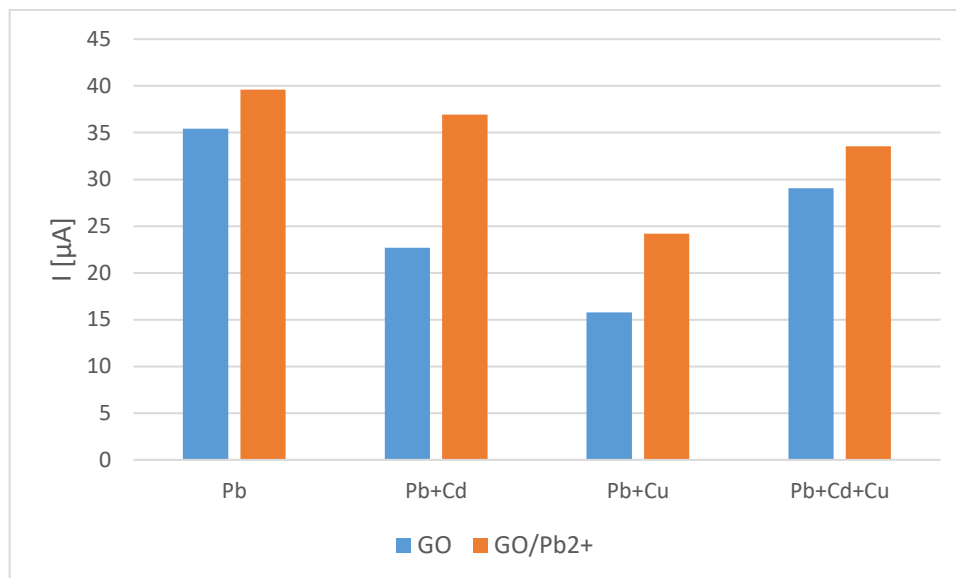
byly připravovány z roztoku 2% HNO<sub>3</sub>, který byl upravován přidávkem 0,1 M NaOH na požadovanou hodnotu pH.



Obr. 20: Graf vlivu rozpouštěcích píků iontů těžkých kovů v koncentraci 20 mg.l<sup>-1</sup> na hodnotě pH aplikované nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup>

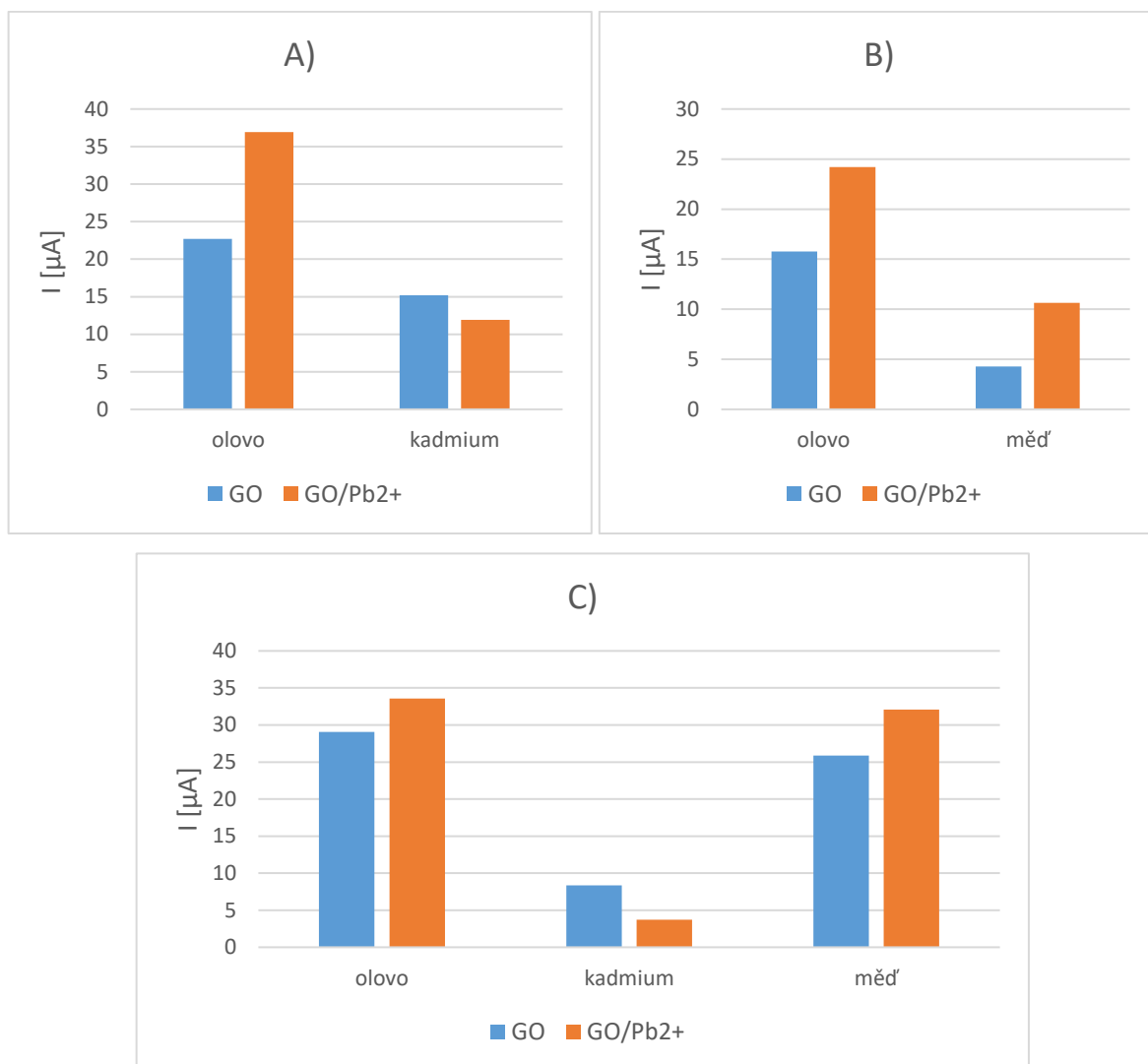
Z uvedeného grafu je zřejmé, že se zvyšující se hodnotou pH klesala výška rozpouštěcích píků Pb<sup>2+</sup> iontů: 33,56 ± 1,52 μA (pH 2,2) > 11,44 ± 0,27 μA (pH 3,1) > 0,69 ± 0,05 μA (pH 5,2) > 0,62 ± 0,04 μA (pH 4,0). Při pH hodnotě 2,2 byly rozpouštěcí píky Pb<sup>2+</sup> nejvyšší a naopak nejmenší byly při hodnotách pH 4,0 a 5,2, stejně jako v případě iontů Cu<sup>2+</sup>, kde výška rozpouštěcích píků klesala: 32,09 ± 1,43 μA (pH 2,2) > 23,29 ± 1,45 μA (pH 3,1) > 2,32 ± 0,16 μA (pH 5,2) > 1,47 ± 0,31 μA (pH 4,0). Rozpouštěcí píky Cd<sup>2+</sup> iontů byly nízké a při pH 3,1 nebyly znatelné. Jejich hodnota při jednotlivých pH dosahovala: 3,03 ± 0,56 μA (pH 2,2) > 2,32 ± 0,16 μA (pH 5,2) > 1,47 ± 0,31 μA (pH 4,0). Při voltametričtém měření selektivity byla z tohoto důvodu vybrána hodnota pH 2,2 – hodnota pH s nejvyššími rozpouštěcími píky Pb<sup>2+</sup> iontů.

Výsledky voltametričtého měření selektivity jsou znázorněny v grafech uvedených na obr. 21 a 22. V prvním zobrazeném grafu se zjišťovala odezva Pb<sup>2+</sup> iontů v přítomnosti ostatních zmíněných iontů těžkých kovů u kontrolní nanostruktury GO a iontově vtisknuté nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup> (obr. 21).



Obr. 21: Graf závislosti rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů v přítomnosti  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v 0,04%  $\text{HNO}_3$  s koncentrací iontů  $20 \text{ mg.l}^{-1}$

Voltametrická odezva  $\text{Pb}^{2+}$  iontů obou nanostruktur byla nejvyšší bez přítomnosti ostatních iontů těžkých kovů v analyzovaném roztoku, kde rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  iontů dosahovaly u nanostruktury GO:  $35,42 \pm 0,31 \mu\text{A}$  a nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$ :  $39,59 \pm 0,38 \mu\text{A}$ , a naopak nejnižší rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  iontů byly za přítomnosti iontů  $\text{Cu}^{2+}$ . U nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$  rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  iontů klesaly v přítomnosti:  $\text{Cd}^{2+}$  ( $36,95 \pm 0,38 \mu\text{A}$ ) >  $\text{Cd}^{2+} + \text{Cu}^{2+}$  ( $33,56 \pm 0,93 \mu\text{A}$ ) >  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ( $24,21 \pm 1,45 \mu\text{A}$ ) a u nanostruktury GO klesaly v pořadí  $\text{Cd}^{2+} + \text{Cu}^{2+}$  ( $29,06 \pm 1,21 \mu\text{A}$ ) >  $\text{Cd}^{2+}$  ( $22,71 \pm 1,21 \mu\text{A}$ ) >  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ( $15,76 \pm 0,34 \mu\text{A}$ ). Následující obr. 22 znázorňuje voltametrickou odezvu všech testovaných iontů těžkých kovů.

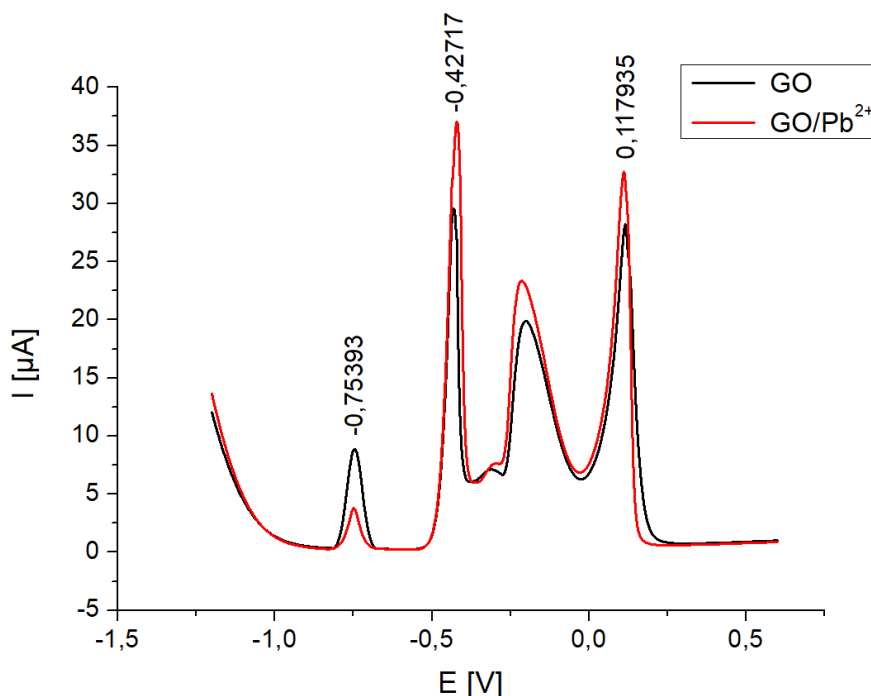


Obr. 22: Grafy znázorňující rozpouštěcí píky iontů těžkých kovů v 0,04%  $\text{HNO}_3$  v přítomnosti: A)  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  iontů, B)  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  iontů a C)  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  iontů s koncentrací iontů  $20 \text{ mg.l}^{-1}$

V přítomnosti  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  iontů byla vyšší voltametrická odezva na  $\text{Pb}^{2+}$  ionty u obou nanostruktur (obr. 22.A). Výšky rozpouštěcích píků  $\text{Cd}^{2+}$  iontů byly u nanostruktury GO  $15,19 \pm 0,82 \mu\text{A}$  a nanostruktury GO/Pb $^{2+}$   $11,89 \pm 0,44 \mu\text{A}$ . Ionty  $\text{Cd}^{2+}$  jsou sice menší než  $\text{Pb}^{2+}$  ionty, ale jejich afinitu zároveň určuje kromě jejich velikosti také jejich tvar vzniklých vazebných míst. Vzájemný poměr výšek rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  ku  $\text{Cd}^{2+}$  iontů udává informaci, o kolik je pík  $\text{Pb}^{2+}$  iontů vyšší než pík iontů  $\text{Cd}^{2+}$ , a zároveň pak umožní porovnat selektivitu nanostruktur i vůči ostatním kationtům. Zatímco je tento poměr u kontrolní nanostruktury GO roven 1,5, u nanostruktury GO/Pb $^{2+}$  činí 3,1, což je dvakrát vyšší hodnota. Iontově vtisknutá nanostruktura GO/Pb $^{2+}$  je tedy selektivnější pro  $\text{Pb}^{2+}$  ionty v přítomnosti iontů  $\text{Cd}^{2+}$  oproti kontrolní nanostruktuře GO.

Stejně jako v případě  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  iontů byla sledována selektivita  $\text{Pb}^{2+}$  iontů za přítomnosti iontů  $\text{Cu}^{2+}$  (obr. 22.B), kde výšky rozpouštěcích píků  $\text{Cu}^{2+}$  iontů dosahovaly hodnot  $4,28 \pm 1,03 \mu\text{A}$  u nanostruktury GO a  $10,64 \pm 0,63 \mu\text{A}$  u nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$ . Voltametrická odezva byla opět vyšší pro  $\text{Pb}^{2+}$  ionty v porovnání s ionty  $\text{Cu}^{2+}$ . Jejich vzájemný poměr činil u kontrolní nanostruktury GO 3,7 a u nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$  byl poměr 2,3. Rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  byly u obou nanostruktur vyšší v přítomnosti  $\text{Cd}^{2+}$  iontů oproti přítomnosti iontů  $\text{Cu}^{2+}$ .

Současná detekce iontů  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  je znázorněná na obr. 22.C a 23. Z voltamogramu (obr. 23) jsou patrné pozice rozpouštěcích píků, které bylo možné pozorovat u  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  iontů při potenciálech  $-426,03 \pm 1,8 \text{ mV}$ ,  $-748,9 \pm 6,4 \text{ mV}$  a  $+115,8 \pm 4,5 \text{ mV}$ . Hodnoty potenciálů  $\text{Cd}^{2+}$  iontů byly velmi blízko hodnotám publikovaným ve studii autorů Wei et al. [51], tedy  $-0,774 \text{ V}$ . Na rozdíl od  $\text{Cd}^{2+}$  iontů byly ionty  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  ve zmíněné studii viditelné při potenciálech v pořadí  $-0,578 \text{ V}$  a  $-0,109 \text{ V}$ . Tyto odlišné hodnoty mohly být způsobeny použitým elektrolytem a modifikací pracovních elektrod, kde v uvedené studii byly ionty těžkých kovů měřeny v roztoku 0,1 M acetátovém pufru pomocí pracovních GCE elektrod modifikovaných  $\text{SnO}_2$ /redukovaným GO.

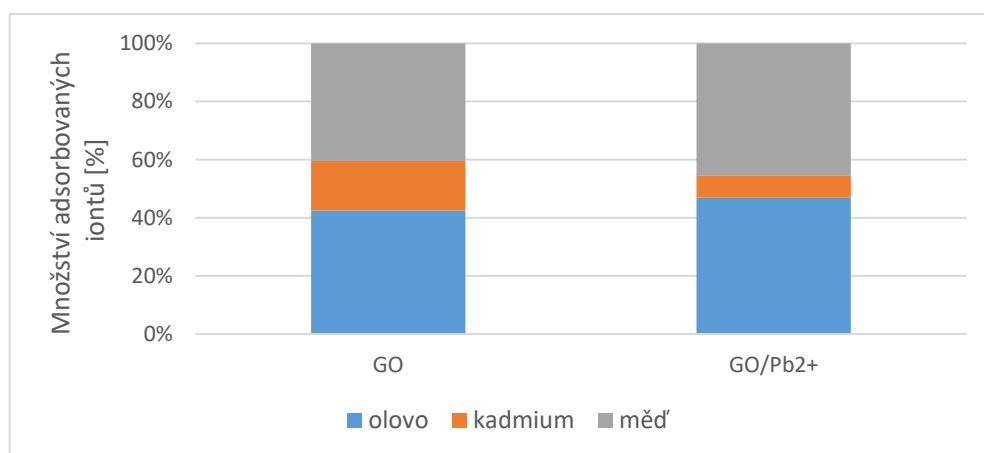


Obr. 23: Voltamogramy současné detekce  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  iontů nanostruktur GO a GO/ $\text{Pb}^{2+}$  v 0,04%  $\text{HNO}_3$  s koncentrací iontů  $20 \text{ mg.l}^{-1}$

Z grafu (obr. 22.C) vyplývá, že v přítomnosti všech tří iontů nebyl významný rozdíl mezi rozpouštěcími píky  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  iontů, jejichž výška byla v případě nanostruktury GO  $29,06 \pm 1,21 \mu\text{A}$  pro  $\text{Pb}^{2+}$  ionty a  $25,86 \pm 0,21 \mu\text{A}$  pro ionty  $\text{Cu}^{2+}$  a pro nanostrukturu GO/ $\text{Pb}^{2+}$   $33,56 \pm 0,93 \mu\text{A}$  pro  $\text{Pb}^{2+}$  ionty a  $32,09 \pm 1,12 \mu\text{A}$  pro ionty  $\text{Cu}^{2+}$ . Bylo by racionální očekávat i daleko vyšší odezvu  $\text{Cu}^{2+}$  iontů vzhledem k jejich přebytku v elektrolytu 0,04%  $\text{HNO}_3$  (v porovnání s  $\text{Pb}^{2+}$  ionty mají ionty  $\text{Cu}^{2+}$  3,26krát vyšší molární koncentraci, a tudíž byl jejich celkový počet v roztoku elektrolytu 0,04%  $\text{HNO}_3$  v převaze vůči počtu  $\text{Pb}^{2+}$  iontů). Uvedené výsledky spíše potvrzují, že je adsorpce  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$  vyšší v porovnání s adsorpcí  $\text{Cu}^{2+}$  iontů.

V porovnání s  $\text{Cu}^{2+}$  ionty vykazovaly ionty  $\text{Cd}^{2+}$  nižší voltametrickou odezvu. Ionty  $\text{Cd}^{2+}$  jsou na rozdíl od  $\text{Cu}^{2+}$  iontů větší a hůře se váží do zmíněných aktivních míst nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$ . Porovnájí-li se výšky rozpouštěcích pík  $\text{Cu}^{2+}$  iontů obou nanostruktur za přítomnosti pouze  $\text{Pb}^{2+}$  iontů a za přítomnosti všech tří iontů (obr. 3.B a 3.C), potom ve druhém případě byla výška rozpouštěcích pík  $\text{Cu}^{2+}$  iontů 3krát vyšší u nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$  a u nanostruktury GO byla vyšší až 6krát. Na rozdíl od  $\text{Cu}^{2+}$  iontů vykazovaly rozpouštěcí píky  $\text{Cd}^{2+}$  iontů opačnou odezvu. Jejich výška byla 3,2krát nižší u nanostruktury GO/ $\text{Pb}^{2+}$  a 1,8krát nižší u nanostruktury GO v přítomnosti všech iontů těžkých kovů ve srovnání s výškou rozpouštěcího píku  $\text{Cd}^{2+}$  v přítomnosti pouze  $\text{Pb}^{2+}$  iontů.

Uváží-li se celkový počet aktivních míst zaplněných přítomnými ionty (tedy celkový náboj, který prošel při oxidaci všech adsorbovaných iontů) jako 100 %, lze vyjádřit procentuálně selektivitu nanostruktur vůči jednotlivým iontům, kterou znázorňuje obr. 24.



Obr. 24: Procentuální graf adsorbovaných iontů těžkých kovů na nanostruktury GO a GO/ $\text{Pb}^{2+}$

Z celkového množství adsorbovaných iontů u kontrolní nanostruktury GO tvořily ze 42,46 %  $\text{Pb}^{2+}$ , ze 40,39 %  $\text{Cu}^{2+}$  a ze 17,15 %  $\text{Cd}^{2+}$  ionty a u nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  tvořily ze 46,85 %  $\text{Pb}^{2+}$ , ze 45,37 %  $\text{Cu}^{2+}$  a ze 7,78 %  $\text{Cd}^{2+}$  ionty. Adsorpce iontů  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  se od sebe zásadně nelišila, vazba  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na obě nanostruktury mírně převažovala nad vazbou  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Nejméně se adsorbovaly ionty  $\text{Cd}^{2+}$ , které se vázaly 2,2krát méně na iontově vtisknutou nanostrukturu  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  v porovnání s kontrolní nanostrukturou GO.

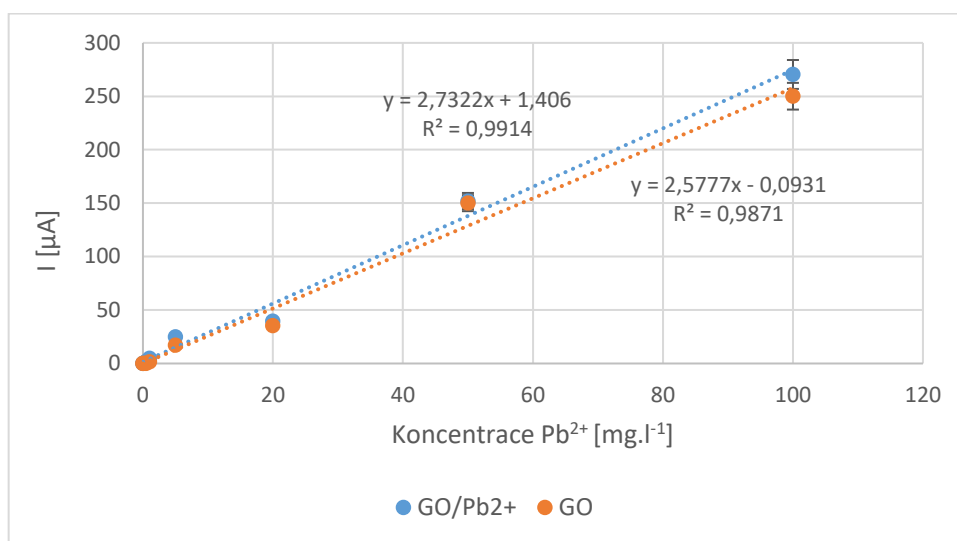
Selektivita zmíněných tří iontů byla naměřena také na nemodifikovaných GCE elektrodách, kde naměřené výšky rozpouštěcích píků v poměrech  $\text{Pb}^{2+}:\text{Cd}^{2+}$  dosahovaly 1:0,35;  $\text{Pb}^{2+}:\text{Cu}^{2+}$  1:0,74 a poměr  $\text{Pb}^{2+}:\text{Cd}^{2+}:\text{Cu}^{2+}$  dosahoval hodnot 1:0,39:1,98. U nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  činily tyto poměry ve stejném pořadí 1:0,32; 1:0,44 a 1:0,11:0,96. Ze zmíněných poměrů vyplývá, že adsorpce iontů  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cd}^{2+}$  byla v přítomnosti všech iontů významně nižší u nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  než u čisté GCE elektrody.

U obou zkoumaných nanostruktur tedy klesala afinita v pořadí  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} \gg \text{Cd}^{2+}$ . Zjištěné pořadí afinity iontů těžkých kovů k nanostruktuře GO je stejné s publikovanou studií Stiko et al. [35], která se zabývala adsorpcí dvoumocných iontů na GO. Iontově vtisknutá nanostruktura  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  vykazovala v porovnání s kontrolní nanostrukturou GO zásadně menší afinitu k  $\text{Cd}^{2+}$  iontům a mírně vyšší afinitu k iontům  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$ . Oproti nemodifikovaným GCE elektrodám měla nanostruktura  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  nižší tendenci adsorbovat  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  ionty.



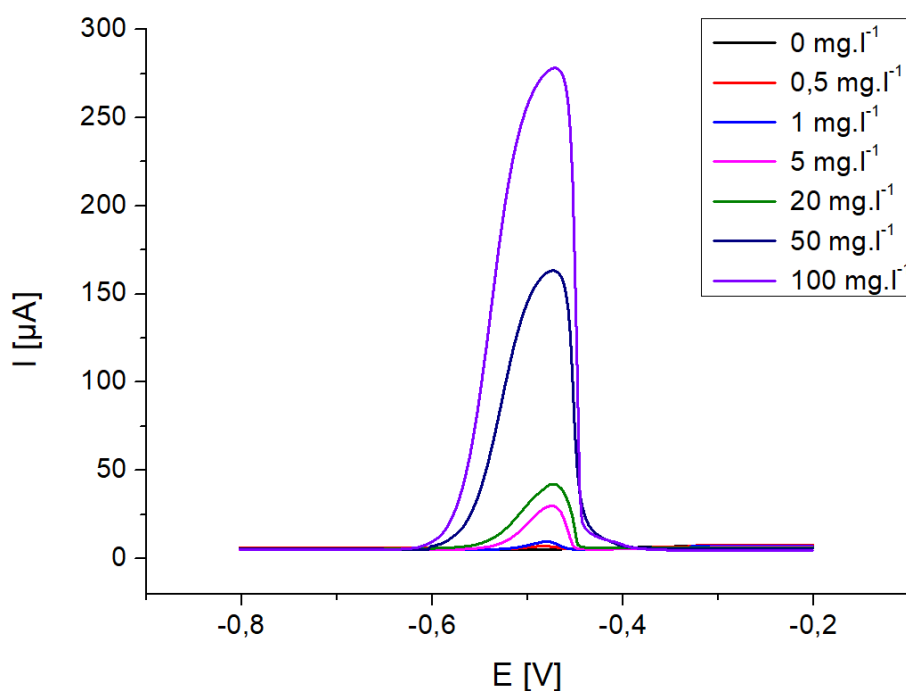
## 9.7 Stanovení kalibrační křivky

Kalibrační křivka byla získána pro zkoumané nanostruktury GO a GO/Pb<sup>2+</sup>, které byly připraveny metodou *ex situ*. Měřena byla v elektrolytech obsahujících 0,04% HNO<sub>3</sub> s příslušnou koncentrací Pb<sup>2+</sup> iontů. Koncentrační rozmezí iontů Pb<sup>2+</sup> bylo voleno od 0 do 100 mg.l<sup>-1</sup>. Rozpouštěcí píky byly naměřeny metodou AS SWV s aplikovaným depozičním potenciálem -1,2 V a depozičním časem 60 s, kde výsledkem je graf uvedený na obr 25.



Obr. 25: Graf kalibrační křivky nanostruktur GO a GO/Pb<sup>2+</sup> naměřený v 0,04% HNO<sub>3</sub>

Z grafu je patrné, že kalibrační křivky obou nanostruktur jsou podobné, ačkoliv lze u GO/Pb<sup>2+</sup> pozorovat mírně vyšší voltametrickou odezvu na přítomné Pb<sup>2+</sup> ionty v porovnání s nanostrukturou GO. Rovnice regresní přímky je u nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup>  $I [\mu\text{A}] = 2,73 \pm 0,06 \times c [\text{mg.l}^{-1}] + 1,41 \pm 0,49$  (rov. 1) a korelační koeficient s hodnotou 0,991. Postupně rostoucí výšky rozpouštěcích píků Pb<sup>2+</sup> iontů u aplikované nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup> lze vidět na obr. 26. Kontrolní nanostruktura GO měla mírně nižší rozpouštěcí píky Pb<sup>2+</sup> iontů. Celkově tato nižší odezva koresponduje s hodnotami zjištěnými při měření selektivity. Kalibrační křivka nanostruktury GO vykazovala rovněž nižší linearitu a nižší korelační koeficient s hodnotou 0,987. Kalibrační křivka pro nanostrukturu GO je dána regresní rovnicí:  $I [\mu\text{A}] = 2,58 \pm 0,12 \times c [\text{mg.l}^{-1}] - 0,09 \pm 0,05$  (rov. 2).



Obr. 26: Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury  $GO/Pb^{2+}$  naměřené v 0,04%  $HNO_3$

Detekční limit (LOD), stanovený ze směrodatné odchylky citlivosti daného měření [73], se odhaduje v případě nanostruktury  $GO/Pb^{2+}$  na  $0,96 \text{ mg.l}^{-1}$  a pro nanostrukturu GO na hodnotu  $0,35 \text{ mg.l}^{-1}$ . Hygienické limity stanovené Nařízením Komise (EU) 2015/1005 [11] vypovídající o maximální koncentraci olova v některých potravinách uvádí hodnoty pro víno  $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$  a pro listovou zeleninu  $0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$  čerstvé hmotnosti.

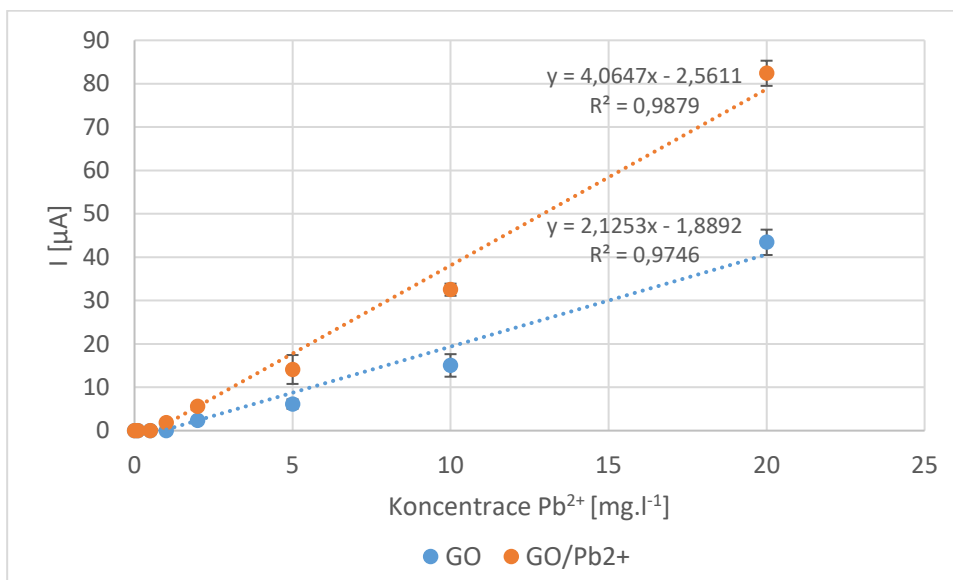
## 9.8 Otestování připravených nanostruktur ve vzorcích potravin

Připravené nanostruktury GO a  $GO/Pb^{2+}$  byly otestovány i pro detekci  $Pb^{2+}$  iontů ve vzorcích alkoholického nápoje – vína a zeleniny – špenátu. V jednotlivých připravených vzorcích byly přidávány zvyšující se koncentrace  $Pb^{2+}$  iontů od 0 do  $20 \text{ mg.l}^{-1}$ , z jejichž odezvy byla stanovena kalibrační křivka. Následně byly voltametriky proměřeny vzorky vína záměrně kontaminované  $Pb^{2+}$  ionty o známé koncentraci, kde se sledovaly výšky rozpouštěcích píků  $Pb^{2+}$  iontů, které se porovnávaly s naměřenou kalibrační křivkou u obou nanostruktur.

Nanostruktury GO a  $GO/Pb^{2+}$  byly připraveny metodou *ex situ* a jejich testování na vzorcích potravin probíhalo za pomoci voltametrické metody AS SWV s aplikovaným depozičním potenciálem  $-1,2 \text{ V}$  a depozičním časem 60 s.

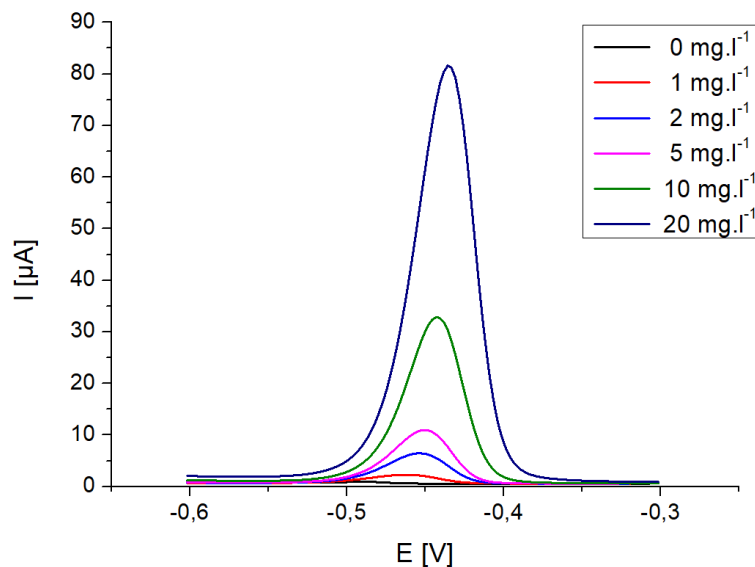
### 9.8.1 Voltametrická odezva $\text{Pb}^{2+}$ iontů ve vzorcích vína

Kalibrační křivka  $\text{Pb}^{2+}$  iontů naměřená ve vzorcích bílého vína (obr. 27) byla stanovena v koncentračním rozmezí od 0 do 20  $\text{mg.l}^{-1}$ . Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury  $\text{GO/Pb}^{2+}$  jsou viditelné na obr. 28.



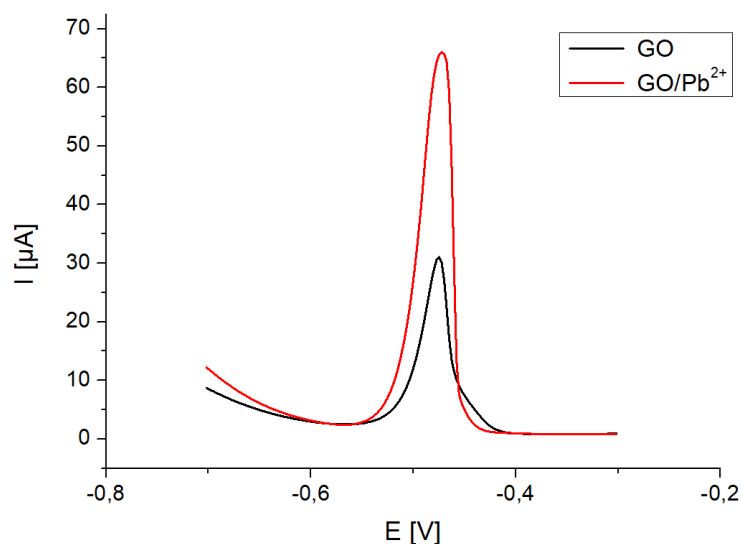
Obr. 27: Graf kalibrační křivky nanostruktur GO a  $\text{GO/Pb}^{2+}$  naměřený ve vzorcích bílého vína

Voltametrická odezva na  $\text{Pb}^{2+}$  ionty je u nanostruktury  $\text{GO/Pb}^{2+}$  s jejich stoupající koncentrací lineární. Linearita je charakterizována korelačním koeficientem 0,988 a rovnicí regresní přímky:  $I [\mu\text{A}] = 4,06 \pm 0,12 \times c [\text{mg.l}^{-1}] - 2,56 \pm 0,43$  (rov. 3). Příklad reálné odezvy senzoru s  $\text{GO/Pb}^{2+}$  na zvyšující se koncentraci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů je na obr. 28. V případě nanostruktury GO měla kalibrační křivka korelační koeficient 0,975 a rovnicí regresní přímky:  $I [\mu\text{A}] = 2,13 \pm 0,63 \times c [\text{mg.l}^{-1}] - 1,89 \pm 0,09$  (rov. 4). Při porovnání obou kalibračních přímek tedy vykazovala nanostruktura  $\text{GO/Pb}^{2+}$  výrazně vyšší voltametrickou odezvu na  $\text{Pb}^{2+}$  ionty, vyšší linearitu a citlivost metody v porovnání s nanostrukturou GO.



Obr. 28: Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  naměřené ve vzorku bílého vína

Detekční limit byl stanoven s ohledem na hustotu bílého vína u nanostruktury GO na hodnotu  $1,79 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  a u nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  na  $0,73 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . V porovnání s hygienickým limitem, který činí  $0,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , jsou tyto hodnoty nedostačující v případě obou nanostruktur. Nicméně v případě nanostruktury s iontovým vtiskem je limit detekce hygienickému limitu podstatně blíže.



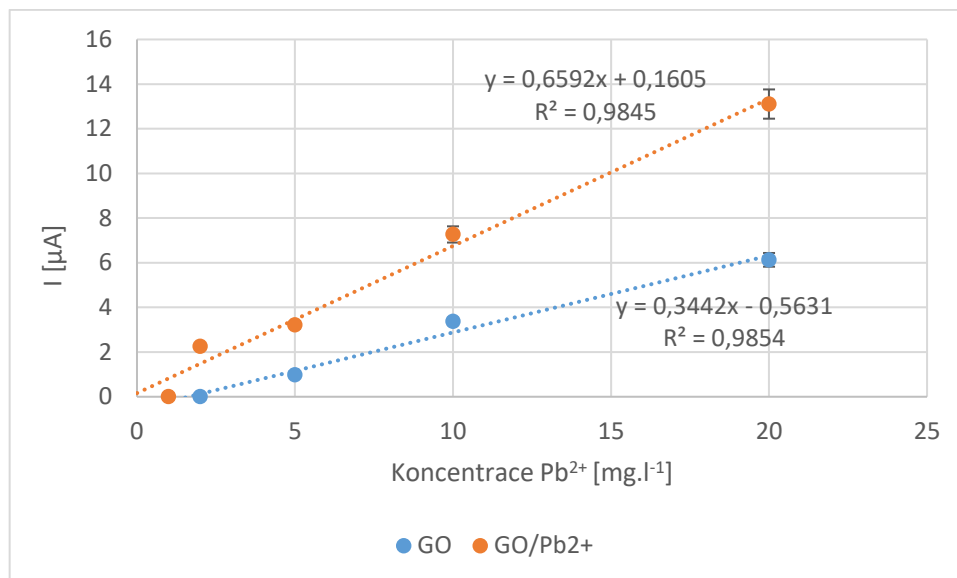
Obr. 29: Voltamogramy nanostruktur  $\text{GO}$  a  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  naměřené ve vzorcích bílého vína kontaminovaného  $\text{Pb}^{2+}$  ionty o koncentraci  $16,33 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$

Na voltamogramech na obr. 29 jsou znázorněny rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  iontů získané pomocí GCE elektrod modifikovaných nanostrukturou GO a  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$ . Jejich výška dosahovala  $63,48 \pm 2,87 \mu\text{A}$  pro nanostrukturu  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  a  $32,38 \pm 2,65 \mu\text{A}$  pro nanostrukturu GO. Je tedy vidět, že pracovní elektrody modifikované nanostrukturou  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  vykazovaly přibližně dvakrát větší voltametrickou odezvu na  $\text{Pb}^{2+}$  ionty ve vzorcích bílého vína oproti nanostruktuře GO.

Dosazením těchto hodnot do příslušných rovnic regresních přímek (rov. 3 a 4) za hodnotu elektrického proudu  $I$  v jednotkách  $\mu\text{A}$  byla vypočítána koncentrace  $\text{Pb}^{2+}$  iontů na  $16,25 \text{ mg.l}^{-1}$  pro nanostrukturu  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  a  $16,12 \text{ mg.l}^{-1}$  pro GO, což je 99,51% a 98,71% výtěžnost původní koncentrace. Průměrné hodnoty rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů byly také dosazeny do regresních přímek stanovených z naměřené kalibrační křivky v 0,04%  $\text{HNO}_3$  (rov. 1 a 2), odkud byly získány hodnoty  $22,72 \text{ mg.l}^{-1}$  pro nanostrukturu  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  a  $12,6 \text{ mg.l}^{-1}$  pro nanostrukturu GO. Tyto hodnoty se značně lišily od skutečné koncentrace. Je tedy evidentní, že při měřeních je velmi významný vliv matrice, a tudíž se použitá metoda vnitřního standardu ukazuje jako velmi vhodná. Rovněž je nutné brát v potaz výrazně vyšší lineární rozsah u kalibračních křivek získaných v čistém elektrolytu  $\text{HNO}_3$  – při kalibraci při použití nižších koncentrací může tedy dojít ke zkreslení.

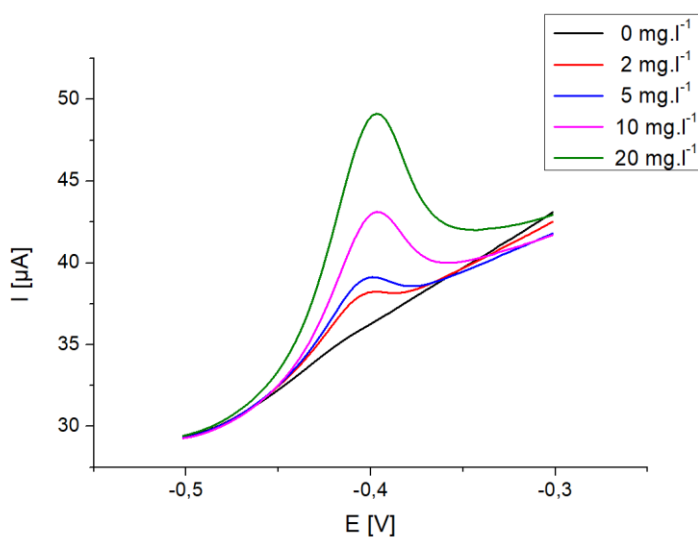
Ve vzorcích bílého vína byly výšky rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  podstatně vyšší u nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$ . Při koncentraci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  dosahovaly výšky jeho rozpouštěcích píků  $39,59 \pm 0,47 \mu\text{A}$  v elektrolytu 0,04%  $\text{HNO}_3$  a ve vzorcích bílého vína  $82,42 \pm 0,75 \mu\text{A}$ . Z jejich poměru vyplývá, že rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  iontů byly 2,08krát vyšší ve vzorcích bílého vína oproti elektrolytu 0,04%  $\text{HNO}_3$ . U nanostruktury GO byla voltametrická odezva na  $\text{Pb}^{2+}$  iontů také vyšší ve vzorcích bílého vína v porovnání s kalibrační křivkou naměřenou v 0,04%  $\text{HNO}_3$ , jejich poměr při koncentraci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  činil poměr 1,37. Nárůst rozpouštěcích píků tedy nebyl tak značný jako v případě nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$ .

Stejný postup se volil i v případě připravených vzorků červeného vína, kde lze výsledky hodnot rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů kalibrační křivky obou nanostruktur vidět na obr. 30.



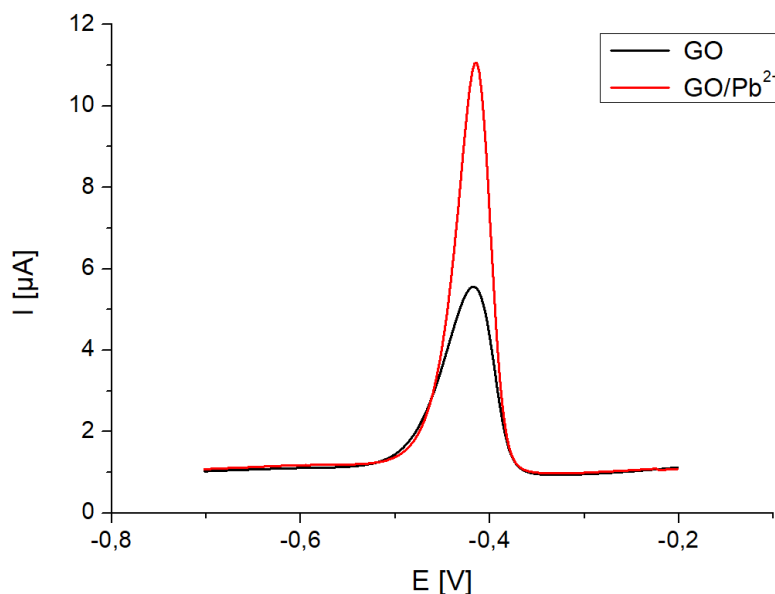
Obr. 30: Graf kalibrační křivky nanostruktur GO a GO/Pb<sup>2+</sup> naměřený ve vzorcích červeného vína

Korelační koeficient lineární regrese vykazuje u obou nanostruktur hodnotu 0,985. Rovnice regresních přímk jsou dány:  $I [\mu\text{A}] = 0,34 \pm 0,02 \times c [\text{mg.l}^{-1}] - 0,56 \pm 0,01$  (rov. 5) pro nanostrukturu GO a  $I [\mu\text{A}] = 0,66 \pm 0,12 \times c [\text{mg.l}^{-1}] + 0,16 \pm 0,14$  (rov. 6) pro nanostrukturu GO/Pb<sup>2+</sup>. Kalibrační křivky ukazují podobně jako u proměřených vzorků bílého vína na vyšší odezvu Pb<sup>2+</sup> iontů u nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup> oproti kontrolní nanostruktury GO. Voltamogramy získané GCE elektrodami modifikovanými GO/Pb<sup>2+</sup> se zvyšujícími se výškami rozpouštěcích piků Pb<sup>2+</sup> iontů je patrný na obr. 31.



Obr. 31: Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup> naměřené ve vzorku červeného vína

Detekční limit byl stanoven u nanostruktury GO na hodnotu  $1,84 \text{ mg.kg}^{-1}$  a u nanostruktury  $\text{GO/Pb}^{2+}$  na  $0,31 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Pro porovnání s hygienickým limitem, který činí  $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ , jsou uvedené detekční limity stejně jako v případě bílého vína nedostatečné. Stejně jako u bílého vína však má k jejich splnění velmi blízko senzor využívající  $\text{GO/Pb}^{2+}$  nanostrukturu.



Obr. 32: Voltamogramy nanostruktur GO a  $\text{GO/Pb}^{2+}$  naměřené ve vzorcích červeného vína kontaminovaného  $\text{Pb}^{2+}$  ionty o koncentraci  $15,94 \text{ mg.l}^{-1}$

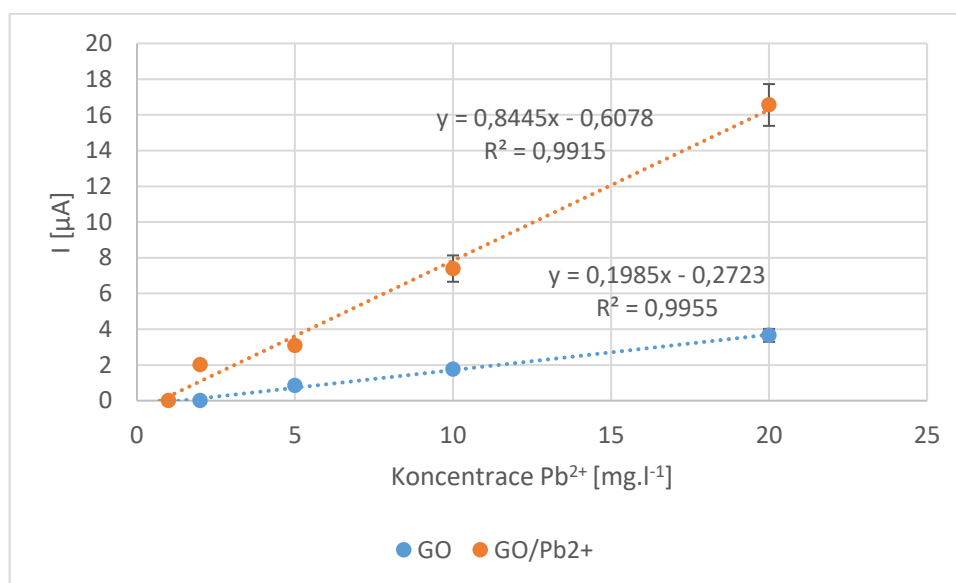
Průměrná hodnota výšek rozpouštěcích píků z obr. 32 byla u nanostruktury GO  $4,86 \pm 2,13 \text{ µA}$  a nanostruktury  $\text{GO/Pb}^{2+}$   $10,39 \pm 0,72 \text{ µA}$ . Jejich vzájemný poměr je 2,14, což je hodnota mírně vyšší oproti poměru výšek rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů naměřených ve vzorcích bílého vína. I v tomto reálném vzorku tedy nanostruktura  $\text{GO/Pb}^{2+}$  poskytuje vyšší voltametričnou odezvu na  $\text{Pb}^{2+}$  iontů v porovnání s nanostrukturou GO.

Po dosažení příslušných hodnot průměrných výšek rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  iontů do regresních rovnic (rov. 5 a 6) byly koncentrace vypočteny na hodnoty  $15,76 \text{ mg.l}^{-1}$  u nanostruktury GO a  $15,52 \text{ mg.l}^{-1}$  u nanostruktury  $\text{GO/Pb}^{2+}$ , což je 98,87% a 97,37% výtěžnost původní koncentrace. Po dosažení hodnot do regresních přímek získaných v čistém elektrolytu (rov. 1 a 2) byly výsledné koncentrace vypočteny na  $1,92 \text{ mg.l}^{-1}$  pro nanostrukturu GO a  $3,29 \text{ mg.l}^{-1}$  pro nanostrukturu  $\text{GO/Pb}^{2+}$ . Poměr výšek rozpouštěcího píku naměřeného v elektrolytu 0,04%  $\text{HNO}_3$  a ve vzorcích červeného vína při koncentraci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  pak vyplývá, že rozpouštěcí píky byly téměř 6krát menší u nanostruktury GO a 3krát menší u nanostruktury  $\text{GO/Pb}^{2+}$  a že v tomto případě hraje vliv matrice větší roli.

Z grafu kalibračních křivek znázorněné na obr. 27 a 30 je patrné, že voltametrické měření vzorků červeného vína za použití nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  je stejně jako v případě bílého vína metoda citlivější a při stejných koncentracích  $\text{Pb}^{2+}$  iontů poskytuje výrazně vyšší rozpouštěcí píky oproti elektrodám s nanostrukturou GO. U obou nanostruktur byla voltametrická odezva podstatně vyšší ve vzorcích bílého vína v porovnání se vzorky červeného vína. Ve vzorcích vín byl rozpoznán velký vliv matrice ve smyslu jak snížení (ve vzorcích červeného vína), tak i zvýšení (ve vzorcích bílého vína) celkové absolutní odezvy, ale na druhou stranu vždy došlo ke zvýšení rozdílů mezi  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  a GO ve prospěch prvně jmenované. Lze tedy jednoznačně tvrdit, že pro detekci v tomto typu reálných vzorků poskytuje testovaný iontový vtisk výrazně lepší výsledky.

### 9.8.2 Voltametrická odezva $\text{Pb}^{2+}$ iontů ve vzorcích zeleniny

Pro otestování nanostruktur GO a  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  byly použity také připravené vzorky zeleniny – špenátu, kde se sledovala voltametrická odezva  $\text{Pb}^{2+}$  iontů. Stanovena byla kalibrační křivka vyobrazená na obr. 33. Koncentrační rozmezí bylo voleno od 0 do 20  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

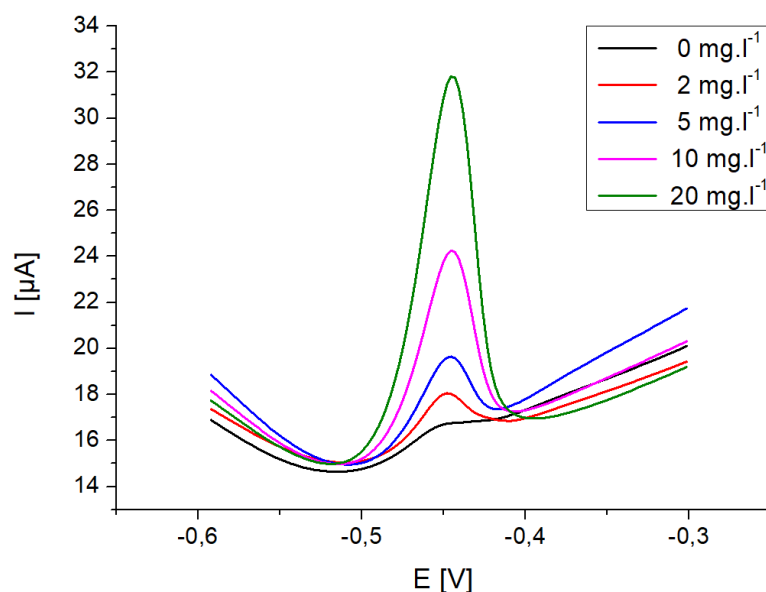


Obr. 33: Graf kalibrační křivky nanostruktur GO a  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  naměřený ve vzorcích špenátu

Vyhodnocená kalibrační křivka byla charakterizována korelačními koeficienty s hodnotou 0,996 u nanostruktury GO a 0,992 u nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$ . Rovnice regresních přímků pak byly pro nanostrukturu GO:  $I [\mu\text{A}] = 0,19 \pm 0,01 \times c [\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}] - 0,27 \pm 0,03$  (rov. 7) a pro nanostrukturu  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$ :  $I [\mu\text{A}] = 0,84 \pm 0,04 \times c [\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}] - 0,61 \pm 0,14$



(rov. 8). Reprezentativní rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  iontů kalibrační křivky naměřené s nanostrukturou  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  jsou vyobrazené na obr. 34.



Obr. 34: Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  naměřené ve vzorku špenátu

Detekční limit byl stanoven na hodnoty  $6,83 \text{ mg.kg}^{-1}$  čerstvé hmotnosti pro nanostrukturu  $\text{GO}$  a  $3,75 \text{ mg.kg}^{-1}$  čerstvé hmotnosti pro nanostrukturu  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$ . V porovnání s hygienickým limitem  $0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$  čerstvé hmotnosti jsou uvedené detekční limity nedostačné, avšak i zde je téměř dvakrát nižší u nanostruktury s iontovým vtiskem.

Vyšší rozpouštěcí píky  $\text{Pb}^{2+}$  iontů a také vyšší citlivost metody vykazovala nanostruktura  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  v porovnání s kontrolní nanostrukturou  $\text{GO}$ , kde byla výška rozpouštěcích píků  $\text{Pb}^{2+}$  při koncentraci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  u nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  ( $16,55 \pm 0,73 \text{ µA}$ ) 4,5 krát vyšší než u  $\text{GO}$  ( $3,65 \pm 0,36 \text{ µA}$ ). Kalibrační křivka naměřená ve vzorcích špenátu se nejvíce podobala kalibrační křivce naměřené ve vzorcích červeného vína, kde byly hodnoty výšek rozpouštěcích píků pro nanostrukturu  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$   $13,12 \pm 0,73 \text{ µA}$ .

Souhrnem lze k měření reálných vzorků říct, že senzitivita testovaného senzoru byla nejmenší ve vzorcích červeného vína a špenátu a naopak nejvyšší ve vzorcích bílého vína. Ve všech vzorcích potravin byly však výšky rozpouštěcích píků vyšší u nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  v porovnání s kontrolní nanostrukturou  $\text{GO}$ . Jednotlivé poměry výšek rozpouštěcích píků nanostruktury  $\text{GO}/\text{Pb}^{2+}$  k nanostruktuře  $\text{GO}$  při koncentraci  $20 \text{ mg.l}^{-1}$  byly

1,96 ve vzorcích bílého vína, 2,14 ve vzorcích červeného vína a 4,53 ve vzorcích špenátu. Největší rozdíl mezi voltametrickou odezvou nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup> oproti nanostruktuře GO, tedy význam iontového vtisku, byl nepřímo úměrný citlivosti stanovení. Ve všech stanoveních však GO/Pb<sup>2+</sup> nanostruktura poskytla lepší výsledky.

Zároveň je třeba říct, že stejně jako citlivost i vypočítané detekční limity byly ve všech reálných vzorcích nižší při použití nanostruktury s iontovým vtiskem, nicméně ani v jednom případě nedosáhly k hodnotám stanovených hygienických limitů. V rámci dalších prací by tedy bylo nutné provést další kroky, které by vedly k výraznému snížení detekčních limitů. Nabízí se např. možnosti úpravy vlastností výchozího nanomateriálu grafen oxidu (oxidace, separace na základě velikosti nebo náboje nanočástic).

## ZÁVĚR

Ke stanovení iontů těžkých kovů v potravinách se využívá elektrochemická detekce, kde je nejrozšířenější metoda anodické rozpouštěcí square wave voltametrie. Pro zvýšení citlivosti této metody se používají iontově vtisknuté polymery, kterými se modifikují pracovní elektrody. Iontově vtisknuté polymery mají schopnost navázat sledované ionty a udržovat si ve své struktuře jejich tvar a velikost, čehož se využívá při následné elektrochemické detekci sledovaných iontů.

Z tohoto pohledu je zajímavý nanomateriál grafen oxid, na který se díky svým kyslíkovým skupinám, které ční nad jeho planární rovinou hexagonálně uspořádaných atomů uhlíku, navazují dvojmocné ionty těžkých kovů. Navázané dvojmocné ionty se tak imobilizují ve struktuře grafen oxidu. Následnou desorpcí iontů se vytváří specifická vazebná místa pro jejich následnou elektrochemickou detekci v potravinách. Příprava iontově vtisknuté nanostruktury grafen oxidu spolu s  $\text{Pb}^{2+}$  ionty pro jejich následnou elektrochemickou detekci, kterými se zabývala praktická část této diplomové práce, dosud nebyla zkoumána.

Modifikace pracovní elektrody vytvořenou nanostrukturou na bázi grafen oxidu a  $\text{Pb}^{2+}$  iontů má na svém povrchu limitovaný počet vytvořených aktivních míst, na které by se měly přednostně vázat sledované  $\text{Pb}^{2+}$  ionty. V analyzovaném roztoku však v přítomnosti ostatních iontů těžkých kovů nastává kompetitivní adsorpce. Nanostruktura na bázi grafen oxidu a  $\text{Pb}^{2+}$  iontů vykazuje nejvyšší afinitu v pořadí  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} \gg \text{Cd}^{2+}$ . V porovnání s kontrolní nanostrukturou složenou pouze z grafen oxidu má však zásadně menší afinitu k  $\text{Cd}^{2+}$  iontům a mírně vyšší afinitu k iontům  $\text{Pb}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$  a v porovnání s nemodifikovanými pracovními elektrodami má významně nižší afinitu k iontům  $\text{Cd}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$ .

Ve vzorcích alkoholických nápojů – červeného a bílého vína a zeleniny – špenátu hrál významnou roli vliv matrice ve smyslu jak snížení (ve vzorcích červeného vína a špenátu), tak i zvýšení (ve vzorcích bílého vína) celkové voltametrické odezvy. Na druhou stranu byl také zvýšený rozdíl mezi sledovanými nanostrukturami. Nanostruktura na bázi grafen oxidu a  $\text{Pb}^{2+}$  iontů zvyšovala citlivost voltametrické detekce na přítomné  $\text{Pb}^{2+}$  ionty v porovnání s nanostrukturou na bázi grafen oxidu. Ionty  $\text{Pb}^{2+}$  v nanostruktuře grafen oxidu vytvářely zamýšlená aktivní místa, která zvyšovala adsorpci  $\text{Pb}^{2+}$  iontů ze vzorků potravin.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SHERAMETI, I. and A. VARMA. *Soil Heavy Metals*. New York: Springer, 2010, p. 19–29. APPENROTH, K.-J. Chap. 2, Definition of “Heavy Metals” and Their Role in Biological Systems. ISBN 978-3-642-02436-8.
- [2] KAFKA, Z. a J. PUNČOCHOVÁ. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy* [online]. 2002, **96**, 611–617 [cit. 2019-01-02]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2002\\_07\\_05.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2002_07_05.pdf)
- [3] DUFFUS, J. H. „Heavy metals”-a meaningless term? *Pure and Applied Chemistry* [online]. 2002, **74**(5), 793–807 [cit. 2019-01-03]. Dostupné z: <http://publications.iupac.org/pac/2002/pdf/7405x0793.pdf>
- [4] WANG, L. K. et al. *Heavy metals in Environment*. Boca Raton: CRC Press, 2009. ISBN 978-1-4200-7316-4.
- [5] KOPLÍK, R., E. ČURDOVÁ a O. MESTEK. Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chemické listy* [online]. 1997, **91**, 38–47 [cit. 2019-01-03]. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1997\\_01\\_38-47.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1997_01_38-47.pdf)
- [6] INTAWONGSE, M. and J. R. DEAN. Uptake of heavy metals by vegetable plants grown on contaminated soil and their bioavailability in the human gastrointestinal tract. *Food Additives and Contaminants* [online]. 2006, **23**(1), 36–48 [cit. 2019-01-07]. ISSN 0265-203X. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02652030500387554>
- [7] EFSA. Lead dietary exposure in the European population. *EFSA Journal* [online]. 2012, **10**(7), 59 [cit. 2019-01-07]. ISSN 18314732. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2012.2831>
- [8] EFSA. Scientific opinion on Lead in Food. *EFSA Journal* [online]. 2013, **8**(4), 150 [cit. 2019-01-07]. Dostupné z: <https://efsa.online-library.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2010.1570>
- [9] NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. In: *Úřední věstník*

- [online]. L 364, 20. 12. 2006, s. 5–24 [cit. 2019-01-09]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:CS:PDF>
- [10] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 420/2011 ze dne 29. dubna 2011, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. In: *Úřední věstník* [online]. L 111, 30. 4. 2011, s. 3–6 [cit. 2019-01-09]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R0420&from=CS>
- [11] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) 2015/1005 ze dne 25. června 2015, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity olova v některých potravinách. In: *Úřední věstník* [online]. L 161, 26. 6. 2015, s. 9–13 [cit. 2019-01-09]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32015R1005&from=CS>
- [12] KOŽÍŠEK, F. et al. *Výskyt olova v pitné vodě v České republice* [online]. Ostrava: Zdravotní ústav. 2007 [cit. 2019-01-10]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/7156991-Vyskyt-olova-v-pitne-vode-v-ceske-republice.html>
- [13] ČESKO. Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. In: *Sbírka zákonů*. 2004, s. 5402–5417.
- [14] ČESKO. Zpráva o kvalitě pitné vody v ČR za rok 2017. In: *Český statistický úřad České republiky* [online]. 2018 [cit. 2019-01-10]. Dostupné z: [http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne\\_zpravy/OZ\\_17/Odborna\\_voda\\_2017.pdf](http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne_zpravy/OZ_17/Odborna_voda_2017.pdf)
- [15] TCHOUNWOU, P. B. et al. Heavy Metals Toxicity and the Environment. *Experientia supplementum* [online]. 2012, **101**, 133–164 [cit. 2019-01-10]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4144270/>
- [16] SINGH, R. et al. Heavy metals and living systems: An overview. *Indian Journal of Pharmacology*. 2011, **43**(3), 246–253. ISSN 1998-3751.
- [17] BRANGER, C., W. MEOUCHE and A. MARGAILLAN. Recent advances on ion-imprinted polymers. *Reactive & Functional Polymers* [online]. 2013, **73**(6), 859–875 [cit. 2019-01-12]. ISSN 1381-5148. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2013.03.021>

- [18] CEJNER, M. and R. DOBROWOLSKI. Ion-imprinted polymers: synthesis, characterization and applications. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, sectio AA – Chemia*. 2015, **70**(2), 67. ISSN 2083-358X.
- [19] MAHROTRA, P. Biosensors and their applications – A review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. 2016, **6**(2), 153–159 . ISSN 2212-4268.
- [20] TUTULEA, M. D. et al. Electrochemical sensors for heavy metal ions detection from aqueous solutions. *Environmental Engineering and Management Journal* [online]. 2012, **11**(2), 463–470 [cit. 2019-01-20]. Dostupné z: doi: 10.30638/eemj.2012.058
- [21] DOPORUČENÍ KOMISE 2011/696/EU ze dne 18. října 2011 o definici nanomateriálu. In: *Úřední věstník* [online]. B.m.: L 275, 2011, s. 38–40 [cit. 2019-01-24]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:275:0038:0040:cs:PDF>
- [22] ARAGAY, G. and A. MERKOCI. Nanomaterials application in electrochemical detection of heavy metals. *Electrochimica Acta*. 2012, **84**, 49–61. ISSN 0013-4686.
- [23] GHANEI-MOTLAGH, M. and M. A. TAHER. An Electrochemical Sensor Based on Novel Ion Imprinted Polymeric Nanoparticles for Selective Detection of Lead Ions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry Research*. 1999, **4**(2), 295–306. ISSN 2383-093X.
- [24] SUVARNAPHEAT, P. and S. PECHPRASARN. Graphene-Based Materials for Biosensors: A Review. *Sensors* [online]. 2017, **17**(10), 24 [cit. 2019-02-03]. ISSN 1424-8220. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28934118>
- [25] NOVOSELOV, K. S. Grafén: materiály v plochem světě. *Čs. čas. fyz.* [online]. 2012, **62**(1), 28–38 [cit. 2019-02-05]. Dostupné z: [https://kdf.mff.cuni.cz/vyuka/kondenzovany\\_stav/materialy\\_2016/pro\\_zajimavost/12-2\\_28-38\\_Novoselov\\_Grafen-materialy\\_v\\_plochem\\_svete.pdf](https://kdf.mff.cuni.cz/vyuka/kondenzovany_stav/materialy_2016/pro_zajimavost/12-2_28-38_Novoselov_Grafen-materialy_v_plochem_svete.pdf)
- [26] LONKAR, S. P., Y. S. DESHMUKH and A. ABDALA. Recent Advances in Chemical Modifications of Graphene. *Nano Research*. 2015, **8**(4), 1039–1074. ISSN 1998-0000.
- [27] ZHOU, W. et al. Simultaneously determination of trace Cd(2+) and Pb(2+) based on L-cysteine/graphene modified glassy carbon electrode. *Food Chemistry*. 2016, **192**, 351–357. ISSN 1873-7072.

- [28] BAREK, J., F. OPEKAR a K. ŠTULÍK. *Elektroanalytická chemie*. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1146-5.
- [29] CHAIYO, S. et al. Electrochemical sensors for the simultaneous determination of zinc, cadmium and lead using a Nafion/ionic liquid/graphene composite modified screen-printed carbon electrode. *Analytica Chimica Acta*. 2016, **918**, 26–34. ISSN 1873-4324.
- [30] PEI, S. and H.-M. CHENG. The reduction of graphene oxide. *Carbon* [online]. 2012, **50**(9), 3210-3228 [cit. 2019-02-15]. ISSN 0008-6223. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2011.11.010>
- [31] HUMMERS, W. S. and R. E. OFFEMAN. Preparation of Graphitic Oxide. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1958, **80**(6), 1339–1339 [cit. 2019-02-18]. ISSN 0002-7863. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ja01539a017>
- [32] PERROZZI, F., S. PREZIOSO and L. OTTAVIANO. Graphene oxide: from fundamentals to applications. *Journal of Physics*. 2014, **27**(1), 21. ISSN 1361-648X.
- [33] RAY, S. C. *Applications of Graphene and Graphene-Oxide Based Nanomaterials*. Amsterdam: Elsevier, 2015, p. 39-55. Chap. 2, Application and Uses of Graphene Oxide and Reduced Graphene Oxide. ISBN: 9780323375214.
- [34] CHAŁUPNIAK, A. and A. MERKOÇI. Graphene Oxide-Poly(dimethylsiloxane)-Based Lab-on-a-Chip Platform for Heavy-Metals Preconcentration and Electrochemical Detection. *ACS applied materials & interfaces*. 2017, **9**(51), 44766–44775. ISSN 1944-8252.
- [35] SITKO, R. et al. Adsorption of divalent metal ions from aqueous solutions using graphene oxide. *Dalton Transactions*. 2013, **42**(16), 5682–5689. ISSN 1477-9234.
- [36] ÜSTÜNDAĞ, İ. et al. Electrochemical Detection of Cadmium and Lead in Rice on Manganese dioxide Reinforced Carboxylated Graphene Oxide Nanofilm. *MANAS Journal of Engineering*. 2018, **6**(2), 96–109. ISSN 1694-7398.
- [37] PRIYA, T. et al. A novel voltammetric sensor for the simultaneous detection of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> using graphene oxide/κ-carrageenan/L-cysteine nanocomposite. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2018, **182**, 199–206 [cit. 2019-03-04]. ISSN 1879-1344. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.017>

- [38] CHEN, W. et al. Synthesis and applications of graphene quantum dots: a review. *Nanotechnology Reviews* [online]. 2018, **7**(2), 157–185 [cit. 2019-03-05]. ISSN 2191-9089. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/ntrev-2017-0199>
- [39] MCCREERY, R. L. Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. *Chemical Reviews*. 2008, **108**(7), 2646–2687. ISSN 0009-2665.
- [40] FENG, L., N. XIE and J. ZHONG. Carbon Nanofibers and Their Composites: A Review of Synthesizing, Properties and Applications. *Materials*. 2014, **7**(5), 3919–3945. ISSN 1996-1944.
- [41] KLOUDA, P.. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- [42] ZOSKI, C. G. *Handbook of Electrochemistry*. Boston: Elsevier, c2007. ISBN 978-0-444-51958-0.
- [43] ÖTLEŞ, S. *Handbook of Food Analysis Instruments*. Boca Raton: CRC press, 2008. GULABOSKI, R. and C. M. PEREIRA. Chap. 17, Electroanalytical Techniques and Instrumentation in Food Analysis. ISBN 978-1-4200-4566-6.
- [44] SCHOLZ, F. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. *ChemTexts* [online]. 2015, **1**:17, 24 [cit. 2019-03-10]. ISSN 2199-3793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40828-015-0016-y>
- [45] BANSOD, B. K. et al. A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms. *Biosensors & Bioelectronics* [online]. 2017, **94**, 443–455 [cit. 2019-03-11]. ISSN 1873-4235. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.031>
- [46] KISSINGER, P. T. and W. R. HEINEMAN. Cyclic voltammetry. *Journal of Chemical Education*. 1983, **60**(9), 702–706. ISSN 0021-9584.
- [47] PIKNA, L., M. HEŽELOVÁ and Z. KOVÁČOVÁ. Optimization of simultaneous electrochemical determination of Cd(II), Pb(II), Cu(II) and Hg(II) at carbon nanotube-modified graphite electrodes. *Journal of Environmental Science and Health*. 2015, **50**(8), 874–881. ISSN 1532-4117.
- [48] WANG, J. *Analytical Electrochemistry*. Hoboken: Wiley, 2006, p. 67–114. Chap. 3, Controlled-Potential Techniques. ISBN 978-0-471-79030-3.



- [49] MIRCESKI, V., S. SKRZYPEK and L. STOJANOV. Square-wave voltammetry. *ChemTexts* [online]. 2018, **4:17**, 14 [cit. 2019-03-12]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40828-018-0073-0>
- [50] BARD, A. J. and L. R. FAULKNER. *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. 2. vyd. New York: Wiley, 2000. ISBN 978-0-471-04372-0.
- [51] WEI, Y. et al. SnO<sub>2</sub>/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*. 2012, **116**(1), 1034–1041. ISSN 1932-7447.
- [52] ALGHAMDI, A. H. Applications of stripping voltammetric techniques in food analysis. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2010, **3**, 7 [cit. 2019-03-14]. ISSN 1878-5352. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2009.12.001>
- [53] BARÓN-JAIMEZ, J., M. R. JOYA and J. BARBA-ORTEGA. Anodic stripping voltammetry - ASV for determination of heavy metals. *Journal of Physics: Conference Series* [online]. 2013, **466**(1), 4 [cit. 2019-03-15]. Dostupné z: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/466/1/012023/meta>
- [54] KONVALINKA, J. a K. VYTRÁS. Současné uplatnění (chrono)potenciometrické rozpuštěcí analýzy. *Chemické listy* [online]. 2001, **95**, 344–352 [cit. 2019-03-15]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/download/2409/2409/>
- [55] SAEI-DEHKORDI, S. and A. FALLAH. Determination of copper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. *Microchemical Journal*. 2011, **98**(1), 156–162. ISSN 0026-265X.
- [56] ESCARPA, A., M. C. GONZÁLEZ and M. Á. LÓPEZ. *Agricultural and Food Electroanalysis*. Chichester, UK: Wiley, 2015, p. 443–477. COLTRO, W. K. T., M. F. MORA and C. D. GARCIA. Chap. 16, Instrumental Aspects of Food Analysis by Electrochemical Methods. ISBN 978-1-118-68403-0.
- [57] YASRI, N. G. et al. Chronoamperometric determination of lead ions using PEDOT:PSS modified carbon electrodes. *Talanta*. 2011, **85**, 2528–2533. ISSN 1873-3573.

- [58] MELUCCI, D., M. LOCATELLI and C. LOCATELLI. Trace level voltammetric determination of heavy metals and total mercury in tea matrices (*Camellia sinensis*). *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2013, **62**, 901–907 [cit. 2019-03-17]. ISSN 0278-6915. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.10.029>
- [59] GONZÁLEZ-CALABUIG, A. et al. Simultaneous Voltammetric Determination of Heavy Metals by Use of Crown Ether-modified Electrodes and Chemometrics. *Electroanalysis*. 2016, **28**(4), 663–670. ISSN 1521-4109.
- [60] MACIEL, J. V. et al. Direct Determination of Zn, Cd, Pb and Cu in Wine by Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry. *Beverages* [online]. 2019, **5**(1), 6 [cit. 2019-03-18]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/beverages5010006>
- [61] STOZHKO, N. Y. and L. I. KOLYADINA. Electrochemical sample preparation for the voltammetric determination of heavy-metal ions in wine. *Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2005, **60**(10), 901–907 [cit. 2019-03-19]. ISSN 1061-9348. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10809-005-0207-6>
- [62] ČSN 56 0216. *Metody zkoušení réвовých vín, tokajských vín a vín sladových*. Praha: Úřad pro normalizaci a měření, 1963. Třídící znak 560216.
- [63] ELGRISHI, N. et al. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *Journal of Chemical Education*. 2018, **95**(2), 197–206. ISSN 0021-9584.
- [64] RATTANA, S. et al. Preparation and characterization of graphene oxide nanosheets. *Procedia Engineering*. 2012, **32**, 759–764. ISSN 1877-7058.
- [65] ZHANG, J. et al. Reduction of graphene oxide via L-ascorbic acid. *Chemical Communications*. 2010, **46**(7), 1112–1114. ISSN 1364-548X.
- [66] FOGDEN, S. et al. Purification of single walled carbon nanotubes: The problem with oxidation debris. *Chemical Physics Letters*. 2008, **460**(1), 162–167. ISSN 0009-2614.
- [67] WANG, S. et al. Simultaneously Detection of Pb<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup> Esing Electrochemically Reduced Graphene Oxide. *International Journal of Electrochemical Science* [online]. 2018, **13**, 785–796 [cit. 2019-04-05]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/322187794\\_Simultaneously\\_Detection\\_of\\_Pb2\\_and\\_Hg2\\_Using\\_Electrochemically\\_Reduced\\_Graphene\\_Oxide](https://www.researchgate.net/publication/322187794_Simultaneously_Detection_of_Pb2_and_Hg2_Using_Electrochemically_Reduced_Graphene_Oxide)

- [68] GUMPU, M. B. et al. Simultaneous electrochemical detection of Cd(II), Pb(II), As(III) and Hg(II) ions using ruthenium(II)-textured graphene oxide nanocomposite. *Talanta*. 2017, **162**, 574–582. ISSN 0039-9140.
- [69] DAHAGHIN, Z., H. Z. MOUSAVI and S. M. SAJJADI. A novel magnetic ion imprinted polymer as a selective magnetic solid phase for separation of trace lead(II) ions from agricultural products, and optimization using a Box–Behnken design. *Food Chemistry*. 2007, **237**, 275–281. ISSN 0308-8146.
- [70] SEBASTIAN, M. and B. MATHEW. Ion imprinting approach for the fabrication of an electrochemical sensor and sorbent for lead ions in real samples using modified multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Materials Science*. 2018, **53**(5), 3557–3572. ISSN 1573-4803.
- [71] LIU, G. et al. A highly-sensitive electrochemical sensor for the simultaneous detection of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> using liquid phase-exfoliated graphene. *Analytical Methods*. 2014, **6**(15), 5760–5765. ISSN 1759-9679.
- [72] SHANNON, R. D. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides. *Acta Crystallographica Section A*. 1976, **32**(5), 751–767. ISSN 0567-7394.
- [73] LOOCK, H.-P. and P. D. WENTZELL. Detection limits of chemical sensors: Applications and misapplications. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2012, **173**, 157–163. ISSN 0925-4005.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

|        |   |
|--------|---|
| AS SWV | Anodická rozpouštěcí square wave voltametrie          |
| CV     | Cyklická voltametrie                                  |
| EFSA   | Evropský úřad pro bezpečnost potravin                 |
| FAO    | Organizace pro výživu a zemědělství                   |
| FTIR   | Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací |
| GCE    | Elektroda ze skelného uhlíku                          |
| GO     | Grafen oxid   |
| GQDs   | Grafenové kvantové tečky                              |
| LOD    | Detekční limit  |
| MWNT   | Vícestěnné uhlíkové nanotrubičky                      |
| SWNT   | Jednostěnné uhlíkové nanotrubičky                     |
| SWV    | Square wave voltametrie                               |
| WHO    | Světová zdravotnická organizace                       |

## SEZNAM OBRÁZKŮ

|  |           |
|--|-----------|
| <i>Obr. 1: Upravené schéma syntézy iontově vtisknutých polymerů [17] .....</i>   | <i>18</i> |
| <i>Obr. 2: Struktura grafenu [26] .....</i>  | <i>20</i> |
| <i>Obr. 3: Schéma grafen oxidu [30].....</i>   | <i>22</i> |
| <i>Obr. 4: Upravené schéma elektrochemické detekce – adsorpce a desorpce Pb<sup>2+</sup> iontů [34].....</i>   | <i>23</i> |
| <i>Obr. 5: Schéma redukováného grafen oxidu [24] .....</i>   | <i>24</i> |
| <i>Obr. 6: Upravený potenciálový program CV při aplikovaném počátečním potenciálu E<sub>p</sub> a konečném potenciálu E<sub>k</sub> [46] .....</i>   | <i>28</i> |
| <i>Obr. 7: Cyklický voltamogram současné detekce iontů olova, kadmia, mědi a rtuti (molární koncentrace 5,66 × 10<sup>-6</sup> mol.l<sup>-1</sup>) za pomoci grafitových pracovních elektrod modifikovaných nanotrubicemi v 0,2 M (černá barva) a 1 M (šedá barva) acetátovém pufru [47] .....</i> | <i>28</i> |
| <i>Obr. 8: Upravený potenciálový program cyklické voltametrie s počátečním potenciálem E<sub>p</sub>, amplitudou ΔE<sub>p</sub> a potenciálovým skokem ΔE<sub>s</sub> [50] .....</i>   | <i>30</i> |
| <i>Obr. 9: Upravený voltamogram AS SWV současné detekce dvojmocných iontů olova, kadmia, mědi a rtuti se zvyšující se koncentrací od 0 do 1,3 μM za pomoci GCE pracovních elektrod modifikovaných SnO<sub>2</sub>/redukováným grafen oxidem v 0,1 M acetátovém pufru (pH 5) [51] .....</i>         | <i>30</i> |
| <i>Obr. 10: Potenciálový program a proudová odezva anodické rozpouštěcí voltametrie při současném stanovení iontů těžkých kovů kadmia a olova při aplikovaném depozičním potenciálu E<sub>dep</sub> a konečném potenciálu E<sub>stop</sub> [28].....</i>   | <i>32</i> |
| <i>Obr. 11: UV-VIS spektra nanostruktur GO a GO/Pb<sup>2+</sup> .....</i>  | <i>44</i> |
| <i>Obr. 12: FTIR spektra nanostruktur GO a GO/Pb<sup>2+</sup>.....</i>   | <i>44</i> |
| <i>Obr. 13: Důkaz přítomnosti Pb<sup>2+</sup> iontů v nanostruktuře GO/Pb<sup>2+</sup> připravené in situ při aplikované AS SWV (-0,8 až 0,2 V) v 0,04% HNO<sub>3</sub>.....</i>   | <i>46</i> |
| <i>Obr. 14: Ukázka poklesu rozpouštěcích píků Pb<sup>2+</sup> iontů původně přítomných v nanostruktuře GO/Pb<sup>2+</sup> připravené in situ za pomoci AS SWV v elektrolytu 0,04% HNO<sub>3</sub>.....</i>   | <i>46</i> |
| <i>Obr. 15: Graf závislosti rozpouštěcích píků Pb<sup>2+</sup> iontů na koncentraci těchto iontů v roztoku HNO<sub>3</sub> s KCl při aplikované elektrochemické redukci pomocí CV a chronoamperometrie (ChA) .....</i>   | <i>47</i> |
| <i>Obr. 16: Graf závislosti rozpouštěcích píků Pb<sup>2+</sup> iontů na koncentraci těchto iontů v roztoku HNO<sub>3</sub> s KCl při aplikované elektrochemické redukci v rozdílných elektrolytech.....</i>  | <i>48</i> |

|  |    |
|--|----|
| Obr. 17: Graf závislosti voltametrických rozpouštěcích piků $Pb^{2+}$ iontů na složení elektrolytu .....   | 49 |
| Obr. 18: Graf závislosti voltametrických rozpouštěcích piků $Pb^{2+}$ iontů na způsobu modifikace pracovních elektrod metodou <i>in situ</i> a <i>ex situ</i> .....  | 50 |
| Obr. 19: Graf závislosti voltametrických rozpouštěcích piků $Pb^{2+}$ iontů na depozičním čase při depozičním potenciálem $-1,2 V$ .....   | 51 |
| Obr. 20: Graf vlivu rozpouštěcích piků iontů těžkých kovů v koncentraci $20 mg.l^{-1}$ na hodnotě pH aplikované nanostruktury $GO/Pb^{2+}$ .....   | 53 |
| Obr. 21: Graf závislosti rozpouštěcích piků $Pb^{2+}$ iontů v přítomnosti $Cd^{2+}$ a $Cu^{2+}$ iontů v $0,04\% HNO_3$ s koncentrací iontů $20 mg.l^{-1}$ .....  | 54 |
| Obr. 22: Grafy znázorňující rozpouštěcí píky iontů těžkých kovů v $0,04\% HNO_3$ v přítomnosti: A) $Pb^{2+}$ a $Cd^{2+}$ iontů, B) $Pb^{2+}$ a $Cu^{2+}$ iontů a C) $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ a $Cu^{2+}$ iontů s koncentrací iontů $20 mg.l^{-1}$ ..... | 55 |
| Obr. 23: Voltamogramy současné detekce $Pb^{2+}$ , $Cd^{2+}$ a $Cu^{2+}$ iontů nanostruktur $GO$ a $GO/Pb^{2+}$ v $0,04\% HNO_3$ s koncentrací iontů $20 mg.l^{-1}$ .....  | 56 |
| Obr. 24: Procentuální graf adsorbovaných iontů těžkých kovů na nanostruktury $GO$ a $GO/Pb^{2+}$ .....   | 57 |
| Obr. 25: Graf kalibrační křivky nanostruktur $GO$ a $GO/Pb^{2+}$ naměřený v $0,04\% HNO_3$ ..  | 59 |
| Obr. 26: Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury $GO/Pb^{2+}$ naměřené v $0,04\% HNO_3$ .....   | 60 |
| Obr. 27: Graf kalibrační křivky nanostruktur $GO$ a $GO/Pb^{2+}$ naměřený ve vzorcích bílého vína .....  | 61 |
| Obr. 28: Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury $GO/Pb^{2+}$ naměřené ve vzorku bílého vína .....  | 62 |
| Obr. 29: Voltamogramy nanostruktur $GO$ a $GO/Pb^{2+}$ naměřené ve vzorcích bílého vína kontaminovaného $Pb^{2+}$ ionty o koncentraci $16,33 mg.l^{-1}$ .....  | 62 |
| Obr. 30: Graf kalibrační křivky nanostruktur $GO$ a $GO/Pb^{2+}$ naměřený ve vzorcích červeného vína .....   | 64 |
| Obr. 31: Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury $GO/Pb^{2+}$ naměřené ve vzorku červeného vína .....   | 64 |
| Obr. 32: Voltamogramy nanostruktur $GO$ a $GO/Pb^{2+}$ naměřené ve vzorcích červeného vína kontaminovaného $Pb^{2+}$ ionty o koncentraci $15,94 mg.l^{-1}$ .....   | 65 |

---

|  |    |
|--|----|
| <i>Obr. 33: Graf kalibrační křivky nanostruktur GO a GO/Pb<sup>2+</sup> naměřený ve vzorcích špenátu</i>   |    |
| .....  | 66 |
| <i>Obr. 34: Voltamogramy kalibrační křivky nanostruktury GO/Pb<sup>2+</sup> naměřené ve vzorku špenátu</i> |    |
| .....  | 67 |

**SEZNAM TABULEK**

|  |           |
|--|-----------|
| <i>Tab. 1: Zdroje kontaminace životního prostředí těžkými kovy [2] .....</i> | <i>14</i> |
| <i>Tab. 2: Průměrný obsah olova ve vybraných potravinách [7] .....</i>       | <i>15</i> |
| <i>Tab. 3: Toxicita jednotlivých těžkých kovů [2] .....</i>                  | <i>17</i> |
| <i>Tab. 4: Příprava nanostruktur .....</i>                                   | <i>41</i> |



## SEZNAM PŘÍLOH

*V této diplomové práci nejsou obsaženy žádné přílohy.*