

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

**Fakulta přírodovědecká
Katedra analytická chemie**

**VYUŽITÍ SÍTOTISKEM PŘIPRAVENÝCH
ELEKTROD MODIFIKOVANÝCH POMOCÍ
JISKROVÉHO VÝBOJE**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce:

Bc. Aneta Hloušková

Studijní obor:

Analytická chemie

Vedoucí diplomové práce:

Mgr. Vladimír Halouzka, Ph.D.

Konzultant:

Mgr. Daniel Riman

Olomouc 2016

Souhrn

Technologie sítotisku je dnes často používána pro výrobu jednorázových elektrochemických senzorů. Sítotiskem připravené elektrody jsou levné, nenáročné na výrobu a mají rychlé odezvy. V posledních desetiletích sítotisk významně pokročil. Elektrody mohou být mnohem propracovanější, různých tvarů a velikostí a mohou být natištěny na rozličné materiály. Sítotiskem připravené elektrody se dají modifikovat různými způsoby, a proto lze pomocí nich stanovovat širokou škálu látek. Diplomová práce je věnována využití uhlíkových sítotiskem připravených elektrod modifikovaných kovy pomocí jiskrového výboje. Jiskrový výboj je hojně používán v průmyslu při zpracovávání kovů, ale ve vědecké sféře je jeho použití zatím omezeno. V této práci jsou sítotiskem připravené elektrody modifikované kovy pomocí jiskrového výboje poprvé použity k neenzymatickému stanovení glukosy v krevním séru jako jedno z prvních využití takto modifikovaných elektrod. K modifikaci elektrochemických senzorů pro stanovení glukosy se používá řada kovů. V této práci jsou použity měď, nikl a jejich slitiny.

Summary

Screen-printed technology is often used for disposable electrochemical sensors manufactory. Screen-printed electrodes are low cost, easy to manufacture and they have fast responses. Over the past decades screen-printing has gone through significant improvements with their format and their printing materials. Screen-printed electrodes are modified in different ways and therefore they are suitable for determination of many substances. This master thesis deals with utilization of screen-printed carbon electrodes modified with metals by spark discharge. Sparking process is widely used in industry for the machining of difficult-to-machine metals, but it is highly restricted in scientific sectors. In this thesis for the first time the screen-printed electrodes modified with metals by spark discharge are utilized for non-enzymatic glucose determination in blood serum as one of the first utilization of these electrodes modified this way. For electrochemical glucose sensors modification is used lots of metals. In this thesis copper, nickel and their alloys are used.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou v seznamu použité literatury.

Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

.....

Poděkování

Děkuji svému vedoucímu Mgr. Vladimíru Halouzkovi, Ph.D. za odborné vedení při práci a pomoc poskytnutou při vypracovávání mé diplomové práce. Dále děkuji Dr. M. I. Prodromidovi a Mgr. Danielu Rimanovi za rady při experimentech v laboratoři. Také bych chtěla poděkovat Dr. A. E. Karantzalimu za snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu a elektronově disperzní spektroskopie.

Obsah

1	Úvod	1
2	Teoretická část	2
2.1	Pracovní elektrody	2
2.1.1	Chemicky modifikované elektrody	2
2.1.2	Mikroelektrody	3
2.1.3	Rtuťové elektrody	3
2.1.4	Pevné elektrody	3
2.2	Sítotiskem připravené elektrody a jejich aplikace	7
2.2.1	SPE na bázi kovů	7
2.2.2	SPE na bázi uhlíku	7
2.2.3	SPCE modifikované filmem	8
2.2.4	SPCE modifikované kovovými nanočásticemi	10
2.2.5	Jinak modifikované SPCE	11
2.3	SPCE modifikované pomocí jiskrového výboje	11
2.3.1	Princip jiskrového výboje	12
2.3.2	Vlivy na tvorbu částic	12
2.3.3	Využití jiskrového výboje	13
2.4	Neenzymatické elektrochemické senzory pro stanovení glukosy	14
2.4.1	Modifikace kovy	15
3	Experimentální část	22
3.1	Přístrojové vybavení	22
3.2	Chemikálie	22
3.3	Příprava slitin	22
3.4	Průběh ojiskření SPCE	23
3.5	Amperometrické a voltametrické experimenty	24
4	Výsledky a diskuze	24
4.1	Volba úpravy SPCE	24
4.2	Charakterizace CuNi 50/50-SPCE metodami SEM, EDS, XPS	28
4.3	Polarita ojiskření, počet ojiskření	30
4.4	Koncentrace elektrolytu NaOH a volba pracovního potenciálu	31
4.5	Kinetika redoxního páru $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$	32

4.6	Analytické vlastnosti SPCE ojískřené slitinou CuNi 50/50.....	34
4.7	Interference.....	36
4.8	Stanovení glukosy ve vzorku krevního séra.....	37
5	Závěr.....	40
6	Seznam použitých zkratek.....	41
7	Literatura	43

1 Úvod

Technologie sítotisku je dnes široce používána pro výrobu elektrochemických senzorů. Sítotiskem připravené elektrody (Screen-printed electrodes, SPE) jsou levné a relativně nenáročné na výrobu, mají rychlé odezvy a jsou úspěšně využívány při *in situ* analýzách. Pomocí SPE lze stanovovat organické sloučeniny, těžké kovy a např. plyny, které znečišťují ovzduší. Sítotisk v posledních desetiletích doznal značného pokroku. Elektrody mohou být mnohem propracovanější, různých tvarů a velikostí a mohou být natištěny na rozličné materiály. Umožňují pracovat s velmi malými objemy vzorků (v řádech μl). SPE jsou vyráběny tiskem ze speciálních inkoustů, uhlíkových i např. kovových. Dají se modifikovat nanesením filmu modifikátoru na SPE, elektrodepozicí kovových nanočástic na povrch SPE nebo modifikací kovy za využití jiskrového výboje.

Předkládaná diplomová práce je věnována využití uhlíkových SPE modifikovaných kovy pomocí jiskrového výboje. K modifikaci elektrod byly použity měď a nikl a jejich tři slitiny o různém hmotnostním poměru. Kovy modifikované SPE byly použity ke stanovení glukosy.

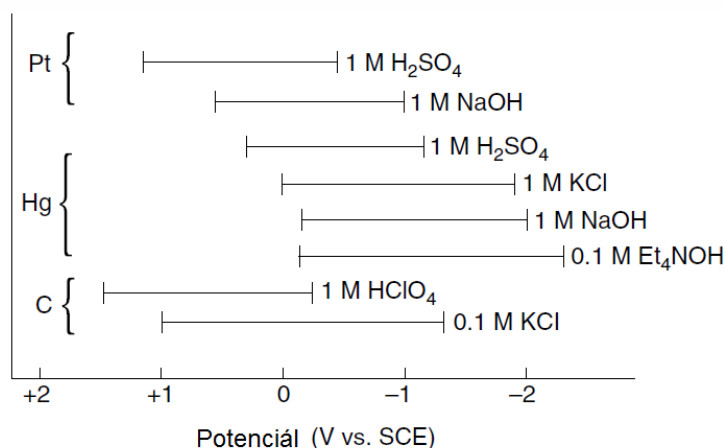
Teoretická část práce je věnována pracovním elektrodám připravených sítotiskem a možnostem jejich modifikací. Samostatná část je věnována modifikaci SPE jiskrovým výbojem a stanovením glukosy elektrochemickými neenzymatickými metodami.

Ve výsledcích a diskuzi je osvětlena volba úpravy SPE. SPE modifikovaná slitinou mědi a niklu v hmotnostním poměru 50/50 je charakterizována skenovací elektronovou mikroskopií (SEM), elektronově disperzní spektroskopií (EDS) a rentgenovou fotoelektronovou spektroskopií (XPS). Dále jsou zkoumány optimální podmínky modifikace elektrod pro stanovení glukosy.

2 Teoretická část

2.1 Pracovní elektrody

Výběr pracovní elektrody ovlivňuje průběh voltametrických experimentů a měření. Pracovní elektrodu volíme v závislosti na redoxním chování analytu a na proudu pozadí v potenciálové oblasti, která je vyžadována pro měření. Záleží i na dalších faktorech, jako je potenciálové okno elektrody (Obr. 1), mechanické vlastnosti elektrody, cena nebo toxicita. Pracovní elektroda by měla mít vysoký poměr signálu k šumu a reprodukovatelné odezvy. V elektroanalýze je jako pracovní elektroda používána řada materiálů. Mezi nejčastěji používané patří rtuť, uhlík nebo ušlechtilé kovy jako platina a zlato.¹ Pracovní elektrody se dají chemicky modifikovat.



Obr. 1: Potenciálová okna platinové, rtuťové a uhlíkové elektrody v různých podpůrných elektrolytech¹

2.1.1 Chemicky modifikované elektrody

Chemicky modifikované elektrody (CME) mají na svém povrchu navázané činidlo neboli modifikátor, díky němuž dosahují požadovaných vlastností. Díky chemické modifikaci můžeme zvýšit vodivost povrchu elektrody nebo na jejím povrchu vytvořit selektivně propustnou membránu. Elektrody mohou být modifikovány polymerními filmy. Polymerní filmy jsou na elektrodách imobilizovány různými technikami. Například na povrch elektrody můžeme kápnout roztok obsahující rozpuštěný polymer a nechat rozpouštědlo odpařit. Další

metodou je elektropolymerace. Jiné metody modifikace jsou např. pomocí kovalentního připojení, fyzické adsorpce nebo spontánní chemisorpce.¹

2.1.2 Mikroelektrody

Jako mikroelektrody jsou označovány elektrody, které mají aspoň jeden rozměr menší než 25 μm . Dnes jsou v analytické chemii velmi moderní, protože nabízí nové možnosti, mohou být použity při měření lokálních koncentračních profilů nebo pro detekci v mikroprůtokových systémech. Umožňují analyzovat velmi malé objemy vzorku (v řádech μl). *In vivo* monitoring umožňuje kontrolovat neurotransmitterovou činnost, jako např. stimulované uvolňování dopaminu². Mikroelektrody se také dají použít pro *in vivo* detekci oxidu dusnatého.³

2.1.3 Rtuťové elektrody

Rtuť je žádaný materiál díky svému vysokému vodíkovému přepětí a velkému katodickému potenciálovému oknu. Rtuťové elektrody mají vysokou reprodukovatelnost, jsou snadno obnovitelné a mají hladký povrch. Nevýhodami rtuťových elektrod je malý anodický rozsah kvůli oxidaci rtuti a jejich toxicita.

Rtuťové elektrody se používají v několika typech. V polarografii se používá kapající rtuťová elektroda (DME). Visící kapková rtuťová elektroda (HMDE) se využívá v rozpouštěcí a cyklické voltametii. Filmová rtuťová elektroda (MFE) se také používá v rozpouštěcí voltametii i v průtokové amperometrii. Existují i pevné amalgamové elektrody. Pro měření v anodické oblasti jsou vhodné pevné elektrody.¹

2.1.4 Pevné elektrody

Mezi materiály pevných elektrod, které mohou být použity jako pracovní elektrody, řadíme uhlík, platinu a zlato. V speciálních případech mohou být také použity např. stříbro, nikl a měď, ale i řada jiných. U pevných elektrod odezva zásadně závisí na stavu povrchu elektrody. Reprodukovatelnost povrchu se zajišťuje čištěním a leštěním elektrody. Mechanické leštění a cyklování v konstantním potenciálovém okně se používají hlavně pro kovové elektrody. Pro reprodukovatelnost povrchu uhlíkových elektrod se navíc používají různé chemické, elektrochemické nebo tepelné postupy. Pevné elektrody mají nehomogenní

povrch, což vede k odchylkám v chování, které je očekáváno od elektrod s homogenním povrchem.

Pevné elektrody mohou být stacionární nebo rotující, obvykle planární ve tvaru disku. Tyto elektrody se skládají z aktivní plochy elektrody a izolačního materiálu. Elektrický kontakt leží obvykle na zadní straně. Pevné elektrody se používají v průtokové analýze (FIA) ve spojení s „thin-layer“ nebo „wall-jet“ detektory.¹

2.1.4.1 Kovové elektrody

Z ušlechtilých kovů se nejčastěji používají jako pracovní elektrody zlato a platina. Tyto elektrody mají velmi dobrou kinetiku přenosu náboje a také velký anodický potenciálový rozsah. Vysoké proudy pozadí jsou způsobeny tvorbou oxidů na povrchu elektrody nebo adsorbovanou vrstvou vodíku. Takové filmy mohou podstatně změnit kinetiku elektrodové reakce, což vede k nereprodukovatelným datům. Elektrody jsou opětovně aktivovány např. pomocí pulzních potenciálových programů. V nevodných mediích se na povrchu elektrody často vrstva neutváří. Zlaté elektrody jsou oproti platinovým více inertní, a proto méně náchylné k utváření stabilních filmů oxidů nebo k jiné kontaminaci povrchu. Zlaté elektrody se používají pro měření stopových množství kovů.¹

Jiné kovy jako měď nebo nikl se mohou používat pro detekci aminokyselin nebo karbohydrátů v alkalickém prostředí. Stříbro lze využít pro detekci kyanidů nebo sloučenin síry.¹ Elektrody s bismutovým filmem se dají použít namísto rtuťových filmů pro rozpouštěcí voltametrii stopových množství kovů.⁴ Také známe elektrody, které jsou tvořeny slitinami jako např. platina-ruthenium, nikl-titan.¹

2.1.4.2 Uhlíkové elektrody

Uhlíkové elektrody mají široké potenciálové okno a nízký proud pozadí a často nízkou cenu. Jsou chemicky a elektrochemicky stabilní a vhodné pro detekci široké škály látek. Rychlost přenosu náboje na uhlíkových površích je však pomalejší oproti kovovým elektrodám. Proto jsou elektrody různými způsoby upravovány. Účinnost elektrody také ovlivňuje typ uhlíkového materiálu. Velmi používanými materiály jsou skelný uhlík, uhlíkové pasty, uhlíková vlákna, sítotiskem připravené uhlíkové elektrody, uhlíkové filmy a další uhlíkové materiály jako grafitový epoxid nebo voskem impregnovaný grafit.

Elektrody ze skelného uhlíku

Skelný uhlík (GC) má prakticky nepórovitý povrch, což je jeho velkou výhodou. Materiál elektrod je vyráběn při pečlivě kontrolovaném zahřívání polyakrylonitrilu nebo fenolformaldehydové pryskyřice v inertní atmosféře^{5,6}. Proces karbonizace probíhá velmi pomalu při 300 – 1200 °C, aby byl eliminován kyslík, dusík a vodík. Struktura GC je tvořena tenkými zapletenými vlákénky, do kříže spojenými s uhlíkovými lístky. Elektrody ze skelného uhlíku (GCE) nevyžadují žádnou impregnaci díky jejich vysoké hustotě a malé velikosti pórů. Je však používána povrchová úprava k zajištění aktivního a reprodukovatelného povrchu, která zahrnuje leštění povrchu do zrcadlového lesku pomocí malých částeczek oxidu hlinitého. Poté je elektroda opláchnuta. GCE může být aktivována také elektrochemicky, chemicky, teplotou nebo laserem. Tyto aktivační postupy odstraňují povrchové nečistoty a mohou zvýšit hustotu kyslíkových skupin na povrchu elektrody, což zlepšuje přenos náboje. GCE jsou často používány jako matrice pro CME.¹ Podobný, ale vysoce porézní skelný uhlík, síťkovaný skelný uhlík (RVC), se používá ve FIA analýze a spektroeлектроchemii⁷.

Uhlíkové pastové elektrody

Uhlíkové pastové elektrody (CPE) jsou složeny z grafitového prášku smíchaného s vhodným pojivem, kterým je s vodou nemísitelná elektricky nevodivá organická kapalina (tzv. pastová kapalina). Jako pastové kapaliny se používají např. Nujol (minerální olej), parafinový olej, silikonový olej a bromnaftalen. Složení pasty silně ovlivňuje reaktivitu elektrody. Uhlíkové pasty jsou vhodnou matricí pro začlenění vhodných modifikujících skupin⁸. Modifikátor je jednoduše smíchan s grafitovou pastou. Nevýhodou uhlíkových past je tendence organického pojiva rozpouštět se v roztocích obsahujících z velké části organické rozpouštědlo, nereprodukovatelnost povrchu, nebo jen obtížná reprodukce.¹

Elektrody z uhlíkového vlákna

Uhlíková vlákna (CF) mohou být vyrobena z různých materiálů, jako je např. umělé hedvábí, polyakrylonitril a lignin. Dalšími způsoby výroby CF mohou být nanesení uhlovodíků v plynné fázi, pyrolýza polymerních textilií při vysoké teplotě nebo katalytické napařování. Nanometrová uhlíková vlákna mohou být připravena leptáním vlákna v plameni nebo pod iontovým paprskem^{1,9}. CF se vyrábějí v různé šířce. Výhoda uhlíkových vláknových

mikroelektrod je jejich malá velikost (asi 1 – 40 μm)⁵, což umožňuje sledování neurochemických pochodů *in vivo*¹⁰. V elektrochemii se nejvíce používají širší vlákénka kvůli jejich dobře uspořádané grafitové struktuře a nízké porositě. Většina elektroanalytických aplikací používá vlákénka široká 5 – 20 μm . Tato vlákénka jsou připevněna epoxidovým lepidlem na vodič, který je chráněn nevodivým materiálem. Pro zlepšení přenosu náboje se používá elektrodová úprava. Na CFE jsou malé proudy, což umožňuje práci v málo vodivých prostředích, např. v benzenu, toluenu, plynech atd. CFE se mohou používat k detekci, k měření místních koncentračních profilů, k měření v mikrolitrových objemech a v mikroprůtokových systémech. Použití CFE v elektroanalytických aplikacích shrnul ve své práci Edmonds¹¹.

Diamantové elektrody

Borem dopovaný diamant (BDD) se vyrábí metodou chemické depozice par směsi vodíku a methanu. Do směsí plynů je poté přidáván diboran. BDD má elektrické vlastnosti jako polovodič. Jeho potenciálové okno je široké téměř 3 V. Má stabilní a nízký proud pozadí, mnohem nižší než u GCE. Projevuje se zde jen nepatrná adsorpce organických sloučenin. BDD má také nízkou citlivost k rozpuštěnému kyslíku a extrémní tvrdost. Diamantové elektrody tedy umožňují práci při extrémních podmínkách, např. při velmi vysokých anodických potenciálech, v mediích s vysokým obsahem povrchově aktivních látek nebo polarizace v kyselých mediích.¹ Využití nachází např. při průtokové detekci chlorfenolů¹² nebo v přímé detekci cytochromu C¹³.

Sítotiskem připravené elektrody

Sítotiskem připravené elektrody (SPE) jsou připravovány např. z uhlíku nebo zlata. Jsou natištěny jako jednorázové proužky na plastových, keramických, skleněných nebo křemíkových substrátech. Jako předloha pro tištění elektrod se obvykle používají šablony z polyesterového plátna. K tištění elektrod jsou používány inkousty o různém složení. Složení inkoustu určuje selektivitu a citlivost pro každou analýzu. Do inkoustů mohou být přidávány kovy, enzymy, polymery, komplexní sloučeniny apod. Jiný způsob modifikace SPE je nanosení kovových filmů, polymerů, enzymů atd.¹⁴

2.2 Sítotiskem připravené elektrody a jejich aplikace

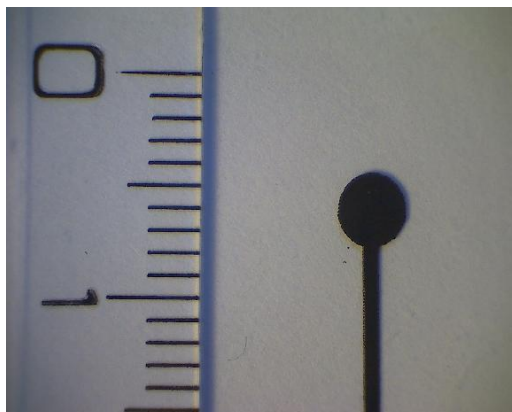
SPE jsou velmi levné elektrody, které mají vysokou reprodukovatelnost a jsou spolehlivými senzory. Mohou být použity pro elektrochemickou detekci široké škály látek. SPE mohou být na bázi kovového inkoustu (SPME) nebo na bázi uhlíkového inkoustu (SPCE).

2.2.1 SPE na bázi kovů

SPME se připravují přimícháváním různých kovů do inkoustů k tisknutí elektrod. Používá se např. zlato a stříbro. Tyto elektrody potom slouží ke stanovení různých prvků. Například v práci Laschiho a kol.¹⁵ byly stanovovány kovy Pb, Cu, Hg a Cd na zlatých SPE pomocí anodické rozpouštěcí voltametrie se superponovaným pravoúhlým napětím (SWASV). Limit detekce (LOD) pro Pb byl 0,5 µg/l. Tato metoda byla také použita v práci Noha a kol.¹⁶ pro stanovení Pb v odpadních vodách a půdních extraktech ze znečištěných míst. Zlatý inkoust byl nanesen na povrch elektrody jako tenký film. Pro srovnání byly použity elektroda se rtuťovým filmem a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Zen a kol.¹⁷ využili stříbrné SPE bez chemické modifikace jako senzor pro Pb²⁺ ve vodách pomocí SWASV bez vypuzení kyslíku s LOD 0,46 ppb.

2.2.2 SPE na bázi uhlíku

Použitím nemodifikovaných SPCE (Obr. 2) jako elektrochemických senzorů se zabývá jen pár prací. Využívají se např. pro stanovení stopového množství těžkých kovů v biologických, přírodních a průmyslových vzorcích¹⁸. Grafitový materiál je preferován kvůli jeho jednoduchému zpracování a nízké ceně. Krejčí a kol.¹⁹ ve své práci porovnávali různé grafitové pasty pro detekci peroxidu vodíku. Nejlepší LOD byl získán 2,28 µmol/l. Výsledky byly porovnávány s platinovou elektrodou. Bergamini a kol.²⁰ použili SPCE jako amperometrický detektor pro stanovení prokainu pomocí FIA. Výsledky se shodovaly s deklarovanou hodnotou farmaceutického přípravku a s porovnávací spektrofotometrickou metodou. Také se zabývali stanovením aurothiomalátu v lidské moči, který se používá k léčbě revmatoidní artritidy²¹. V moči byl na SPCE stanovován kreatinin pomocí voltametrie se superponovaným pravoúhlým napětím (SWV). Stanovení kreatininu je důležité pro zjištění ledvinové, svalové dysfunkce nebo dysfunkce štítné žlázy²².



Obr. 2: SPCE elektroda

Vasjari a kol.²³ zjišťovali chování SPCE k cysteinu a tyrosinu v komerčních farmaceutických vzorcích pomocí lineární voltametrie. Dosáhli nižšího oxidačního potenciálu v porovnání a tradičními uhlíkovými nebo platinovými elektrodami. SPCE byly použity pro stanovení *chlorofylu a* cyklickou voltametrií (CV), kdy se *chlorofyl a* adsorboval na povrch SPCE. Tato metoda byla aplikována při stanovení *chlorofylu a* ve výkalech dojných krav²⁴.

SPCE se dále používají pro stanovení kovů. Honeychurch a kol.²⁵ stanovovali pomocí chemicky nemodifikovaných SPCE olovo v rybníkové vodě diferenčně pulzní anodickou rozpouštěcí voltametrií (DPASV). Bylo dosaženo LOD 2,5 ng/ml. Pomocí DPASV bylo také stanoveno stopové množství Cu^{2+} ve vodě a v hovězím séru. LOD byl 8,2 ng/ml²⁶. Ag^+ byly stanoveny ve fotografických roztocích pomocí SWASV v nízkých koncentracích a ve vysokých koncentracích pomocí chronoamperometrie. V obou metodách byly měřeny komplexy thiokyanátu stříbrno-amonného, které se adsorbovaly na elektrodový povrch²⁷.

2.2.3 SPCE modifikované filmem

2.2.3.1 Hg film

SPCE mohou být modifikovány tenkým rtuťovým filmem, což umožňuje elektrochemickou prekoncentraci těžkých kovů. Takto modifikované elektrody použil ve své práci Wang²⁸ ke stanovení Pb v ppb měřítku v moči a ve vodě pomocí rozpouštěcí voltametrie a potenciometrických měření. Později provedl souběžnou detekci Cd, Pb a Cu také v ppb měřítku. Výsledky se shodovaly s hodnotami, které byly naměřeny na GCE a na HMDE²⁹.

Desmond a kol. stanovovali kovy Pb^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} a Cd^{2+} , které byly naakumulovány na rtuťový film^{30,31}.

Abychom se vyhnuli manipulaci, transportu a likvidaci toxických roztoků Hg^{2+} , mohou být rtuťi pokryté SPE připraveny předem. Taková metoda byla použita pro stanovení Pb^{2+} , Cd^{2+} a Cu^{2+} pomocí SWASV bez deoxygenace. Bylo dosaženo LOD 0,3 $\mu\text{g/l}$ pro Pb, 1 $\mu\text{g/l}$ pro Cd a 0,5 $\mu\text{g/l}$ pro Cu (cit.³²).

Pro detekci kovů se také prokázala jako vhodná technika modifikace SPCE s Hg filmem pomocí membrán, do kterých byly inkorporovány crown ethery. Tyto elektrody byly schopny současně a s dobrou reprodukovatelností detekovat Pb^{2+} a Cd^{2+} v $\mu\text{g/l}$ při různém pH. Byla použita lineární skenovací anodická rozpouštěcí voltametrie (LSASV)³³. V práci Choia a kol.³⁴ byla SPCE připravena z uhlíkového inkoustu, který byl složen z fenolové pryskyřice, obsahující jemné částičky oxidu rtuťi jako prekurzor. Částičky oxidu rtuťi na povrchu elektrody byly zmenšeny na jemné kapičky, které poté na sebe nachytávaly těžké kovy v anodické rozpouštěcí analýze.

Jelikož je však rtuť toxická, jsou předmětem zkoumání další kovy pro modifikaci SPCE.

2.2.3.2 Bi film

Bismut má schopnost vytvářet s těžkými kovy tavené slitiny. SPCE s Bi filmem byly použity ke stanovení Pb^{2+} v přítomnosti interferentů jako je měď³⁵. Byly také současně detekovány Pb^{2+} a Cd^{2+} pomocí stripping chronopotenciometrie. Cd^{2+} bylo stanoveno s LOD 8 ppb a Pb^{2+} s 10 ppb. Depoziční čas byl 120 s. Metoda byla použita pro stanovení těchto kovů v půdním extraktu a v odpadních vodách. Jako porovnávací metody sloužily elektroda se rtuťovým filmem a ICP-MS³⁶.

SPCE s Bi filmem byly také stanovovány Co a Cd v půdních extraktech pomocí anodické rozpouštěcí (ASV) a katodické adsorpční rozpouštěcí voltametrie (CAdSV). SCPE s Bi filmem připravené *in situ* byly použity k ASV stanovení Cd a stejné elektrody připravené *ex situ* byly použity k CAdSV stanovení Co s dimethylgyoximem jako komplexním činidlem³⁷.

2.2.3.3 Au film

Wang stanovoval na SPCE s Au filmem stopové množství Pb potenciometrickou rozpouštěcí analýzou v moči a pitné vodě³⁸. Na stejné elektrodě také stanovil rtuť³⁹. Oba prvky vykazovaly vysoce reprodukovatelné odezvy. Masawat a kol.⁴⁰ stanovovali Pb v pitné vodě. SPCE s tenkým Au filmem byly použity pro vysoce citlivá potenciometrická rozpouštěcí měření stopového množství Hg. Také alkylovaná rtuť a selen byly měřeny ve stopovém měřítku³⁹.

2.2.3.4 Ni film

SPCE elektrody modifikované Ni filmem byly použity pro stanovení organických materiálů. Slater a kol.⁴¹ provedli srovnávací studii na SPCE s Ni filmem a SPCE s Hg filmem. Stanovován byl 2-furaldehyd. Lepší pro stanovení furalových derivátů se prokázaly SPCE s Hg filmem.

2.2.4 SPCE modifikované kovovými nanočásticemi

Elektrochemickými metodami se dají připravovat kovové nanočástice. Kombinací elektrodepozice a sítotiskem je umožněna výroba elektrochemických senzorů, které mají rozmanité katalytické aktivity. Přímá konstrukce Au a Pt nanočástic pomocí elektrodového procesu na SPCE byla provedena Chikaem a kol.⁴² a použita pro stanovení H₂O₂.

Zlaté nanočástice stabilizované poly(L-laktid)em byly použity k modifikaci SPCE pro detekci As³⁺ pomocí DPASV na ppb úrovni. Tato metoda se dala použít pro stanovení As³⁺ ve vodě⁴³. Na stejně připravené elektrodě bylo provedeno nepřímé elektrochemické stanovení sulfidu měřením potlačeného oxidačního proudu As³⁺.

Dominguez a kol.⁴⁴ použili rychlou metodu zakomponování Ag nanočástic na povrch SPCE. Metoda je založena na přímé elektrodepozici těchto nanočástic. Elektrody byly použity pro analýzu významného polutantu Sb³⁺. Elektrody také pomocí DPASV umožňují analýzu Sb, která nezatěžuje životní prostředí, s vysokou citlivostí a selektivitou. Navíc elektrochemická odezva v DPASV není ovlivněna běžnými interferenty jako je Bi. Antimon byl stanovován v mořské vodě a farmaceutických přípravcích.

2.2.5 Jinak modifikované SPCE

V práci Wang a kol.⁴⁵ byly použity SPCE ke stanovení uranu v komplexu uran-kupferon pomocí adsorpční stripping potenciometrie. Uran-kupferon se naakumuloval na SPCE pokrytou rtuťí. Metoda byla použita ke kvantifikaci uranu v podzemních vodách. Neuhold a kol.⁴⁶ ve své práci používali elektrodu, která byla připravena přimícháním katexové pryskyřice do uhlíkového inkoustu ke stanovení Cu^{2+} . LOD byly 0,5 $\mu\text{mol/l}$. Cu^{2+} ionty byly stanoveny v pitných vodách.

Pomocí modifikovaných SPCE mohou být stanoveny kromě kovů také jiné molekuly. Hydraziny byly stanoveny zakomponováním ftalokyninu kobaltu do uhlíkového inkoustu nebo pokrytím elektrodového povrchu kyanidem ruthenia⁴⁷. Kyselina askorbová a peroxid vodíku byly analyzovány SPCE, které byly elektrochemicky modifikovány elektrodepozicí hexakvanoželeznatanu nikelnatého pomocí CV. Kyselina askorbová byla stanovena v multivitaminových tabletkách⁴⁸. Peroxid vodíku byl stanovován amperometricky pomocí SPCE modifikované filmem MnO_2 FIA analýzou. Metoda byla použita na stanovení H_2O_2 v dešťové vodě a při jednoduché kvantifikaci glukosy v lidské plazmě⁴⁹.

Zajímavou aplikací SPCE je selektivní detekce sulfidu pomocí FIA v cigaretovém kouři pomocí elektrody modifikované porézní tetrakyanonikelnatou solí⁵⁰. SPE mohou být modifikovány také enzymy ke stanovení pesticidů, herbicidů a těžkých kovů v přírodě. Takto modifikované elektrody se používají i ke stanovení cholesterolu, glukosy, superoxidu, peroxidu vodíku, ethanolu a fenolických sloučenin³⁷.

2.3 SPCE modifikované pomocí jiskrového výboje

Vysoce účinného způsobu modifikace SPCE můžeme docílit pomocí jiskrového výboje. Jiskrový výboj je krátkodobý výboj za normálního atmosférického tlaku, který vzniká při vysokém napětí při přiblížení dvou vodičů. Je provázen světelnými i zvukovými efekty. Elektrický výboj vzniká, když elektrické pole překročí sílu dielektrického pole daného plynu (vzduchu). Vzduch má dielektrickou pevnost asi 3,6 kV/m^{51} . Při průchodu elektrického proudu plynem jsou molekuly vzduchu mezi elektrodami ionizovány. Z těchto ionizovaných molekul a z materiálu elektrody vznikají díky dielektrickému průrazu volné elektrony a ionty.

2.3.1 Princip jiskrového výboje

Jiskrový výboj je iniciován plynovým průrazem a vytvořením plasmového kanálku, který poté teplotně expanduje a vzniká rázová vlna. Nakonec se nosiče náboje přeskupí, plasma chladne a rázová vlna je zmírněna na zvukovou vlnu. Rychlý výboj je možný díky proudu spolu s vysokou teplotou. Elektrodový materiál je vypařen v okolí jiskry. Dále následuje rychlé chlazení zprvu řízené adiabatickou expanzí a zářením, a poté, jakmile se teplota dostane pod teplotu vypařování, řízené tepelnou vodivostí. Chladicí perioda je pod teplotou varu relativně rychlá a tvoří se vysoká koncentrace velmi malých částic. Vyšší intenzita jiskrového výboje znamená větší množství částic. Jiskrový výboj může být aplikován na jakýkoliv vodivý materiál, včetně polovodičů.⁵²

Proces ojiskřování probíhá mezi plochou pracovní elektrody a špičkou pomocné elektrody. Elektrody jsou připojeny k opačným pólům zdroje vysokého napětí. V počáteční fázi ojiskřování tečou elektrony z elektrody připojené k zápornému pólu k elektrodě připojené ke kladnému pólu. Teplo, které vzniklo tokem elektřiny, vede ke vzniku vzduchového plazmatu a vypaření nanočástic z obou elektrodových materiálů. Tyto nanočástice poté ulpívají vzájemně na protější elektrodě, což umožňuje vznik libovolných směsí materiálů v nanoměřítku. Množství vypařených nanočástic jednoho nebo druhého elektrodového materiálu závisí na polaritě ojiskřování, tzn. jestli je pracovní elektroda připojena ke kladnému nebo k zápornému pólu zdroje napětí. Eroze katody je intenzivnější než anody, protože kladné ionty mají větší hmotu a přenáší více energie k druhé elektrodě než elektrony. Velikost částic je ovlivňována energií použitou při ojiskřování. Taková syntéza nanočástic je výhodná díky vysoké čistotě vzniklých nanočástic a k jejich přípravě není nutnost použít žádné roztoky.

2.3.2 Vlivy na tvorbu částic

Tvorbu částic ovlivňují např. tlak plynu, ve kterém vzniká jiskra, vzdálenost mezi elektrodami, ojiskřovací repetitivní frekvence a kapacitance. Energie jiskry je přímo úměrná kapacitanci, nárůst kapacitance způsobuje silnější jiskru, a tím i vypaření většího množství částic. Také materiál elektrody má vliv na to, jak se částice tvoří. Při metodě jiskrového výboje může být použita řada materiálů. Jiskra zasáhne elektrodu a elektrická energie je přetvořena na tepelnou energii, která způsobí lokální vypaření elektrodového materiálu

podobně jako při vypaření laserem. Tvoření částic je tedy ovlivněno teplenými vlastnostmi elektrodového materiálu, jako je teplota varu a výparná entalpie. Wolfram, který má nejvyšší výparnou entalpii, je pro ojiskřování nejrezistentnějším materiálem. Antimon a hořčík, u kterých je výparná entalpie nejnižší, se při ojiskřování naopak nejvíce odpařují.⁵² Množství odpařených částic z elektrody je vztahováno k fyzikálním vlastnostem elektrodového materiálu rovnicí 1:

$$m = \frac{\frac{1}{2} c_e V^2 - b T_b^4 - g k (T_b - T)}{c_{ps} (T_m - T) + \Delta H_m + c_{pl} (T_b - T_m) + \Delta H_v} \quad (1)$$

První člen rovnice představuje účinnou energii jiskry s kapacitou prostředí c_e (F) a průrazovým napětím V (V). Druhý člen rovnice ukazuje ztrátu tepla z ojiskřovací špičky zářením. T_b (K) je teplota varu, $b = A\sigma t$ (J/K^4), kde σ je Stefan-Boltzmanova konstanta (pro absolutně černé těleso $5,67 \cdot 10^{-8} J/s \cdot m^2 \cdot K^4$). Třetí člen označuje přenos tepla z ojiskřovací špičky, k ($W/m \cdot K$) je tepelná vodivost a $g = 2(\pi A)^{0,5} t$ (ms), pokud $(r^2/Kt)^{0,5} \ll 1$, kde K je tepelná difuzivita (m^2/s) a r je poloměr (m) odpovídající A . T (K) je okolní teplota. První a druhý člen ve jmenovateli představuje energii vyžadovanou k zahřátí elektrodového materiálu na teplotu tání T_m (K), c_{ps} ($J/g \cdot K$) je tepelná kapacita kovu v pevné fázi, ΔH_m (J/g) je entalpie tání. Třetí člen ve jmenovateli je energie potřebná k zahřátí kapaliny na teplotu varu, c_{pl} ($J/g \cdot K$) je tepelná kapacita kovu v kapalně fázi, ΔH_v (J/g) je výparná entalpie. Konstanty c_e , b a g nezávisí na elektrodovém materiálu.⁵²

Tepelná vodivost kovu je spolu teplotou varu a výparnou entalpií rozhodujícím parametrem pro to, jak dobře se bude kov ojiskřovat. Čím má kov hodnotu tepelné vodivosti větší, tím hůře se ojiskřuje, protože rychle ztrácí tepelnou energii, a tedy málo atomů tohoto kovu se vypaří a přejde na druhou elektrodu.⁵³

2.3.3 Využití jiskrového výboje

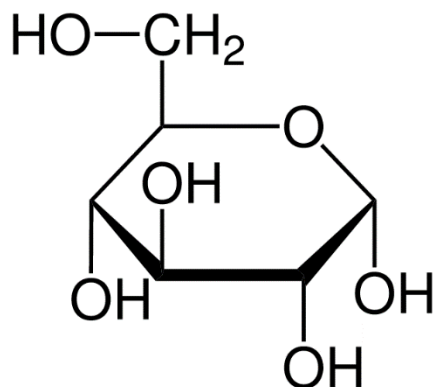
Ojiskřovací proces je hojně používán v průmyslu pro zpracování těžko zpracovatelných kovů⁵⁴, ale jeho použití ve vědeckých oblastech je zatím značně omezeno. V literatuře najdeme pouze pár případů, kde je ojiskřovací proces aplikován. Příkladem může být příprava polykrystalické soli bismuthu titanu ($Bi_{12}TiO_{20}$) na bismutovém substrátu pomocí anodické

ojiskřovací depozice⁵⁵ nebo příprava koloidních TiO₂ nanočástic⁵⁶. Tyto nanočástice pocházejí z materiálu elektrod, mezi kterými došlo k ojiskřování. Nanočástice mohou být naneseny na pevné substráty, jak lze vidět např. z práce Kumpika a kol.⁵⁷, kdy pomocí ojiskřování byly na křemen naneseny ZnO nanočástice. Nebo v jediném kroku byl ojiskřovacím procesem úspěšně vyroben VOC senzor založený na filmu z In₂O₃ (cit.⁵⁸). V práci Byeona a Kima⁵⁹ byl jiskřový výboj použit pro výrobu nanokatalyzátorů, které byly naneseny na polytetrafluorethylen k výrobě bimetalických nanostruktur. Takto pomocí nanočástic vyrobených jiskřovým výbojem se dají vyvíjet nanostruktury. Například v práci Lia a kol.⁶⁰ jsou popsány strukturní změny uhlíkových nanotrubiček v makroskopických filmech a vláknech způsobené ojiskřovacím procesem. Mikrostrukturní analýza ukázala, že ojiskřování změnilo tvar amorfních struktur, které se nalézaly ve filmu, z uhlíkových nanotrubiček na nanočástičky. V práci Naa a kol.⁶¹ byly použity katalytické nanočástice železa generované jiskřovým výbojem pro kontrolu růstu a hustoty uhlíkových nanotrubiček.

SPE modifikované jiskřovým výbojem jsou v elektroanalýze novou metodou. Poprvé se použití ojiskřovacího procesu pro přímou modifikaci SPE objevilo v práci Rimana a kol.⁶². SPE byly modifikovány bismutem, jakožto materiálem, který nezatěžuje životní prostředí, a velmi dobře nahrazuje rtuť při detekci a stanovení toxických kovů olova a kadmia. LOD senzoru byl 0,2 µg/l. Na takto bismutem modifikovaných SPE lze stanovit i organické molekuly jako např. riboflavin⁶³. LOD tohoto senzoru byl 0,7 nmol/l.

2.4 Neenzymatické elektrochemické senzory pro stanovení glukosy

Glukosa (Obr. 3) je monosacharid, který patří do skupiny aldohexos. Existuje ve dvou konformacích, a to jako D-glukosa, která se vyskytuje běžně v přírodě, a jako L-glukosa. Glukosa se řadí k redukujícím sacharidům, které se díky přítomnosti aldehydické skupiny mohou snadno oxidovat či redukovat. Proto je možné stanovit glukosu elektrochemickými metodami.



Obr. 3: Glukosa (α -forma v Haworthově projekci)

Glukosu lze stanovit elektrochemicky pomocí senzorů na bázi různých kovů, jako je např. zlato, platina, palladium, kobalt, měď a nikl. Elektrolytem je často hydroxid alkalického kovu (NaOH, KOH). Nejčastější elektrochemickou metodou pro stanovení glukosy je amperometrie.

2.4.1 Modifikace kovy

V práci El-Adse a kol.⁶⁴ byly jako voltametrický senzor na glukosu použity nanočástice zlata. Těmito nanočásticemi byla modifikována grafit/SrPdO₃ elektroda. Lineární rozsah (LDR) tohoto senzoru byl 100 – 6000 $\mu\text{mol/l}$ a LOD 10,1 $\mu\text{mol/l}$. Interferenty kyselina askorbová (AA), kyselina močová (UA), dopamin (DA), paracetamol (PM) a chloridy stanovení glukosy nebránily. Nanočástice zlata byly použity i v práci Pua a kol.⁶⁵. Glukosa byla detekována tříelektrodovým elektrochemickým senzorem s kompozitní nanostrukturální pracovní elektrodou, která byla modifikována grafenem a zlatými nanočásticemi. Sensory byly vyrobeny na polyimidovém substrátu. Grafen byl modifikován přímo na povrchu pracovní elektrody pomocí inkoustového tištění. Zlaté nanočástice byly naneseny elektrodepozicí přímo na grafenovou vrstvu. LDR senzoru byl 0 – 400 mg/l . LOD byl 3 mg/l , proto je senzor vhodný pro detekci nízké hladiny glukosy. Heli a kol.⁶⁶ pracovali s velmi rozvětvenými zlatými nanostrukturami, které byly naneseny elektrodepozicí při nulovém potenciálu (vs. AgCl) na polykrytalický zlatý povrch pomocí histidinu jako templátu. Tato nanostruktura byla použita jako vysoce citlivý senzor na glukosu. LOD byl 3,39 $\mu\text{mol/l}$. V práci Zhonga a kol.⁶⁷ byl použit amperometrický senzor, který byl založen na elektroanalytické oxidaci elektrody z nanoporézního zlata. Tato elektroda byla připravena

v jednom kroku oxidačně redukčním cyklem SWV. LOD tohoto senzoru byl 0,5 $\mu\text{mol/l}$. Interferenty AA a UA nečinily žádné problémy. Cooray a kol.⁶⁸ nasyntetizovali monodisperzní a vysoce stabilní zlaté nanočástice. Ve slabě alkalickém mediu byl AuCl_4^- zredukován pomocí 5-hydroxyl-1,4-naftochinonu a vzniklé nanočástice byly stabilizovány poly(hydroxyl-1,4-naftochinonem). Díky těmto nanočásticím byla glukosa stanovena s LDR 0,5 – 50 mmol/l a LOD senzoru byl 61 $\mu\text{mol/l}$. Co se týče interferentů, senzor nebyl citlivý k AA, významné interference však ukázal k UA.

Synergetický účinek nanočástic slitiny Pt-Au pro stanovení glukosy je vidět z práce Hea a kol.⁶⁹. 3D porézní grafen s vysoce vodivými uhlíkovými nanotrubičkami vytvořil vodivý inkoust, který byl pomocí iontové kapaliny uchycen na 2D grafenový papír. Na tento substrát byla pomocí ultrazvukové elektrochemické depozice nanosená slitina Pt-Au. V práci Hua a kol.⁷⁰ byla jedнокrokovou elektrochemickou redukcí syntetizována Pt-Au grafenová nanostruktura podobná květině. Tato nanostruktura vykazovala vyšší elektrokatalytický účinek ke glukose než Pt-Au nanočástice. LOD byl 4,0 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 1,0 – 25,0 mmol/l .

Wu a kol.⁷¹ modifikovali GCE platinovými nanoformacemi podobnými květinám, které byly neseny oxidem grafenu. Interferenty AA, UA a chloridy stanovení glukosy nebránily. LDR senzoru byl 2 μmol – 10,3 mmol/l a 10,3 mmol/l – 20,3 mmol/l . LOD byl 2 $\mu\text{mol/l}$.

Ke stanovení glukosy byly v práci Niua a kol.⁷² použity třírozměrné Pt-Pd nanostruktury podobné vločkám. Tyto nanostruktury byly uchyceny na SPE se zlatým filmem.

Wu a kol.⁷³ použili k detekci glukosy nanočástice palladia na nanotrubičkách z minerálu halloysitu, které byly umístěny na GCE. LDR senzoru byl 0,5 $\mu\text{mol/l}$ – 2,0 mmol/l a 2,0 – 15,0 mmol/l . LOD byl 0,43 $\mu\text{mol/l}$. Také Haghighi a kol.⁷⁴ pracovali s nanočásticemi palladia. Ty byly upevněny iontovou kapalinou na mezoporézní uhlík. Takto připravený nanohybridní materiál byl nanesen na povrch GCE. Glukosa byla stanovena s LOD 0,2 mmol/l . Interferenty AA, UA, DA, fruktosa a chloridy nebránily stanovení.

Dalším kovem, který se uplatňuje při stanovení glukosy, je kobalt. Soomro a kol.⁷⁵ syntetizovali nanostruktury Co_3O_4 . Senzor měl LDR 0,5 – 5,0 mmol/l a LOD 0,8 $\mu\text{mol/l}$. Byl vysoce selektivní ke glukose i v přítomnosti AA, UA a DA. Osvědčil se také při stanovení glukosy v reálném vzorku krve. Oxidy kobaltu byly také použity v práci Benchettary a kol.⁷⁶. Těmi byl ke stanovení glukosy ve dvou krocích modifikován GC. Nejprve byl tenký film

kobaltu nanosen na GC tak, že se GC potenciostaticky polarizoval v chloridu kobaltnatém. Poté byl kobaltový film anodicky oxidován v NaOH. V práci Kanga a kol.⁷⁷ byly syntetizovány nanoporézní Co_3O_4 nanodrátky ve dvou krocích. Nejprve probíhal hydrotermální růst kobaltových nanodrátkových prekurzorů, a poté následovala kalcinace odpovídajících prekurzorů. LOD byl $5 \mu\text{mol/l}$ a LDR $5,0 - 570 \mu\text{mol/l}$. Senzor prokázal vysokou selektivitu vůči glukose v přítomnosti interferentů AA, UA a DA. Také v práci Mahmoudiana a kol.⁷⁸ byl jako glukosový senzor použit Co_3O_4 v podobně nanolistů a nanolistů s $\text{Ni}(\text{OH})_2$ na GCE. Bylo prokázáno, že přítomnost $\text{Ni}(\text{OH})_2$ měl příznivý účinek na citlivost senzoru. Senzor bez $\text{Ni}(\text{OH})_2$ měl naproti tomu lepší výsledky při detekci glukosy díky svému velkému povrchu. LOD tohoto senzoru byl $1,08 \mu\text{mol/l}$ a LDR $5 - 40 \mu\text{mol/l}$.

V práci Xua a kol.⁷⁹ byla provedena elektrochemická detekce glukosy v alkalickém roztoku CPE modifikovanými $\text{La}_{0,88}\text{Sr}_{0,12}\text{MnO}_3$ nanovláknky. Tato nanovláknka byla připravena elektrosinningem a žíháním.

CuO nanovláknka modifikovaná Ag nanočásticemi byla v práci Zhenga a kol.⁸⁰ použita ke stanovení glukosy. Tento chronoamperometrický senzor měl LOD $0,0517 \mu\text{mol/l}$ a LDR $0,5 - 500 \mu\text{mol/l}$. Byly testovány interferenty AA, UA, DA, chloridy, laktosa, sacharosa a fruktosa. Senzor byl také použit při měření glukosy v krevním séru.

2.4.1.1 Měď a nikl

Jelikož se ve své práci zabývám modifikací SPE mědí a niklem, zaměřím se na tyto kovy podrobněji. Při amperometrických měřeních je použit pracovní potenciál $0,4 - 0,7 \text{ V vs. Ag/AgCl}$.

V práci Gutierrez a kol.⁸¹ byly GCE modifikovány uhlíkovými nanotrubičkami a měděnými mikročásticemi, které byly rozptýleny v polyethyleniminu. Glukosa byla stanovována amperometricky při potenciálu $0,7 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Senzor měl LOD 182 nmol/l . Wang a kol.⁸² vyrobili senzor založený na měděných nanočásticích, které byly uspořádány do vrstev na nanotrubičkovém filmu z uhlíku s oxidem manganičitým. Tímto senzorem byla modifikována GCE. LOD senzoru byl $0,17 \mu\text{mol/l}$. V práci Mania a kol.⁸³ byly elektrodepozicí připraveny měděné nanočástice s použitím biopolymeru pektinu a grafenu. Tento amperometrický senzor na glukosu měl LDR $10 \mu\text{mol/l} - 5,5 \text{ mmol/l}$ a LOD $2,1 \mu\text{mol/l}$. Byl také aplikován na stanovení glukosy v krevním séru.

Ensafi a kol.⁸⁴ použili ke stanovení glukosy nanokompozit s nanočásticemi mědi na porézním křemíku. Chronoamperometrická měření proběhla při potenciálu 0,55 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 0,2 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 1 – 190 a 190 – 2300 $\mu\text{mol/l}$. Byly testovány vlivy interferentů AA, DA, UA, kyseliny citronové, fruktosy, sacharosy a chloridů bez prokázané citlivosti senzoru na tyto látky. Senzor byl také aplikován na vzorek krevního séra. V práci Salazara a kol.⁸⁵ byla k amperometrickým měřením použita měděná elektroda v nanoměřítku. Měření probíhala při potenciálu 0,65 V. LOD senzoru byl 0,36 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 0,36 – 1000 $\mu\text{mol/l}$. AA, UA, PM, ethanol a sacharidy fruktosa, laktosa a sacharosa nečinily při stanovení glukosy žádné potíže. Senzor byl testován na krevním séru. Liu a kol.⁸⁶ provedli elektrodepozici měděných nanočástic na GCE modifikovanou poly(o-fenylendiaminovým) filmem. Amperometrická měření probíhala při potenciálu 0,5 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 0,25 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 5 – 1600 $\mu\text{mol/l}$. Senzor nebyl citlivý na interferenty AA, UA, DA, maltosu, galaktosu, xylosu, ikodextrin a ionty Na^+ , K^+ , NH_3^+ , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Cl^- , PO_4^{2-} . Senzor byl použit při měření glukosy v krevním séru.

Oxid měďný byl ke stanovení glukosy použit v různých molekulárních geometriích. V práci Lia a kol.⁸⁷ byl použit nanokompozit tvořený z uhlíkových kvantových teček a oktahedru Cu_2O . Amperometrické měření probíhalo při potenciálu 0,6 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 8,4 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 20 – 4300 $\mu\text{mol/l}$. AA, UA, DA a chloridy neměly žádný účinek na stanovení glukosy. Opět byl senzor testován i v krevním séru. Částice Cu_2O jako skeletony a mnohostěny byly použity v práci Neethela a kol.⁸⁸ k přímé modifikaci GC. Vznikl hustý tenký film ze spojených oktahedrálních krystalů Cu_2O . Amperometrické stanovení glukosy na tomto senzoru probíhalo při potenciálu 0,46 V vs. Ag/AgCl. LOD byl 0,144 $\mu\text{mol/l}$ a LDR až do 298 $\mu\text{mol/l}$. Interferenty AA, moč a fruktosa nijak stanovení glukosy nerušily. Superoktahedrální struktura Cu_2O mikrokrystalků na GCE, která vznikla elektrochemickou depozicí, byla ke stanovení glukosy použita v práci Yaoa a kol.⁸⁹. Amperometrická měření probíhala při potenciálu 0,6 V vs. Ag/AgCl. LDR senzoru byl 10 – 5000 $\mu\text{mol/l}$ a interferenty AA, UA, DA, chloridy, glutathion a cystein na stanovení glukosy neprokázaly rušivý účinek.

Oxid měďnatý byl použit v různých podobách, např. v práci Alizadeha a kol.⁹⁰. Nanočástice CuO na grafenu byly amperometrickým senzorem s LOD 0,09 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 0,5 – 2000 $\mu\text{mol/l}$. Měření probíhala při potenciálu 0,4 V vs. Ag/AgCl. AA, UA, DA, chloridy, KH_2PO_4 , sacharosa, laktosa, fruktosa a maltosa stanovení glukosy nerušily. V práci

Lia a kol.⁹¹ byly použity CuO nanodrátky na Cu folii. Chronoamperometrické stanovení glukosy probíhalo při potenciálu 0,5 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 4 $\mu\text{mol/l}$ a LDR měl tento senzor až do 4000 $\mu\text{mol/l}$. Byly testovány interferenty AA, UA a chloridy. Nanodrátky CuO byly použity také v práci Donga a kol.⁹² jako amperometrický senzor s LOD 0,69 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 1 – 10000 $\mu\text{mol/l}$. Měření probíhala při potenciálu 0,65 V vs. Ag/AgCl. Senzor nebyl citlivý na interferenty AA, UA, DA, chloridy, fruktosu a sacharózu. Senzor byl testován při měření v krevním séru. CuO v podobě nanolistu s ZnO nanotyčinkami byl použit jako amperometrický senzor v práci SoYoona a kol.⁹³. Měření probíhala při potenciálu 0,5 V vs. Ag/AgCl. LOD tohoto senzoru byl 18 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 100 – 1000 $\mu\text{mol/l}$. Byly testovány interferenty AA, UA, moč a laktosa. V práci Lia a kol.⁹⁴ byla použita ke stanovení glukosy nanoporézní CuO vrstva na Cu folii s tlustou mezivrstvou Cu₂O. Chronoamperometrické měření probíhalo při potenciálu 0,6 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 2 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 100 – 2040 $\mu\text{mol/l}$. Na malé koncentrace AA a UA nebyl senzor citlivý, při vyšších koncentracích těchto interferentů se však objevily problémy, a proto byl použit nafion, který tyto interference odstranil.

V práci Guoa a kol.⁹⁵ byl použit nanoporézní zlatý film potažený mědí. Měření probíhala při potenciálu 0,55 V vs. Ag/AgCl. Tento amperometrický senzor měl LOD 0,59 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 2 – 8110 $\mu\text{mol/l}$. Interferenty AA a UA stanovení glukosy neovlivnily. Senzor byl také testován v krevním séru.

V práci Prathapa a kol.⁹⁶ byly ke stanovení glukosy použity měď a nikl jako oxidy inkorporované do křemenné slitiny. Pro senzor s mědí byl LOD 10 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 10 – 20 000 $\mu\text{mol/l}$. Pro senzor s niklem byl LOD 50 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 50 – 20 000 $\mu\text{mol/l}$. Senzor byl necitlivý vůči AA a UA.

V práci Wanga a kol.⁹⁷ byl použit kompozit nanočástic Ni a grafenu. Amperometrická měření probíhala při potenciálu 0,5 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 1,85 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 5 – 550 $\mu\text{mol/l}$. Senzor byl necitlivý k interferentům AA a UA. V práci Choia a kol.⁹⁸ byl použit nanokompozit niklu a uhlíkové nanotrubičky. Pracovní potenciál byl opět 0,5 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 2 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 5 – 2000 $\mu\text{mol/l}$. Ani tento senzor nebyl citlivý k AA a UA.

Ke stanovení glukosy byl nikl použit i ve formě hydroxidu. V práci Kunga a kol.⁹⁹ byla jako senzor použita jedna vrstva nanočástic Ni(OH)₂ na porézní niklové pěně. Měření probíhalo při potenciálu 0,45 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 0,16 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 600 – 6000 $\mu\text{mol/l}$. Tento senzor byl necitlivý na interferenty AA, UA, PM, methanol, ethanol,

galaktosu a manosu. Byl také vyzkoušen ve vzorku krevního sera. Nanočástice Ni(OH)_2 , které byly zakotveny na chitosanové membráně a nanoseny na GCE byly jako glukosový senzor představeny v práci Ciszewskiho a kol.¹⁰⁰. Pracovalo se při potenciálu 0,75 V vs. Ag/AgCl. Přeoxidované polypyrrolové nanodrátky modifikované nanovločkami Ni(OH)_2 byly použity v práci Yanga a kol.¹⁰¹. Tento senzor měl LOD 0,3 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 10 – 6860 $\mu\text{mol/l}$. Pracovní potenciál byl 0,54 V vs. Ag/AgCl. Interferenty AA, UA, DA a L-asparagová kyselina neměly na senzor žádný rušivý vliv. Senzor byl testován ve vzorku moči. Nanohybridní filmy Ni(OH)_2 s morfologií houby a Au byly použity v práci Chena a kol.¹⁰². Amperometrická měření probíhala při potenciálu 0,55 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 0,92 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 5 – 2200 $\mu\text{mol/l}$. Senzor nebyl citlivý k UA, L-cysteinu a frukose a byl použit k měření ve vzorku krevního séra.

Stanovení glukosy bylo provedeno i pomocí senzorů na bázi NiO. V práci Liua a kol.¹⁰³ byly použity třírozměrné porézní NiO nanolisty vertikálně narostlé na grafitovém disku. Amperometrická měření probíhala při potenciálu 0,5 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 0,9 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 10 000 $\mu\text{mol/l}$. Interferenty AA a UA nečinily při stanovení glukosy žádný problém. Senzor byl vyzkoušen i ve vzorku krevního séra. NiO nanostruktury byly použity ke stanovení glukosy v práci Soomroa a kol.¹⁰⁴. Zde byl pracovní potenciál 0,52 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 0,7 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 100 – 5000 $\mu\text{mol/l}$. Senzor byl testován v přítomnosti interferentů AA, UA a DA, a také v krevním séru. Tento tým také pracoval na senzoru z NiO nanostruktur podobné ježčím bodlinám. Senzor měl LOD 1,2 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 0,1 – 5,0 $\mu\text{mol/l}$. V práci Luo a kol.¹⁰⁵ byla ke stanovení glukosy použita NiO nanovlákna dopovaná lithiem. LOD tohoto senzoru byl 0,1 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 0,5 – 278 $\mu\text{mol/l}$.

Nanoporézní NiO/TiO₂ vrstvy byly použity jako glukosový senzor v práci Gaoa a kol.¹⁰⁶. Amperometrická měření probíhala při potenciálu 0,52 V vs. Ag/AgCl. LOD byl 1 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 5 – 12 100 $\mu\text{mol/l}$. Senzor nebyl citlivý vůči interferentům AA, UA a PM. Titan a nikl skombinovali také Hang a kol.¹⁰⁷ ve formě Ni-Ti-O nanotrubiček. Měření probíhala při potenciálu 0,6 V vs. Ag/AgCl. LOD senzoru byl 0,13 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 2 – 200 $\mu\text{mol/l}$. Senzor byl testován vůči AA a UA, a také v krevním séru.

Katodická depozice binárního hydroxidu $(\text{Ni-Co})(\text{OH})_2$ na SPCE byla použita v práci Liena a kol.¹⁰⁸. Tento senzor měl LDR až do 3700 $\mu\text{mol/l}$. Pracovalo se při potenciálu 0,47 V vs. Ag/AgCl. Problémem byly interferenty AA, UA, DA, fruktosa, galaktosa, xylosa, na které

byl senzor velmi citlivý. Dai a kol.¹⁰⁹ modifikovali BDD elektrodu nanolisty a nanodiamanty niklu. Lineární odezva na glukosu byla 0,2 – 1055 $\mu\text{mol/l}$. LOD byl 0,05 $\mu\text{mol/l}$.

Měď a nikl byly použity v kombinaci jako porézní Cu-NiO nanokompozit v práci Zhanga a kol.¹¹⁰. Tímto kompozitem byla modifikována GCE. Pracovní potenciál byl 0,4 V vs. Ag/AgCl. Tento amperometrický senzor měl LOD 0,5 $\mu\text{mol/l}$ a LDR 0,5 – 5000 $\mu\text{mol/l}$. Byl imunní vůči interferentům AA, UA a fruktose.

Reakce niklu s glukosou

Na povrchu elektrody se Ni^{2+} oxiduje na Ni^{3+} v prostředí hydroxidových aniontů elektrolytu NaOH podle rovnice:



Nikl je na počátku reakce ve formě oxidu nebo hydroxidu. Produkt NiO(OH) poté reaguje s glukosou podle rovnice:



3 Experimentální část

3.1 Přístrojové vybavení

Amperometrická a voltametrická měření byla prováděna na potenciostatu AUTOLAB PGSTAS10 eco chemie. Všechna měření byla provedena v tříelektrodovém zapojení. Pracovní elektrodou byly SPCE, referenční elektrodou byla argentochloridová elektroda a pomocnou platinová elektroda. K ojiskřování elektrod byl použit nekomerční zdroj vysokého napětí (200 – 2000 V) s 10 kHz oscilátorem, transformátorem a pěti stupňovým Cockroft-Walton násobičem.

3.2 Chemikálie

- D-(+)-glukosa (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany) $M = 180,2 \text{ g/mol}$
- Hydroxid sodný (E. Merck, Germany) $M = 40 \text{ g/mol}$
- L-(+)-kyselina askorbová (Merck KGaA, Germany) $M = 176,13 \text{ g/mol}$
- Kyselina močová (Sigma Chemical Co., USA) $M = 168,1 \text{ g/mol}$
- Paracetamol (Sigma Chemical Co., USA) $M = 151,2 \text{ g/mol}$
- D-fruktosa (Lachema, Brno) $M = 180,16 \text{ g/mol}$

3.3 Příprava slitin

Kovy byly v daném poměru roztaveny v nekomerční vakuové obloukové tavicí peci (Obr. 4) ve vodou chlazeném měděném kelímku, čímž bylo zabráněno, aby se nečistoty dostaly do kovu. Zahřívání v peci je realizováno plasmovým obloukem s vysokou energetickou účinností. Průměrná teplota ve středu oblouku je okolo 2800 – 3000 °C. Mezi wolframové elektrody bylo vloženo napětí 220 V a procházel stejnosměrný proud o velikosti 100 A. Inertní prostředí v peci bylo vytvořeno pomocí argonu. Poté byly slitiny nařezány na tenké proužky.



Obr. 4: Vakuová oblouková tavicí pec

3.4 Průběh ojiskření SPCE

Před ojiskřením je třeba očistit hrot kovu broušením o smirkový papír. Poté se kov opláchne a připojí ke zdroji vysokého napětí. Jako protipól se připojí SPCE. Tyto dvě elektrody k sobě přiblížíme natolik, dokud nevznikne jiskrový výboj.

Jak bylo uvedeno v části 2.3.1., jedním z rozhodujících parametrů pro to, jak dobře se bude kov ojiskřovat, je tepelná vodivost a teplota varu kovu. Tab. I uvádí teploty tání a varu a tepelnou vodivost mědi, niklu a jejich slitiny konstantanu. Konstantan obsahuje 45 % niklu a 55 % mědi. Měď má znatelně vyšší hodnotu tepelné vodivosti než nikl, a proto se bude hůře ojiskřovat. U niklu je tomu opačně. Jejich slitina má hodnotu tepelné vodivosti nejnižší. Při ojiskřování slitinou však dochází k tomu, že se ze slitiny se uvolňují volné atomy niklu a mědi zvlášť, a tedy hlavní roli zde přebírá bod varu jednotlivých atomů. Na druhou elektrodu snáze přejdou atomy s nižší teplotou varu, tedy měď.

Tab. I: Teploty tání, varu a tepelná vodivost mědi, niklu a konstantanu¹¹¹

	Teplota tání (°C)	Teplota varu (°C)	Tepelná vodivost (W/m·K)
Měď	1085	2562	401
Nikl	1455	2730	91
Konstantan	1225 – 1300	-	20

3.5 Amperometrické a voltametrické experimenty

Amperometrické a voltametrické experimenty byly provedeny v roztoku NaOH o koncentraci v rozmezí 10 – 500 mmol/l. Při amperometrických měřeních byl použit potenciál 500 – 700 mV vs. Ag/AgCl. Voltamogramy byly měřeny v potenciálovém okně 0 – 800 mV vs. Ag/AgCl, skenovací rychlosti byly použity v rozmezí 10 – 400 mV/s, potenciálový krok 2,44 mV.

4 Výsledky a diskuze

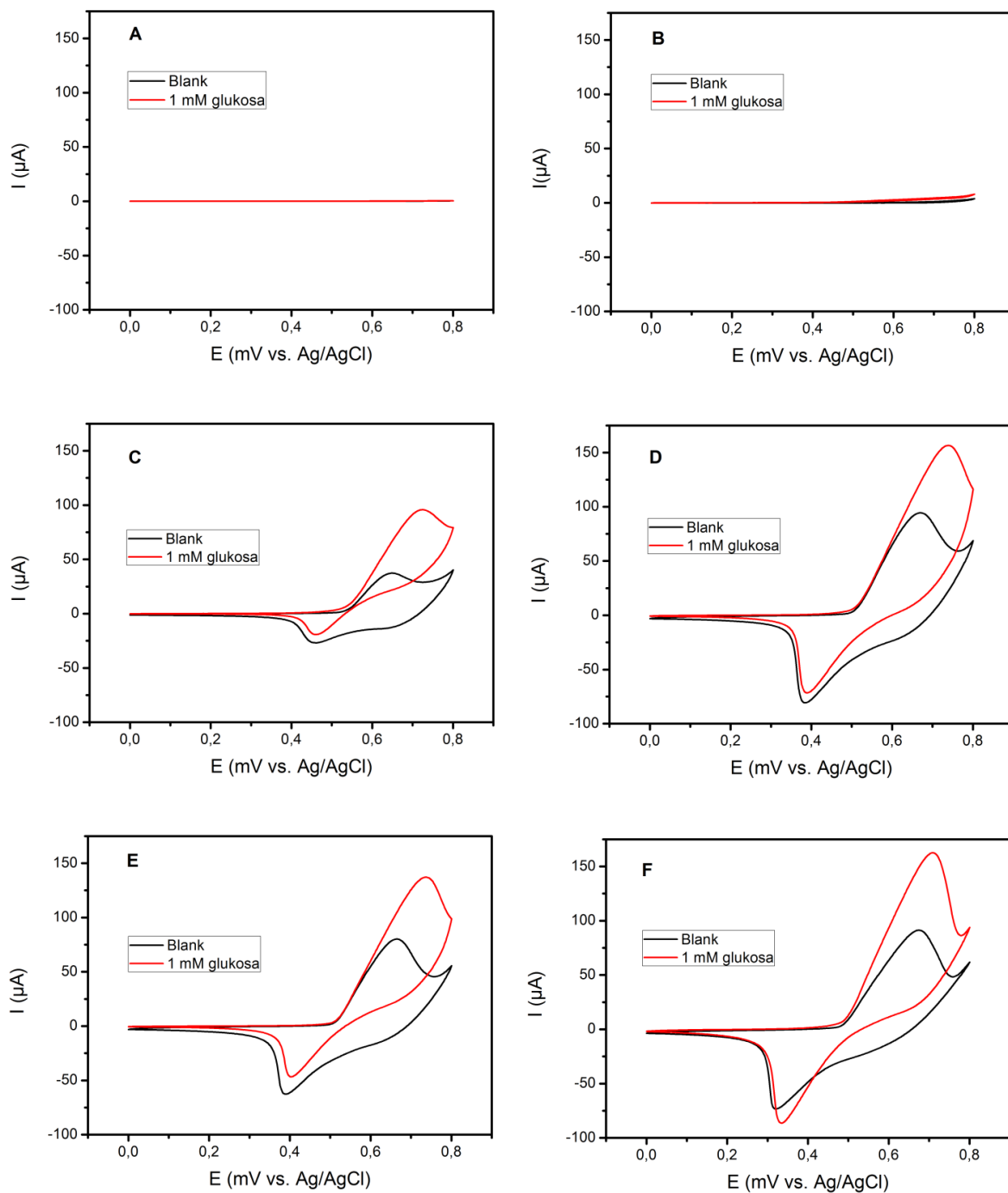
Cílem práce bylo využít SPCE modifikované jiskrovým výbojem jako senzor pro stanovení glukosy. K modifikaci elektrod byly použity kovy měď a nikl a jejich slitiny ve třech hmotnostních poměrech: CuNi 75/25, CuNi 50/50, CuNi 25/75. Elektrody byly podrobeny předběžným testům, z jejichž výsledku byl zvolen materiál s nejvyšším katalytickým účinkem k oxidaci glukosy. Modifikované elektrody byly charakterizovány SEM, EDS a XPS. Dále byly zkoumány optimální podmínky modifikace elektrod (počet jisker mezi kovem a elektrodou, polarita elektrod při modifikaci), vyvinuty vhodné podmínky analýzy glukosy (koncentrace základního elektrolytu, detekční potenciál), otestovány analytické vlastnosti senzorů (LOD, LOQ, LDR) a vliv interferentů. Nakonec byla glukosa stanovena ve vzorku krevního séra.

4.1 Volba úpravy SPCE

Prvotní experimenty měly za cíl rozhodnout, která modifikace SPCE je nevhodnější pro stanovení glukosy. SPCE byly modifikovány niklem a mědí a jejich slitinami ve třech různých hmotnostních poměrech – CuNi 75/25, CuNi 50/50, CuNi 25/75. Nejprve byla provedena série voltametrických měření při potenciálu 0 – 800 mV vs. Ag/AgCl, v roztoku 500mM NaOH, při skenovací rychlosti 50 mV/s. Měřený roztok obsahoval 1 mmol/l glukosy.

Z Obr. 5A je vidět, že na nemodifikované SPCE k oxidaci glukosy nedochází. Na Obr. 5B můžeme pozorovat velmi malou odezvu SPCE ojištěné mědí. Slabou odezvu zapříčinilo malé množství mědi na elektrodě, protože měď se hůře ojišťuje kvůli své vysoké tepelné vodivosti, jak je popsáno v části 3.4. Je tedy nutno ojišťovat kovem s obsahem niklu. Z voltamogramů niklu a CuNi 25/75 (Obr. 5E, F) můžeme pozorovat oxidaci glukosy dříve

než u slitin, které obsahují více mědi. Nejvyšší odezvu na glukosu měly SPCE modifikované niklem a slitinami CuNi 25/75 a 50/50.

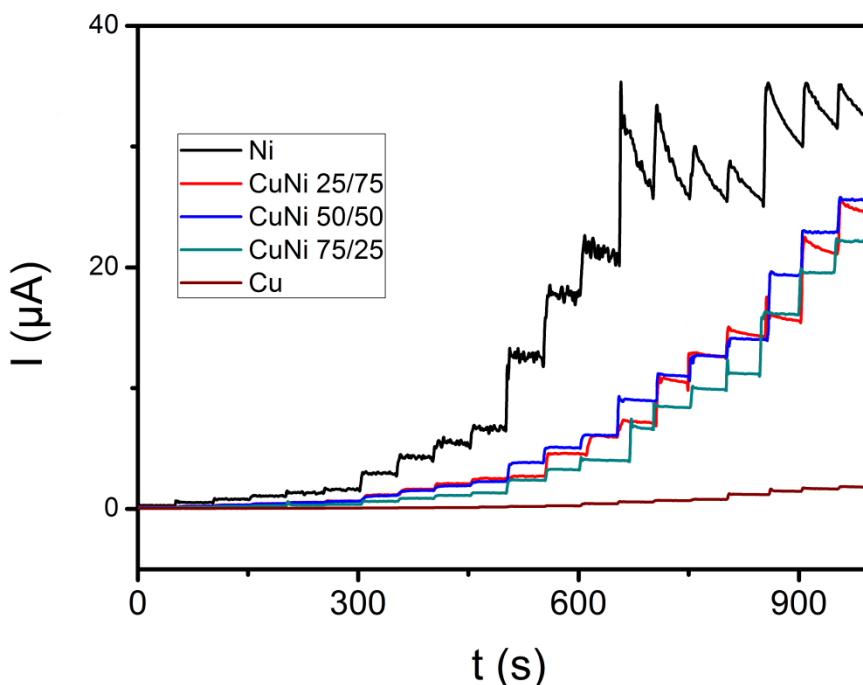


Obr. 5: Cyklické voltamogramy SPCE měřené v přítomnosti 1mM glukosy (červená) a bez glukosy (černá).

A) nemodifikovaná SPCE, B) Cu-SPCE, C) CuNi 75/25-SPCE, D) CuNi 50/50-SPCE, E) CuNi 25/75-SPCE, F) Ni-SPCE; elektrolyt 500mM NaOH; skenovací rychlost 50 mV/s.

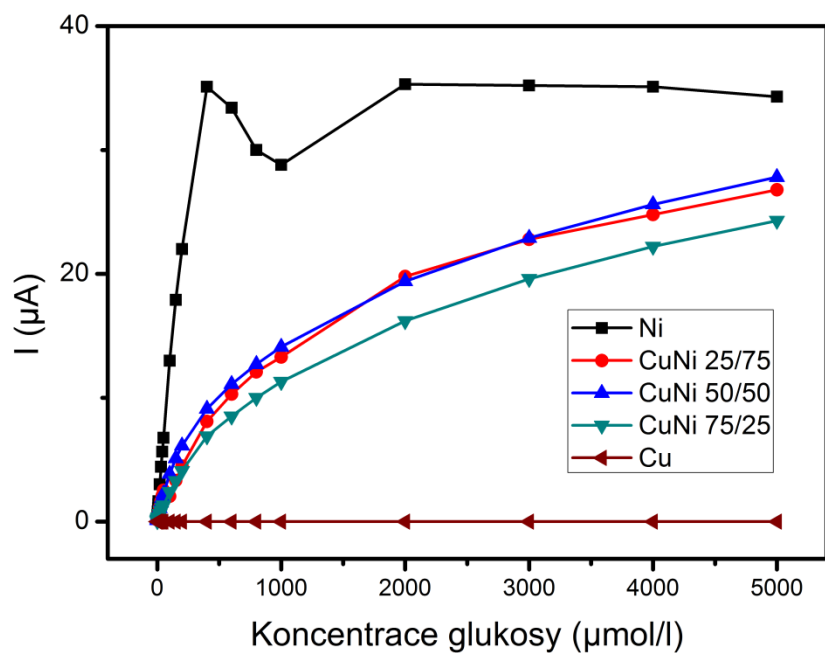
Elektrody byly následně podrobeny testům v amperometrii. Měření byla provedena při potenciálu 550 mV vs. Ag/AgCl, v roztoku elektrolytu NaOH o koncentracích 100 mmol/l (Obr. 6) a 500 mmol/l (Obr. 8) NaOH. Glukosa byla dávkována v postupných přidavcích, aby její koncentrace po jednotlivém přidavku byla: 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 400, 600, 800, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 μM .

Ze srovnání hodnot proudu z Obr. 6 a Obr. 8 lze vidět, že SPCE má na glukosu ve 100mM NaOH menší odezvy. Ve vyšších koncentracích glukosy také nezaznamenáváme takovou ztrátu signálu, jako je tomu u měření v 500mM NaOH. Když porovnáme amperometrické záznamy jednotlivých SPCE lišících se modifikací, zjišťujeme, že nejvyšší odezvu na glukosu mají SPCE ožiskřené niklem a slitinami CuNi 50/50 a 25/75, podobně jako to mu bylo u cyklických voltamogramů. Také je patrné, že se zvyšujícím se obsahem niklu klesá stabilita signálu při vyšších koncentracích glukosy. Nikl tedy pravděpodobně způsobuje vyšší citlivost elektrody na glukosu. Zdá se, že měď naproti tomu stabilizuje signál. U SPCE modifikovaných slitinami nebyl pozorován tak velký šum, jako u Ni-SPCE. Nejlepší poměr signál/šum vykazovala CuNi 50/50-SPCE. Tato elektroda byla tedy dále zkoumána a metoda optimalizována.



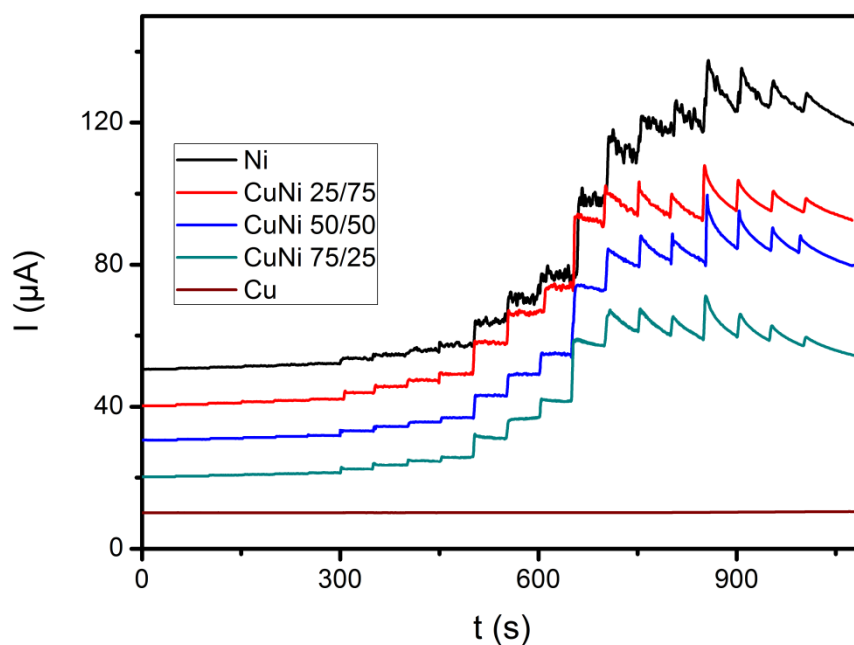
Obr. 6: Amperometrické odezvy SPCE modifikovaných kovy a slitinami.

Cu-SPCE hnědá, CuNi 75/25-SPCE zelená, CuNi 50/50-SPCE modrá, CuNi 25/75-SPCE červená, Ni-SPCE černá; elektrolyt 100mM NaOH; potenciál 550 mV vs. Ag/AgCl.



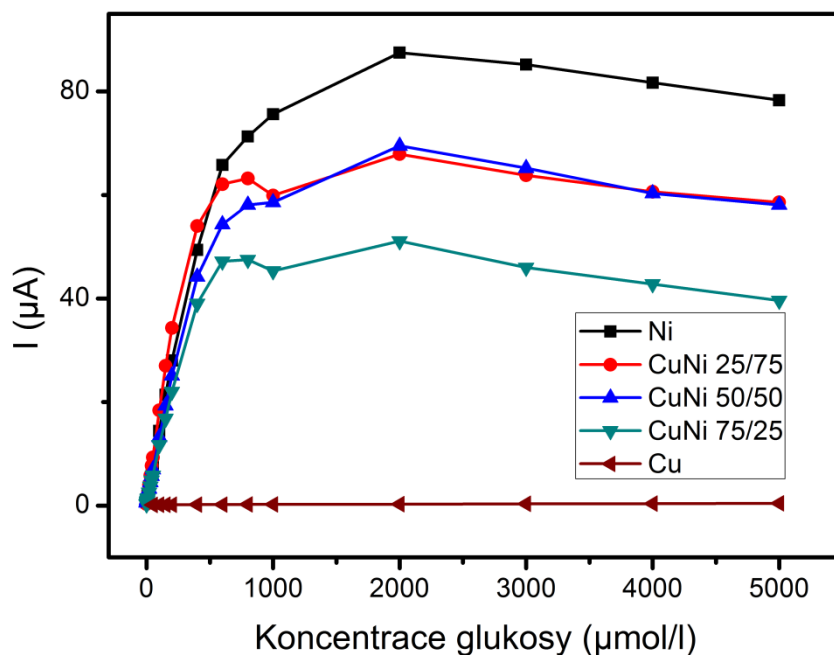
Obr. 7: Kalibrační křivky vytvořené z amperometrických odezev na Obr. 6.

Cu-SPCE hnědá, CuNi 75/25-SPCE zelená, CuNi 50/50-SPCE modrá, CuNi 25/75-SPCE červená, Ni-SPCE černá.



Obr. 8: Amperometrické odezvy SPCE modifikovaných kovy a slitinami.

Cu-SPCE hnědá, CuNi 75/25-SPCE zelená, CuNi 50/50-SPCE modrá, CuNi 25/75-SPCE červená, Ni-SPCE černá; elektrolyt 500mM NaOH; potenciál 550 mV vs. Ag/AgCl.

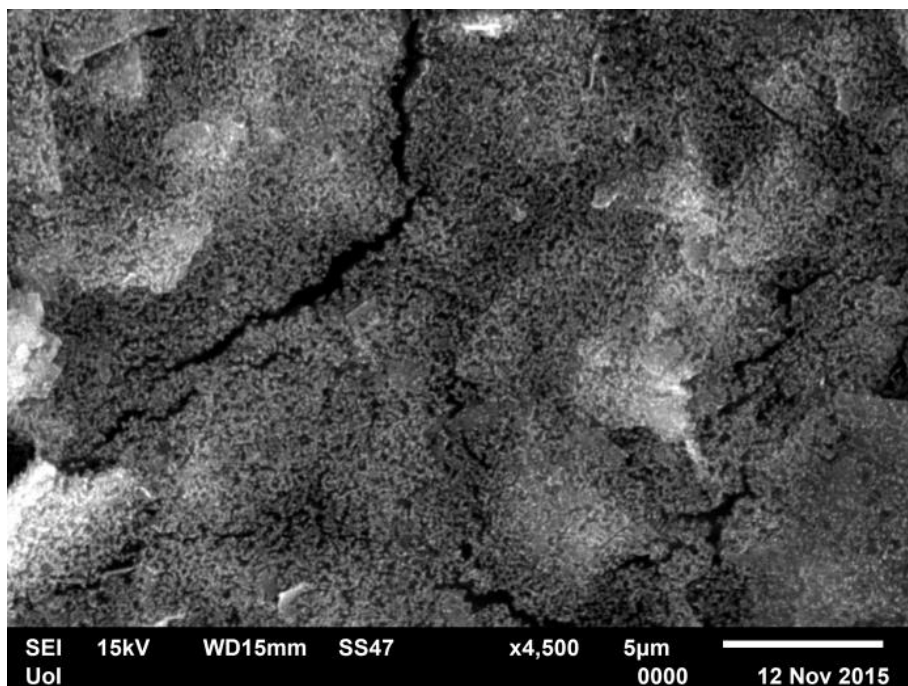


Obr. 9: Kalibrační křivky vytvořené z amperometrických odezev na Obr. 8.

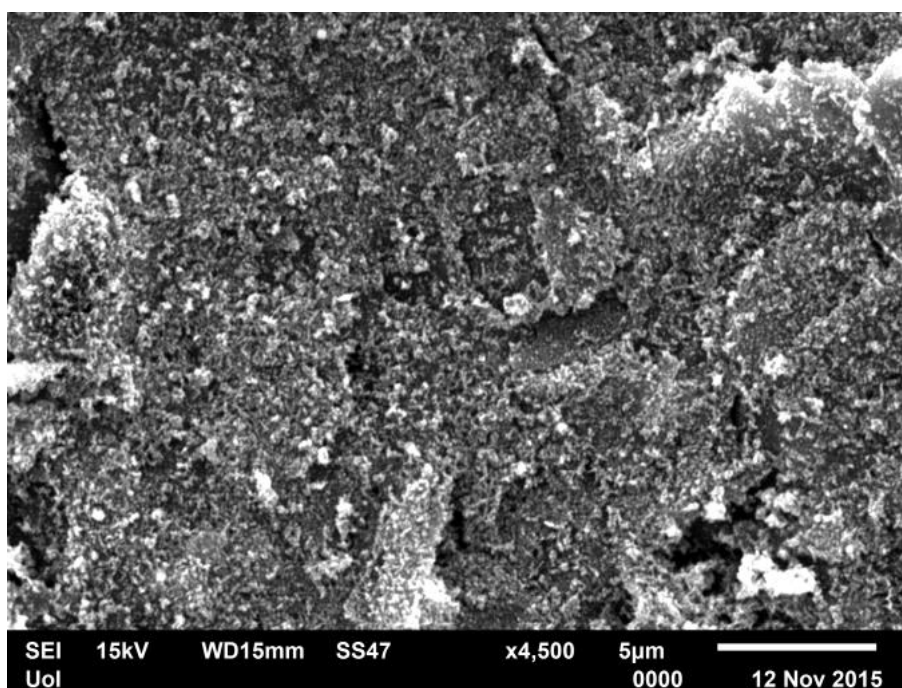
Cu-SPCE hnědá, CuNi 75/25-SPCE zelená, CuNi 50/50-SPCE modrá, CuNi 25/75-SPCE červená, Ni-SPCE černá.

4.2 Charakterizace CuNi 50/50-SPCE metodami SEM, EDS, XPS

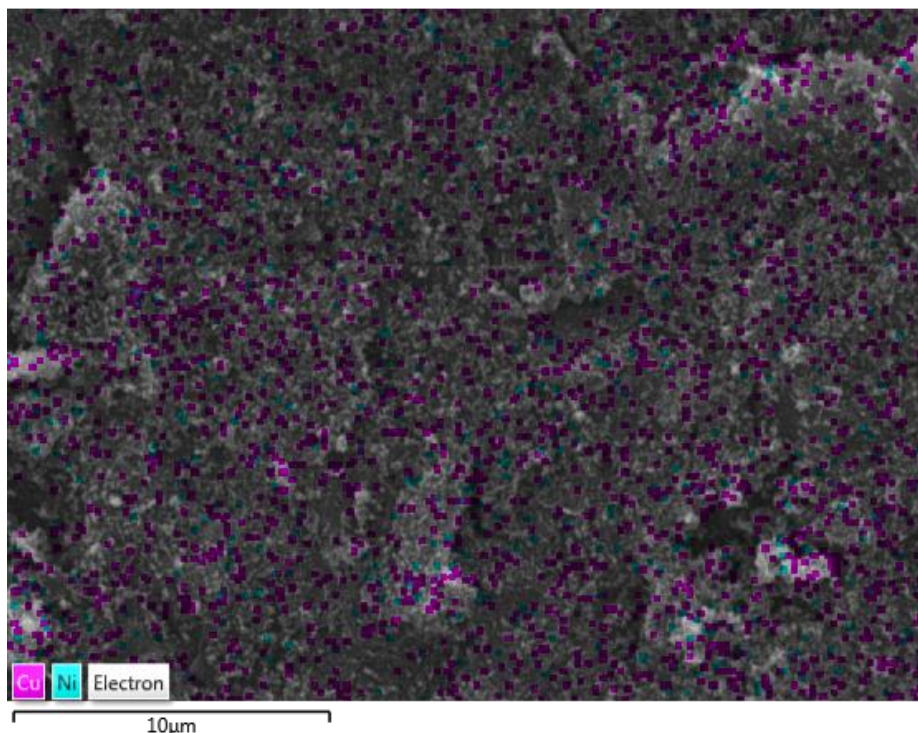
SPCE byla charakterizována SEM před modifikací i po ní. Na Obr. 10 je snímek nemodifikované SPCE. Obr. 11 zobrazuje SPCE modifikovanou slitinou CuNi 50/50. Obr. 12 ukazuje EDS prvkovou analýzu SPCE modifikované CuNi 50/50. Barvami jsou znázorněna místa výskytu kovu (měď fialová barva, nikl modrá barva). Slitina obsahovala 48 atomových % mědi a 52 atomových % niklu. Metodou XPS bylo zjištěno, v jakých formách se měď a nikl vyskytují na SPCE, která byla ojištěna slitinou CuNi 50/50. Procentuální zastoupení jednotlivých forem jsou uvedena v Tab. II. Celkový obsah mědi na SPCE byl 1,8 atomových % a celkový obsah niklu 0,7 atomových %. Mědi bylo na SPCE více, což odpovídá poznatkům o tepelné vodivosti, které jsou popsány v části 3.4., tedy, že při ojištění přejde ze slitiny na SPCE více atomů mědi díky nižší teplotě varu mědi oproti niklu.



Obr. 10: SEM snímek nemodifikované SPCE



Obr. 11: SEM snímek SPCE modifikované slitinou CuNi 50/50



Obr. 12: EDS mapování SPCE modifikované CuNi 50/50.

Cu – fialová, Ni – modrá

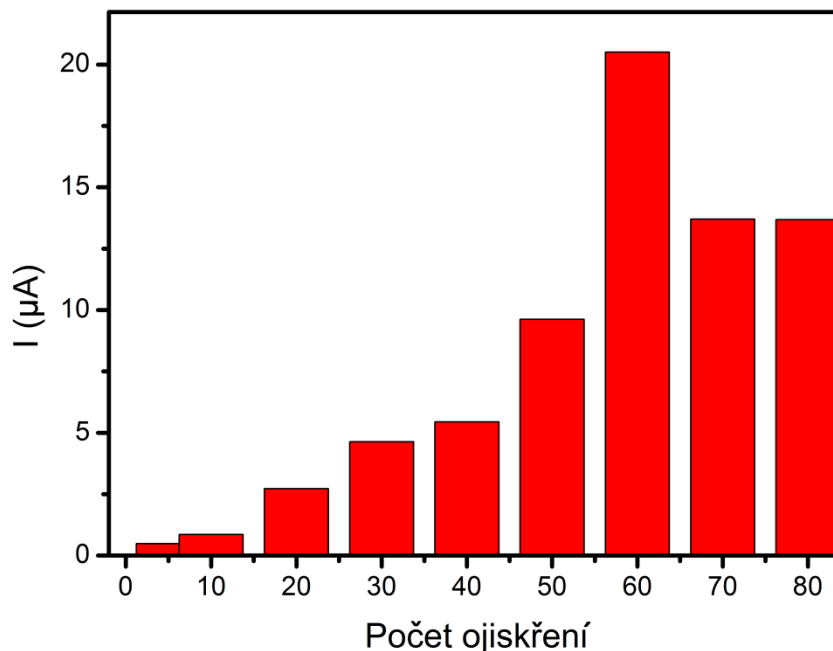
Tab. II: Formy a molární procenta mědi a niklu na elektrodě

Cu		Ni	
Forma	Molární %	Forma	Molární %
Cu ⁰	12,8	NiO	17,4
CuO	26,4	Ni ₂ O ₃	56,8
Cu(OH) ₂	37,0	Ni(OH) ₂	25,8

4.3 Polarita ojiskření, počet ojiskření

SPCE byla ojiskřena v kladném i záporném módu, aby se zjistilo, která polarita je pro větší odezvy na glukosu lepší. Ukázalo se, že elektroda musí být zapojena jako anoda (kladný pól). Také byla elektroda ojiskřena různým počtem ojiskření (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80). Graf na Obr. 13 znázorňuje hodnoty proudu při měření s těmito elektrodami. Je patrné, že se zvyšujícím se počtem ojiskření narůstal i signál, až do počtu 60. S dalším zvýšením počtu ojiskření začal signál klesat a vyšší počet ojiskření už nebyl efektivní. 60 ojiskření je tedy

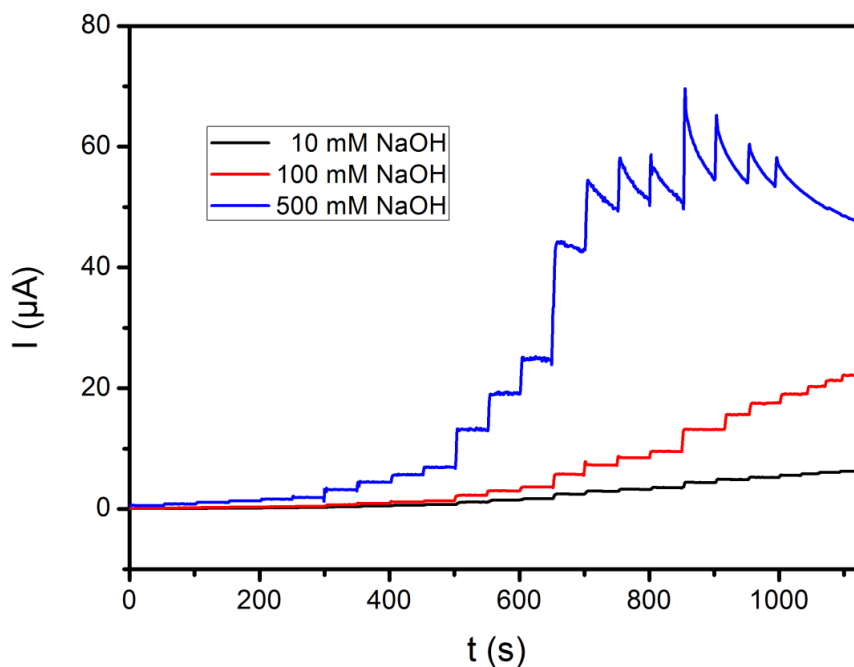
největší možné množství ve vztahu k velikosti elektrody, poté pravděpodobně dochází k ničení uhlíku. SPCE byly tedy modifikovány 60 ojiskřeními.



Obr. 13: Hodnoty proudu při různém počtu ojiskření SPCE

4.4 Koncentrace elektrolytu NaOH a volba pracovního potenciálu

Byla provedena amperometrická měření 2 – 5000 $\mu\text{mol/l}$ glukosu v 10mM, 100mM a 500mM NaOH. Porovnáním amperogramů (Obr. 14) bylo zjištěno, že nejvyšší odezvu na glukosu měla elektroda v 500mM NaOH, což je způsobeno vyšší koncentrací OH^- skupin (rov. 2). Koncentrace OH^- má zásadní vliv nejen na velikost odezvy senzoru, ale také na stabilitu signálu. Na amperometrických záznamech je také vidět, že v nižších koncentracích elektrolytu je signál stabilní až do 5000 $\mu\text{mol/l}$ glukosu, ale při vysoké koncentraci NaOH dochází ke ztrátě signálu už od 600 $\mu\text{mol/l}$ glukosu, což je pravděpodobně způsobeno rychlejším zanášením aktivních míst elektrody produkty reakce. Byla provedena série amperometrických měření při pracovních potenciálech od 500 do 700 mV vs. Ag/AgCl. Zvyšování potenciálu způsobovalo zvýšení odezvy senzoru na glukosu. Docházelo však také ke zvyšování šumu. Zvolen byl potenciál s nejvyšším poměrem signál/šum, což bylo 550 mV vs. Ag/AgCl.

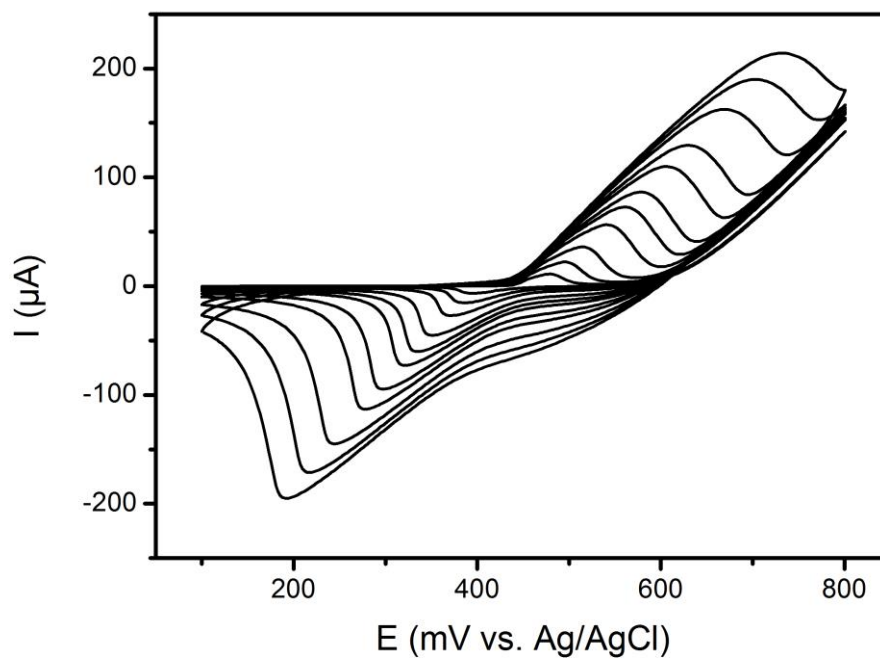


Obr. 14: Amperometrický záznam 2 – 5000 $\mu\text{mol/l}$ glukosy v 10mM (černá), 100mM (červená) a 500mM (modrá) NaOH.

Potenciál 550 mV vs. Ag/AgCl.

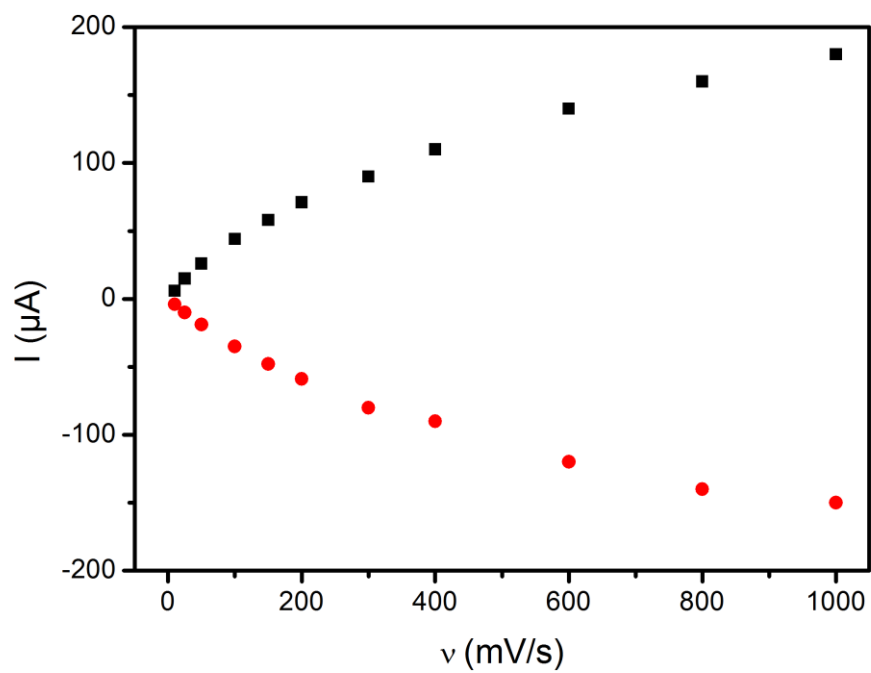
4.5 Kinetika redoxního páru $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$

Pomocí Cu/Ni 50/50-SPCE elektrody byly naměřeny cyklické voltamogramy (Obr. 15) ve třech koncentracích elektrolytu (10, 100 a 500mM NaOH) při různých skenovacích rychlostech: 10 až 1000 mV/s. Z každého voltamogramu byla odečtena hodnota proudu oxidačního ($\text{Ni}^{2+} \rightarrow \text{Ni}^{3+}$) a redukčního ($\text{Ni}^{3+} \rightarrow \text{Ni}^{2+}$) píku a vytvořena jejich závislost na skenovací rychlosti (příklad v 500mM NaOH Obr. 16). Z Obr. 16 je patrné, že závislost proudu v píku (I_p) na skenovací rychlosti (v) je lineární ve vyšších v , což znamená, že rychlost reakce je ovlivňována difuzí OH^- iontů k elektrodě. To potvrzuje i lineární závislost hodnot proudu na druhé odmocnině ze skenovací rychlosti – opět příklad v 500mM NaOH (Obr. 17).



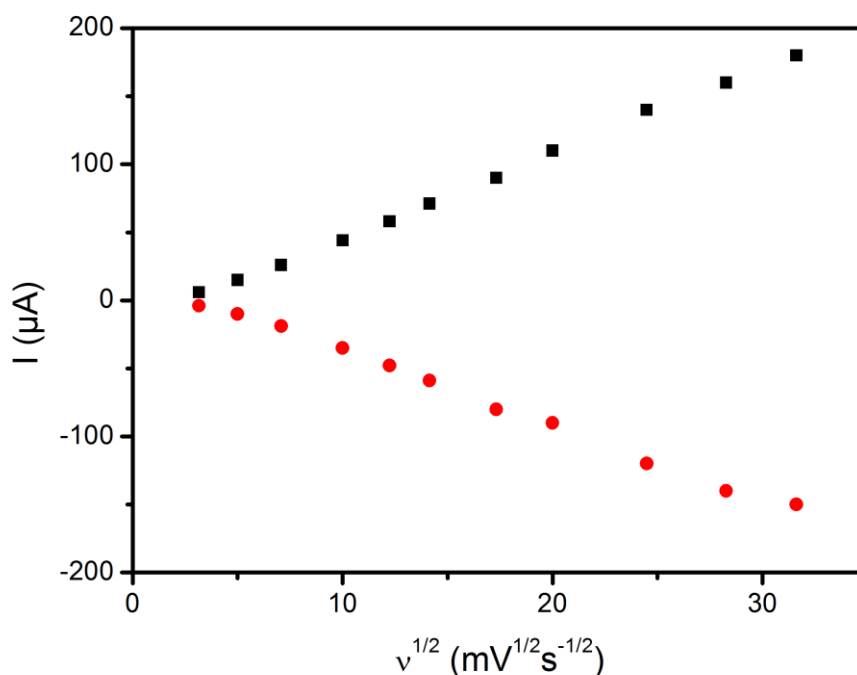
Obr. 15: Cyklické voltamogramy naměřeny při skenovacích rychlostech: 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300, 400 mV/s.

Elektrolyt 500mM NaOH.



Obr. 16: Závislost hodnot proudu oxidačního a redukčního píku na skenovací rychlosti.

Elektrolyt 500mM NaOH.



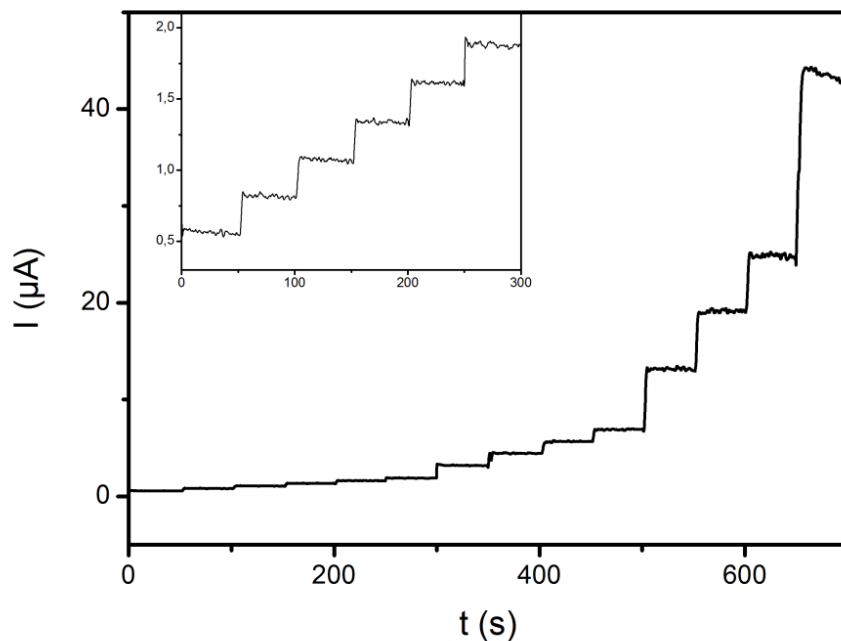
Obr. 17: Závislost hodnot proudu oxidačního a redukčního píku na druhé odmocnině ze skenovací rychlosti.

Elektrolyt 500mM NaOH.

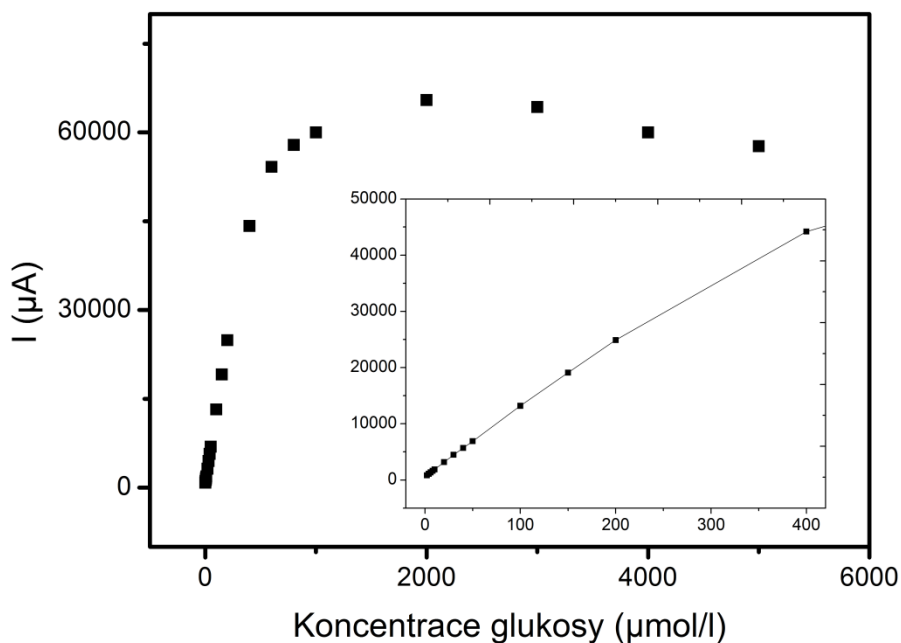
4.6 Analytické vlastnosti SPCE ojikřené slitinou CuNi 50/50

U vyrobených senzorů byly naměřeny kalibrační závislosti proudu na koncentraci glukosy. Měření byla prováděna v 500mM NaOH, při potenciálu 550 mV vs. Ag/AgCl. Glukosa byla nastříkována v přidavcích tak, aby se její koncentrace v cele zvyšovala tímto způsobem: 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200, 400, 600, 800, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 μmol/l. (Obr. 18 a 19) Odezva SPCE byla lineární pouze v nízkých koncentracích glukosy (2 – 400 μmol/l), při vyšších koncentracích glukosy docházelo patrně k zanášení aktivních míst elektrody a ke snižování odezvy na glukosu. Snižování odezvy bylo pravděpodobně způsobeno adsorpcí produktů oxidace glukosy na aktivní místa elektrody.

Pro rozšíření LDR senzoru byly jako vhodné materiály testovány polymerní látky nafion a polyethylenimin (PEI). Na elektrodu byly nanášeny v různých koncentracích (0,5%; 0,2%; 0,1% v ethanolu). Nafion a PEI však způsobily utlumení odezvy SPCE a neměly žádný vliv na rozšíření LDR senzoru. Obě látky pravděpodobně zabránily přístupu glukosy k elektrodě.



Obr. 18: Amperometrický záznam různých přidavků glukosy v rozmezí 0 – 400 µmol/l, vsazený obr. přibližuje detail pouze prvních 5 přidavků (každý 2 µmol/l) glukosy. Elektrolyt 500mM NaOH; potenciál 550 mV vs. Ag/AgCl.

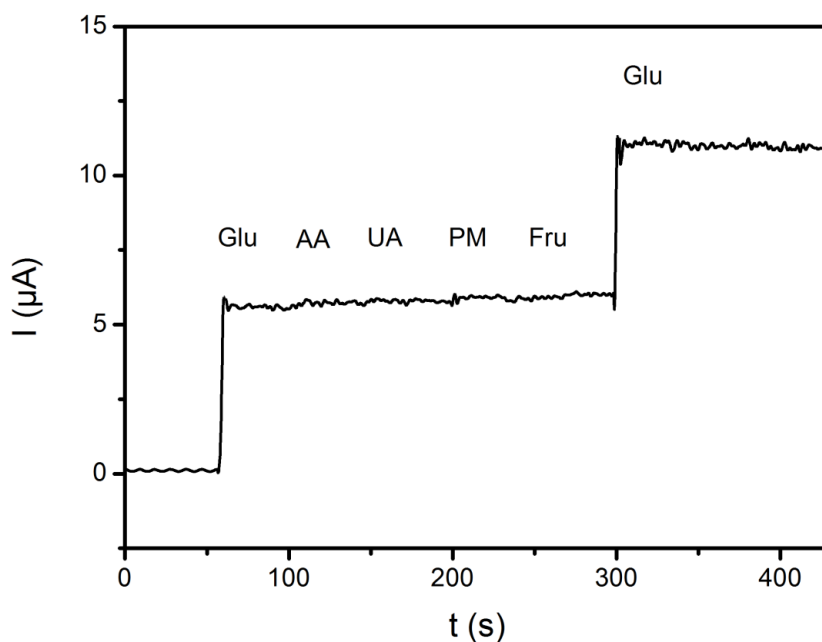


Obr. 19: Kalibrační křivka amperometrického měření z Obr. 18 v rozmezí 2 – 5000 µmol/l glukosy; vsazený obr. je LDR této elektrody.

LOD ($S/N = 3$) je pro tuto elektrodu $0,6 \mu\text{mol/l}$ glukosy a LOQ ($S/N = 10$) je $1,8 \mu\text{mol/l}$ glukosy. Citlivost tohoto senzoru je $270 \mu\text{A}/\text{mM}\cdot\text{cm}^2$. Relativní směrodatná odchylka (RSD) měření byla 4 % pro $2 \mu\text{M}$ glukosu ($n = 5$) a pro $10 \mu\text{M}$ glukosu ($n = 4$).

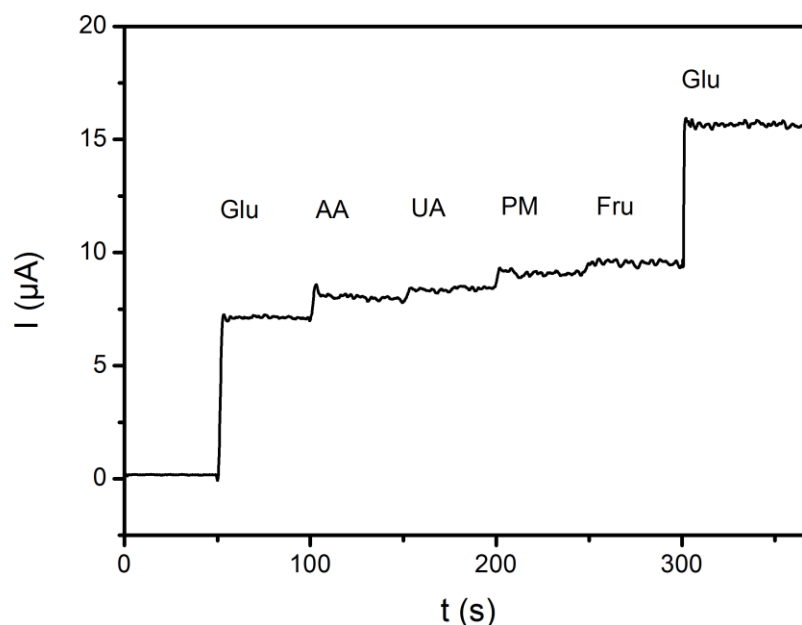
4.7 Interference

Měření glukosy v reálných vzorcích (např. krev, krevní plasma, moč) je ovlivňováno množstvím látek, jež lze snadno oxidovat. Je tedy nutné prostudovat jejich vliv na odezvu senzoru. Amperometricky byly testovány interferenty, které se vyskytují v lidské krvi – AA, UA, PM a fruktosa. Měření probíhalo v 500mM NaOH při potenciálu 550mV vs. Ag/AgCl. Na Obr. 20 je amperometrický záznam glukosy o koncentraci $90 \mu\text{mol/l}$ a interferentů o koncentraci $3 \mu\text{mol/l}$, tedy poměr 30:1, ve kterém se reálně vyskytují v krvi. Na Obr. 21 jsou amperometrické odezvy glukosy o koncentraci $100 \mu\text{mol/l}$ ve srovnání s odezvami interferentů o koncentraci $10 \mu\text{mol/l}$, tedy poměr glukosy ku interferentu je 10:1. Je zřejmé, že v obou případech interferenty nijak významně neovlivňují stanovení glukosy.



Obr. 20: Amperometrický záznam glukosy ($90 \mu\text{mol/l}$) a interferentů ($3 \mu\text{mol/l}$) v poměru 30:1.

Elektrolyt 500mM NaOH; potenciál 550mV vs. Ag/AgCl.



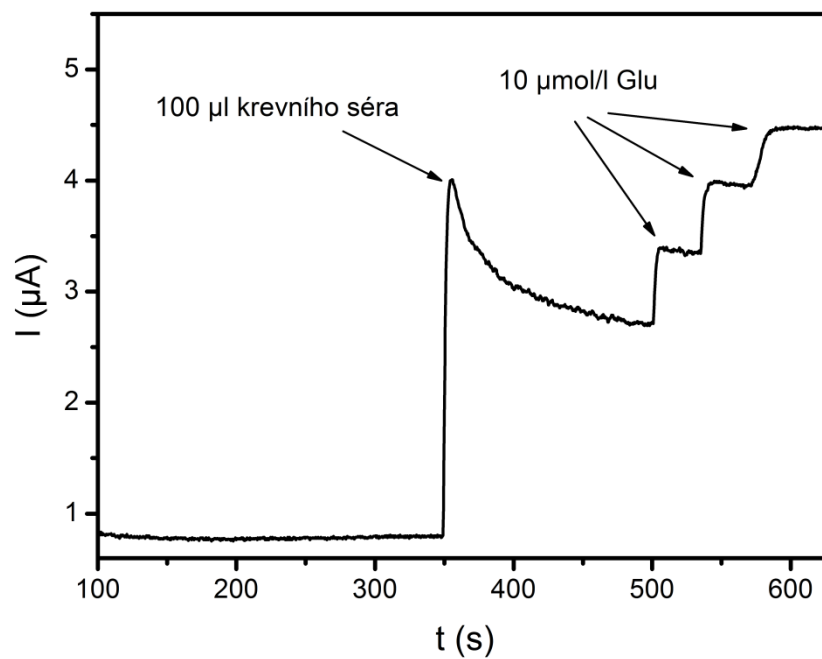
Obr. 21: Amperometrické odezvy glukosy ($100 \mu\text{mol/l}$) a odezvy interferentů AA, UA, PM a fruktosy ($10 \mu\text{mol/l}$) v poměru 10:1.

Elektrolyt 500mM NaOH ; potenciál $550 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$.

4.8 Stanovení glukosy ve vzorku krevního séra

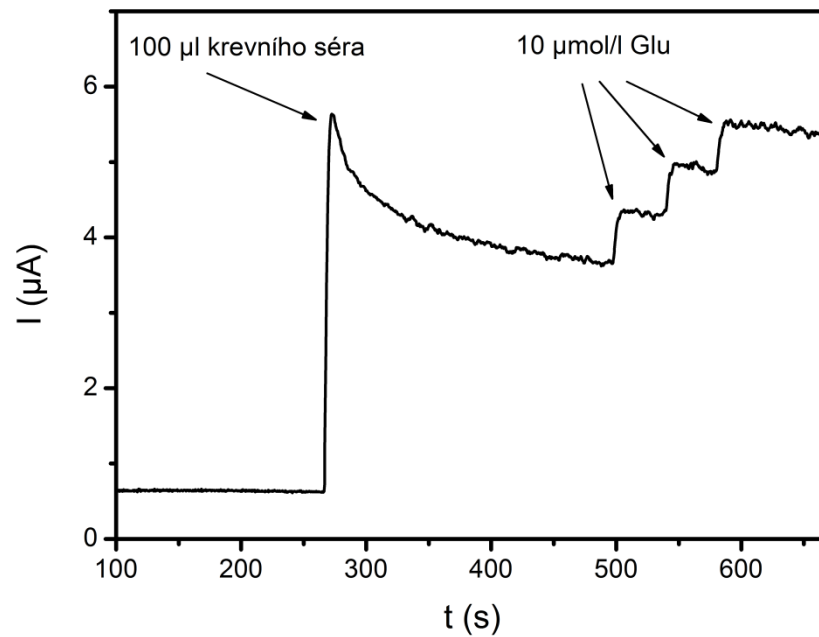
Glukosa byla amperometricky stanovována ve vzorku krevního séra metodou standardního přidavku. Nejprve bylo $100 \mu\text{l}$ séra bez úpravy nadávkováno do cely a měřeno při potenciálu $550 \text{ mV vs. Ag/AgCl}$ v 500mM NaOH . Byly provedeny 3 nástřiky standardního roztoku glukosy o koncentraci $10 \mu\text{mol/l}$ (Obr. 22). Poté bylo do krevního séra přidáno $50 \mu\text{l}$ 500mM standardního roztoku glukosy. Přídavek způsobil nárůst koncentrace v krevním séru o 5 mmol/l glukosy. Ospikované sérum bylo měřeno stejným způsobem jako sérum bez úpravy (Obr. 23).

Koncentrace glukosy v neupraveném krevním séru byla stanovena $8,674 \text{ mmol/l}$. V ospikovaném krevním séru bylo stanoveno $13,52 \text{ mmol/l}$ glukosy. Rozdíl těchto koncentrací činí $4,85 \text{ mmol/l}$ glukosy. Jelikož byl původně vzorek séra ospikován 5 mmol/l glukosy, výtěžnost metody je 97% .



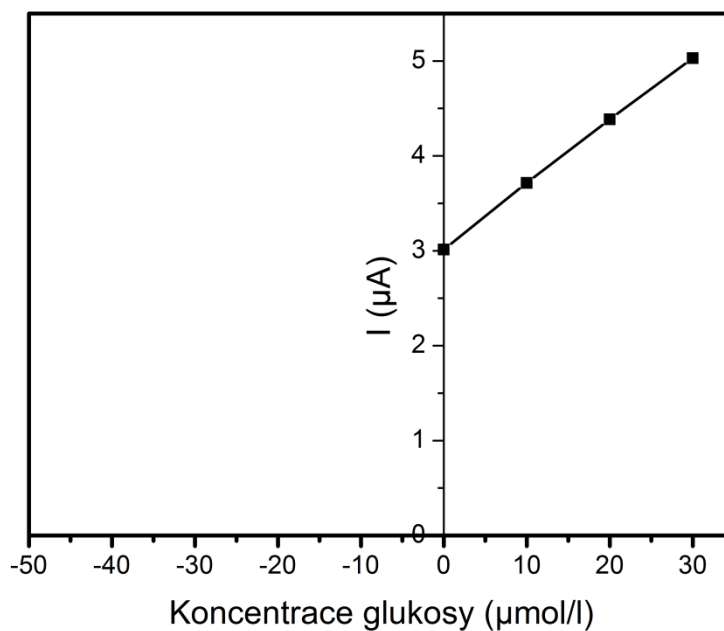
Obr. 22: Amperometrický záznam stanovení glukosy metodou standardního přidavku v krevním séru bez úpravy.

Nástřik 100 µl séra a 3 přidavků standardního roztoku glukosy o koncentraci 10 µmol/l; elektrolyt 500mM NaOH; potenciál 550 mV vs. Ag/AgCl.



Obr. 23: Amperometrický záznam stanovení glukosy metodou standardního přídavku v krevním séru s přídavkem 500 mmol/l glukosy.

Nástřík 100 μl ospikovaného séra a 3 přídavků standardního roztoku glukosy o koncentraci 10 μmol/l; elektrolyt 500mM NaOH; potenciál 550 mV vs. Ag/AgCl.



Obr. 24: Grafické znázornění metody standardního přídavku stanovení glukosy v ospikovaném krevním séru

5 Závěr

Cílem diplomové práce bylo využití SPCE modifikovaných kovy pomocí jiskrového výboje. Kovy modifikované SPCE byly použity ke stanovení glukosy. SPCE byly modifikovány mědí, niklem a jejich třemi slitinami v hmotnostních poměrech – CuNi 75/25, CuNi 50/50, CuNi 25/75. Z amperometrických měření se ukázalo, že nejlepší k modifikaci je slitina CuNi 50/50, protože vykazuje nejlepší poměr signál/šum. SPCE modifikována touto slitinou byla ocharakterizována pomocí SEM, EDS a XPS. Pomocí XPS bylo zjištěno, že celkový obsah mědi na SPCE byl 1,8 atomových % a celkový obsah niklu 0,7 atomových %.

Dále byly nalezeny optimální podmínky modifikace elektrod. Nejefektivnější počet jisker mezi kovem a elektrodou byl 60. Při ojiskřování musela být SPCE zapojena jako anoda. Byly vyvinuty vhodné podmínky analýzy glukosy. Nejvhodnější koncentrace základního elektrolytu se prokázala 500mM NaOH a detekční potenciál byl zvolen 0,55 V. Byly také otestovány analytické vlastnosti senzorů. LOD (S/N = 3) senzoru byl 0,6 $\mu\text{mol/l}$ glukosy. LOQ (S/N = 10) byl 1,8 $\mu\text{mol/l}$ glukosy. LDR byl 2 – 400 $\mu\text{mol/l}$ glukosy. Citlivost tohoto senzoru byla 270 $\mu\text{A/mM}\cdot\text{cm}^2$. RSD měření byla 4 % pro 2 μM glukosu (n = 5) a pro 10 μM glukosu (n = 4).

V závěru práce byl zkoumán vliv interferentů AA, UA, PM a fruktosy. Tyto interferenty měly na stanovení zanedbatelný vliv. Nakonec byla glukosa stanovena i ve vzorku krevního séra s výtěžností 97 %.

6 Seznam použitých zkratk

AA	kyselina askorbová (ascorbic acid)
ASV	anodická rozpouštěcí voltametrie (anodic stripping voltammetry)
BDD	borem dopovaný diamant (boron doped diamond)
CAdSV	katodická adsorpční rozpouštěcí voltametrie (catalytic adsorptive stripping voltammetry)
CF	uhlíkové vlákno (carbon fibre)
CFE	elektroda z uhlíkového vlákna (carbon fiber electrode)
CME	chemicky modifikovaná elektroda (chemically modified electrode)
CPE	uhlíková pastová elektroda (carbon paste electrode)
CV	cyklická voltametrie (cyclic voltammetry)
DA	dopamin
DME	kapající rtuťová elektroda (dropping mercury electrode)
DPASV	diferenčně pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie (differential pulse anodic stripping voltammetry)
EDS	elektronově disperzní spektroskopie (energy dispersive x-ray spectroscopy)
FIA	průtoková injekční analýza (flow injection analysis)
GC	skelný uhlík (glassy carbon)
GCE	elektroda ze skelného uhlíku (glassy carbon electrode)
HMDE	visící kapková rtuťová elektroda (hanging mercury drop electrode)
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (inductively coupled plasma mass spectrometry)
LDR	lineární dynamický rozsah (linear dynamic range)
LOD	limit detekce (limit of detection)
LOQ	limit kvantifikace (limit of quantification)
LSASV	lineární skenovací anodická rozpouštěcí voltametrie (linear scanning anodic stripping voltammetry)
MFE	filmová rtuťová elektroda (mercury film electrode)
PEI	polyethylenimim
PM	paracetamol
RSD	relativní směrodatná odchylka (relative standard deviation)
RVC	síťkovaný skelný uhlík (reticulated vitreous carbon)

SEM	skenovací elektronová mikroskopie (scanning electron microscopy)
SPE	sítotiskem připravená elektroda (screen-printed electrode)
SPCE	sítotiskem připravená elektroda na bázi uhlíkového inkoustu (screen-printed carbon electrode)
SPME	sítotiskem připravené elektrody na bázi kovového inkoustu (screen-printed metal electrode)
SWV	voltametrie se superponovaným pravoúhlým napětím (square wave voltammetry)
SWASV	anodická rozpouštěcí voltametrie se superponovaným pravoúhlým napětím (square wave anodic stripping voltammetry)
UA	kyselina močová (uric acid)
VOC	těkavá organická látka (volatile organic compound)
XPS	rentgenová fotoelektronová spektroskopie (x-ray photoelectron spectroscopy)

7 Literatura

1. J. Wang. Analytical electrochemistry. 3rd ed. Hoboken, N. J.: Wiley-VCH (2006).
2. P. S. Cahill, Q. D. Walker, J. M. Finnegan, G. E. Mickelson, E. R. Travis, R. M. Wightman, Microelectrodes for the measurement of catecholamines in biological systems, *Anal. Chem.* 68 (18) (1996) 3180.
3. F. Bedioui, N. Villeneuve, Electrochemical Nitric Oxide Sensors for Biological Samples – Principle, Selected Examples and Applications, *Electroanalysis* 15 (1) (2003) 5.
4. J. Wang, J. Lu, S. Hocevar, P. Farias, B. Ogorevc, Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry, *Anal. Chem.* 72 (14) (2000) 3218.
5. C. G. Zoski. Handbook of electrochemistry. 1st ed. Amsterdam: Elsevier (2007).
6. R. N. Adams, *Electrochemistry at Solid Electrodes*, Marcel Dekker, New York, 1969.
7. J. Wang, Reticulated vitreous carbon—a new versatile electrode material, *Electrochim. Acta* 26 (12) (1981) 1721.
8. K. Kalcher, Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis, *Electroanalysis* 2 (6) (1990) 419.
9. E. Csöregi, L. Gorton, G. Marko-Varga, Carbon fibres as electrode materials for the construction of peroxidase-modified amperometric biosensors, *Anal. Chim. Acta* 273 (1-2) (1993) 59.
10. P. S. Cahill, Q. D. Walker, J. M. Finnegan, G. E. Mickelson, E. R. Travis, R. M. Wightman, Microelectrodes for the Measurement of Catecholamines in Biological Systems, *Anal. Chem.* 68 (18) (1996) 3180.
11. T. Edmonds, Electroanalytical applications of carbon fibre electrodes, *Anal. Chim. Acta* 175 (1985) 1.
12. C. Terashima, T. N. Rao, B. V. Sarada, D. A. Tryk, A. Fujishima, Electrochemical oxidation of chlorophenols at a boron-doped diamond electrode and their determination by high-performance liquid chromatography with amperometric detection, *Anal. Chem.* 74 (4) (2002) 895.
13. F. Marken, C. A. Paddon, D. Asogan, Direct cytochrome c electrochemistry at boron-doped diamond electrodes, *Electrochem. Commun.* 4 (1) (2002) 62.
14. B.R. Eggings, *Chemical Sensors and Biosensors*, John Wiley and Sons, Chichester, 2002.

15. S. Laschi, I. Palchetti, M. Mascini, Gold-based screen-printed sensor for detection of trace lead, *Sens. Actuators, B* 114 (1) (2006) 460.
16. M.F.M. Noh, I.E. Tothill, Development and characterisation of disposable gold electrodes, and their use for lead(II) analysis, *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (7-8) (2006) 2095.
17. J.M. Zen, C.C. Yang, A.S. Kumar, Voltammetric behavior and trace determination of Pb^{2+} at a mercury-free screen-printed silver electrode, *Anal. Chim. Acta* 464 (2) (2002) 229.
18. K.C. Honeychurch, J.P. Hart, Screen-printed electrochemical sensors for monitoring metal pollutants, *Trac-Trends Anal. Chem.* 22 (7) (2003) 456.
19. J. Krejci, J. Prasek, L. Fucik, S. Khatib, E. Hejatkova, L. Jakubka, L. Giannoudi, Screen-printed sensors with graphite electrodes – comparison of properties and physical method of sensitivity enhancement, *Microelectron. Int.* 21 (3) (2004) 20.
20. M.F. Bergamini, A.L. Santos, N.R. Stradiotto, M.V.B. Zanoni, Flow injection amperometric determination of procaine in pharmaceutical formulation using a screen-printed carbon electrode, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 43 (1) (2007) 315.
21. M.F. Bergamini, M.V. Boldrin Zanoni, Anodic Stripping Voltammetric Determination of Aurothiomalate in Urine Using a Screen-Printed Carbon Electrode, *Electroanalysis* 18 (15) (2006) 1457.
22. J.C. Chen, A.S. Kumar, H.H. Chung, S.H. Chien, M.C. Kuo, J.M. Zen, An enzymeless electrochemical sensor for the selective determination of creatinine in human urine, *Sens. Actuators, B* 115 (1) (2006) 473.
23. M. Vasjari, A. Merkoci, J.P. Hart, S. Alegret, Amino Acid Determination Using Screen-Printed Electrochemical Sensors, *Microchim. Acta* 150 (3-4) (2005) 233.
24. R.M. Pemberton, A. Amine, J.P. Hart, Voltammetric Behavior of Chlorophyll a at a Screen-Printed Carbon Electrode and Its Potential Role as a Biomarker for Monitoring Fecal Contamination, *Anal. Lett.* 37 (8) (2004) 1625.
25. K.C. Honeychurch, J.P. Hart, D.C. Cowell, Voltammetric Behavior and Trace Determination of Lead at a Mercury-Free Screen-Printed Carbon Electrode, *Electroanalysis* 12 (3) (2000) 171.

26. K.C. Honeychurch, D.M. Hawkins, J.P. Hart, D.C. Cowell, Voltammetric behaviour and trace determination of copper at a mercury-free screen-printed carbon electrode, *Talanta* 57 (3) (2002) 565.
27. J.W. Dilleen, S.D. Sprules, B.J. Birch, B.G.D. Haggett, Electrochemical determination of silver in photographic solutions using fixed-volume single-use sensors, *Analyst* 123 (12) (1998) 2905.
28. J. Wang, B.M. Tian, Screen-Printed Stripping Voltammetric Potentiometric Electrodes for Decentralized Testing of Trace Lead, *Anal. Chem.* 64 (15) (1992) 1706.
29. J. Wang, Decentralized electrochemical monitoring of trace metals: from disposable strips to remote electrodes, *Analyst* 119 (1994) 763.
30. D. Desmond, B. Lane, J. Alderman, M. Hill, D.W.M. Arrigan, J.D. Glennon, An environmental monitoring system for trace metals using stripping voltammetry, *Sens. Actuators, B* 48 (1-3) (1998) 409.
31. D. Desmond, B. Lane, J. Alderman, G. Hall, M. AlvarezIcaza, A. Garde, J. Ryan, L. Barry, G. Svehla, D.W.M. Arrigan, L. Schniffner, An ASIC-based system for stripping voltammetric determination of trace metals, *Sens. Actuators, B* 34 (1-3) (1996) 466.
32. I. Palchetti, S. Laschi, M. Mascini, Miniaturised stripping-based carbon modified sensor for in field analysis of heavy metals, *Anal. Chim. Acta* 530 (1) (2005) 61.
33. C. Parat, S. Betelu, L. Authier, M. Potin-Gautier, Determination of labile trace metals with screen-printed electrode modified by a crown-ether based membrane, *Anal. Chim. Acta* 573–574 (2006) 14.
34. J.-Y. Choi, K. Seo, S.-R. Cho, J.-R. Oh, S.-H. Kahng, J. Park, Screen-printed anodic stripping voltammetric sensor containing HgO for heavy metal analysis, *Anal. Chim. Acta* 443 (2) (2001) 241.
35. J. Wang, U.A. Kirgoz, J.M. Lu, Stripping voltammetry with the electrode material acting as a ‘built-in’ internal standard, *Electrochem. Commun.* 3 (2001) 703.
36. R.O. Kadara, I.E. Tothill, Stripping chronopotentiometric measurements of lead(II) and cadmium(II) in soils extracts and wastewaters using a bismuth film screen-printed electrode assembly, *Anal. Bioanal. Chem.* 378 (3) (2004) 770.
37. O. Domínguez Renedo, M.A. Alonso-Lomillo, M.J. Arcos Martínez, Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications, *Talanta* 73 (2) (2007) 202.

38. J. Wang, B. Tian, Mercury-free disposable lead sensors based on potentiometric stripping analysis of gold-coated screen-printed electrodes, *Anal. Chem.* 65 (11) (1993) 1529.
39. J. Wang, B. Tian, Screen-printed electrodes for stripping measurements of trace mercury, *Anal. Chim. Acta* 274 (1) (1993) 1.
40. P. Masawat, S. Liawruangrath, J.M. Slater, Flow injection measurement of lead using mercury-free disposable gold-sputtered screen-printed carbon electrodes (SPCE), *Sens. Actuators, B* 91 (1-3) (2003) 52.
41. J.M. Slater, J.W. Dilleen, Screen-printed voltammetric sensors for 2-furaldehyde based on nickel-modified and amalgam-stabilized mercury-coated carbon inks, *Electroanalysis* 9 (17) (1997) 1353.
42. M. Chikae, K. Idegami, K. Kerman, N. Nagatani, M. Ishikawa, Y. Takamura, E. Tamiya, Direct fabrication of catalytic metal nanoparticles onto the surface of a screen-printed carbon electrode, *Electrochem. Commun.* 8 (2006) 1375.
43. Y.S. Song, G. Muthuraman, Y.Z. Chen, C.C. Lin, J.M. Zen, Screen Printed Carbon Electrode Modified with Poly(L-Lactide) Stabilized Gold Nanoparticles for Sensitive As(III) Detection, *Electroanalysis* 18 (18) (2006) 1763.
44. O. Dominguez, J. Arcos, A novel method for the anodic stripping voltammetry determination of Sb(III) using silver nanoparticle-modified screen-printed electrodes, *Electrochem. Comm.* 9 (4) (2007) 820.
45. J. Wang, T. Baomin, R. Setiadji, Disposable electrodes for field screening of trace uranium, *Electroanalysis* 6 (4) (1994) 317.
46. C.G. Neuhold, J. Wang, V.B. do Nascimento, K. Kalcher, Thick film voltammetric sensors for trace copper based on a cation-exchanger-modified surface, *Talanta* 42 (11) (1995) 1791.
47. J. Wang, P.V.A. Pamidi, Disposable screen-printed electrodes for monitoring hydrazines, *Talanta* 42 (3) (1995) 463.
48. J. Lin, D.M. Zhou, S.B. Hocevar, E.T. McAdams, B. Ogorevc, X.J. Zhang, Nickel hexacyanoferrate modified screen-printed carbon electrode for sensitive detection of ascorbic acid and hydrogen peroxide, *Front Biosci.* 10 (2005) 483.

49. K. Schachl, H. Alemu, K. Kalcher, H. Moderegger, I. Svancara, K. Vytras, Amperometric determination of hydrogen peroxide with a manganese dioxide film-modified screen printed carbon electrode, *Fresenius J. Anal. Chem.* 362 (2) (1998) 194.
50. J.M. Zen, J.L. Chang, P.Y. Chen, R. Ohara, K.C. Pan, Flow injection analysis of sulfide using a cinder/tetracyano nikelate modified screen-printed electrode, *Electroanalysis* 17 (9) (2005) 739.
51. J.S. Rigden, *Macmillan Encyclopedia of Physics*, Simon & Schuster Macmillan, New York, 1996.
52. N. S. Tabrizi, M. Ullmann, V. A. Vons, U. Lafont, A. Schmidt-Ott, Generation of nanoparticles by spark discharge, *J Nanopart Res*, 11 (2) (2009) 315-332.
53. (R. N. Szenete, R. J. Munz, M. G. Drouet, Copper–niobium and copper–tungsten composites as plasma torch cathodes, *J Phy D: Appl Phys* 27 (1994) 1443–1447.)
54. E.C. Jameson, *Electrical Discharge Machining*, Society of Manufacturing Engineers, 2001.
55. Z.W. Song, H. Dai, Bismuth titanate films produced by the tanodic spark deposition technique, *Mater. Lett.* 123 (2014) 138–141.
56. W. Thongsuwan, T. Kumpika, P. Singjai, Photocatalytic property of colloidal TiO₂ nanoparticles prepared by sparking process, *Curr. Appl. Phys.* 8 (2008) 563–568.
57. T. Kumpika, W. Thongsuwan, P. Singjai, Atomic force microscopy imaging of ZnO nanodots deposited on quartz by sparking off different tip shapes, *Surf. Interface Anal.* 39 (2007) 58–63.
58. K. Inyawilert, A. Wisitsora-at, A. Tuantranont, P. Singjai, S. Phanichphant, C. Liewhiran, Ultra-rapid VOCs sensors based on sparked-In₂O₃ sensing films, *Sensors Actuators B Chem.* 192 (2014) 745–754.
59. J.H. Byeon, J.W. Kim, Fabrication of bimetallic nanostructures via aerosol-assisted electroless silver deposition for catalytic CO conversion, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 6 (2014) 3105–3110.
60. Y.L. Li, X.H. Zhong, A.H. Windle, Structural changes of carbon nanotubes in their macroscopic films and fibers by electric sparking processing, *Carbon* 46 (2008) 1751–1756.

61. H. Na, J.H. Park, J. Hwang, J. Kim, Site-specific growth and density control of carbon nanotubes by direct deposition of catalytic nanoparticles generated by spark discharge, *Nanoscale Res. Lett.* 8 (2013) 409.
62. D. Riman, D. Jirovský, J. Hrbáč, M. I. Prodromidis, Green and facile electrode modification by spark discharge: Bismuth oxide-screen printed electrodes for the screening of ultra-trace Cd(II) and Pb(II), *Electrochem Commun* 50 (2015) 20-23.
63. D. Riman, A. Avgeropoulos, J. Hrbáč, M. I. Prodromidis, Sparked-bismuth oxide screen-printed electrodes for the determination of riboflavin in the sub-nanomolar range in non-deoxygenated solutions, *Electrochim. Acta* 165 (2015) 410-415.
64. E. H. El-Ads, A. Galal, N. F. Atta, Electrochemistry of glucose at gold nanoparticles modified graphite/SrPdO₃ electrode – Towards a novel non-enzymatic glucose sensor, *J Electroanal Chem* 749 (2015) 42-52.
65. Z. Pu, R. Wang, J. Wu, H. Yu, K. Xu, D. Li, A flexible electrochemical glucose sensor with composite nanostructured surface of the working electrode, *Sens. Actuator B-Chem.* 230 (2016) 801-809.
66. H. Heli, O. Amirzadeh, Non-enzymatic glucose biosensor based on hyperbranched pine-like gold nanostructure, *Mater Sci Eng C* 63 (2016) 150-154.
67. G. Zhong, W. Zhang, Y. Sun, Y. Wei, Y. Lei, H. Peng, A. Liu, Y. Chen, X. Lin, A nonenzymatic amperometric glucose sensor based on three dimensional nanostructure gold electrode, *Sens. Actuator B-Chem.* 212 (2015) 72-77.
68. M. C. D. Cooray, Y. Liu, S. J. Langford, A. M. Bond, J. Zhang, One pot synthesis of poly(5-hydroxyl-1,4-naphthoquinone) stabilized gold nanoparticles using the monomer as the reducing agent for nonenzymatic electrochemical detection of glucose, *Anal. Chim. Acta* 856 (2015) 27-34.
69. W. He, Y. Sun, J. Xi, A. A. M. Abdurhman, J. Ren, H. Duan, Printing graphene-carbon nanotube-ionic liquid gel on graphene paper: Towards flexible electrodes with efficient loading of PtAu alloy nanoparticles for electrochemical sensing of blood glucose, *Anal. Chim. Acta* 903 (2016) 61-68.
70. Y. Hu, W. Du, C. Chen, Fabrication of Flower-shaped Pt-Au-graphene Nanostructure and its Application in Electrochemical Detection of Glucose, *Chinese J Anal Chem* 42 (2014) 1240-1244.

71. G. Wu, X. Song, Y. Wu, X. Chen, F. Luo, X. Chen, Non-enzymatic electrochemical glucose sensor based on platinum nanoflowers supported on graphene oxide, *Talanta* 105 (2013) 379-385.
72. X. Niu, M. Lan, C. Chen, H. Zhao, Nonenzymatic electrochemical glucose sensor based on novel Pt–Pd nanoflakes, *Talanta* 99 (2012) 1062-1067.
73. Q. Wu, Q. Sheng, J. Zheng, Nonenzymatic sensing of glucose using a glassy carbon electrode modified with halloysite nanotubes heavily loaded with palladium nanoparticles, *J Electroanal Chem* 762 (2016) 51-58.
74. B. Haghighi, B. Kamiri, M. Tavahodi, H. Behzadnia, Fabrication of a nonenzymatic glucose sensor using Pd-nanoparticles decorated ionic liquid derived fibrillated mesoporous carbon, *Mater Sci Eng C* 52 (2015) 216-224.
75. R. A. Soomro, A. Nafady, Z. H. Ibupoto, Sirajuddin, S. T. H. Sherazi, M. Willander, M. I. Abro, Development of sensitive non-enzymatic glucose sensor using complex nanostructures of cobalt oxide, *Mat Sci Semicon Proc* 34 (2015) 373-381.
76. A. Benchettara, A. Benchettara, Electrochemical Sensor Based on Nanoparticles of Cobalt Oxides for Determination of Glucose, *Mater Today* 2 (2015) 4212-4216.
77. L. Kang, D. He, L. Bie, P. Jiang, Nanoporous cobalt oxide nanowires for non-enzymatic electrochemical glucose detection, *Sens. Actuator B-Chem.* 220 (2015) 888-894.
78. M. R. Mahmoudian, W. J. Basirun, P.M. Woi, M. Sookhikian, R. Yousefi, H. Ghadimi, Y. Alias, Synthesis and characterization of Co_3O_4 ultra-nanosheets and Co_3O_4 ultra-nanosheet- $\text{Ni}(\text{OH})_2$ as non-enzymatic electrochemical sensors for glucose detection, *Mater Sci Eng C* 59 (2016) 500-508.
79. D. Xu, L. Luo, Y. Ding, P. Xu, Sensitive electrochemical detection of glucose based on electrospun $\text{La}_{0.88}\text{Sr}_{0.12}\text{MnO}_3$ nanofibers modified electrode, *Anal. Biochem.* 489 (2015) 38-43.
80. B. Zheng, G. Liu, A. Yao, Y. Xiao, J. Du, Y. Guo, D. Xiao, Q. Hu, M. M. F. Choi, A sensitive AgNPs/CuO nanofibers non-enzymatic glucose sensor based on electrospinning technology, *Sensor Actuat B-Chem* 195 (2014) 431.
81. F. A. Gutierrez, M. D. Rubianes, G. A. Rivas, Electrochemical sensor for amino acids and glucose based on glassy carbon electrodes modified with multi-walled carbon nanotubes and copper microparticles dispersed in polyethylenimine, *J Electroanal Chem* 765 (2016) 16-21.

82. Y. Wang, S. Zhang, W. Bai, J. Zheng, Layer-by-layer assembly of copper nanoparticles and manganese dioxide-multiwalled carbon nanotubes film: A new nonenzymatic electrochemical sensor for glucose, *Talanta* 149 (2016) 211-216.
83. V. Mani, R. Devasenathipathy, S. Chen, S. Wang, P. Devi, Y. Tai, Electrodeposition of copper nanoparticles using pectin scaffold at graphene nanosheets for electrochemical sensing of glucose and hydrogen peroxide, *Electrochim Acta* 176 (2015) 804-810.
84. A. A. Ensafi, M. M. Abarghoui, B. Rezaei, A new non-enzymatic glucose sensor based on copper/porous silicon nanocomposite, *Electrochim Acta* 123 (2014) 219.
85. P. Salazar, V. Rico, R. Rodríguez-Amaro, J. P. Espinós, A. R. González-Elipe, New Copper wide range nanosensor electrode prepared by physical vapor deposition at oblique angles for the non-enzymatic determination of glucose, *Electrochim Acta* 169 (2015) 195.
86. L. Liu, Y. Chen, H. Lv, G. Wang, X. Hu, C. Wang, Construction of a non-enzymatic glucose sensor based on copper nanoparticles/poly(o-phenylenediamine) nanocomposites 19 (2015) 731.
87. Y. Li, Y. Zhong, Y. Zhang, W. Weng, S. Li, Carbon quantum dots/octahedral Cu_2O nanocomposites for non-enzymatic glucose and hydrogen peroxide amperometric sensor, *Sensor Actuat B-Chem* 206 (2015) 735.
88. C. Neetzel, F. Muench, T. Matsutani, J. C. Jaud, J. Broetz, T. Ohgai, W. Ensinger, Facile wet-chemical synthesis of differently shaped cuprous oxideparticles and a thin film: Effect of catalyst morphology on the glucose sensing performance, *Sensor Actuat B-Chem* 214 (2015) 189.
89. H. Yao, X. Zeng, D. Zhang, L. Liu, B. Yuan, Shape-controlled Synthesis of Cu_2O Microstructures at Glassy Carbon Electrode by Electrochemical Method for Non-enzymatic Glucose Sensor, *Int. J. Electrochem. Sci.* 8 (2013) 12184.
90. T. Alizadeh, S. Mirzagholidpur, A Nafion-free non-enzymatic amperometric glucose sensor based on copper oxide nanoparticles-graphene nanocomposite, *Sensor Actuat B-Chem* 198 (2014) 438.
91. C. Li, H. Yamahara, Y. Lee, H. Tabata, J. Delaunay, CuO nanowire/microflower/nanowire modified Cu electrode with enhanced electrochemical performance for nonenzymatic glucose sensing, *Nanotechnology* 26 (2015) 305503.

92. J. Dong, L. Ren, Y. Zhang, X. Cui, P. Hu, J. Xu, Direct electrodeposition of cable-like CuO@Cu nanowires array for non-enzymatic sensing, *Talanta* 132 (2015) 719.
93. S. SoYoon, A. Ramadoss, B. Saravanakumar, S. J. Kim, Novel Cu/CuO/ZnO hybrid hierarchical nanostructures for non-enzymatic glucose sensor application, *J. Electroanal. Chem.* 717-718 (2014) 90.
94. C. Li, M. Kurniawan, D. Sun, H. Tabata, J. Delaunay, Nanoporous CuO layer modified Cu electrode for high performance enzymatic and non-enzymatic glucose sensing, *Nanotechnology* 26 (2015) 015503.
95. M. Guo, P. Wang, C. Zhou, Y. Xia, W. Huang, Z. Li, An ultrasensitive non-enzymatic amperometric glucose sensor based on a Cu-coated nanoporous gold film involving co-mediating, *Sensor Actuat B-Chem* 203 (2014) 388.
96. M. U. A. Prathap, B. Kaur, R. Srivastava, Direct synthesis of metal oxide incorporated mesoporous SBA-15, and their applications in non-enzymatic sensing of glucose, *J. Colloid Interface Sci.* 381 (2012) 143.
97. B. Wang, S. Li, J. Liu, M. Yu, Preparation of nickel nanoparticle/graphene composites for non-enzymatic electrochemical glucose biosensor applications, *Mater Res Bull* 49 (2014) 521.
98. T. Choi, S. H. Kim, C. W. Lee, H. Kim, S. Choi, S. Kim, E. Kim, J. Park, H. Kim, Synthesis of carbon nanotube–nickel nanocomposites using atomic layer deposition for high-performance non-enzymatic glucose sensing, *Biosens. Bioelectron.* 63 (2015) 325.
99. C. Kung, Y. Cheng, K. Ho, Single layer of nickel hydroxide nanoparticles covered on a porous Ni foam and its application for highly sensitive non-enzymatic glucose sensor, *Sensor Actuat B-Chem* 204 (2014) 159.
100. A. Ciszewski, I. Stepniak, Nanoparticles of Ni(OH)₂ embedded in chitosan membrane as electrocatalyst for non-enzymatic oxidation of glucose, *Electrochim. Acta* 111 (2013) 185.
101. J. Yang, M. Cho, C. Pang, Y. Lee, Highly sensitive non-enzymatic glucose sensor based on over-oxidized polypyrrole nanowires modified with Ni(OH)₂ nanoflakes, *Sensor Actuat B-Chem* 211 (2015) 93.
102. J. Chen, J. Zheng, A highly sensitive non-enzymatic glucose sensor based on tremella-like Ni(OH)₂ and Au nanohybrid films, *J. Electroanal. Chem* 749 (2015) 83.

103. H. Liu, X. Wu, B. Yang, Z. Li, L. Lei, X. Zhang, Three-Dimensional Porous NiO Nanosheets Vertically Grown on Graphite Disks for Enhanced Performance Non-enzymatic Glucose Sensor, *Electrochim. Acta* 174 (2015) 745.
104. R. A. Soomro, Z. H. Ibupoto, Sirajuddin, M. I. Abro, M. Willander, Electrochemical sensing of glucose based on novel hedgehog-like NiO nanostructures, *Sensor Actuat B-Chem* 209 (2015) 966.
105. X. Luo, Z. Zhang, Q. Wan, K. Wu, N. Yang, Lithium-doped NiO nanofibers for non-enzymatic glucose sensing, *Electrochem Commun* 61 (2015) 89-92.
106. Z. Gao, Y. Han, Y. Wang, J. Xu, Y. Song, One-Step to Prepare Self-Organized Nanoporous NiO/TiO₂ Layers and its Use in Non-Enzymatic Glucose Sensing, *Sci. Rep.* 3 (2013) 3323.
107. R. Hang, Y. Liu, A. Gao, L. Bai, X. Huang, X. Zhang, N. Lin, B. Tang, P. K. Chu, Highly ordered Ni-Ti-O nanotubes for non-enzymatic glucose detection, *Mater Sci Eng C* 51 (2015) 37.
108. C. Lien, J. Chen, C. Hu, D. S. Wong, Cathodic deposition of binary nickel-cobalt hydroxide for non-enzymatic glucose sensing, *J Taiwan Inst Chem Eng* 45 (2014) 846.
109. W. Dai, M. Li, S. Gao, H. Li, C. Li, S. Xu, X. Wu, B. Yang, Fabrication of Nickel/nanodiamond/boron-doped diamond electrode for non-enzymatic glucose biosensor, *Electrochim Acta* 187 (2016) 413-421.
110. X. Zhang, A. Gu, G. Wang, Y. Huang, H. Ji, B. Fang, Porous Cu-NiO modified glass carbon electrode enhanced nonenzymatic glucose electrochemical sensors, *Analyst* 136 (2011) 5175.
111. J. R. Davis, *Copper and Copper Alloys*, ASM International (2001).