

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

**Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie**

**Studium a vývoj elektrochemických senzorů a jejich
aplikace v detekčních systémech**

Disertační práce

Autor práce:

Mgr. Daniel Riman

Vedoucí práce:

doc. RNDr. David Jirovský, Ph.D.

OLOMOUC 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, 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

.....

Vlastnoruční podpis

Poděkování

Rád bych poděkoval svému vedoucímu doc. RNDr. Davidovi Jirovskému, Ph.D. za cenné rady při vypracovávání a psaní disertační práce a za velké množství předaných zkušeností. Obrovské díky patří doc. RNDr. Janovi Hrbáčovi, Ph.D. za náměty a pomoc při sepisování i laboratorní práci, za přístrojové vybavení, které sestavil a zapůjčil, a za možnost vycestovat do zahraničí. Rád bych poděkoval také profesoru Mamantosu Prodromidisovi, Ph.D. za vřelé přijetí a pomoc při zahraničních stážích. Rád poděkoval kolegům v laboratoři, zvláště Mgr. Anetě Hlouškové za pomoc a podporu, Mgr. Janovi Rozsypalovi, Mgr. Vladimírovi Halouzkovi, Ph.D., Mgr. Zdeňce Bartošové, Ph.D. a Bc. Kateřině Krčové a členům katedry analytické chemie. Díky patří také rodičům a sourozencům a v neposlední řadě přítelkyni Oline Špundové za trpělivost, pomoc a podporu při studiu.

Summary

Surfaces of screen printed graphite electrodes (SPGEs) were modified by metal nanoparticles using electric spark discharge. The electric discharge was carried out by bringing into close proximity the SPGE (substrate electrode) and a target metal pin-shaped electrode (serving as a source of the nanomaterial) while connected to a power supply delivering typically 1.2 kV. This modification method was shown as new, simple, very fast and effective way to prepare metal nanoparticles' modified electrodes. Spark discharge is green and economic method of modification due to the zero solvent consumption. Methods of metal nanoparticles modification published in the literature take much longer time and require the use of solvents or electrolytes.

Spark discharge was employed for the preparation of bismuth nanoparticles' modified SPGEs which were applied as disposable mercury-free sensors for sensitive heavy metal sensing. Deposition parameters such as polarity of electrodes, applied voltage and number of spark discharges were optimized. Bismuth sparked electrodes were then characterized using SEM and cyclic voltammetry. Prepared Bi-sparked SPGEs were used for the determination of cadmium and lead. Sensors achieved very low detection limits ($0.2 \mu\text{g.L}^{-1}$ for both metals, for $S/N = 3$), good reproducibility and stability of the signal. Bi-sparked SPGEs were successfully used for the determination of heavy metal content in tap water sample.

Developed Bi-sparked SPGEs were also employed for the determination of riboflavin. Graphite layer on the surface of bismuth nanoparticles prevents the reduction of oxygen on electrodes and allows to measure in non-deoxygenated solutions. Low sensitivity to oxygen simplifies the setup and reduces the time of analysis. Prepared sensors reached very low detection limits of riboflavin (0.7 nmol.L^{-1} for $S/N = 3$) and allowed to determine the riboflavin in a pharmaceutical preparation, specifically a B-complex pill (Zentiva Group a.s. CZ).

To demonstrate wider applicability of the technique, the spark discharge was carried between SPGE and copper, nickel and copper-nickel alloy, respectively. In the case of copper-nickel alloy, XPS measurements confirmed presence of mixed nanoparticles on the SPGE sensor surface. Copper-nickel modified SPGEs were applied as nonenzymatic glucose sensor. Under optimized conditions Cu/Ni-sparked SPGEs reached low limit of detection ($0.6 \mu\text{mol.L}^{-1}$ for $S/N = 3$). Prepared copper-nickel alloy modified SPGEs were used for the determination of glucose level in blood serum sample.

Several successful applications of developed sensors demonstrate the possibility of electrode surface modification by spark discharge. This new method is very fast and simple and offers a viable alternative to “wet” methods.

Obsah

1	ÚVOD	1
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	3
2.1	Elektroanalytické metody	3
2.1.1	Polarografie a voltametrie	4
2.1.2	Linear sweep a cyklická voltametrie	4
2.1.3	Pulzní voltametrické techniky	5
2.1.4	Striping voltametrické metody	8
2.1.5	Amperometrie v míchaném roztoku.....	11
2.2	Kovové elektrody	11
2.2.1	Rtuť	12
2.2.2	Pevné kovové materiály	12
2.3	Uhlíkové elektrody	13
2.3.1	Skelný uhlík.....	14
2.3.2	Uhlíkové pastové elektrody.....	14
2.3.3	Borem dopovaný diamant	15
2.3.4	Uhlíková vlákna	15
2.3.5	Sítotiskem připravené elektrody.....	16
2.4	Bismutem modifikované elektrody	20
2.5	Neenzymatické stanovení glukosy na elektrodách modifikovaných pomocí Cu, Ni a Cu/Ni 25	
2.6	Jiskrový výboj jako metoda přípravy nanočástic	29
3	Experimentální část	31
3.1	Chemikálie, příprava zásobních roztoků a přístrojové vybavení	31
3.2	Příprava elektrod.....	33
3.3	Modifikace elektrod.....	34
3.4	Elektrochemická měření	34
3.5	Úprava a zpracování reálných vzorků	35
4	Výsledky a diskuze.....	37
4.1	Studium jiskrového výboje a jeho užití k modifikaci SPGE pomocí kovových nanočástic	37
4.1.1	Vliv průběhu jiskrového výboje na vznikající senzory	37

4.2	Analytické aplikace SPGE modifikovaných pomocí jiskrového výboje.....	56
4.2.1	Měření olova a kadmia ve vzorcích pitné vody na Bi - SPGE.....	56
4.2.2	Stanovení riboflavinu v tabletě B-komplexu pomocí Bi - SPGE.....	59
4.2.3	Stanovení glukosy ve vzorku krevního séra pomocí Cu/Ni - SPGE.....	63
5	Závěr.....	67

1 ÚVOD

Hmotnostní spektrometrie a chromatografie jsou v dnešní době nejpoužívanější techniky v analytických laboratořích. V některých případech vedou jejich relativně vysoké pořizovací a provozní náklady a také nesnadná miniaturizace k vývoji jednodušších analytických postupů. Vhodnou alternativou mohou být elektroanalytické metody, které díky jednoduchosti, nízkým pořizovacím a provozním nákladům a snadné miniaturizaci nalézají uplatnění v mnoha analytických aplikacích. Kromě konduktometrických a potenciometrických technik se uplatňuje i široké spektrum voltametrických a amperometrických technik, kdy principem je výměna elektronů mezi analytem a pracovní elektrodou. Elektrochemická čidla a ovládací elektroniku lze upravit do podoby přenosných zařízení použitelných k měření v terénu. Vlastnosti pracovní elektrody jsou do značné míry ovlivněny chemickým a materiálovým složením elektrody. Nejpoužívanějšími materiály jsou rtuť, zlato, platina a různé formy uhlíku. Velmi často je prováděna modifikace povrchu elektrod, ať už s cílem snížení ceny vyrobeného senzoru nebo zajištění lepších elektroanalytických vlastností ve srovnání s nemodifikovanou elektrodou - např. selektivity, stability odezvy, vyšší citlivosti k analytům apod. Pro zajištění selektivity a stability odezvy se velmi často využívá modifikace elektrody polymerními vrstvami. Polymerní vrstva představuje bariéru, která zabraňuje interferujícím látkám dosáhnout povrchu elektrody. Zlepšení vlastností elektrody z hlediska vyšší citlivosti k analytům lze dosáhnout buďto pokrytím vrstvou způsobující nahromadění (prekoncentraci) elektroaktivní látky, nebo elektrokatalytickou vrstvou, která usnadňuje elektronovou výměnu mezi elektrodou a analytem. Elektrokatalýzy lze často dosáhnout jednoduchou změnou fyzikálně-chemických vlastností povrchu (typickým postupem je např. elektrochemická aktivace ve vhodném elektrolytu, způsobující funkcionalizaci povrchu). Další možností může být opatření povrchu elektrody modifikátorem, kterým může být vrstva redox aktivního polymeru (velmi často koordinační sloučeniny přechodných kovů). V současnosti jsou široce zkoumány elektrokatalytické vlastnosti nanomateriálů. Často jde o nanočástice kovů, jednoduchých sloučenin kovů (oxidy, sulfidy apod.) nebo nekovové nanomateriály.

Cílem dizertační práce je využití doposud nepublikované úpravy elektrod pomocí jiskrového výboje. Jiskrový výboj prováděný mezi dvěma elektrodami je zdrojem tepla, které vede k odpaření materiálu z povrchu elektrod, který je spolu s ionizovanými molekulami okolní atmosféry převeden do formy plazmatu. V případě použití kovové elektrody jako zdroje materiálu dochází při ochlazení plazmatu ke vzniku nanočástic příslušného kovu, nebo

jeho jednoduchých sloučenin, které mohou vznikat reakcí s okolní atmosférou – např. pokud je jiskrový výboj prováděn na vzduchu, mohou reakcí s kyslíkem vznikat oxidy, s dusíkem nitridy apod. Vzniklé nanomateriály se usazují na protielektrodě, která je jimi modifikována. Jedná se o rychlou, ekologicky a ekonomicky nenáročnou metodu úpravy elektrodového povrchu, která může být alternativou k běžně užívaným složitějším postupům, jako např. nanášení nanomateriálů na elektrodu, pokrývání elektrody v pokovovací lázni apod.

Modifikace jiskrovým výbojem je v disertační práci představena na příkladu tištěné elektrody pokryté nanočásticemi:

1. Oxidu bismutitého, který je prekurzorem nanočástic bismutu. Modifikovaná elektroda je využita pro stanovení iontů těžkých kovů (Pb^{2+} a Cd^{2+}) metodou anodické rozpouštěcí voltametrie s citlivostí dostatečnou pro analýzu přirozeného obsahu uvedených iontů v pitné vodě.
2. Stejná elektroda byla dále využita pro analýzu riboflavinu (vit. B2) jako modelové organické látky.
3. Mědi, niklu a slitin měď-nikl v různém složení, s cílem připravit neenzymatické senzory pro stanovení glukosy v krevní plasmě.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Elektroanalytické metody

Elektroanalytická chemie využívá elektrochemické postupy k získání informací o chemickém složení roztoků. Studovány jsou procesy na fázovém rozhraní mezi zkoumaným roztokem a elektrodou. Měřením elektrických veličin, např. elektrického potenciálu, proudu, odporu, náboje, vodivosti, nebo permitivity, lze získat (semi)kvalitativní a kvantitativní informace o složení měřeného roztoku. Existují dvě základní skupiny elektroanalytických metod:

a) měření fyzikálních vlastností roztoku, při kterých nedochází k elektrochemické přeměně studovaných látek, např. měření elektrické vodivosti (konduktometrie) nebo permitivity roztoků (dielektrimetrie).

b) měření fyzikálních vlastností roztoku, při kterých dochází k chemickým změnám na rozhraní elektroda-roztok, např. elektrický potenciál (potenciometrie), elektrický proud v závislosti na čase (amperometrie) nebo vloženém potenciálu (voltametrie) případně měření prošlého náboje (coulometrie).

Druhou skupinu metod lze rozdělit na takzvané rovnovážné metody, při nichž nedochází k narušení chemické rovnováhy a elektrodami neprochází elektrický proud, a nerovnovážné metody, u nichž průchodem elektrického proudu dochází k elektrochemickým přeměnám studovaných látek. Mezi rovnovážné metody řadíme potenciometrii, při které je nositelem analytické informace elektrodový potenciál, který se ustaluje mezi referentní a indikační elektrodou [1].

Nerovnovážné metody lze rozdělit podle procentuální přeměny analytu během měření. K úplné elektrolytické přeměně analytu dochází u coulometrie, kdy se měří velikost náboje spotřebovaného během elektrodové reakce. K neúplné konverzi analytu dochází při polarografii, voltametrické a amperometrické, při nichž je kontrolován potenciál vkládaný na elektrodu a měřenou veličinou je proud.

2.1.1 Polarografie a voltametrie

Z historického hlediska je jednou ze základních elektroanalytických technik polarografie vyvinutá prof. Jaroslavem Heyrovským (Nobelova cena za chemii, 1959). Měřenou veličinou je proud protékající rtuťovou kapající elektrodou, který se měří v závislosti na lineárně klesajícím potenciálu. Přítomnost elektroaktivních analytů je zaznamenána ve formě polarografických vln. Druh analytu lze určit podle tzv. půlvolného potenciálu, který je charakteristický pro daný analyt v daném prostředí. Výška vlny je dána koncentrací analytu (tzv. limitní proud).

Celkový proud procházející pracovní elektrodou se skládá z několika dílčích proudů. Nositel analytické informace je faradayický proud (I_f) a jeho velikost je úměrná koncentraci analytu. Velikost faradayického proudu s narůstajícím časem kapky roste, takže je maximální v době před odkápnutím rtuti. Druhá část proudu je tzv. kapacitní proud (I_c), který je spojen se vznikem elektrické dvojvrstvy na povrchu rtuti. Vznik dvojvrstvy připomíná nabíjení kondenzátoru. Kapacitní proud je největší v době vzniku kapky (největší nárůst povrchu) a s časem výrazně klesá, což způsobuje oscilace proudu, které zhoršují kvalitu záznamu a jsou jednou z příčin vyšších detekčních limitů metody. Vliv kapacitního proudu lze částečně eliminovat tzv. Tast polarografií, při které je proud vzorkován těsně před odkápnutím kapky [2].

Rtuťová kapající elektroda s sebou nese několik specifíků. Vlastnosti rtuti jako elektrodového materiálu budou rozebrány v oddíle věnujícím se elektrodovým materiálům (viz kap. 2.2.1). V době svého vzniku (20. léta 20. stol.) byla polarografie převratná analytická metoda dovolující jednoduché a rychlé stanovení relativně širokého spektra látek (kovové ionty, redukovatelné organické molekuly, aminokyseliny, proteiny apod.). Při simultánním stanovení více analytů je potřeba, aby rozdíl půlvolných potenciálů mezi analyty byl alespoň 120 mV [3]. Metoda polarografie je citlivá na přítomnost kyslíku v roztoku, jehož dvoustupňová redukce na elektrodě prakticky znemožňuje analýzu a je potřeba jej z roztoku odstraňovat probubláním např. dusíkem. Za nevýhodu lze považovat i velké množství jedovaté rtuti v polarografické laboratoři.

2.1.2 Linear sweep a cyklická voltametrie

V případě využití elektrod, které během analýzy nemění velikost povrchu (pevné elektrody, visící rtuťová kapka (*hanging drop mercury electrode*, HDME) se metoda obdobná polarografii nazývá *linear sweep voltammetry*, LSV. Voltametrické metody lze tedy využít

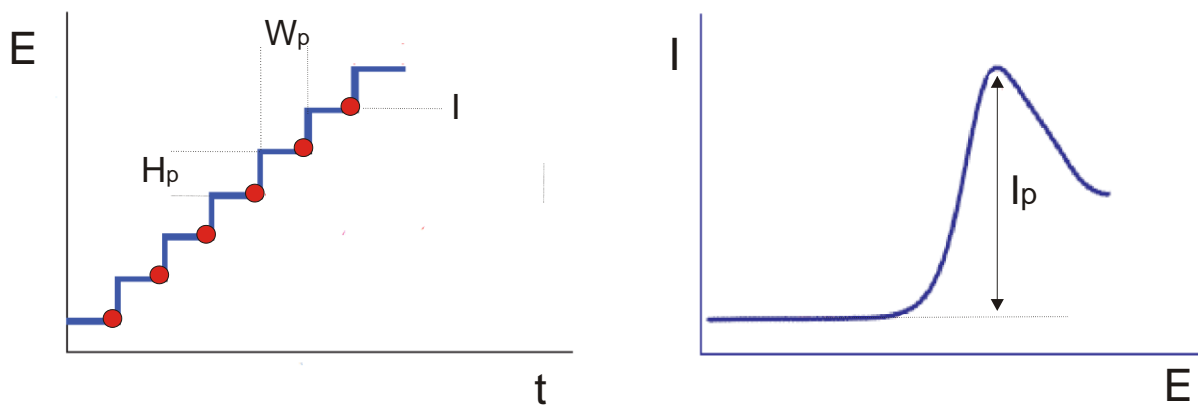
i pro jiné elektrodové materiály než rtuť a na rozdíl od DC polarografie lze používat mnohem vyšší skenovací rychlosti (u DC polarografie jde o jednotky $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$, zatímco při LSV jde typicky o stovky $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$) [4]. Záznam měření (voltamogram) nemá při použití pevné elektrody standardních rozměrů v nemíchaném roztoku tvar polarografické vlny, ale nesymetrického píku (maxima). Zařazením zpětného skenu lze získat více informací o redox přeměnách elektroaktivní látky, např. o kinetice elektrodové reakce, chemických reakcích navázaných na přenos elektronu, adsorpci nebo polymeraci molekul účastnících se elektrochemických reakcí na povrchu elektrody apod. Technika se pak nazývá cyklická voltametrie a kromě studia mechanismu elektrodové reakce je často využívána při optimalizaci dalších elektroanalytických postupů (např. určení pracovního potenciálu pro amperometrii, coulometrii popř. depozičního potenciálu pro stripping analýzu apod.).

2.1.3 Pulzní voltametrické techniky

Využití polarografie, LSV a CV pro elektroanalytické účely je limitováno vysokými detekčními limity uvedených technik. Vysoké hodnoty limitů detekce jsou způsobeny přítomností kapacitních proudů, které vysoce převyšují faradayické proudy (nesoucí analytickou informaci) při nízkých koncentracích analytů. Uvedený problém lze vyřešit vkládáním potenciálových pulzů. Kapacitní proud se snižuje exponenciálně s časem, naproti tomu faradayický proud klesá s odmocninou z času, tedy mnohem pozvolněji. Po určité době trvání pulzu proto existuje optimální poměr $I_f : I_c$. Typicky jde o časy v řádu desítek milisekund a vzorkování proudu prováděné v tomto intervalu po vložení pulzu vede ke snížení limitů detekce. Podle velikosti a způsobu provedení potenciálových pulzů rozeznáváme následující techniky:

2.1.3.1 Staircase voltametrie

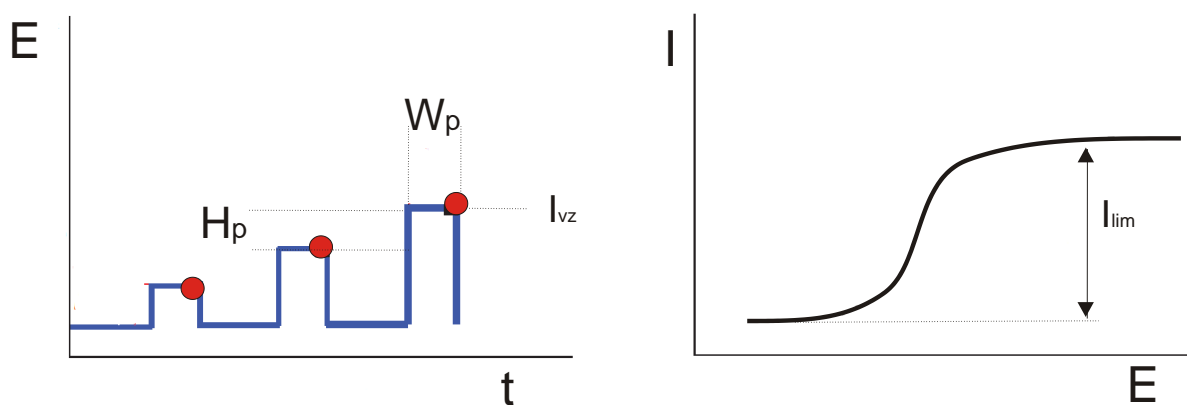
Za nejjednodušší pulzní metodu lze považovat techniku staircase voltametrie (SV), která se podobá LSV (případně CV, je-li prováděn i zpětný sken). Časový průběh potenciálu vkládaného na elektrodu je uveden na Obr. 1. Záznam je velmi podobný záznamu LSV nebo CV, je však snížen kapacitní proud. Na rozdíl od ostatních pulzních technik při SV je potenciál měněn pouze jedním směrem (zvyšován nebo snižován).



Obr. 1 Zobrazení časového průběhu napětí vkládaného na elektrodu během SV a typický staircase voltamogram. Popisky: I: snímání proudu, H_p : výška pulzu, W_p šířka pulzu, na voltamogramu je zaznačena výška proudového maxima (píku, I_p).

2.1.3.2 Normální pulzní voltametrie

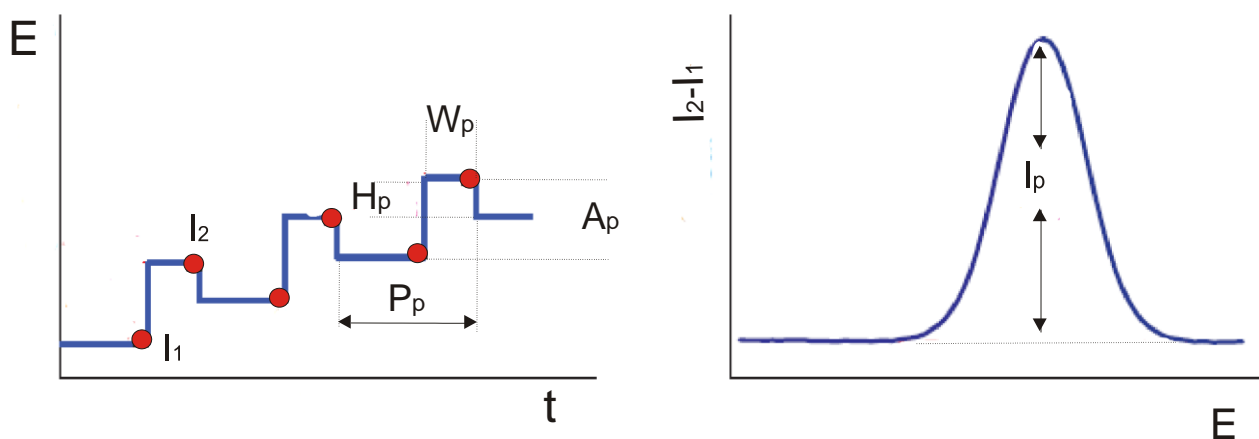
Při normální pulzní voltametii (NPV) jsou na elektrodu vkládány potenciálové pulzy v řádu milisekund dle Obr. XY. V čase mezi pulzy je na elektrodu vkládáno počáteční napětí, které je udržováno několik sekund, během kterých dojde vlivem difúze k obnovení původní koncentrace analytu v okolí elektrody. Výhodou NPV oproti jiným pulzním voltametrickým metodám je krátký čas aplikace analytického potenciálu, čímž je omezen vliv postranních procesů, např. vytváření filmu na elektrodě nebo nevratné zanášení povrchu elektrody.



Obr. 2 Zobrazení časového průběhu napětí vkládaného na elektrodu během NPV a typický voltamogram. Popisky: I_{vz} : snímání proudu, H_p : výška pulzu, W_p šířka pulzu, na voltamogramu je zaznačena výška limitního proudu (I_{lim}).

2.1.3.3 Diferenční pulzní voltametrie

Diferenční pulzní voltametrie (DPV) je jedna z nejpoužívanějších pulzních technik v elektroanalytické chemii. Časový průběh potenciálu při DPV je vidět na Obr. 3, ze kterého je patrné, že proud je zaznamenáván dvakrát. Ve výsledném voltamogramu je zobrazován rozdíl obou proudů ($I_2 - I_1$), díky čemuž získává záznam tvar píků. Ve srovnání s NPV je při DPV efektivněji odstraněn vliv kapacitních proudů. Metoda DPV umožňuje analyzovat látky s menším rozlišením než NPV a další metody [4].

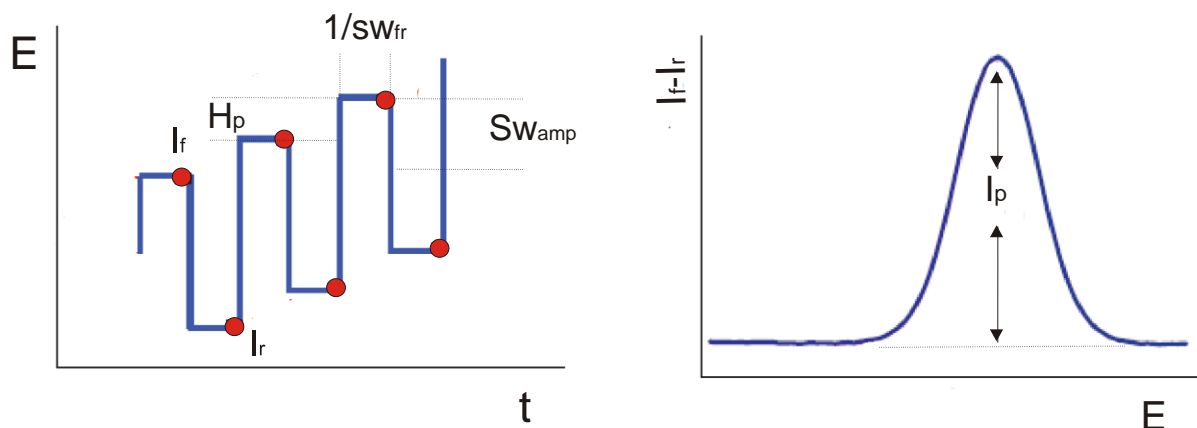


Obr. 3 Zobrazení časového průběhu napětí vkládaného na elektrodu během DPV a typický voltamogram. Popisky: $I_{1,2}$: snímání proudu, H_p : výška pulzu, W_p šířka pulzu, A_p : amplituda pulzu, P_p : perioda pulzu, na voltamogramu je vyznačena výška rozdílu proudů v maximum (I_p).

2.1.3.4 Square wave voltametrie

V sedmdesátých letech popsali Turner a kol. [5] novou pulzní voltametrickou metodu, při které byly na pracovní elektrodu vkládány pravoúhlé pulzy dle Obr. 4. Aplikovány jsou napěťové cykly, první polovinou cyklu je dopředný napěťový pulz, na jehož konci je vzorkován proud I_f , a druhou polovinou cyklu je zpětný napěťový pulz, na kterém je zaznamenán I_r . Výsledný proud je rozdílem obou signálů, záznam je tedy ve formě píků. Velké rozdíly v aplikovaných potenciálech během dopředného a zpětného pulzu vedou u některých analytů k vyšší citlivosti stanovení (než u ostatních voltametrických technik) díky částečné konverzi produktů elektrochemické reakce zpět na reaktanty během zpětného napěťového pulzu. Na rozdíl od DPV (a dalších metod) je u SWV podstatně větší rychlost

měření (odpovídá skenovací rychlosti v jednotkách voltů za sekundu, celé SWV měření tedy trvá zlomek sekundy až několik sekund).



Obr. 4 Zobrazení časového průběhu napětí vkládaného na elektrodu během SWV a typický voltamogram. Popisky: $I_{f,r}$: snímání proudu dopředného (f) a zpětného (r) pulzu, H_p : výška pulzu, $1/SW_{fr}$: frekvence SW šířka pulzu, SW_{amp} : SW amplituda, na voltamogramu je vyznačena výška rozdílu proudů v maximum (I_p).

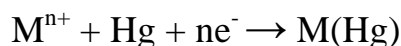
2.1.4 Stripping voltametrické metody

Aplikace pulzních voltametrických metod vede ke zvýšení citlivosti pomocí elektroanalytických stanovení pomocí snížení vlivu kapacitních proudů na celkový signál. Druhým přístupem vedoucím ke snížení detekčních limitů jsou tzv. stripping metody v češtině označované jako rozpouštěcí techniky. Obecným principem stripping metod je akumulace analytu na povrchu nebo v materiálu pracovní elektrody, což je krok prekoncentrační, a následném strippingu (rozpuštění) akumulovaného analytu zpět do roztoku voltametricky, potenciometricky (provádí se s přidáním oxidačního činidla) nebo coulometricky [4]. Obvykle je analyt během rozpouštěcího kroku převáděn zpět do původní formy před prekoncentrací. V následujícím oddíle se budu věnovat stripping metodám spojených s voltametrickými technikami, nejčastěji se jedná o DPV nebo SWV. Dle způsobu akumulace analytů na elektrodě lze stripping metody dělit na anodickou stripping voltametrii, adsorptivní stripping voltametrii nebo katodickou stripping voltametrii.

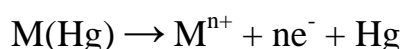
2.1.4.1 Anodická stripping voltametrie

Nejpoužívanější metodou využívající prekoncentraci analytu na povrchu elektrody je anodická stripping voltametrie, která byla vyvinuta pro stanovení kovových iontů na rtuťové

elektrodě. Principem akumulace je redukce kovových iontů za potenciálu, který je posunut o 300 až 500 mV záporněji vzhledem k vylučovacímu potenciálu nejobtížněji redukovatelného iontu. Dostatečný transport k elektrodovému povrchu je zajištěn mícháním roztoku. Vznikající elementární kov se rozpustí ve rtuťové kapce za vzniku amalgámu.



Čas akumulace je volen podle koncentrace analytu ve vzorku, většinou se pohybuje v řádu několika minut. Po skončení prekoncentrace je zastaveno míchání roztoku a je proveden anodický sken (nejčastěji SWV nebo DPV), při kterém je kov v amalgámu oxidován a dochází k jeho opětovnému rozpuštění.



Metoda ASV je používána převážně ke stanovení kovových iontů (Cd, Pb, Zn, Cu, Tl apod.)

ASV lze provádět i na jiných materiálech pracovních elektrod, např. elektrodách se rtuťovým filmem, na cínu, bismutu, zlatě apod. V uvedených případech tvoří vyredukované kovy s materiálem elektrody intermetalické fáze.

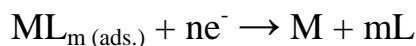
2.1.4.2 Adsorptivní stripping voltametrie

Řadu analytů nelze stanovit pomocí ASV, protože nedochází k akumulaci jejich redukované formy na elektrodě. Alternativou použitelnou pro řadu aplikací je adsorptivní stripping voltametrie (AdSV). Pomocí AdSV lze stanovit řadu kovových iontů, které pomocí ASV stanovit nelze (např. ionty Fe, Co, Cr, Al, Mn, Mo, aj.) nebo je problém s jejich stanovením z důvodu překryvu signálu u ASV(Ni, Sn) [2].

Principem těchto stanovení je vytvoření komplexní sloučeniny vhodného ligandu s kovovým iontem (např. nioxim s Co^{2+} , eriochromčern T s Fe^{3+}), která je adsorbována na povrch pracovní elektrody.



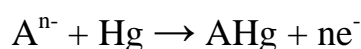
Akumulace probíhá za míchání roztoku v řádu několika minut. Poté je proveden katodický sken (obvykle SWV nebo DPV), při kterém je redukován buď adsorbovaný kovový iont nebo celý komplex.



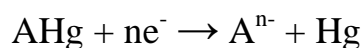
Vedle anorganických iontů lze pomocí AdSV stanovit i některé organické elektroaktivní látky. Podmínkou je adsorpce analytu na elektrodovém povrchu. Stejně jako u ASV lze pro AdSV použít vedle rtuťové kapkové elektrody i pevné elektrodové materiály, jako např. bismut, zlato, uhlík aj., které dovolují oxidaci adsorbovaných organických molekul.

2.1.4.3 Katodická stripping voltametrie

Opakem ASV je katodická stripping voltametrie (CSV). Principem je anodická prekoncentrace analytu na elektrodě ve formě soli se rtuť, popř. s jiným elektrodovým materiálem.



Katodickým skenem (DPV, popř. SWV) je poté obnovena redukovaná forma analytu.



Metodu CSV lze použít ke stanovení řady organických (např. thioly) nebo anorganických látek (např. kyanidy, sulfidy aj.).

Závěrem lze k voltametrickým metodám dodat, že jde o část elektroanalytické chemie nabízející velmi široké možnosti (semi)kvalitativního a zejména kvantitativního stanovení řady látek. Srovnání LOD jednotlivých metod je uvedeno v Tab. 1.

Tab. 1 Srovnání detekčních limitů dosahovaných pomocí některých voltametrických metod, hodnoty LOD převzaté z [2]

Metoda	LOD (v mol.l ⁻¹)*
DC polarografie	1.10 ⁻⁵
NPV	1.10 ⁻⁷
DPV	1.10 ⁻⁸
SWV	1.10 ⁻⁸
DPV/SWV + stripping analýza	1.10 ⁻¹⁰ až 1.10 ⁻¹¹

*přibližné hodnoty LOD dosahované metodami, konkrétní hodnoty závisejí na analytu, materiálu a typu pracovní elektrody aj.

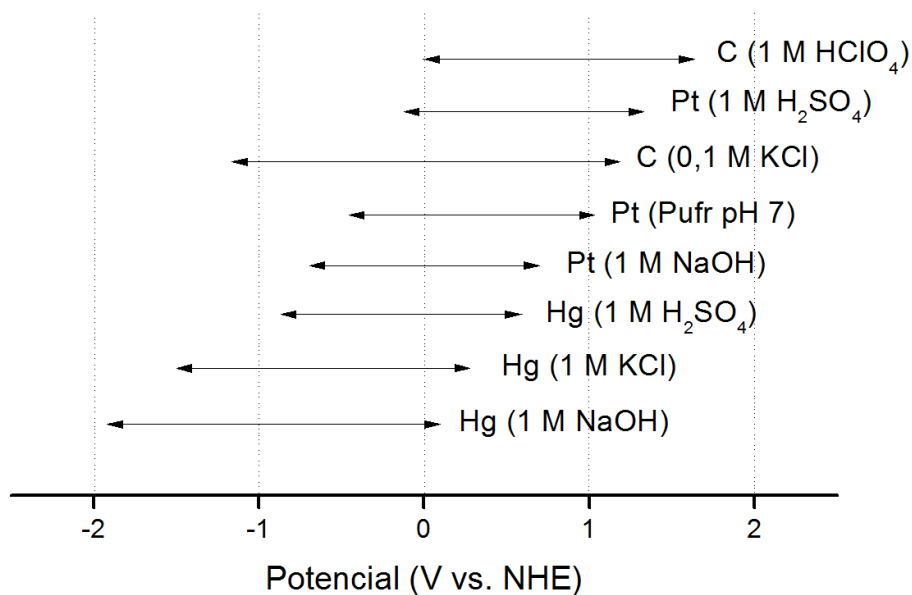
2.1.5 Amperometrie v míchaném roztoku

Na rozdíl od voltametrie je úlohou amperometrických metod umožnit sledování změn koncentrace elektroaktivní látky v čase. Základním provedením amperometrie je udržování konstantního potenciálu (při kterém dochází k faradayické přeměně analytu) na pracovní elektrodě. Zaznamenávaný proud je pak úměrný koncentraci analytu. Kvůli zajištění transportu analytu jsou amperometrická měření prováděna v míchaném roztoku. Amperometrická měření lze provádět v průtočných systémech, např. průtoková kontinuální analýza, průtoková injekční analýza nebo v kapalinové chromatografii.

Jedním ze speciálních módů je tzv. pulzní amperometrie, které je využíváno při měření na pevných elektrodách při stanovení analytů, jejichž produkty reakce inaktivují povrch elektrody nebo dochází k inaktivaci adsorpcí složek měřeného roztoku. Příkladem může být pulzní amperometrická detekce sacharidů na zlatých elektrodách [6], při které jsou aplikovány tři potenciálové pulzy, tj. a) analytický, při kterém probíhá oxidace sacharidů, b) čistící, který je vyšší než analytický a slouží k odstranění produktů elektrodové reakce, c) regenerační, při kterém probíhá redukce oxidů zlata vzniklých při čistícím potenciálu.

2.2 Kovové elektrody

Elektroanalytické metody jsou založeny na elektrochemické reakci probíhající na povrchu, resp. v těsné blízkosti elektrody. Vlastnosti elektrodového povrchu, např. chemické složení, morfologie, struktura zásadně ovlivňují experimentální výsledky. Elektrodové materiály lze z pohledu materiálu rozdělit na a) kovové, např. kapalná rtuť, zlato, platina, stříbro, některé méně ušlechtilé kovy, b) nekovové, mezi kterými zcela zásadní roli hraje uhlík v různých podobách (grafit, uhlíková vlákna, diamant aj.). Jedním z hlavních parametrů elektrodového materiálu je tzv. potenciálové okno, které udává rozsah potenciálů aplikovatelných na elektrodu. Rozsah aplikovatelných potenciálů je omezen stabilitou materiálu elektrody, nesmí tedy docházet k degradaci materiálu elektrod, např. k oxidaci. Druhým omezením je rozklad vody (popř. jiného rozpouštědla), tedy v anodické oblasti tvorba hydroxylových radikálů a peroxidů, v katodické oblasti je to vývoj plynného vodíku. Rozsah aplikovatelných potenciálů lze ovlivnit použitím vhodného elektrolytu, např. změna pH roztoku apod. (viz Obr. 5).



Obr. 5 Přibližné rozsahy potenciálových oken některých elektrodových materiálů v různých roztocích.

2.2.1 Rtuť

Kovová rtuť je za laboratorních podmínek kapalina. Jako elektroda může sloužit její kapka na konci přívodní kapiláry (napojené k elektronice) buď jako kapající (DME v polarografii) nebo visící (HDME). Největší výhodou rtuti je snadná obnova povrchu elektrody, která se provádí odkápnutím staré kapky a vytvoření nové. Obnovení povrchu čerstvé rtuťové kapky přináší reprodukovatelné elektrochemické chování. Vysoké přepětí vylučování vodíku na elektrodě v katodické oblasti dovoluje rtuť použít ke stanovení mnoha i obtížněji redukovatelných analytů [7]. Rtuť snadno tvoří s ionty různých kovů slitiny (tzv. amalgámy), čehož je využíváno v metodě ASV, která byla podrobněji popsána v kap. 2.1.4.1 Snadná adsorpce řady anorganických komplexů kovů nebo organických analytů dovoluje použít i metody AdSV [8]. Rtuťové elektrody však nelze použít ke stanovení analytů v anodické oblasti kvůli oxidaci rtuti (viz Obr. 5). Nevýhodou je též toxicita rtuti, která vede k omezení jejího používání ve státech EU (Nařízení Evropského parlamentu a Rady EU č. 2017/852 omezující používání rtuti) a ke snaze nalézt vhodnou méně škodlivou náhradu.

2.2.2 Pevné kovové materiály

Z hlediska náhrady rtuti patří mezi nejpoužívanější materiály bismut, antimon, cín apod. [9]. Dále jsou v elektroanalýze rozšířeny jako elektrodové materiály zlato a platina a celá řada

uhlíkových materiálů. Elektrody z ostatních materiálů nalézají uplatnění ve speciálních aplikacích. Oproti rtuti jsou všechny náhradní materiály pevné, což s sebou nese určitá omezení, protože vlastnosti pevných elektrodových materiálů jsou do značné míry ovlivněny stavem jejich povrchu. Při opakovaném použití může u pevných elektrod docházet ke zhoršení elektroanalytických vlastností, nejčastěji v důsledku adsorpce produktů elektrochemické reakce nebo sorpce látek z analyzovaného roztoku – tj. k inaktivaci elektrody. K zajištění reprodukovatelnosti měření je nutné obnovit povrch elektrody. Způsob regenerace je závislý na materiálu pracovní elektrody. Kovové materiály jsou nejčastěji mechanicky leštěny nebo jsou obnovovány vkládáním čistících potenciálových pulsů.

Jedněmi z nejpoužívanějších elektrodových materiálů jsou platina a zlato, u nichž je využíván rychlý přenosu elektronu mezi elektroaktivní látkou a povrchem elektrody. Mezi výhody zlata a platiny patří také široký potenciálový rozsah v anodické oblasti. Naopak v katodické oblasti jsou tyto materiály zcela nevhodné kvůli malému přepětí vodíku. Nevýhodou může být také tvorba povrchových oxidů, které mohou snížit aktivitu senzoru. Stejně negativně působí i adsorpce chloridů na povrch zlatých elektrod. Řešením bývá použití čistících a regeneračních potenciálových pulzů používaných v průtokové amperometrii [10, 11]. U zlatých elektrod je využívána reakce s SH a S-S skupinou organických molekul, čehož je využito při analýze thiolů [12, 13]. Navázáním organických látek obsahujících uvedené funkční skupiny na zlatou pracovní elektrodu lze připravit katalytické nebo enzymové vrstvy reagující se specifickými analyty [14, 15]. Zlaté elektrody lze také aplikovat ke stanovení arsenu, kde je využito tvorby slitiny zlata a arsenu [16, 17].

Další kovové elektrody nalézají uplatnění ve specifických aplikacích. Bismut a bismutem modifikované elektrody jsou rozebrány v kapitole 2.5. Sacharidy a aminokyseliny lze v silně alkalickém prostředí oxidovat na měděných a niklových elektrodách [18-20]. Vedle uplatnění jako referentní elektrody lze senzory na bázi stříbra aplikovat např. při stanovení peroxidu vodíku [21].

2.3 Uhlíkové elektrody

Uhlík lze řadit mezi nejpoužívanější elektrodové materiály současnosti. Důvodem je velké množství různých forem uhlíku, použitelnost v poměrně širokém rozsahu potenciálů a nízké proudy pozadí. Mezi další výhody patří velmi nízká cena, nízká toxicita (s výjimkou uhlíkových nanoateriálů), chemická i fyzikální odolnost. V případě potřeby lze uhlíkové

elektrody vhodně modifikovat. Ve srovnání s kovy mají elektrody na bázi uhlíku ve většině případů pomalejší přenos náboje [2]. Z důvodu menší inertnosti uhlíku dochází snáze k inaktivaci povrchu elektrod vlivem adsorpce látek z roztoku nebo změnou chemických vlastností povrchu, např. oxidace. Původní povrch elektrody lze obnovit nejčastěji mechanicky (leštěním), popř. očistit chemicky (např. máčení v silných minerálních kyselinách), elektrochemicky (např. vkládání oxidačních a redukčních pulzů), tepelně nebo laserem [2, 22].

Uhlíkové elektrody se výrazně liší ve svých fyzikálních i (elektro)chemických vlastnostech. Vybrané elektrodové materiály na bázi uhlíku budou popsány v následujících podkapitolách.

2.3.1 Skelný uhlík

Skelný uhlík se nejčastěji vyrábí zahříváním fenolformaldehydové pryskyřice v inertní atmosféře na teplotu až 1200°C [23]. Vyznačuje se dobrou elektrickou a tepelnou vodivostí, tvrdostí (7 na Mohsově stupnici), je chemicky i mechanicky velmi odolný a nepropouští kapaliny ani plyny. Chemicky se jedná o materiál, v němž jsou jednotlivé atomy uhlíku vázány vazbou sp^2 . Vnitřní struktura obsahuje šestičlenné uhlíkové cykly, čímž materiál připomíná fuleren [24]. Díky své vysoké chemické a mechanické odolnosti a dobrým elektrickým vlastnostem našel skelný uhlík uplatnění jako elektrodový materiál vyznačující se širokým potenciálovým rozsahem. Elektroda ze skelného uhlíku bývá čištěna mezi analýzami leštěním, čímž lze dosáhnout relativně reprodukovatelného povrchu [25]. Vlastnosti senzorů ze skelného uhlíku vedly k jeho použití při stanovení léčiv [26], polutantů v životním prostředí [27, 28] nebo anorganických látek [29].

2.3.2 Uhlíkové pastové elektrody

Směs grafitového prášku s organickým pojivem (nemísitelným s vodou) je v elektroanalytické chemii hojně využívána jako tzv. uhlíková pastová elektroda. Nejčastějšími pojivy jsou nujol, parafinový olej, silikonová maziva, popř. 1-bromonaftalen aj. Měkká uhlíková pasta bývá natlačena do plastového pouzdra. Výhodou uhlíkových pastových elektrod je velmi nízká cena a snadné obnovení povrchu elektrody, kterého lze dosáhnout vytlačáním a odstraněním použité pasty, čímž je obnoven čistý povrch. Nevýhodou může být přechod pojiva do měřeného roztoku, obzvláště při použití elektrolytů s organickou fází [30]. Pastové elektrody lze snadno modifikovat přimícháním aditiva do hmoty pasty. Jako příklady

aplikací lze uvést stanovení anorganických polutantů v životním prostředí [31, 32], pesticidů [33], nebo léčiv [34].

2.3.3 Borem dopovaný diamant

Uhlík ve formě diamantu je díky své struktuře chemicky a mechanicky velmi stabilní materiál. Pro konstrukci elektrochemických čidel je však nepoužitelný, protože nevede elektrický proud. Řešením je dopování diamantu vhodným prvkem, například borem. Existuje několik technik přípravy borem dopovaného diamantu (BDD). Využívána je hlavně technika depozice chemických par (chemical vapor deposition) nebo tvorba borem dopovaného diamantu za vysokých teplot a tlaku (high pressure, high temperature boron doped diamond) [35]. Vodivá forma diamantu nabízí zajímavé možnosti pro speciální analytické účely. Mimo chemické a mechanické odolnosti se BDD vyznačuje velmi širokým rozsahem použitelných potenciálů způsobeným velkým přepětím potřebným k vývoji vodíku v katodické oblasti a vývoji kyslíku v oblasti anodické. Obnovení povrchu lze provést aplikací čistících potenciálových pulzů, při nichž dochází ke vzniku hydroxylových radikálů reagujících s případnými nečistotami na povrchu [36], nebo chemicky. Elektroda z BDD našla uplatnění v rozličných analytických aplikacích (stanovení organických i anorganických látek), o kterých lze nalézt řadu souhrnných prací [35, 37, 38].

2.3.4 Uhlíková vlákna

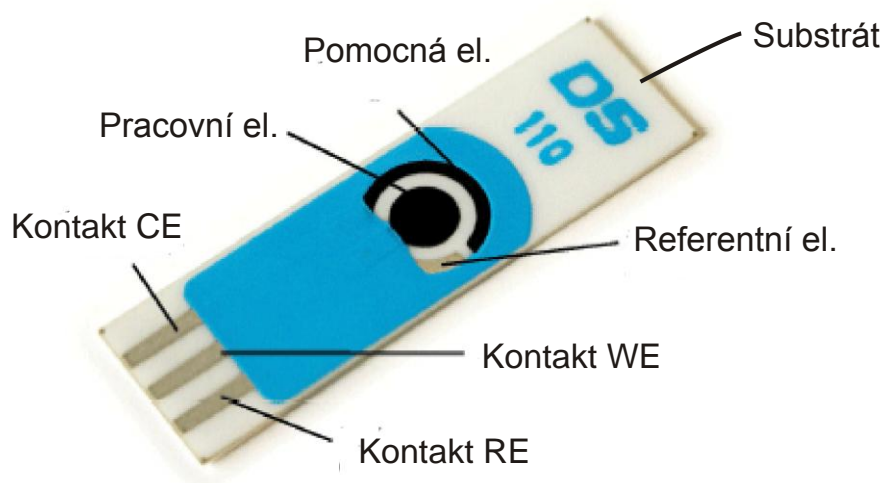
Elektrická vodivost uhlíkových vláken, jejich mechanická a chemická odolnost a malé rozměry vedly k jejich aplikaci v elektroanalytické chemii. Tvar a velikost mikroelektrody z uhlíkového vlákna (CFME) umožňují transport elektroaktivních látek tzv. radiální difúzí, kdy je difúzní tok látky k elektrodě účinnější a vede k vyšším proudovým hustotám [2] ve srovnání s elektrodami standardních velikostí u kterých je dominantní klasická lineární difúze. Malé rozměry senzorů jsou výhodou také při *in vivo* měřeních, kdy elektrody z uhlíkového mikrovlákn (CFME) lze využít pro měření přímo v buňkách [39]. Snadné miniaturizace senzorů je využíváno při měřeních v průtokových metodách (FIA, HPLC). Rozměry uhlíkového vlákna, jež se pohybují okolo 10 μm (typicky 7 μm), dovolují provádět elektrochemická měření přímo v kapilárách [40, 41], které transportují eluát z chromatografické kolony. Zvýšení citlivosti čidel z uhlíkového vlákna lze dosáhnout elektrochemickou [42] nebo chemickou aktivací [43], kdy je povrch vystaven oxidačním

potenciálům, resp. povrch je aktivován roztokem s oxidačními účinky, možná je i modifikace povrchu vlákna, např. pokovení [44-46].

2.3.5 Sítotiskem připravené elektrody

Při opakovaném použití pevných elektrod je nutná periodická obnova povrchu. Alternativou mohou být levná, snadno vyrobitelná jednorázová čidla. Příkladem takovýchto jednorázových elektrochemických senzorů jsou sítotiskem připravené elektrody (Screen-Printed Electrodes, SPE).

Technologie sítotisku začala být využívána pro výrobu elektrod v průběhu devadesátých let. Materiálem používaným pro tisk bývá inkoust na bázi grafitu, stříbra nebo zlata [47]. Výroba probíhá na speciálních tiskárnách vybavených polyesterovou sítí, které slouží jako šablona pro požadovaný tvar. Inkoust je přes polyesterovou síť protlačěn na plastové nebo keramické substráty. Tisk většinou probíhá v několika krocích (např. tisk kontaktů je první krok, v druhém kroku jsou tištěny pracovní elektrody). Po každém nanesení inkoustu se provádí sušení. Existuje celá řada různých tvarů a velikostí SPE elektrod, od jednotlivých senzorů až po tištěný tříelektrodový systém (viz Obr. 6) vybavený např. grafitovou pracovní a pomocnou elektrodou, jako pseudoreference pak slouží elektroda natištěná stříbrným inkoustem. Tištěné kontakty vedoucí k elektrodám jsou odděleny od měřeného roztoku vrstvou izolačního inkoustu. Při výrobě jsou tištěny celé soubory elektrod.



Obr. 6 Fotografie tištěného tříelektrodového systému vyráběného firmou Dropsens.

Tištěné senzory vyráběné ve velkých množstvích jsou běžně komerčně dostupné (např. firmy Metrohm, Dropsens, Zensor aj.) Lze nalézt řadu prací využívající neupravené grafitové tištěné elektrody ke stanovení peroxidu vodíku [48], prokainu [49], aurothiomalátu [50], dopaminu [51], kreatininu [52], vitamínu B12 [53] aj. Neupravené SPE byly využity také v analýze anorganických iontů, např. stanovení Pb^{2+} [54], Cu^{2+} [55] nebo Ag^+ [56].

2.3.5.1 Kovem modifikované sítotiskem připravené grafitové elektrody

Sítotiskem připravené grafitové elektrody (SPGE) lze použít ke stanovení rozsáhlé skupiny látek. Jsou však analyty, k jejichž analýze je potřeba jiného elektrodového materiálu než čistý grafit; např. materiál, který vykazuje katalytické účinky pro redoxní reakci nebo na něm lze provádět akumulaci analytu. Mezi takovéto elektrodové materiály se řadí nejčastěji kovy, resp. sloučeniny kovů. Ke konstrukci takového senzoru s katalytickými účinky lze využít přímo konkrétní kovový materiál. V případě SPGE může být vhodnou alternativou využití uhlíkového povrchu jako nosiče, který je pokryt vrstvou nebo částicemi kovu, čímž lze dosáhnout snížení výrobních nákladů konečného senzoru. Dalším důvodem pro modifikaci elektrody pomocí kovu je možnost využití nanomateriálů, tj. depozice nanočástic. Částice kovu v nanoměřítku se vyznačují obrovským povrchem a vlastnostmi odlišnými od makročástic, což může vylepšit vlastnosti vyrobeného senzoru. Existuje několik základních postupů modifikace SPGE kovovými (nano)částicemi.

2.3.5.1.1 Elektrolytická depozice kovu na SPGE

Jde asi o nejpoužívanější metodu přípravy kovového filmu nebo diskretních částic na uhlíkové elektrodě. Je zde využívána rozpustná sloučenina (sůl) kovu. Na elektrodu ponořenou do tohoto roztoku bývá aplikován dostatečný redukční potenciál k vyloučení kovu [57]. Výhodou této metody je relativní jednoduchost uspořádání. Doba trvání modifikace nepřesahuje desítky minut. Mezi nevýhody lze řadit vysoké ceny prekurzorů některých kovů, např. zlata nebo platiny, u nichž cena rozpustných solí značně zvyšuje celkovou cenu senzoru. V případě běžnějších kovů (měď, nikl, bismut) se však nejedná o závažný problém. Dalším úskalím může být čistota použité soli. Pro vyloučení vrstvy jediného kovu bez nežádoucích příměsí je potřeba použití čistých chemikálií. Metoda vyloučení kovu z roztoku jeho soli je často využívána pro depozici *in situ*, při níž je ion kovu přidáván přímo do roztoku se vzorkem [58].

Zlatem modifikované elektrody jsou připravovány elektrodepozicí HAuCl_4 při potenciálech od -400 do -600 mV (vs. Ag/AgCl) [59, 60]. Množství vyloučeného kovu je ovlivněno délkou depozice a koncentrací Au^{3+} , většinou se však jedná o vrstvu diskretních nanočástic. Tyto senzory byly použity k detekci amfetaminu [60], thiramu a disulfiramu [59] nebo sildenafilu [61].

Podobně lze deponovat platinu z K_2PtCl_6 , např. cyklováním potenciálu mezi -700 až +500 mV [62] byl připraven senzor modifikovaný platinovými nanočásticemi využitelný pro voltametrické stanovení arsenu. Redukci K_2PtCl_6 v přítomnosti RuCl_3 využili ve své práci také Chen a kol [63]. Ti nejprve elektrody modifikovali zlatými nanočásticemi (z HAuCl_4), čímž vznikly krystalizační zárodky, na nichž následně docházelo k nárůstu směsných částic platiny a ruthenia. Všechny kovy byly redukovány při -600 mV (vs. Ag/AgCl). Tato čidla našla uplatnění při stanovení glycerolu ve vzorcích nafty. Redukci PdCl_2 na SPE prováděl ve své práci Yang a kol [64], který při potenciálu -600 mV (vs. Ag/AgCl) připravoval senzory citlivé na kyslík.

Měď a její oxidy mají elektrokatalytické účinky k oxidaci širokého spektra látek. I u mědi je jednou z nejpoužívanějších metod elektrodepozice kovového materiálu. K dispozici je relativně široký výběr sloučenin, z nichž lze měď na elektrodě vyloučit. Elektrodepozici mědi na sítotiskem připravené elektrodě prováděl ve své práci Raveendran a kol. [65]. Prekurzorem kovu byl $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, jenž byl redukován při -600 mV (vs. SCE). Také Chen a kol. [66]. využil k depozici mědi redukci CuSO_4 při -0,8 V (vs. Ag/AgCl). Vzniklá kovová měď však oxidací kyslíkem přecházela spontánně na oxid mědi. CuO-SPE byly následně využity k detekci bromičnanů. Další možností je využití dusičnanu měďnatého, který byl redukován při -700 mV (vs. Ag/AgCl) na SPE k detekci glukosy [67], o-fenolů a o-difenolů [68, 69], aminokyselin [70] a organických kyselin v moči [71].

Ekologickou náhradou rtuti bývá bismut, který lze snadno deponovat elektrolyticky z jeho rozpustných sloučenin (nejčastěji $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$). Hwang a kol. využili Bi-SPCE k měření těžkých kovů [72]. V práci byl standardní roztok bismutu v HNO_3 pro AAS přidáván přímo do cely se vzorkem. Při prekoncentraci analytů při -1400 mV (vs. SCE) docházelo zároveň k vylučování bismutového filmu na povrchu. Vylučování bismutu v přítomnosti analytu (tzv. *in situ* příprava elektrod) byla použita k detekci těžkých kovů v několika dalších pracích [73-77].

2.3.5.1.2 Nanosení předem připravených nanočástic kovu na SPGE

Druhou značně rozšířenou metodou modifikace elektrod kovem je aplikace nanočástic resp. nanočástic oxidů kovu. Ty mohou být ve formě koloidních roztoků, gelů nebo práškového materiálu.

Nakápnutí roztoku nanočástic na elektrodu

Nejjednodušší metodou nanosení nanočástic na elektrodu je nakápnutí koloidního roztoku s nanočásticemi kovu. Předem vyrobené nanočástice (připravené nejčastěji redukcí kovového iontu pomocí redukčních činidel) je možné snadno charakterizovat (např. velikost částic). Snadno lze také regulovat množství kovu na elektrodě. Nevýhodou bývají slabé interakce s povrchem, kdy může dojít k jejich odplavení z povrchu, pokud nejsou překryty vrstvou polymeru. Další nevýhodou může být nestabilita připraveného roztoku nanočástic, které mohou koagulovat, a je tedy nutné nestabilizovaný roztok okamžitě použít. Lze nalézt řadu prací využívajících koloidní roztoky nanočástic zlata [78-80], bismutu [81-83], oxidu zirkoničitého [84], oxidů železa [85, 86], palladia [87], platiny [88], oxidu titaničitého [89], rhodia [90], mědi [91] nebo niklu [92]. Postup je podobný - na plochu pracovní elektrody je nakápnut koloidní roztok, odpaří se rozpouštědlo a poté je elektroda opláchnuta destilovanou vodou, čímž dojde k odstranění nezachycených částic. Nanočástice lze chránit vrstvou polymeru (např. Nafionu®), který zadrží vzniklé nanočástice na elektrodě, navíc může sloužit jako vrstva chránící nanočástice před inaktivací elektrody [93].

2.3.5.1.3 Přimíchání nanočástic kovu do inkoustu

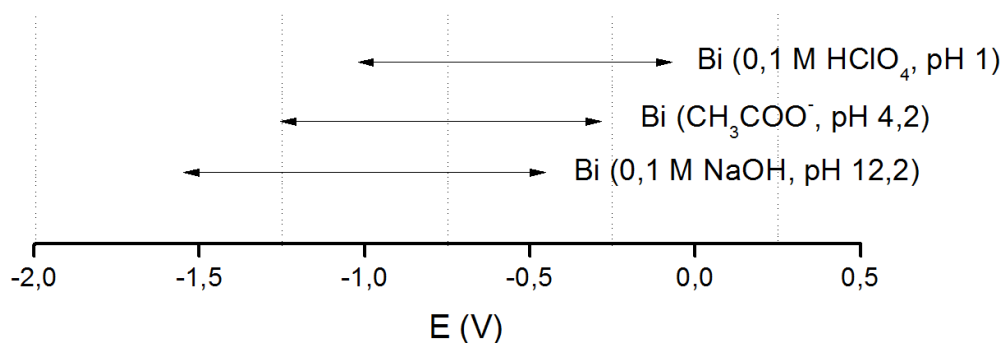
Velmi jednoduchá a účinná metoda modifikace tištěných elektrod je přimíchání nanočástic resp. prekurzoru, z něhož kovové částice vznikají, přímo do inkoustu. Tuto metodu využil Tiwari a kol. pro konstrukci kyslíkového senzoru [94]. Do grafitového inkoustu byly přidávány nanočástice zlata modifikované antrachinonem a cysteaminem. Nanočástic stříbra s navázaným 3-amino-5-merkapt-1,2,4-triazolem v grafitovém inkoustu použil k modifikaci SPE Ali a Mohamed [95]. Senzory byly využity ke stanovení lanthanitých sloučenin ve vodách. Podobný postup, kdy byl do inkoustu přidáván bismutový prach, použili ve své práci Niu a kol [96]. Senzory byly aplikovány ke stanovení rtuťnatých sloučenin. Bismut ve formě Bi_2O_3 do inkoustu přimíchávali Kadara [97] a Hwang [98], kteří Bi_2O_3 -SPE použili ke stanovení kadmia a olova. V obou pracích byl oxid bismutitý při prekoncentračním kroku redukován na kovovou formu.

2.3.5.1.4 Chemicky srážené sloučeniny kovu na SPE

Méně obvyklou metodou přípravy kovových částic na elektrodě je vytvoření nerozpustné sraženiny na povrchu elektrody a její následná elektrochemická redukce na kov. Malakhova a kol. [99] nanasla roztok dusičnanu bismutitého na pracovní elektrodu. Po zaschnutí dusičnanu byl na elektrodu nakápnut hydrogenfosforečnan sodný, který s bismutem vytvořil sraženinu BiPO_4 . Sraženina zachycená na elektrodě byla následně redukována v roztoku pufru před vlastním měřením těžkých kovů (Cd^{2+} a Pb^{2+}) při $-1,4$ V (vs. Ag/AgCl). Leonardi a kol. [100] použil mírně odlišný postup, kdy byla plocha pracovní elektrody impregnována roztokem CuSO_4 , který byl po zaschnutí oxidován roztokem Na_2O_2 , čímž měď přešla do formy oxidu. CuO-SPE sloužila jako neenzymatický senzor na glukosu.

2.4 Bismutem modifikované elektrody

Elektrody na bázi rtuti jsou několik desítek let využívány pro stanovení redukovatelných anorganických a organických sloučenin. Hlavní nevýhodou rtuti je její jedovatost, proto je její používání v současnosti omezoáno, a to i na základě legislativy. Řešením nejsou ani elektrody pokryté rtuťovým filmem, při jejichž přípravě jsou většinou využívány rozpustné sloučeniny rtuti, které jsou mnohem nebezpečnější než elementární rtuť [101]. Vhodnou alternativou rtuťových elektrod se zdá být bismut, jehož toxicita je zanedbatelná, stejně jako toxicita většiny jeho sloučenin. Jako náhrada rtuti byl poprvé aplikován v roce 2000, kdy Wang a kol. demonstrovali použitelnost elektrody ze skelného uhlíku pokrytou filmem bismutu při anodické stripping voltametii těžkých kovů (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Tl^+) [102]. Potenciálové okno, ve kterém jsou bismutové elektrody použitelné, je značně závislé na pH prostředí (viz. Obr. 7). Limity potenciálového okna jsou dány v anodické oblasti oxidací bismutu a jeho rozpouštěním, zatímco v katodické oblasti je limitem vylučování vodíku [103].



Obř. 7 Potenciálové rozsahy bismutových elektrod při řůzném pH [103]

Stanovení řěžkých kovů metodou ASV na bismutem modifikovaných SPGE

Anodická stripping voltametrie je důležitá metoda sledování obsahu řěžkých kovů v povrchových i podzemních vodách, v pitné vodě apod. Tradičně bývaly řěžké kovy analyzovány na rtuťových elektrodách, avšak jak již bylo uvedeno, kvůli jedovatosti se od rtuti upouští. Bismut, podobně jako rtuť, vytváří s řěžkými kovy na povrchu elektrody slitiny [103], proto je možné řěžké kovy efektivně na uvedené elektrodě prekoncentrovat. Elektrochemicky jsou na Bi-SPE nejčastěji analyzovány kadmium a olovo. Při analýze je většinou využíván depoziční potenciál -1,2 až -1,4 V (vs. Ag/AgCl) [72, 98] a poté je deponovaný elementární kov rozpouštěn při anodickém skenu, provedeném technikou LSV, DPV nebo SWV [2]. Účinnost stanovení (tj. dosažený detekční limit, lineární rozsah koncentrací apod.) značně závisí na morfologii povrchu bismutové elektrody, významně se v této oblasti uplatňuje nanotechnologie. Tab. 2 ukazuje práce dle WOS na téma elektrochemická detekce řěžkých kovů pomocí bismutem modifikovaných SPGE.

Tab. 2 Sstanovení řěžkých kovů pomocí Bi-SPGE – přehled literatury.

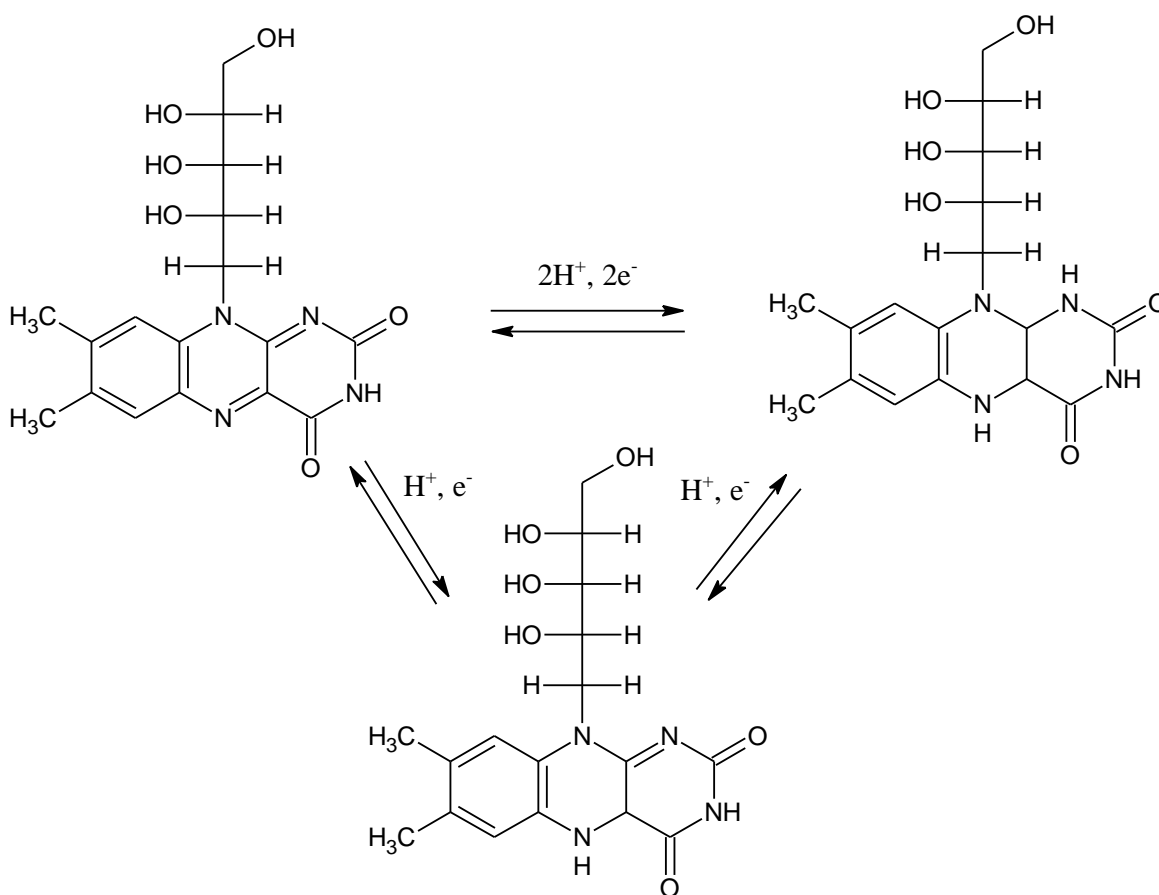
Modifikace	Technika depozice	Prekoncentrace		EAM při strippingu	Analyt(y) a jejich LOD	Reálný vzorek	Lit.
		E_{dep} (V)	t_{dep} (s)				
Bi film z $Bi(NO_3)_3$	elektrolyticky <i>in situ</i>	- 1 V	120	SCP	Cd^{2+} 8 ppb Pb^{2+} 10 ppb	Odpadní voda	[74]
Bi film z $Bi(NO_3)_3$	elektrolyticky <i>in situ</i>	-1,4 V	180	SWASV	Cd^{2+} 0,69 ppb Pb^{2+} 0,89 ppb Zn^{2+} 75 ppb	Certifikovaný ref. materiál	[76]
Chemicky připravené BiNP	Nakápnutí roztoku NP, vysušení	-1,4 V	120	SWASV	Cd^{2+} 1,3 ppb Pb^{2+} 0,9 ppb Zn^{2+} 2,6 ppb	Odpadní a pitná voda	[82]
Bi film z Bi_2O_3	Tisk vrstvy Bi_2O_3 s pojivem	-1,2 V	300	SWASV	Cd^{2+} 1,5 ppb Pb^{2+} 2,3 ppb	Říční voda	[98]
Bi film	elektrolyticky <i>in situ</i>	-1,4 V	120	SWASV	Cd^{2+} 0,69 ppb	Pitná a	[104]

z Bi(NO ₃) ₃	<i>situ</i>				Pb ²⁺ 0,89 ppb Zn ²⁺ 75 ppb	odpadní voda	
Bi film z Bi(NO ₃) ₃	<i>ex situ</i> elektrolyticky při -0,28 V	-1 V	120	SWASV	Cd ²⁺ 1,3 ppb	Říční voda	[105]
BiNP z Bi ₂ O ₃	Přimíchání Bi ₂ O ₃ do inkoustu	-1,2 V	120	SWASV	Cd ²⁺ 5 ppb Pb ²⁺ 10 ppb Zn ²⁺ 30 ppb	Říční voda	[106]
Chemicky připravené BiNP	Nakápnutí roztoku NP v Nafionu®	-1,35 V	600	SWASV	Cd ²⁺ 0,09 ppb Pb ²⁺ 0,16 ppb Zn ²⁺ 0,5 ppb	neuv.	[107]
Bi film z Bi(NO ₃) ₃	<i>ex situ</i> elektrolyticky při -0,8 V	-1,5 V	120	SCP a DPASV	Cd ²⁺ 3,9 ppb Pb ²⁺ 0,5 ppb Zn ²⁺ 3,5 ppb	Pitná voda	[108]
Bi film z Bi(NO ₃) ₃ na uhlíkových nanotrubičkách	<i>in situ</i> elektrolyticky	-1,4 V	180	SWASV	Cd ²⁺ 0,8 ppb Pb ²⁺ 0,2 ppb Zn ²⁺ 11 ppb	Bylinné extrakty	[109]
BiNP kondenzované z plynné fáze	Nanášení roztoku BiNP	-1,4 V	180	SWASV	Cd ²⁺ 0,4 ppb Pb ²⁺ 0,55 ppb Zn ²⁺ 0,38 ppb	neuv.	[110]
Bi film z Bi(NO ₃) ₃	<i>ex situ</i> elektrolyticky - 0,8 V	-1,4 V	60	DPASV	Cd ²⁺ , Pb ²⁺ , Zn ²⁺ 10 nmol.l ⁻¹	neuv.	[111]
Bi film z Bi(NO ₃) ₃	<i>in situ</i> elektrolyticky	-1,4 V	120	SWASV	Pb ²⁺ 2 ppb	Říční voda	[112]
Bi film z Bi(NO ₃) ₃	<i>ex situ</i> elektrolyticky	-1,4 V	120	SWASV	Cd ²⁺ 0,7 nmol.l ⁻¹ Pb ²⁺ 1,5 nmol.l ⁻¹ Zn ²⁺ 11 nmol.l ⁻¹	neuv.	[113]
Bi film z Bi(NO ₃) ₃	<i>in situ</i> elektrolyticky	-1,2 V	150	SWASV	Cd ²⁺ 0,5 ppb Pb ²⁺ 0,8 ppb	Mléko	[114]
Bi film z Bi(NO ₃) ₃ a grafenu	<i>in situ</i> elektrolyticky	-1,2 V	120	SWASV	Cd ²⁺ 0,08 ppb Pb ²⁺ 0,1 ppb	Extrakty z rýže	[115]
Bi film z Bi(NO ₃) ₃	<i>ex situ</i> elektrolyticky	-1,2 V	120	DPASV, SWASV	Cd ²⁺ 0,6 ppb Pb ²⁺ 0,1 ppb	Voda z jezera	[116]
Gel obsahující z Bi(NO ₃) ₃	Pyrolýza v atmosféře N ₂	-1,7 V	90	SWASV	Cd ²⁺ 2,1 ppb Pb ²⁺ 3,9 ppb	Pitná a odpadní voda	[117]
Bi ₂ O ₃ nebo Bi(NO ₃) ₃	Suspenze Bi prekursoru s uhlíkovým nanoprachem	-1,2 V	420	DPASV	Cd ²⁺ 0,1 ppb Pb ²⁺ 0,27 ppb	Říční voda	[118]
Pevný gel obsahující částice BiCl ₃	Tisk elektrod s přimíchaným pevným gelem	-1,2 V	240	SWASV	Cd ²⁺ 1,4 ppb Pb ²⁺ 1,2 ppb	Pitná voda	[119]
Bi(NO ₃) ₃ v přítomnost	<i>in situ</i> elektrolyticky	-1,65 V	180	SWASV	Cd ²⁺ 1,35 nmol.l ⁻¹ Pb ²⁺ 0,14 nmol.l ⁻¹	Říční a mořská	[120]

i mediátoru Zn ²⁺						voda	
Bi film z Bi(NO ₃) ₃ na částicích Fe ₃ O ₄	<i>in situ</i> elektrotycky	-1,2 V	240	DPASV	Cd ²⁺ 0,05 ppb	Půdní extrakty	[121]

Stanovení riboflavinu voltametričnými metodami pomocí bismutových elektrod

Riboflavin je jedním ze skupiny vitamínů B. Dle IUPAC se jedná o 7,8-Dimethyl-10-((2S,3S,4R)-2,3,4,5-tetrahydroxypentyl)-benzo(g)2,4-dion. Riboflavin je základem dvou kofaktorů flavinadenindinukleotidu (FAD) a flavinmononukleotidu (FMN) [122]. Je součástí metabolismu jako jeden z přenašečů náboje. Lidský organismus získává riboflavin v potravě (nachází se v zelenině, ovoci ale i mase), často je však jeho přirozený příjem nedostatečný a je přijímán ve formě potravinových doplňků. Jeho obsah v potravě i v doplňcích je potřeba kontrolovat. Přítomnost dvou snadno redukovatelných ketoskupin v isoalloxazinovém kruhu (viz struktura riboflavinu na Obr. 8 vlevo) dovoluje použít elektrochemickou detekci. Redukce riboflavinu je několikastupňová a vede ze struktury chinonu přes semichinon na hydrochinon (viz. Obr. 8) [123]. Odlišný mechanismus elektrochemické oxidace riboflavinu lze nalézt v práci Jabbara a kol. [124], kde je konečným produktem hydroxyriboflavin.



Obr. 8 Schéma mechanismu redukce riboflavínu přes semichinonickou strukturu.

Princípem citlivého elektrochemického stanovení riboflavínu je adsorpce oxidované formy analytu na elektrodovém povrchu. Adsorpce je prováděna v míchaném roztoku, potenciál depozice a pH roztoku závisí na použitém senzoru. Elektrody na bázi rtuti [125, 126] vyžadují alkalické prostředí, depozice probíhá při -200 mV (vs. Ag/AgCl). V kyselém nebo neutrálním prostředí se pak provádí depozice na uhlíkových elektrodách [127, 128], popř. uhlíkových elektrodách modifikovaných částicemi oxidů kovů [129, 130], při potenciálu 0 až 100 mV (vs. Ag/AgCl). Potenciál píku riboflavínu je závislý na hodnotě pH a s rostoucím pH se posouvá do negativnějších hodnot o přibližně 50 mV s jednotkou pH [131]. Při pH $4,5$ je redox potenciál riboflavínu přibližně $-0,28\text{ V}$ (vs. Ag/AgCl). Akumulovaný riboflavin je poté redukován katodickým skenem. DPAdSV (resp. SWAdSV) stanovení riboflavínu je rušeno kyslíkem rozpuštěným v roztoku, proto je ho potřeba z roztoku odstraňovat probubláním.

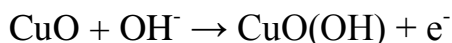
Využití elektrod na bázi bismutu komplikuje fakt, že vylučovací potenciál riboflavínu je velmi blízko rozpouštěcího potenciálu bismutu. Při stanovení riboflavínu hrozí poškození vrstvy bismutu na elektrodě, což vede ke změně vlastností senzoru (většinou snížení proudové

odezvy). Přesto Sa a kol. [132] demonstroval analýzu riboflavinu pomocí SWAdSV na bismutovém filmu (deponovaném na měděném substrátu). Poškození bismutové vrstvy způsobené měřením předcházelo opětovnou depozicí po každém měření *ex situ* elektrodepozicí z roztoku $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$.

2.5 Neenzymatické stanovení glukosy na elektrodách modifikovaných pomocí Cu, Ni a Cu/Ni

Elektrochemické stanovení glukosy v krvi je patrně nejrozšířenější využití elektroanalytické metody v praxi. Problémy s metabolismem sacharidů (známé jako cukrovka) totiž vedou k nutnosti měřit hladinu glukosy v krvi. Pacient provádí měření přímo sám, je tedy nutno používat jednoduchá, snadno ovladatelná, spolehlivá, a levná čidla. Většina moderních přenosných glukometrů využívá enzymové reakce glukosy s glukosaoxidáasou a měření některého produktu této reakce (např. H_2O_2 nebo mediátoru přenosu elektronu mezi glukosaoxidáasou a elektrodou, nejčastěji jde o ferrocen) [133]. Problémy spojené se stabilitou enzymu a jejich relativně vyšší cena [134] mohou vést ke snahám vyvinout senzory, u nichž dochází k výměně elektronu přímo mezi elektrodovým povrchem a glukosou. Uhlíkové elektrody nejsou vhodné k oxidaci sacharidů, protože je potřeba použít velkého přepětí, což vede k neselektivnosti senzorů, nízké proudové odezvě a zhoršenému poměru signál - šum [135]. Oxidace sacharidů za nižších potenciálů probíhá na elektrodách z ušlechtilých kovů, konkrétně zlata a platiny [136]. Velkým problémem bránícím širšímu využití uvedených elektrod je adsorpce chloridů a některých dalších sloučenin na povrch elektrody, která vede k inaktivaci senzoru a tím k snížení citlivosti detekce. Inaktivaci elektrodového povrchu lze zabránit aplikací potenciálových pulzů [6]. V pulzním režimu jsou na elektrodu aplikovány tři různé potenciály a) analytický, při němž dochází k oxidaci sacharidů b) čistící anodický pulz (potenciál je vyšší než analytický), jehož cílem je odstranění adsorbovaných produktů oxidace sacharidů na elektrodě c) redukční potenciál k obnovení vrstvy elementárního zlata, popř. platiny. Snaha nepoužívat komplikovanější pulzní metody měření vede k vývoji glukosových senzorů, které jsou schopny pracovat při konstantním potenciálu. Nejpoužívanější elektrodové materiály k měření glukosy za konstantního potenciálu jsou nikl a měď [135]. Měděné nebo niklové elektrody netrpí tolik inaktivací povrchu - nejsou citlivé na přítomnost chloridů ve vzorku. Elektroanalýza je založena na elektrokatalytické oxidaci glukosy pomocí neobvykle

vysokých oxidačních stavů (Cu^{III} a Ni^{III}), které jsou generovány v alkalickém prostředí při dostatečném anodickém potenciálu [91]:



popř.

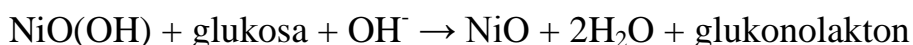


Potenciál redox přechodů z $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{Cu}^{\text{III}}$ je 0,41 V (vs. SCE) [137].

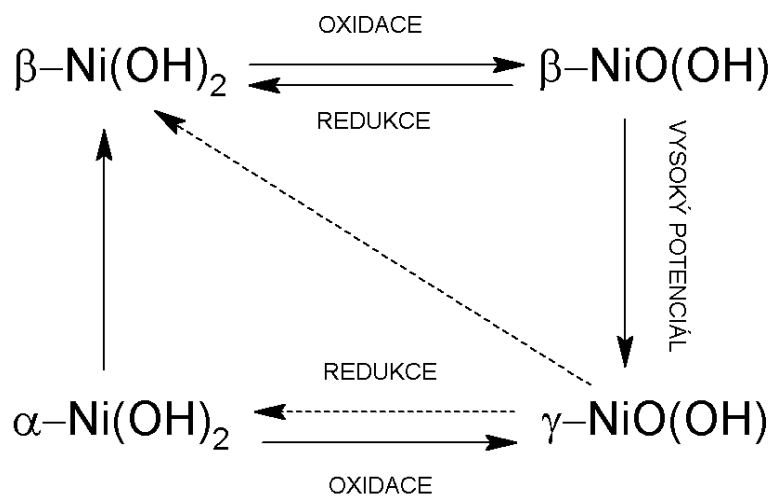
Nikl na elektrodovém povrchu reaguje s hydroxidovými ionty za vzniku Ni(OH)_2 . Po aplikaci anodického potenciálu dochází k oxidaci Ni(OH)_2 a vzniká NiO(OH) .



Vzniklé sloučeniny mědi resp. niklu (v oxidačním čísle III) reagují s glukosou dle reakce:



U Ni(OH)_2 a NiO(OH) hraje významnou roli jejich struktura. Rozlišujeme dvě základní formy hydroxidu, $\alpha\text{-Ni(OH)}_2$ a $\beta\text{-Ni(OH)}_2$, a dvě formy oxyhydroxidu, $\beta\text{-NiO(OH)}$ a $\gamma\text{-NiO(OH)}$ [138]. Přechod z $\alpha\text{-Ni(OH)}_2$ na $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ probíhá v alkalickém roztoku samovolně. Oxidací $\beta\text{-Ni(OH)}_2$ vzniká $\beta\text{-NiO(OH)}$, u něhož pozorujeme katalytický účinek na oxidaci glukosy. $\beta\text{-NiO(OH)}$ je aplikací příliš vysokého potenciálu, rychlých potenciálových změn nebo působením vysokých koncentrací hydroxylových iontů transformován na $\gamma\text{-NiO(OH)}$. $\gamma\text{-NiO(OH)}$ nevykazuje tak vysoké katalytické účinky k oxidaci glukosy, navíc dochází k nabobtnání vrstvy, což vede k popraskání a následnému nevratnému mechanickému poškození modifikace na senzoru [139]. $\gamma\text{-NiO(OH)}$ sice redukcí částečně přechází zpět na $\beta\text{-Ni(OH)}_2$, avšak až po nevratném mechanickém poškození. Popsané transformace (viz Obr. 9) probíhají relativně pomalu a dochází u nich k ustavení rovnováhy. Za podmínek používaných při analýze sacharidů jsou tedy přítomny oba oxidační stavy niklu (Ni(OH)_2 i NiO(OH)) [139].



Obr. 9 Možné transformace forem Ni(OH)_2 a NiO(OH) . Přerušované šipky znázorňují částečné přechody. Převzato ze [139]

Zajištění stability lze dosáhnout přidavkem mědi k niklové vrstvě, což vede k potlačení tvorby nežádoucího $\gamma\text{-NiO(OH)}$ [139]. Pro použití směsi mědi a niklu hovoří také synergie jejich katalytického účinku. V literatuře lze nalézt relativně velké množství prací potvrzujících pozitivní efekt použití elektrodových materiálů na bázi Cu, Ni nebo směsi Cu/Ni materiálu k modifikaci uhlíkových elektrod a jejich aplikace jako glukosových senzorů. Částečný souhrn lze nalézt v Tab. 3, širší přehled je v Příloze článku [140].

Tab. 3 Částečný přehled literatury na téma stanovení glukosy pomocí elektrodových materiálů na bázi mědi, niklu a jejich směsí.

Materiál	ZE	EAM	E_{det} (V)	LOD (μM)	LDR (μM)	Testované interference (poměr Glu:Int)	Aplikace	Zdroj
Cu-NiO/GCE, NiO/GCE	0,1M NaOH	AMP	0,4	0,5	0,5 – 5 000	- AA, UA (1:1)	-	[141]
Slitina Cu-SiO ₂	0,1M NaOH	CV, LSV		10 50	10 – 20 000 50 – 20 000	- DA, UA, AA (1:2,5)	-	[142]
Ni(OH)_2 v chitosanové membráně/ GCE	0,1M NaOH	chronoAMP	0,75	-	-	-	-	[143]
NiO nanolisty na grafenu	0,5M NaOH	AMP	0,5	0,9	až do 10 000	- AA, UA (50:1)	Krevní sérum	[144]
NiNP na grafenu	0,1M NaOH	AMP	0,5	1,85	5 – 550	- UA, AA (10:1)	-	[145]

Mikroplátky Ni(OH) ₂	0,1M KOH	AMP	0,5	3,5	-	- UA, AA (1:10)	-	[146]
Ni(OH) ₂ NPs na porézním Ni	1M NaOH	AMP, LSV	0,45	0,16	600 – 6 000	- UA (205:1) AA (50:1) PM (25:1) MeOH, EtOH	Krevní sérum	[147]
Nanojehličky NiO	0,1M NaOH	CV	E _{1/2} = 0,54	1,2	0,1 – 5,0	- UA, AA, DA (10:1)	Krevní sérum	[148]
C nanodrátka modif. vločkami Ni(OH) ₂	0,1M NaOH	chronoAMP	0,54	0,3	10 – 6 860	- UA, AA, L-aspartát (10:1) DA (100:1)	Moč	[149]
Ni mikrodisk na BDD	1M NaOH	AMP	0,5	-	-	- UA, AA	-	[150]
NiO NP	0,5M NaOH + 0,1M KCl	AMP	0,7	0,16	1 – 110	- AA, UA (10:1)	Džus	[151]
CNT–Ni	0,1M NaOH	AMP	0,5	2	5 – 2 000	- AA, UA (20:1)	-	[152]
NiO nanostruktury	0,1M NaOH	AMP	0,52	0,7	100 – 5 000	- AA, UA, DA (1:1)	Krevní sérum	[153]
Nanoporézní NiO/TiO ₂	0,1M NaOH	AMP	0,52	1	5 – 12 100	- AA, UA, PM (40:1)	-	[154]
Ni–film GC	0,1M NaOH	AMP	0,6	0,89	3,2 – 17 500	- AA, UA, DA (10:1)	Krevní plazma	[155]
Ni-BDD	1M KOH	AMP	0,48	1,8	5 – 10 000	- AA (10:1) UA (50:1)	-	[156]
Ni–TiO ₂ nanotrubičky	0,1M NaOH	chronoAMP	0,6	0,13	2 – 200	- UA, AA (10:1)	Krevní sérum	[157]
Ni NP	0,1M KOH	AMP	0,75	0,232	až do 13 330	- AA (30:1) Cl ⁻	Krevní sérum	[158]
Dispergované Ni kulovité NP	0,1M NaOH	AMP	0,5	-	1 – 110	- AA (10:1) UA (50:1)	-	[159]
směs Ni(OH) ₂ Co(OH) ₂	0,5M NaOH	chronoAMP	0,47	-	až do 3 700	- AA, UA, DA (8:1)	-	[160]
Ni(OH) ₂ a AuNPs	0,1M NaOH	AMP	0,55	0,92	5 – 2 200	- UA, L-cysteine (5:1)	Krevní sérum	[161]
CuNP	0,1M NaOH	chronoAMP	0,5	0,5	up to 4500	- AA, UA, DA (10:1) Cl ⁻	-	[162]
CuO nanovlákná	0,15M NaOH	chronoAMP	0,48	0,04	0,2 – 1 300	- AA, UA, DA (10:1)	-	[163]
CuO/Cu(COO)	0,1M NaOH	LSV, AMP	0,7	0,05	až do 15 000	- AA, UA, AP (30:1)	Krevní sérum	[164]

Cu nanodrátky	0,1M NaOH	AMP	0,55	1,6	5 – 6 000	- AA, DA (100:1) UA (25:1)	Krevní sérum	[165]
Cu/porézni Si	0,1M NaOH	chronoAMP	0,55	0,2	1 – 190 190 – 2 300	- AA, DA, UA, citrát (1:1) Cl ⁻	Krevní sérum	[166]
CuO- grafenový nanokompozit	0,1M NaOH	AMP	0,4	0,1	0,4 – 12 000	- AA, UA, DA (5:1)	Krevní sérum	[167]
Cu nanostruktury	0,1M NaOH	AMP	0,65	0,36	0,36 – 1 000	- AA (50:1) UA, PM (16,7:1) EtOH	Krevní sérum	[168]
Porézni CuO na Pt/Ti/Si nosiči	0,1M NaOH	AMP	0,65	0,14	1 – 2 500	- AA (20:1) UA (10:1)	Krevní sérum	[169]
CuO NPs na CNT	0,1M NaOH	chronoAMP	0,55	0,8	až do 3 000	- AA, UA, DA, Cl ⁻ , citrát, PO ₄ ³⁻ , benzoát,	Krevní sérum	[170]
CuNT	0,1M NaOH	AMP	0,55	1	až do 7 500	- AA, UA, DA, Cl ⁻ , citrát, PO ₄ ³⁻ , benzoát,	Krevní sérum	[171]
Cu nanodrátky	0,1M NaOH	AMP	0,55	0,26	až do 3 000	- AA, UA, DA (50:1)	Krevní sérum	[172]

2.6 Jiskrový výboj jako metoda přípravy nanočástic

Plyny za normálních podmínek neobsahují volně se pohybující nabitě částice a fungují jako izolant. Vysoké napětí na elektrodách vede k formování tzv. streamerů, což jsou drobné kanálky plazmatu vznikající mezi elektrodami [173]. Elektronů s nízkou hmotností (tzv. záporně nabitě streamery) se v elektrickém poli pohybují směrem k anodě a narážejí do neutrálních částic plynů. Pokud je napětí na elektrodách dostatečné, jsou elektrony urychleny do té míry, že při kolizi s neutrálním plynem dojde k vyrazení dalšího elektronu a vzniku kationtu. Dochází k lavinovému šíření proudu elektronů. Relativně hmotné kationty plynů, tvořící tzv. kladné streamery, se začnou pohybovat ke katodě (ve srovnání s elektrony pomaleji). V další fázi dochází k absorpci elektronů na anodě. Přebytek kationtů naruší rovnováhu distribuce náboje mezi elektrodami. Vlivem převládajícího kladného náboje dochází k lokálnímu zesílení elektrického pole, což vede k nárůstu energie volných elektronů a zvýšení efektivity ionizace [174]. Popsaný proces vzniku výboje probíhá za dostatečně vysokých napětí a nazývá se mechanismus negativních streamerů. Za nízkých napětí nemají elektrony dostatečnou rychlost a při srážce s neutrálními částicemi plynu nedojde k vyrazení

elektronů. Elektrony ztrácejí svou kinetickou energii a nedochází ke vzniku lavinového efektu.

Ionizace a disociace molekul vzduchu vede k vytvoření vodivého kanálu. Teplota výboje dosahuje až 20 000 K, při které dochází k odpaření materiálu obou elektrod [175]. Další podíl materiálu uvolněného do plazmatu je vyrážen z katody nárazem kationtů (tzv. rozprašování, angl. *sputtering*) [176]. Vlivem vysokých teplot dochází v plazmatu k chemickým reakcím mezi uvolněným materiálem a složkami okolní atmosféry (např. oxidace vzdušným kyslíkem). Nakonec dochází k rekombinaci nosičů náboje a vychladnutí plazmatu, což vede ke kondenzaci odpařeného materiálu. Kondenzované částičky materiálu elektrod pak podléhají nukleaci, vlivem srážek dochází ke srůstání a aglomeraci ve formě nanočástic [177]. Metodu jiskrového výboje využil jako první Schwyn a kol. v roce 1988 k vytvoření nanočástic zlata [178]. Metodou lze generovat částice jakéhokoli vodivého materiálu, ať už se jedná o kov (např. zlato [178]), oxid kovu (např. oxid ceričitý [179]) nebo uhlík [180].

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie, příprava zásobních roztoků a přístrojové vybavení

Při měření těžkých kovů byl jako podpurný elektrolyt použit $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ acetátový pufr o pH 4,5, připravený smícháním octanu sodného (Fluka) s kyselinou octovou (PENTA) v redestilované vodě. Pracovní roztoky těžkých kovů (Pb^{2+} a Cd^{2+}) byly připraveny naředěním standardních roztoků pro AAS (1000 mg.l^{-1} v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ HNO_3 , BDH Laboratory Supplies) redestilovanou vodou. Maskování měďnatých kationtů ve vzorku pitné vody bylo provedeno přidáním hexakvanoželeznatanu draselného, p. a. (Fluka) v pevném stavu. Při elektrochemických měřeních riboflavinu byly základními elektrolyty a) $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octanový pufr o pH 4,5 (viz předchozí odstavec), b) $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ fosfátový pufr pH 7, připravený z hydrogenfosforečnanu sodného a kyseliny fosforečné a c) $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ amoniakální pufr připravený z vodného roztoku amoniaku, jehož pH bylo upraveno kyselinou chlorovodíkovou na hodnotu 9,2 (vše Sigma-Aldrich). Pentahydrát dusičnanu bismutitého (k elektrolytické přípravě bismutové vrstvy) a riboflavin byly od firmy Sigma. Zásobní roztok riboflavinu byl připravován jednou týdně a skladován v chladu a temnu. Pro další použití byl roztok ředěn redestilovanou vodou na požadovanou koncentraci.

K přípravě základního elektrolytu pro měření glukosy byl použit hydroxid sodný (Sigma-Aldrich), který byl rozpuštěn na požadovanou koncentraci v redestilované vodě. Zásobní roztok glukosy (Sigma Aldrich) o koncentraci $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ byl připravován jednou za dva týdny. Pro ustavení rovnováhy mezi anomery byl ponechán 24 hodin v lednici při $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Poté byl rozdělen na menší části a zmrazen při $-17 \text{ }^\circ\text{C}$, které byly po rozmrazení ředěny na požadovanou koncentraci redestilovanou vodou. Standardy fruktosy, kyseliny askorbové, paracetamolu a kyseliny močové byly od firmy Sigma-Aldrich.

Plátky kovového bismutu zakoupené od firmy Goodfellow (šířka $0,5 \text{ mm}$, čistota $99,99 \%$) byly nalámány na proužky a použity k úpravě elektrod jiskrovým výbojem. Slitiny Cu a Ni byly připraveny v nekomerční obloukové peci určené k tavení materiálů postavené v laboratoři materiálových věd na univerzitě v Ioannině (Department of Materials Science, University of Ioannina, Řecko). K tavení materiálu byl využit stejnosměrný elektrický oblouk zažehnutý v argonu, proud v oblouku byl 120 A . Jedna elektroda byla vyrobena z wolframu, druhou byl tavený materiál. Ten byl umístěn do měděného kelímku s vnitřním vodním

chlazením. Výchozí materiály byly nikl (>99 % Ni) a měď (>99 % Cu). K zajištění homogenity materiálu bylo provedeno dvojí tavení, po prvním přetavení byl slitek převrácen. Bylo připraveno pět materiálů: čistá měď, čistý nikl a slitiny mědi s niklem ve hmotnostních poměrech 25/75, 50/50 a 75/25. Připravené materiály byly pod tlakem a za horka vlisovány do termosetové pryskyřice v přístroji Labo Press-1 (Struer, USA). V pryskyřici zalisované slitky byly umístěny do okružní pilky AccuTom-5 (Struer, USA) a nařezány na tenké plátky. Ty byly opracovány do tvaru hrotu kvůli usnadnění tvorby jiskrového výboje a zvýšení množství materiálu přeneseného do plazmatu.

K modifikaci elektrod byl použit vysokonapěťový zdroj regulovatelný v rozmezí od 200 do 2000 V, sestavený z 10 kHz oscilátoru, transformátoru a pětistupňového Cockroft-Waltonova násobiče napětí. Přístroj byl sestaven doc. RNDr. Janem Hrbáčem, Ph.D. Všechna elektrochemická měření probíhala na přístroji PGSTAT12 (Metrohm Autolab, Švýcarsko) v tříelektrodovém zapojení, jako pracovní elektroda sloužila SPGE, popř. modifikovaná SPGE, referentní elektroda byla Ag/AgCl, (IJ Cambria, UK), jako pomocná elektroda sloužil platinový drátek.

K míchání roztoků při měření byla použita míchačka VARIOMAG Compact (Thermo Electron Corporation, USA).

Snímky Bi-SPGE ze skenovacího elektrodového mikroskopu (SEM) byly pořízeny na přístroji VEGA3 TESCAN (TESCAN, Česká republika) při akceleračním napětí 10 kV. Měření na transmisním elektronovém mikroskopu (TEM) byla prováděna na přístroji JEOL-2100 (JEOL, Japonsko) při napětí 200 kV. Natištěná uhlíková vrstva SPGE byla po modifikaci bismutem seškrábána pomocí skalpelu a dispergována v ethanolu. Poté byla nanášena na grafitovou mřížku, na níž probíhalo TEM měření.

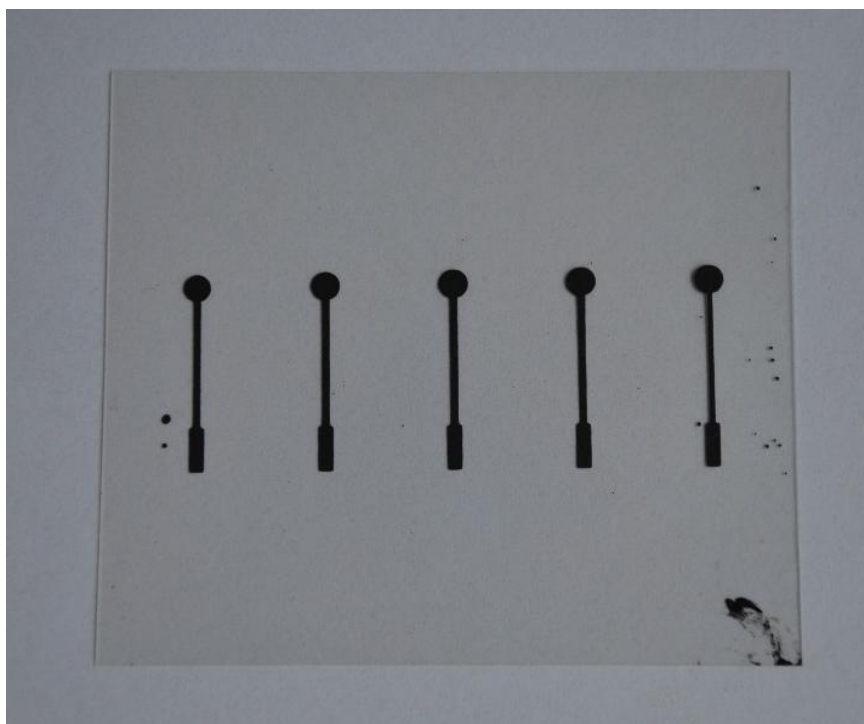
SEM snímky a elementární analýza složení SPGE (modifikovaných Cu, Ni a slitinami Cu/Ni) byly provedeny na přístroji JSM-6510LV (JEOL, Japonsko), který byl vybaven energiově disperzním spektrometrem (EDX) INCA PentaFETx3 (Oxford Instruments, UK). Pro měření byly vzorky pokryty zlatem na přístroji Polaron SC7620 (Thermo VG Scientific, USA).

XPS měření byla provedena za vysokého vakua při tlaku $2 \cdot 10^{-9}$ mbar na přístroji SPECS GmbH vybaveným monochromatickým zdrojem MgK α ($h\nu = 1253,6$ eV) a hemisferickým analyzátozem Phoibos-100. Rozlišení energií bylo nastaveno na 1,2 eV a startovací úhel fotoelektronů byl 45 °. Při spektrální analýze byl proveden Shirleyho odečet pozadí, dekonvoluce píku využívající smíšenou Gausovsko-Lorentzianovou funkci byla provedena

softwarem na prokládání křivek WinSpec (University of Namur, Belgie) využívající metodu nejmenších čtverců.

3.2 Příprava elektrod

Výroba sítotiskem připravených grafitových elektrod vycházela z postupu publikovaného v práci Prodromidisea jeho kolektivu [181]. Uvedený postup byl mírně modifikován. Grafitový inkoust Elektrodag PF-407A (Acheson Colloiden, Nizozemí) byl přes polyesterová síta protlačěn pomocí tiskárny Model 247 screen printer (DEK, UK) na polyesterový substrát. Nejprve byly vytištěny vodivé spoje, které byly tvořeny dvěma vrstvami inkoustu. Po prvním tisku byly substráty s natištěnými kontakty sušeny při 120°C po 30 min. Následně byly natištěny plochy pracovních elektrod (ve dvou vrstvách inkoustu) a sušeny při 120°C po 30 min. Po vysušení byly elektrody ponechány přibližně týden na vzduchu. Na každém substrátu byly tištěny po pěti kusech (viz Obr. 10). Před použitím byly jednotlivé elektrody vystřiženy ze substrátu tak, aby nebyla poškozena natištěná vrstva.



Obr. 10 Fotografie polyesterového substrátu s natištěnými grafitovými elektrodami

3.3 Modifikace elektrod

Před vlastní modifikací byly elektrody opláchnuty redestilovanou vodou a osušeny v proudu dusíku. Modifikace na sítotiskem připravených grafitových elektrodách byla prováděna na vysokonapěťovém zdroji při napětí 1,2 kV. Modifikace jiskrovým výbojem („ojiskření“) byla prováděna na vzduchu (tj. za přístupu kyslíku) při laboratorní teplotě (přibližně 25 °C). Zapojení elektrod bude označováno dle polarity SPGE. Elektroda zapojená ke kladnému pólu VN zdroje bude (v souladu s relevantní literaturou [182]) označována jako anoda (resp. anodické zapojení SPGE), k zápornému pólu zdroje jako katoda (katodické zapojení SPGE). Zapojení SPGE záviselo na kovu použitém jako materiál protielektrody. Pro bismut byla použita obě zapojení SPGE, při modifikaci niklem, mědí a slitinami Cu/Ni byla SPGE zapojena vždy ke kladnému pólu.

Postup depozice: hrot kovu byl přibližován k SPGE na vzdálenost menší než 0,5 mm, kdy došlo k jiskrovému výboji. Postup byl opakován na ploše celého terčíku (plocha pracovní elektrody). Aplikováno bylo 30 jisker při modifikaci bismutem a 60 při modifikaci niklem, mědí a slitinami Cu/Ni (pokud není uvedeno jinak). Každá část pracovní elektrody byla zasažena jiskrovým výbojem pouze jednou. Celý proces modifikace trval přibližně 30 s. Modifikovaná („ojiskřená“) elektroda byla použita ihned nebo odložena na suché místo a skladována při laboratorní teplotě.

Pro srovnání byly Bi-SPGE připraveny klasickou metodou popsanou v práci Prodromidise a kol. [183]. Příprava spočívala v elektrochemické redukci bismutu z roztoku dusitanu bismutitého v acetátovém pufru. Depozice bismutové vrstvy byla prováděna při -1,2 V (vs. Ag/AgCl) po dobu 180 s, koncentrace Bi^{3+} byla 20 mg l⁻¹.

3.4 Elektrochemická měření

Všechna měření proběhla v tříelektrodovém uspořádání, kdy jako pracovní elektroda byla zapojena sítotiskem připravená grafitová elektroda modifikovaná nanomateriály vzniklými při jiskrovém výboji (odvozené od Bi, Ni, Cu nebo slitiny Cu/Ni), resp. neupravená sítotiskem připravená grafitová elektroda. Potenciály byly vztaženy k referentní Ag/AgCl elektrodě naplněné 3 mol.l⁻¹ KCl (IJ Cambria). Veškeré potenciály uvedené v experimentální části práce vztaženy k této elektrodě. Jako pomocná elektroda sloužil platinový drátek.

Všechna měření při vývoji senzorů těžkých kovů probíhala v $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ acetátovém pufru. Voltametrická měření probíhala v módu ASV, kdy byla provedena prekoncentrace kovů při potenciálu $-1,2 \text{ V}$ po dobu dvou minut za intenzivního míchání (přibližně $1000 \text{ ot. min}^{-1}$). Před vlastním skenem následoval klidový čas 10 s při počátečním potenciálu. SWV byly měřeny od -1 do $-0,37 \text{ V}$ při frekvenci 50 Hz , potenciálovém kroku $0,0015 \text{ V}$ a amplitudě $0,05 \text{ V}$. Před měřením nebyl odstraňován rozpuštěný kyslík.

Při měření riboflavinu byly jako základní elektrolyty použity $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ acetátový pufr (pH 4,5), $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ fosfátový pufr (pH 7) a $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ amoniakální pufr (pH 9,2). CV byly měřeny při skenovací rychlosti $0,1 \text{ V.s}^{-1}$. Prekoncentrace riboflavinu (fyzikální adsorpce) probíhala za bezproudového stavu, tj. při rozpojeném elektrickém kontaktu na pracovní elektrodě za míchání po dobu 60 s (pokud není uvedeno jinak). Po 10 s klidového stavu byla změřena SWV voltametrické měření při frekvenci 50 Hz , potenciálovém kroku $0,0015 \text{ V}$ a amplitudě $0,05 \text{ V}$.

Elektrochemická měření glukosy na Cu, Ni a CuNi modifikovaných elektrodách probíhala v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ roztoku hydroxidu sodného (pokud není uvedeno jinak). Měření CV probíhala při skenovací rychlosti $0,05 \text{ V.s}^{-1}$. Amperometrická měření probíhala za mírného míchání (přibližně 300 ot min^{-1}). Potenciál aplikovaný na pracovní elektrodu byl $0,55 \text{ V}$.

3.5 Úprava a zpracování reálných vzorků

Úprava vzorku pitné vody

Vzorek pitné vody byl odebrán po deseti minutách volného odtékání vody (kvůli případné kontaminaci v potrubí). Po odstátí vody bylo do 100 ml odměrné baňky napipetováno 10 ml 1 mol.l^{-1} acetátového pufru (pH 4,5) a doplněno po rysku pitnou vodou. Takto připravený vzorek obsahoval měďnaté kationty, které tvoří intermetalickou sloučeninu s kadmíem i olovem [183].

Analýza vzorku tablety B-komplexu

Několik tablet B-Komplexu forte (Zentiva) obsahujícího vitamíny B1, B2, B3, B5 a B6 bylo rozdrceno v třecí misce. Z rozdrceného materiálu bylo přesně odváženo přibližně 100 mg , převedeno do 50 ml redestilované vody a extrahováno pět minut na ultrazvukové lázni. Suspenze byla přefiltrována přes stříkačkový mikrofiltr (velikost pórů $0,45 \text{ }\mu\text{m}$) a filtr propláchnut dalším podílem vody. Filtrát byl poté zředěn redestilovanou vodou na předpokládanou koncentraci $15 \text{ }\mu\text{mol.l}^{-1}$. Správnost vyvinuté metody byla ověřena při

měření extraktu tablety, ve kterém bylo množství riboflavinu navýšeno přidavkem standardu (tzv. „spikování“).

Měření glukosy ve vzorku krevního séra

Vzorek krevního séra zdravého dobrovolníka byl získán ve Fakultní nemocnici v Olomouci. 100 μl neupraveného krevního séra bylo nastříknuto do měřicí cely obsahující 30 ml 0,5 mol.l⁻¹ NaOH. Koncentrace krevní glukosy byla změřena metodou standardního přídávku. Výsledek byl srovnán s hodnotou naměřenou přenosným glukometrem. K dalšímu ověření správnosti měření byla před měřením navýšena koncentrace glukosy v krevním séru o 5 mmol.l⁻¹.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Studium jiskrového výboje a jeho užití k modifikaci SPGE pomocí kovových nanočástic

Jiskrový výboj je rychlá a relativně jednoduchá metoda přípravy nanočástic odvozených od materiálů elektrod, mezi kterými výboj probíhá. Postup se vyznačuje nulovou spotřebou rozpouštědel a chemikálií. Vznikající nanočástice lze ovlivnit složením atmosféry, v níž jiskrový výboj probíhá. V atmosféře inertního plynu dochází k tvorbě částic kovu, v přítomnosti kyslíku vznikají částice oxidů. Metodu lze také využít ke tvorbě směsných nanočástic [184]. Výhodou metody tvorby nanočástic pomocí jiskrového výboje je vysoká čistota vytvořených částic, protože nehrozí kontaminace nečistotami obsaženými v modifikačním mediu.

Doposud jediným příkladem použití jiskrového výboje pro úpravu elektrody je práce Millara a kol. [185], která se věnuje úpravě mikroelektrod z uhlíkových vláken. Cílem však nebyla depozice nanočástic odvozených od materiálu protielektrody, ale pouze vytvoření ostrého hrotu na konci vlákna. Jako materiál protielektrody byl použit wolfram, jehož vysoké teploty tání a varu nedovolují převedení kovu do formy plazmatu a následnou depozici. Jiskrový výboj doposud nebyl využit k přímé depozici nanočástic kovu za účelem přípravy modifikovaných elektrod. V disertační práci bych rád demonstroval první využití jiskrového výboje prováděného mezi SPGE a kovovou protielektrodou na vzduchu jako velmi rychlé, efektivní, ekologicky a ekonomicky výhodné metody modifikace SPGE nanočásticemi kovových oxidů odvozených od materiálu protielektrody.

4.1.1 Vliv průběhu jiskrového výboje na vznikající senzory

Průběh jiskrového výboje je dán řadou parametrů, které zásadně ovlivňují množství, tvar a velikost vznikajících kovových nanočástic. V následujících podkapitolách je diskutován vliv napětí, polarit a materiálu elektrod na výsledné analytické vlastnosti vyrobených senzorů.

4.1.1.1 Vliv průrazového napětí

Značný vliv má během jiskrového výboje tzv. průrazové napětí (breakdown voltage), při kterém v první fázi dojde k ionizaci plynů mezi elektrodami a vytvoření vodivého kanálu. Hodnota průrazového napětí (V_d) je dána tvarem elektrod, vzdáleností mezi elektrodami, složením a tlakem plynu mezi elektrodami [186]. Se zvětšující se vzdáleností se zvyšuje i hodnota V_d potřebného k vytvoření vodivého kanálu. Složení atmosféry výrazně ovlivňuje efektivitu výboje, protože elektronegativní molekuly zachycují volné elektrony a zabraňují vzniku výboje. Např. u vzácných plynů (He a Ar) dochází k mnohem menšímu záchytu elektronů a průrazové napětí je mnohem nižší než v dusíku nebo vzduchu. Vyšší tlak plynu způsobuje také navýšení hodnoty V_d .

Celková energie jiskrového výboje je dána velikostí průrazového napětí a kapacitance zdroje C

$$E = \frac{1}{2} CV_d^2$$

Testování vlivu napětí aplikovaného na bismutový hrot bylo prováděno za laboratorních podmínek ve vzduchu. Aplikována byla napětí v rozmezí 500 – 1500 V. Velikost napětí ovlivňuje mezielektrodovou vzdálenost, při které dojde k výboji při přiblížení protielektrody k SPGE. V rozmezí 500 až 900 V bylo obtížné dosáhnout výboje, kvůli velkému přiblížení elektrod docházelo ke kontaktu hrotu a SPGE a nedošlo k jiskře. Od 1000 do 1200 V bylo napětí dostatečné ke spolehlivému průběhu výboje. Při aplikaci vysokých napětí nad 1300 V docházelo již k silnému poškození grafitové vrstvy SPGE. Výboj navíc probíhal nekontrolovaně, místo zásahu nebylo určeno přiblížením hrotu k vybranému místu na elektrodě, ale výboj proběhl do místa s vyšší kumulací náboje (například proběhl mezi protielektrodou a okrajem SPGE).

Optimální napětí na zdroji pro modifikaci bylo 1200 V, při kterém byl jiskrový výboj stabilní, nedocházelo k poškození grafitové vrstvy SPGE a připravené elektrody byly dostatečně modifikovány..

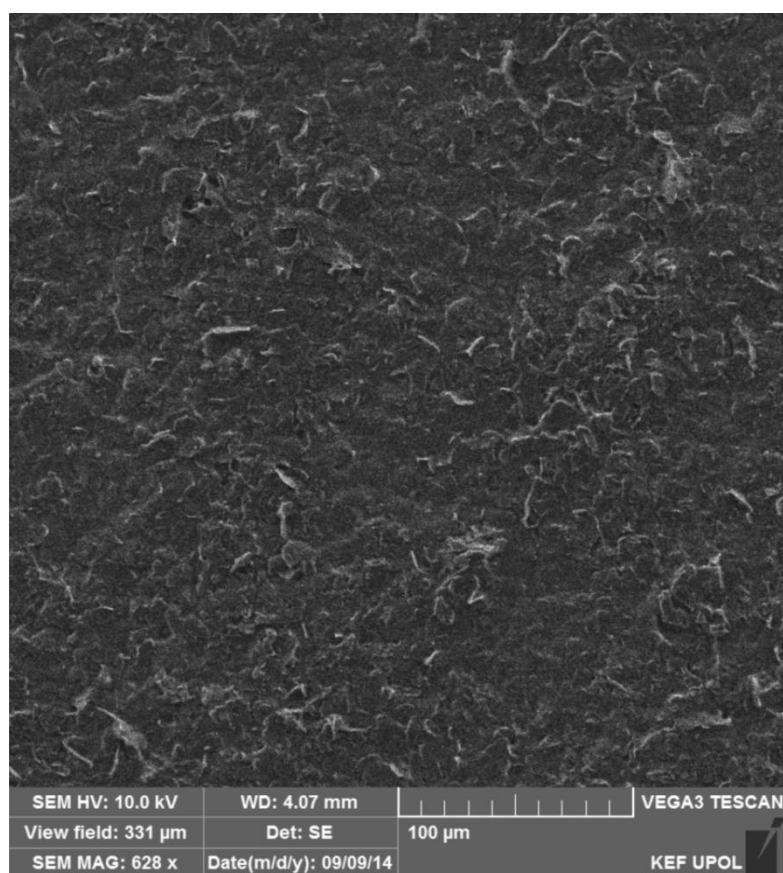
4.1.1.2 Vliv polaritě elektrod

Eroze materiálu při jiskrovém výboji probíhá na obou elektrodách. Úbytek materiálu však není stejný a závisí na polaritě elektrod. Pokud by byly obě elektrody stejné (tvar a materiál), dojde k mnohem větší erozi katody [186]. Důvodem je rozdílná kinetická energie částic předaná při nárazu na protielektrodu (kationtů na katodu, elektronů na anodu).

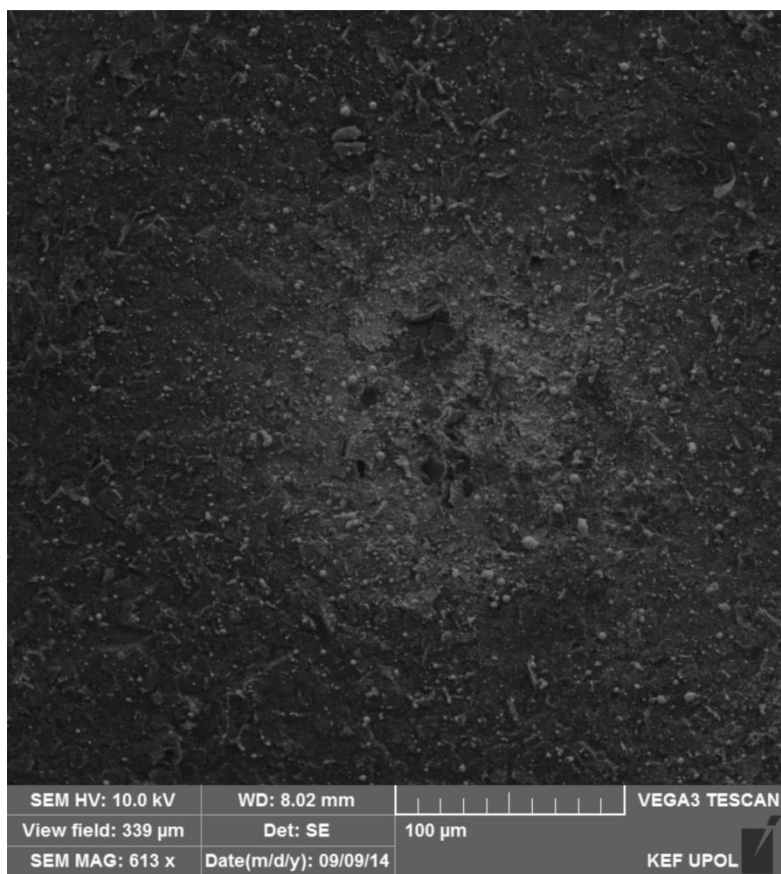
Nerovnoměrnost depozice při jiskrovém výboji v závislosti na polaritě potvrdila i data získaná pomocí SEM a CV.

Aplikací jiskrového výboje na SPGE zapojenou ke kladnému pólu napájecího zdroje došlo k přenosu relativně velkého množství bismutu. Bismut vytvořil v místě dopadu jiskry jednak kompaktní vrstvu pokrývající grafitový substrát (viz Obr. 12) a také bismutové částice o velikostech v řádu stovek nm (viz Obr. 14 b)). Při depozici došlo k oxidaci části bismutu na Bi_2O_3 vzdušným kyslíkem. Přítomnost elementárního bismutu dokládá oxidační pík okolo 100 mV v prvním skenu na cyklickém voltamogramu (viz. Obr. 16).

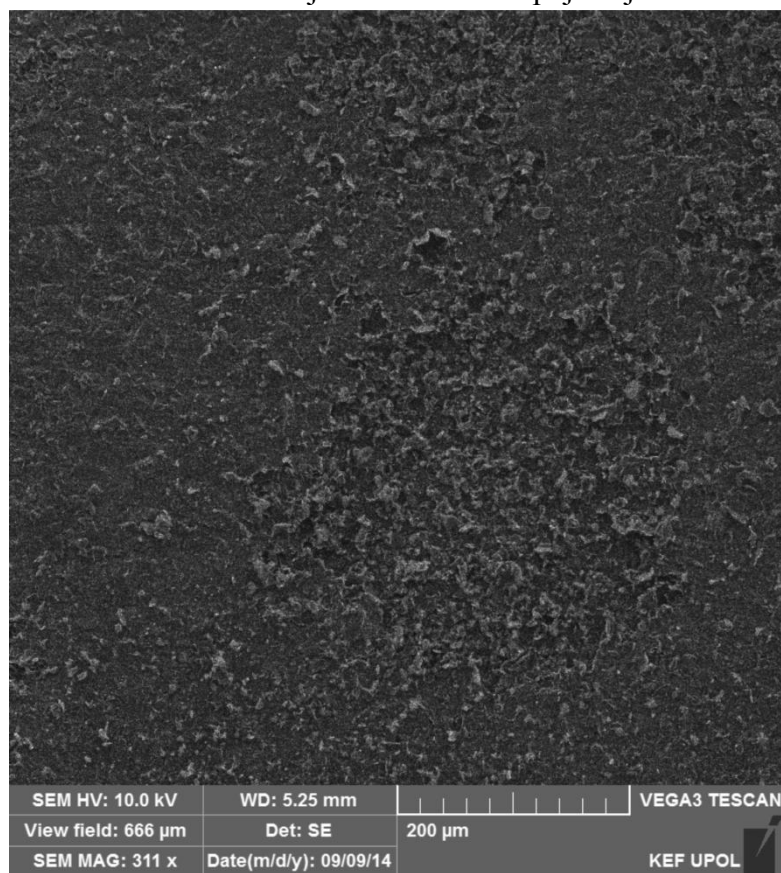
Rozdílná situace nastává při katodickém zapojení SPGE. Větší část energie jiskrového výboje je pohlcena SPGE, na níž došlo k odpaření grafitu z elektrody, vzniku kráterů a zdrsnění povrchu v místě dopadu (viz Obr. 13). Na SEM snímcích je patrné, že kompaktní bismutová vrstva v místě dopadu výboje zcela chybí. Kulovitých částic oxidu bismutu je podstatně méně a jejich rozměry nepřekračují 100 nm (viz Obr. 14 a)). Bismut na katodicky modifikované SPGE je pouze ve formě oxidu, což dokazuje absence oxidačního píku bismutu při -100 mV v prvním skenu (černá křivka Obr. 18). Ve druhém skenu je již patrný oxidační pík elementárního bismutu vzniklého redukcí Bi_2O_3 při katodickém skenu (viz Obr. 17 červená křivka).



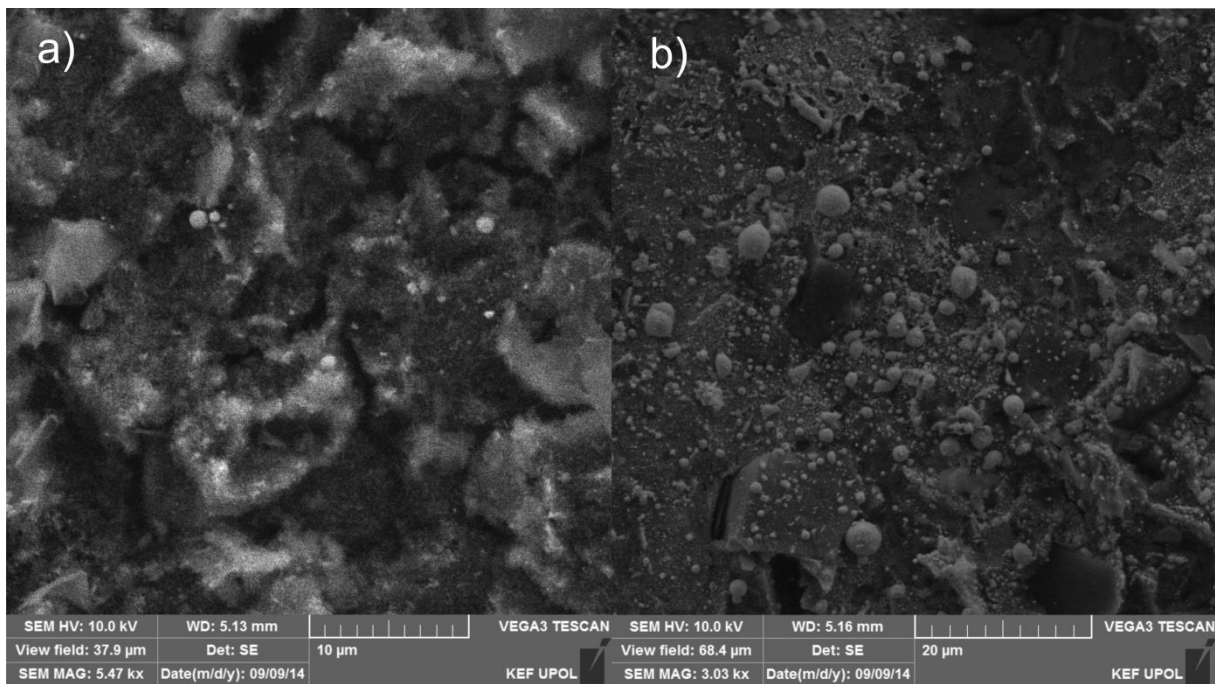
Obr. 11 SEM snímek neupravené SPGE



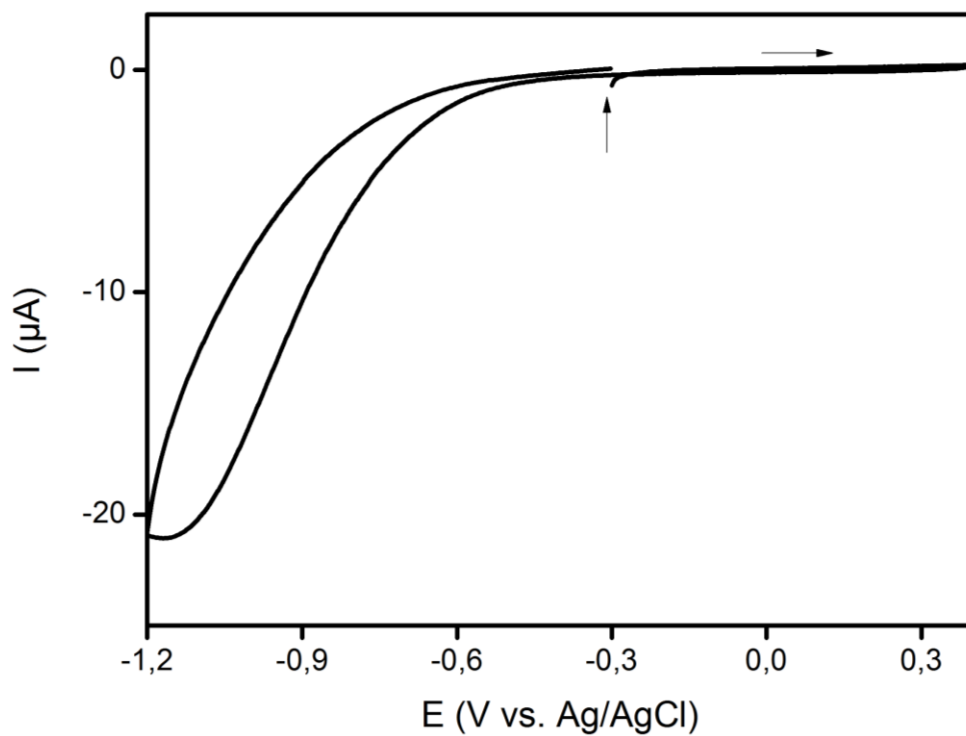
Obr. 12 SEM snímek bismutem ojiskřené SPGE zapojené jako anoda



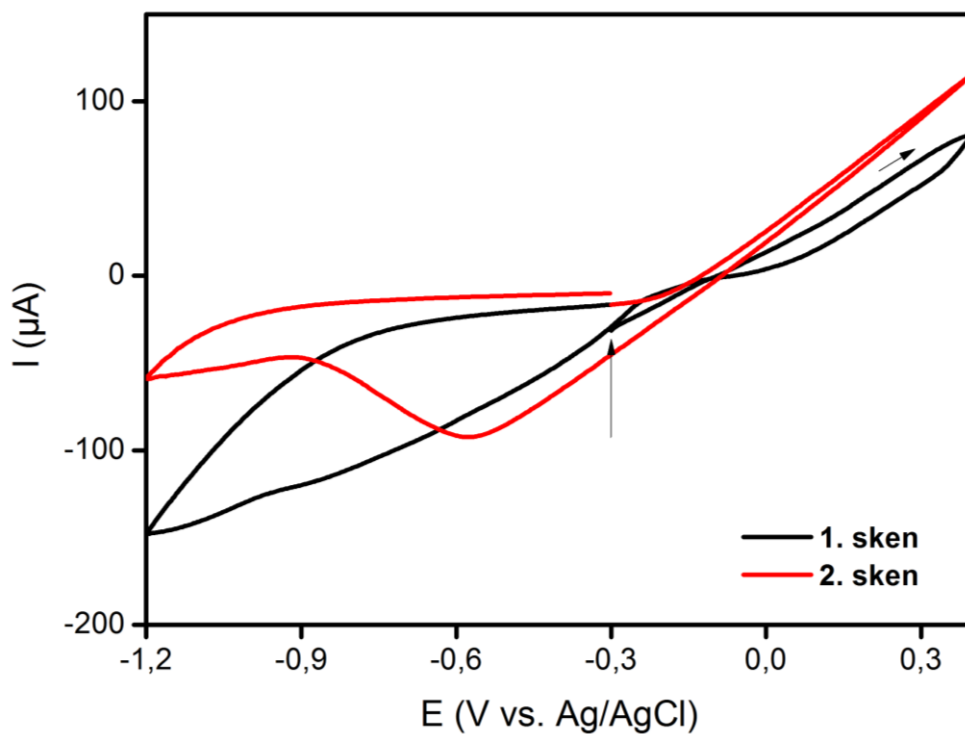
Obr. 13 SEM snímek bismutem ojiskřené SPGE zapojené jako katoda



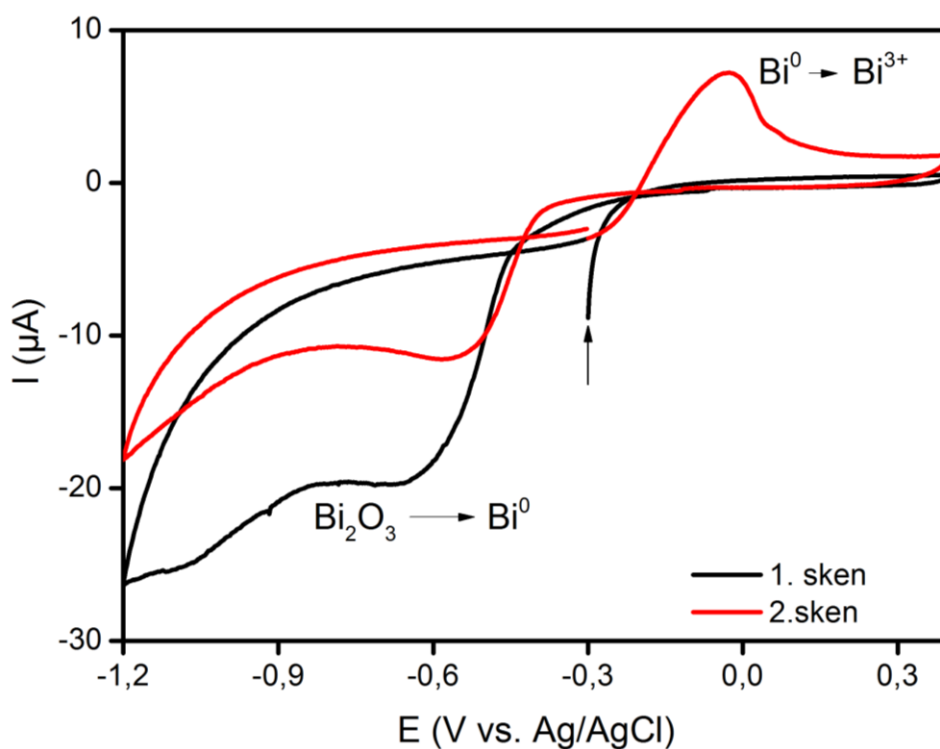
Obr. 14 SEM snímky bismutem ojiskřených SPGE: detail na místo dopadu jiskrového výboje při a) katodickém zapojení b) anodickém zapojení



Obr. 15 CV na neupravené SPGE v 0,1 mol.l⁻¹ acetátový pufr (pH 4,5), šipka označuje začátek skenu a směr od počátku měření. Skenovací rychlost 0,1 V.s⁻¹,



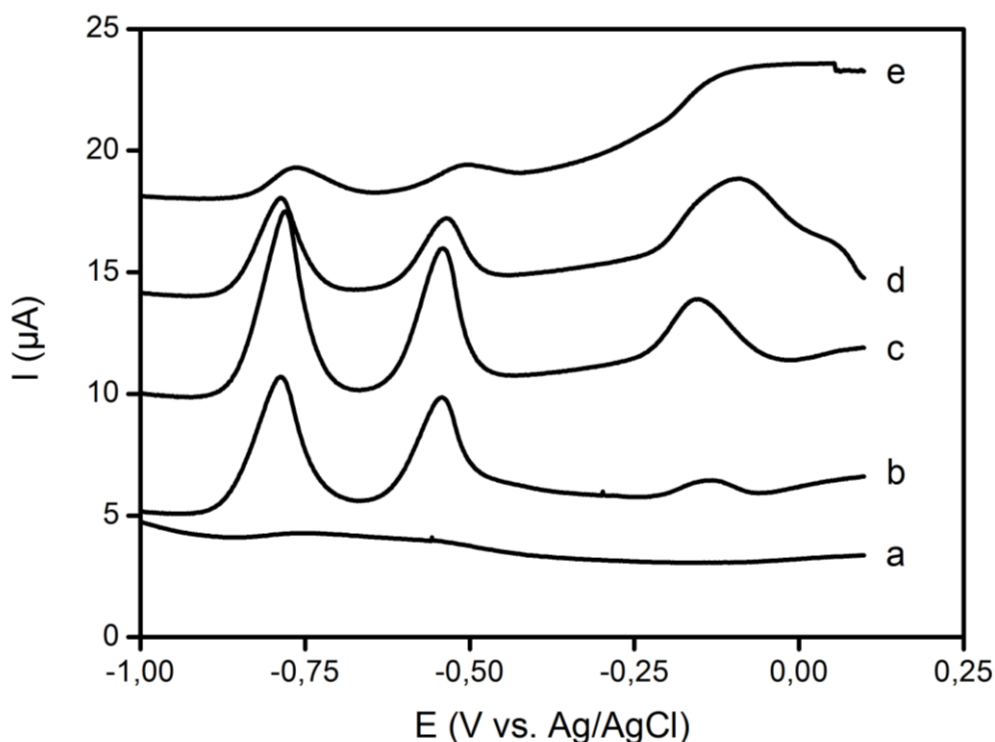
Obr. 16 CV Bi-SPGE zapojené jako anoda, skenovací rychlost $0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ acetátový pufr (pH 4,5), šipka označuje začátek skenu.



Obr. 17 CV Bi-SPGE zapojené jako katoda, skenovací rychlost $0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ octan sodný (pH 4,5), šipka označuje začátek skenu.

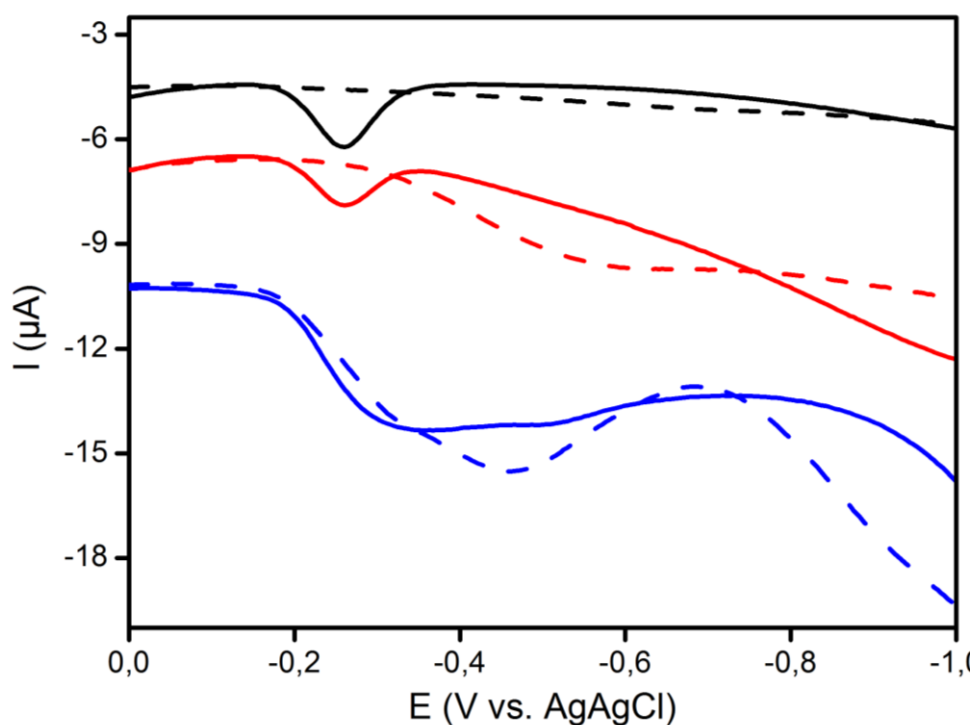
Vliv polarity zapojení senzorů při modifikaci na citlivost ASV stanovení byl testován na modelové směsi olovnatých a kademnatých iontů v acetátovém pufru. Množství bismutu (pík při -100 mV) na senzorech upravených v katodickém zapojení při depozici (viz Obr. 18 křivky b), c) a d)) bylo mnohem menší než v případě anodického (Obr. 18 křivka e)). Je patrné, že odezva na těžké kovy (píky: Cd^{2+} -800 mV, Pb^{2+} -550 mV) nezávisí na celkovém množství bismutu na elektrodě. SPGE se vzniklou kompaktní vrstvou bismutu (resp. Bi_2O_3) vznikající při kladném zapojení vykazovaly mnohem menší odezvu než SPGE pokrytá menším množstvím malých diskretních nanočástic vznikajících při katodické modifikaci.

Navýšení množství diskretních nanočástic na katodicky zapojené SPGE nebylo vhodné dosahovat zvýšením počtu jiskrových výbojů. Vyšší počet výbojů vede k překryvu zasažených míst, což pravděpodobně způsobuje narušení vzniklé vrstvy nanočástic. Optimální počet jisker byl pro bismut přibližně 20 až 25, při aplikaci vyššího počtu výbojů docházelo ke snižování odezvy na těžké kovy.

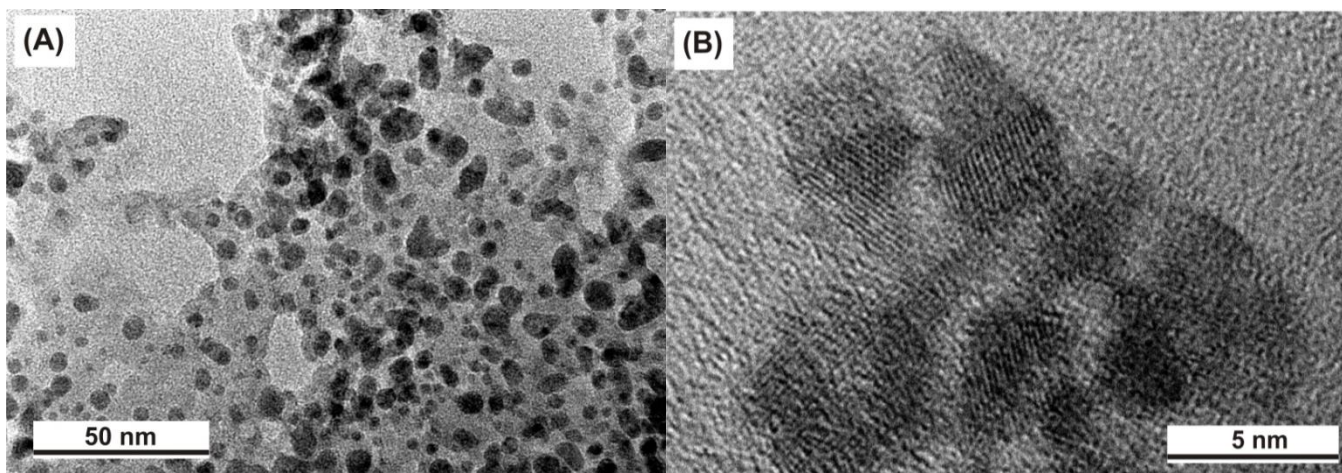


Obr. 18 Srovnání SW voltametrických měření na a) neupravené SPGE, b) katodicky ojiskřené Bi-SPGE s 10 jiskrami při modifikaci, c) katodicky ojiskřené Bi-SPGE s 20 jiskrami při modifikaci, d) katodicky ojiskřené Bi-SPGE s 30 jiskrami při modifikaci, e) anodicky ojiskřené Bi-SPGE s 30 jiskrami při modifikaci. Podmínky při měření: $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octan sodný (pH 4,5), 50 µg.l^{-1} Pb^{2+} a Cd^{2+} .

Další výhody katodického zapojení SPGE během modifikace jiskrovým výbojem lze demonstrovat při stanovení riboflavinu, který byl zvolen jako modelový analyt reprezentující elektroaktivní organickou látku. Při použití elektrolyticky připravené bismutem modifikované elektrody působí redukce rozpuštěného kyslíku značné nesnáze (viz Obr. 19, modré křivky). I přes relativně vysokou koncentraci riboflavinu v měřeném roztoku je jeho odezva zcela překryta proudovou odezvou redukce kyslíku. Oproti tomu na záznamu jiskrovým výbojem modifikované Bi-SPGE není patrná žádná interference rozpuštěného kyslíku (Obr. 19, červená křivka). Lze předpokládat, že příčinou je grafitová vrstva pokrývající nanočástice oxidu bismutitého. Na TEM snímcích je patrný šedý grafitový film pokrývající nanočástice bismutu (viz Obr. 20). V průběhu jiskrového výboje při katodickém zapojení SPGE dochází k odpaření velkého množství uhlíku. Ten po ukončení výboje kondenzuje na nanočásticích oxidu bismutitého deponovaných na SPGE.



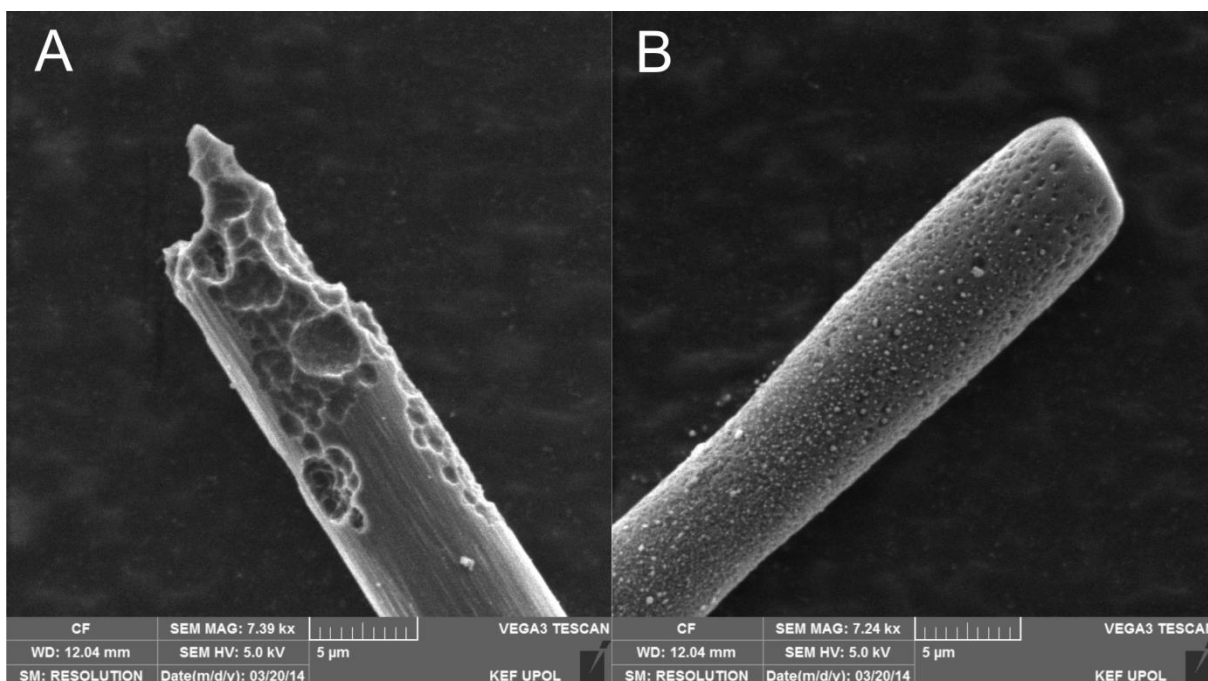
Obr. 19 SWV 40 nmol.l⁻¹ riboflavinu v 0,1 mol.l⁻¹ acetátovém pufru na bismutem modifikované SPGE v roztoku a) bez rozpuštěného kyslíku (černá), b) s rozpuštěným kyslíkem (červená), c) měření na elektrolyticky pobismutované SPGE v přítomnosti kyslíku (modrá). Prekoncentrace probíhala za bezproudového stavu po dobu 60 s. Čárkovaně jsou uvedeny záznamy základního elektrolytu.



Obr. 20 TEM snímky nanočástic oxidu bismutitého z povrchu katodicky ojikřené SPGE pokryté vrstvou grafitu.

Další testování vlivu polaritě proběhlo při modifikaci SPGE pomocí niklu, mědi a jejich slitin. Mnohem vyšší energetické nároky na přenos těchto kovů do formy plazmatu byly katodicky modifikované elektrody pokryté příliš malým množstvím kovových částic, což vedlo k výrazně nižším odezvám glukosy, a dané zapojení dále nebylo testováno.

Velký rozdíl v množství deponovaného materiálu při různé polaritě modifikovaných elektrod znázorňují i SEM snímky mikroelektrod z uhlíkového vlákna modifikovaného platinou. U obou zapojení docházelo během ojikřování ke zkracování uhlíkového vlákna. Při katodickém zapojení byl uvedený jev mnohonásobně rychlejší, přičemž docházelo k narušení povrchu vlákna a odstraňování materiálu jeho hrotu (viz Obr. 21 a)). U anodicky zapojené CFME docházelo k podstatně pomalejšímu „uhořívání“ vlákna. Ze SEM snímků je patrná velká četnost platinových nanočástic na povrchu vlákna a jeho povrch není tak narušen (viz Obr. 21 b)).



Obr. 21 SEM snímky Pt modifikovaných CFME, a) katodicky zapojená CFME, b) anodicky zapojená CFME

4.1.1.3 Vliv fyzikálních vlastností materiálu na množství hmoty převáděné při jiskrovém výboji do plazmatu

Velikost průřazového napětí a polarita zapojení určují velikost celkové energie jiskrového výboje, která způsobuje roztavení a odpaření materiálu elektrod. Množství materiálu uvolněného do plazmatu závisí na fyzikálních vlastnostech. Vliv parametrů ovlivňujících přibližnou hmotnost látky, která je přenesena z elektrody při jiskrovém výboji, je popsán rovnicí 2 [186].

Rovnice 2:

$$m = \frac{\frac{1}{2}c_e V^2 - bT_b^4 - gk(T_b - T)}{C_{ps}(T_m - T) + \Delta H_m + C_{pl}(T_b - T_m) + \Delta H_v}$$

c_e - kapacitance prostředí (F)

V - průřazové napětí (V)

$b = A\sigma t$ ($J K^{-4}$) kde σ je Stefan-Boltzmanova konstanta a t je čas trvání energetického přenosu.

T_b je teplota varu kovu (K)

k je tepelná vodivost materiálu ($\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$)

T je teplota kovu daleko od místa zasaženého výbojem (ve většině případů laboratorní teplota, K)

$g = 2(\pi A)^{0.5}$ kde A odpovídá poloměru r (m) za předpokládu, že $(r^2/Kt)^{0.5} \ll 1$ (K je tepelná difuzivita ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) t je čas (ms))

C_{ps} průměrná tepelná kapacita pevného materiálu ($\text{J g}^{-1} \text{K}^{-1}$)

T_m je teplota tání kovu (K)

ΔH_m enthalpie tání daného materiálu (J g^{-1})

C_{pl} průměrná tepelná kapacita roztaveného kovu ($\text{J g}^{-1} \text{K}^{-1}$)

ΔH_v enthalpie vypařování kovu (J g^{-1})

Konstanty c_e , b a g jsou nezávislé na materiálu elektrody.

Rovnice popisuje vliv základních materiálových vlastností a procesů, které mají vliv na využití energie výboje. První člen v čitateli ($\frac{1}{2}c_e V^2$) reprezentuje efektivní energii výboje. Tato energie je předávána hrotu protielektrody, dochází však ke ztrátám tepla vyzařováním ($-bT_b^4$) a vedením ($-gk(T_b - T)$). Jmenovatel popisuje energetické nároky potřebné k zahřátí kovu k bodu tání ($c_{ps}(T_m - T) + \Delta H_m$) a bodu varu ($c_{pl}(T_b - T_m) + \Delta H_v$).

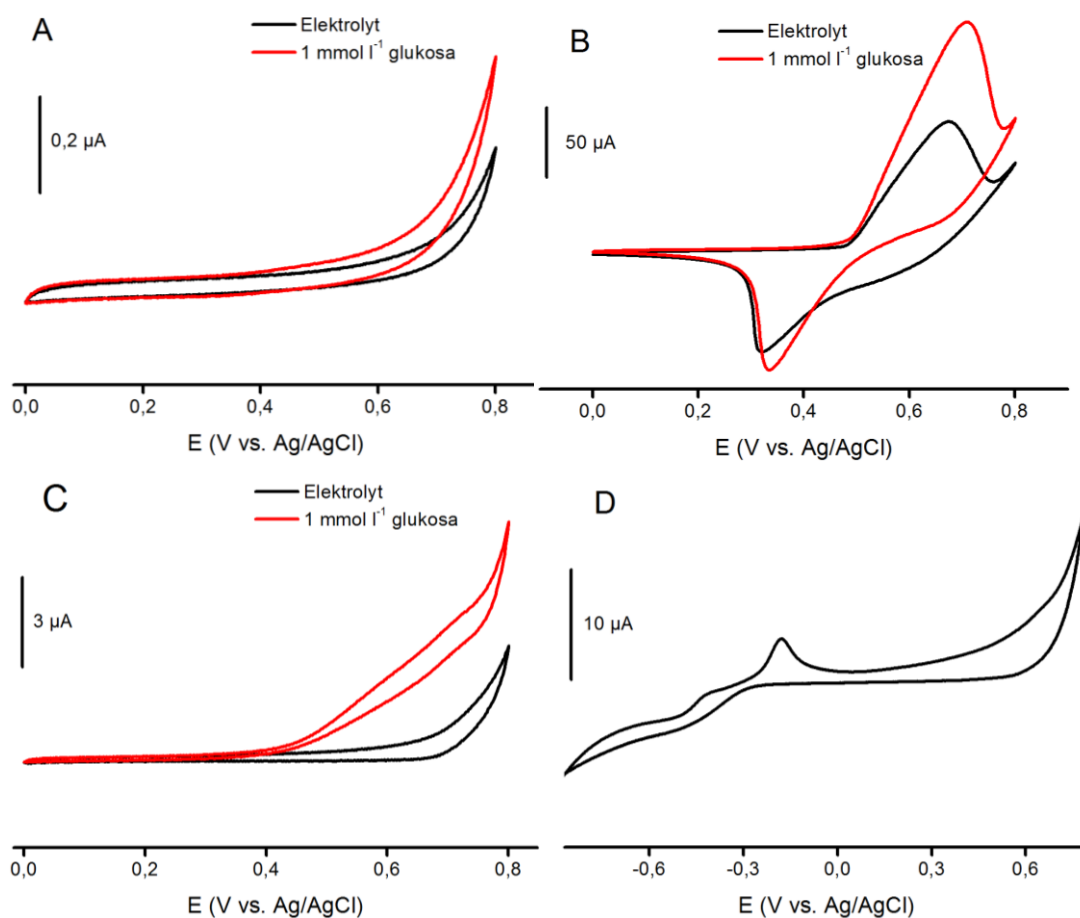
Před odpařením musí kov dosáhnout teploty tání a varu. Obecně lze konstatovat, že kovy s nižší teplotou tání a varu lze deponovat snadněji. I přes vysokou rychlost ohřevu kovu během jiskrového výboje dochází ke ztrátám tepelné energie. Menší část energie ztratí elektroda ve formě záření, větší ztráty jsou způsobeny tepelnou kondukcí. Množství odvedené tepelné energie je ovlivněno tepelnou vodivostí materiálu. Vliv rozdílů v teplotách tání, varu a tepelné vodivosti lze velmi dobře demonstrovat při přípravě SPGE modifikovaných pomocí mědi, niklu nebo jejich vzájemných slitin. Tyto materiály vykazují katalytické účinky na oxidaci glukózy, což bylo využito při vývoji neenzymatických senzorů glukózy (viz kapitola 4.2.3).

SPGE byly modifikovány niklem, mědí nebo jejich slitinami v hmotnostních poměrech 25/75, 50/50 a 75/25. Pomocí CV bylo sledováno množství deponovaného materiálu a velikost proudové odezvy modifikovaných senzorů na oxidaci glukózy. Kov deponovaný na elektrodě se projevoval charakteristickými píky odpovídající oxidaci/redukci v silně zásaditém prostředí. Při CV niklem ožiskřeného SPGE byl patrný výrazný redoxní pár $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$ při potenciálu 500 mV (proti Ag/AgCl, viz Obr. 22 b)). Zcela rozdílná situace nastává u SPGE modifikovanou mědí, kde v anodickém skenu není patrný žádný pík odpovídající přechodům mezi oxidačními stupni mědi (obr. 22 c)). Přítomnosti mědi na elektrodě prokázal

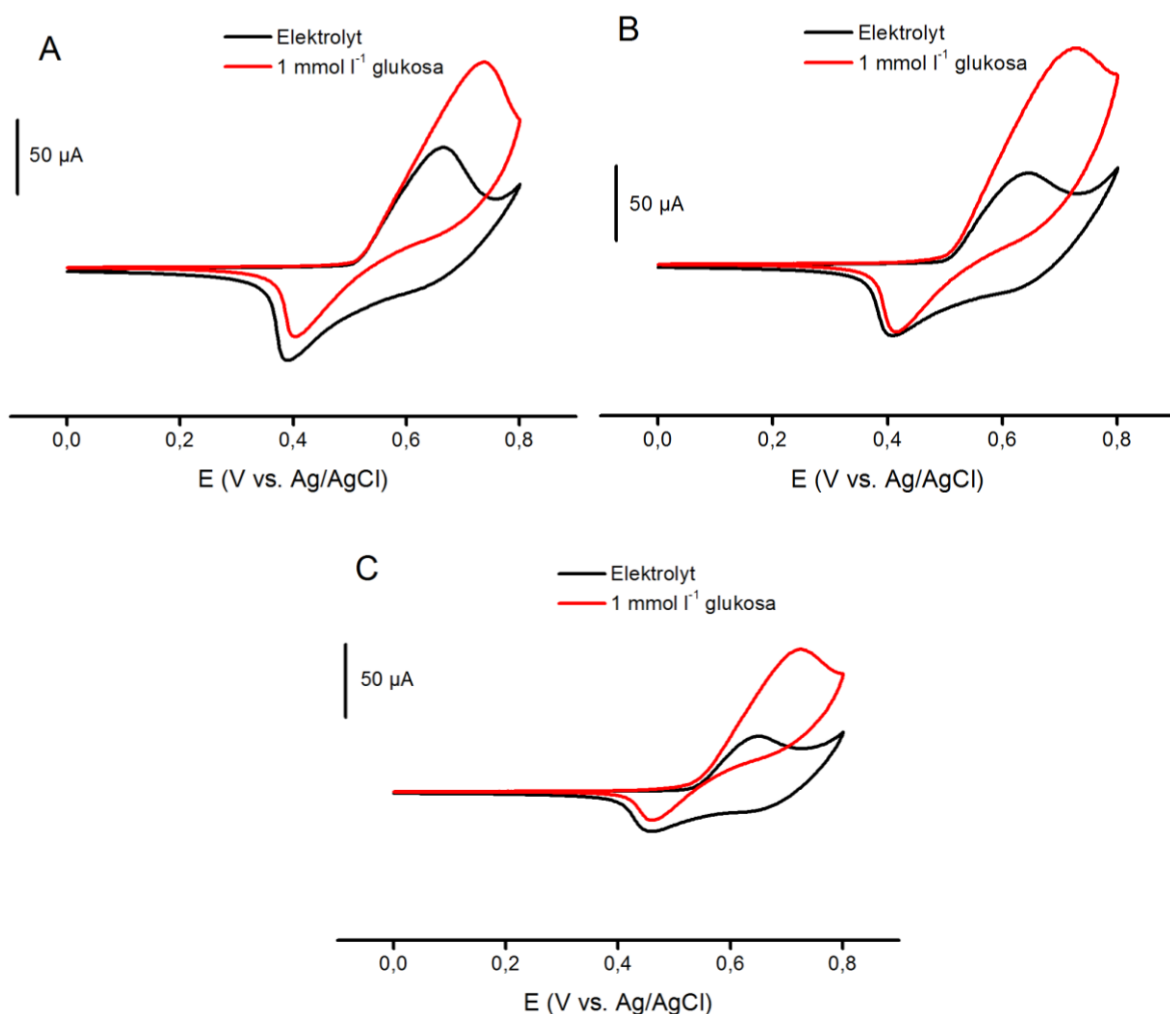
až sken v katodické oblasti, kde jsou patrné píky redoxních přeměn mědi ($\text{Cu}^{\text{I-II}}$, Obr. 22 d)). Během jiskrového výboje byla depozice niklu mnohem účinnější, a to i přesto, že měď má nižší teplotu tání a varu než nikl (viz Tab. 4). Rozdíl je způsoben účinnějším ochlazováním měděného hrotu díky její více než čtyřnásobné tepelné vodivosti a v konečném důsledku nízké efektivitě depozice materiálu na SPGE.

Tab. 4 Srovnání tepelné vodivosti a teplot tání a varu mědi, niklu a slitiny Cu/Ni [187]

Materiál	Tepelná vodivost ($\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$)	T_m (K)	T_b (K)
Cu	401	1358	2835
Ni	91	1728	3003
Slitina Cu a Ni	20	1480	-



Obr. 22 CV změřené na a) neupravené SPGE, b) niklem ojiskřené SPGE, c) mědi ojiskřené SPGE, d) mědi ojiskřené SPGE rozšířená do katodické oblasti s píky přechodů mědi. Černá křivka: základní elektrolyt, červená: 1 mmol.l⁻¹ glukosy. Podmínky při měření: ZE 0,5 mol.l⁻¹ NaOH, skenovací rychlost 0,05 V.s⁻¹.



Obr. 23 CV změřené pomocí SPGE modifikovaných slitinami mědi a niklu v hmotnostním poměru a) 75 % Ni a 25 % Cu, b) 50 % Ni a 50 % Cu, c) 25 % Ni a 75 % Cu. Černé křivky: ZE, červená: 1 mmol.l⁻¹ glukosy. Podmínky při měření: ZE 0,5 mol.l⁻¹ NaOH, skenovací rychlost 0,05 V.s⁻¹.

Oproti čistým kovům mají slitiny mědi a niklu rozdílné fyzikální vlastnosti. Teplota tání je sice vyšší než v případě čisté mědi, zásadní je však snížení tepelné vodivosti slitin dosahující přibližně jedné dvacetiny mědi a čtyřnásobně menší než u niklu. Nízká tepelná vodivost vede k menšímu ochlazování hrotu, což má za následek větší přenos kovu do plazmatu a následnou kondenzaci. Ve srovnání s elektrodou modifikovanou čistým niklem je na CV patrné snížení celkového množství niklu na úkor mědi korespondující se snižujícím se obsahem niklu ve slitině (viz Obr. 23). Poměr kovů přenesených na elektrodu však zcela neodpovídal složení slitiny použité k modifikaci. Během ojiskřování dochází díky nižší teplotě varu mědi k účinnějšímu přenosu. Proces připomíná destilaci, při níž dochází ke zvýšení obsahu méně těkavé složky (niklu) na hrotu slitiny (viz Tab. 5) a většímu přenosu těkavější složky (mědi)

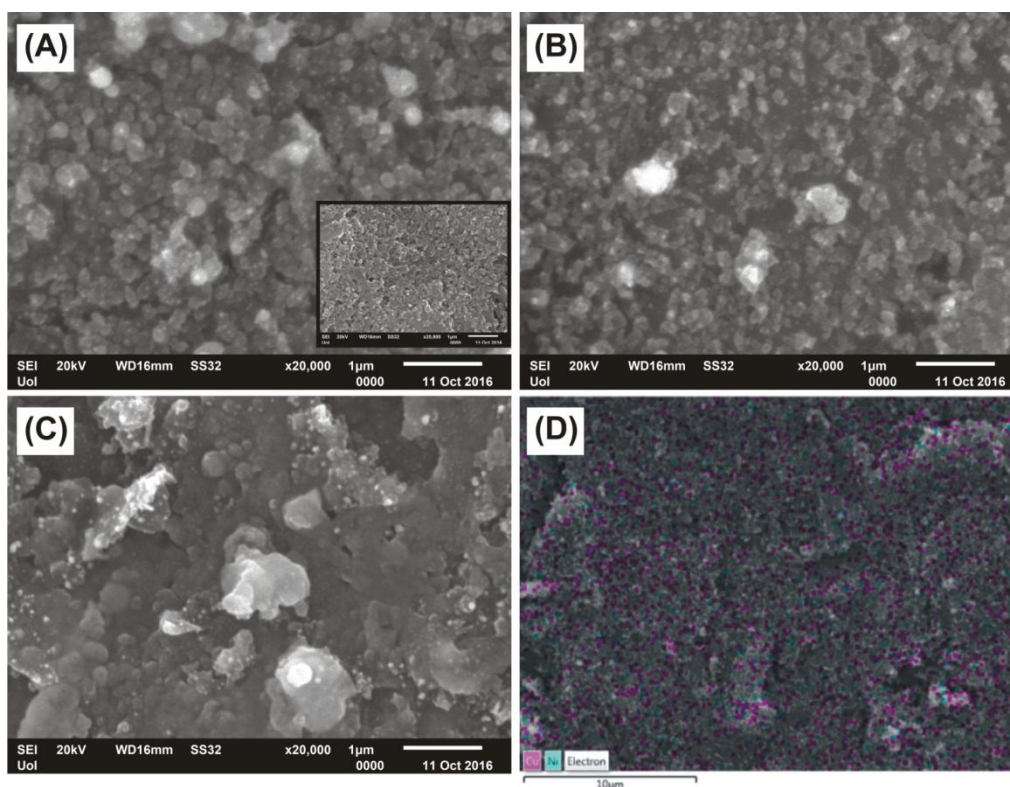
do plazmatu, respektive na elektrodový povrch. Obdobné chování směsí kovů s rozdílnou teplotou tání a varu je také popisováno v literatuře [188].

Tab. 5 Srovnání složení slitiny před a po jiskrovém výboji a deponovaného materiálu na SPGE získaných pomocí EDS

	atomová %	
	Cu	Ni
Slitina Cu/Ni 50/50	48	52
Hrot slitiny*	43.5	56,5
Ojiskřená Cu/Ni-SPGE	65	35

*po přibližně 600 jiskrových výbojích

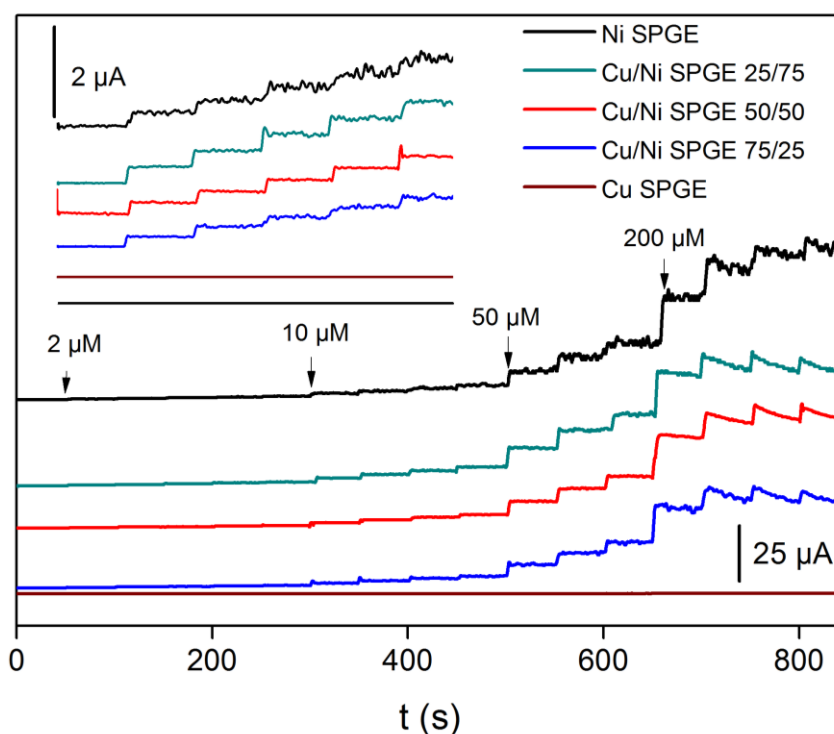
Ze SEM snímků je patrná rovnoměrná distribuce kovových částic na celé ploše zasažené jiskrovým výbojem. Při modifikaci niklem a slitinami mědi a niklu (ve všech třech poměrech) vznikají částice o velikosti přibližně 200 nm (viz Obr. 24). Větší aglomeráty lze přisoudit přenosu kapalného materiálu během jiskrového výboje [186].



Obr. 24 SEM snímky SPGE modifikované pomocí a) Cu/Ni 25/75 (hm. %), vložený obrázek neupravená SPGE, b) Cu/Ni 50/50 (hm. %), c) Cu/Ni 75/25 (hm. %)., d) EDS záznam distribuce niklu a mědi na povrchu slitinou Cu/Ni 50/50 modifikované SPGE

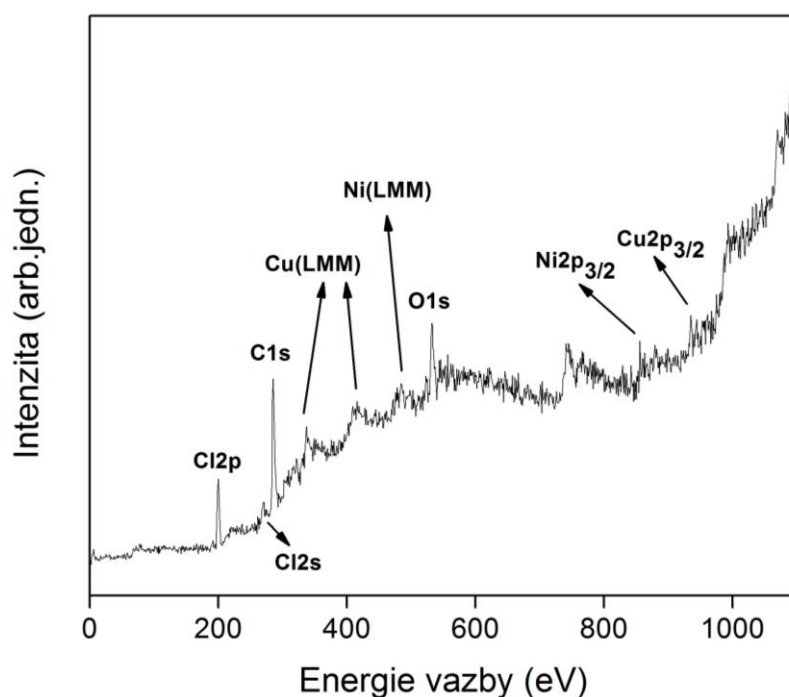
V dalších experimentech byly porovnávány různě modifikované SPGE podle velikosti proudové odezvy na oxidaci glukosy. CV potvrdily, že na nemodifikované elektrodě nedochází ke katalýze. Po modifikaci kovovými částicemi je vidět nárůst odezvy. V případě mědi je nárůst relativně malý, což může být způsobeno menším množstvím kovu na elektrodě, resp. jeho nižší aktivitou ve srovnání s niklem. Jak je vidět z CV, v případě niklu nebo slitinových senzorů byla proudová odezva mnohem vyšší (viz Obr. 22 a 23). Důvodem může být vyšší množství kovu na elektrodě. Je patrné, že elektrody modifikované materiálem s vyšším obsahem niklu (50 hm. % nebo více) mají v CV vyšší odezvy na glukosu.

Při testování v amperometrickém uspořádání (viz Obr. 25) se ukázalo, že elektrody modifikované čistou mědí dosahovaly výrazně menší odezvy než senzory obsahující nikl. Čistým niklem modifikované elektrody ale vykazovaly mnohem vyšší šum než slitinové senzory při relativně obdobné odezvě na přídavky glukosy. Podobně jako v CV se i v amperometrii velikost signálu lehce zvyšovala s narůstajícím obsahem niklu u slitinových senzorů. Nejvyšší stabilita signálu a zároveň nejvyšší poměr signálu k šumu byly registrovány na elektrodách modifikovaných slitinou Cu/Ni v poměru 50/50.



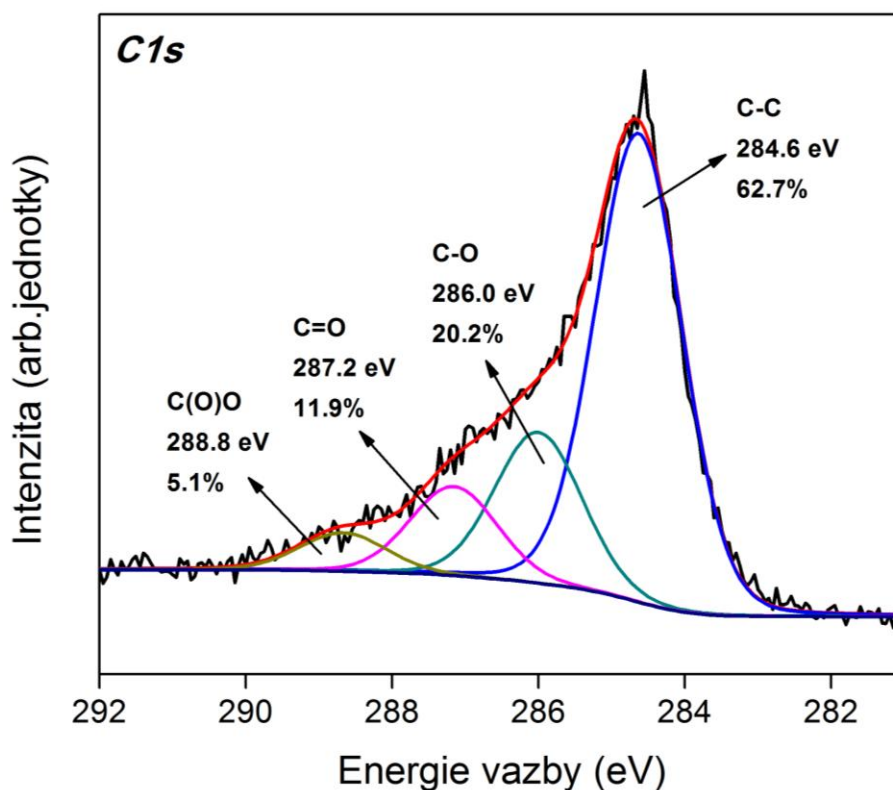
Obr. 25 Srovnání amperometrických měření glukosy na SPGE modifikovaných niklem (černá), slitinou Cu/Ni ve hmotnostním poměru 25/75 (zelená), slitinou Cu/Ni ve hmotnostním poměru 50/50 (červená), slitinou Cu/Ni ve hmotnostním poměru 75/25 (modrá) a mědí (hnědá). Vložený obrázek: detail na prvních pět nástřiků glukosy ($2 \mu\text{mol.l}^{-1}$). Podmínky při měření: ZE $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH, $E = 0,55 \text{ V}$.

Pomocí XPS bylo změřeno složení senzorů připravených modifikací pomocí slitiny mědi a niklu v hmotnostním poměru 50/50. Aktivní plocha senzoru obsahovala $78,7 \pm 3,7$ % uhlíku, $18,8 \pm 0,8$ % kyslíku, $1,8 \pm 0,2$ % mědi a $0,7 \pm 0,1$ % niklu (% at.). Celkové množství mědi je ve výrazném přebytku nad niklem, což je ve shodě s výsledky EDS měření (viz Tab. 5).



Obr. 26 Záznam XPS měření slitinou mědi a niklu (50/50) modifikované SPGE

Z píku C1s lze zjistit způsob vazby mezi atomy uhlíku na elektrodě. Dominantní pík při 284,6 eV (viz Obr. 27) odpovídá vazbě C-C, což znamená, že největší podíl uhlíku (62 %) je ve formě grafitu. Přítomnost kyslíku při jiskrovém výboji vede k oxidaci povrchu a vzniku vazeb C-O (20 %), C=O (12 %) a C-O-O (5 %). Z výsledků lze vyloučit přítomnost sloučenin s vazbou Cu-C, resp. Ni-C.

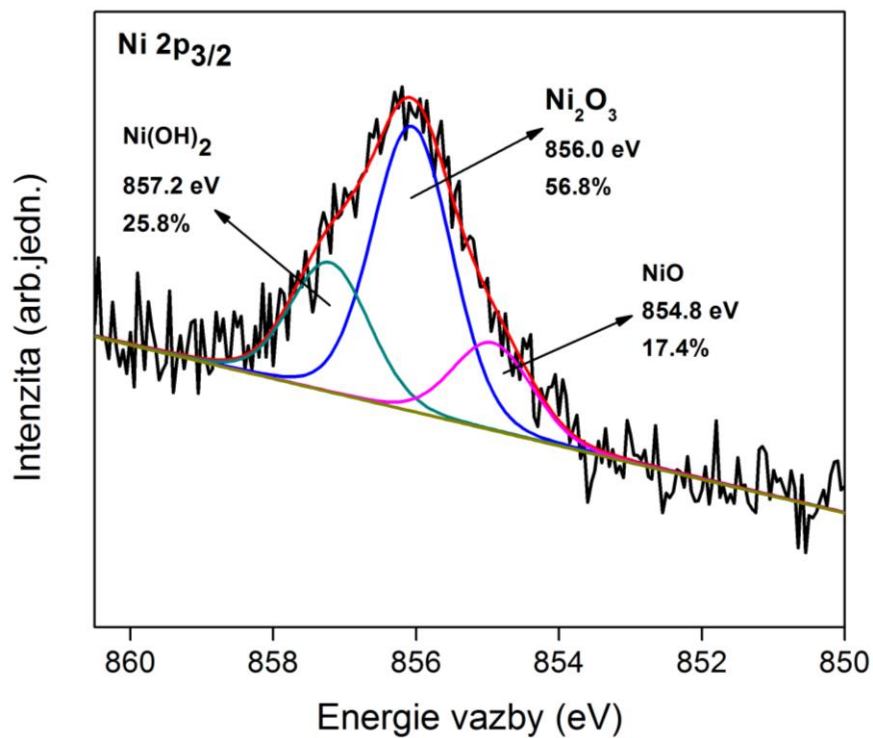


Obr. 27 XPS spektrum uhlíku C1s na Cu/Ni ojiskřené elektrodě.

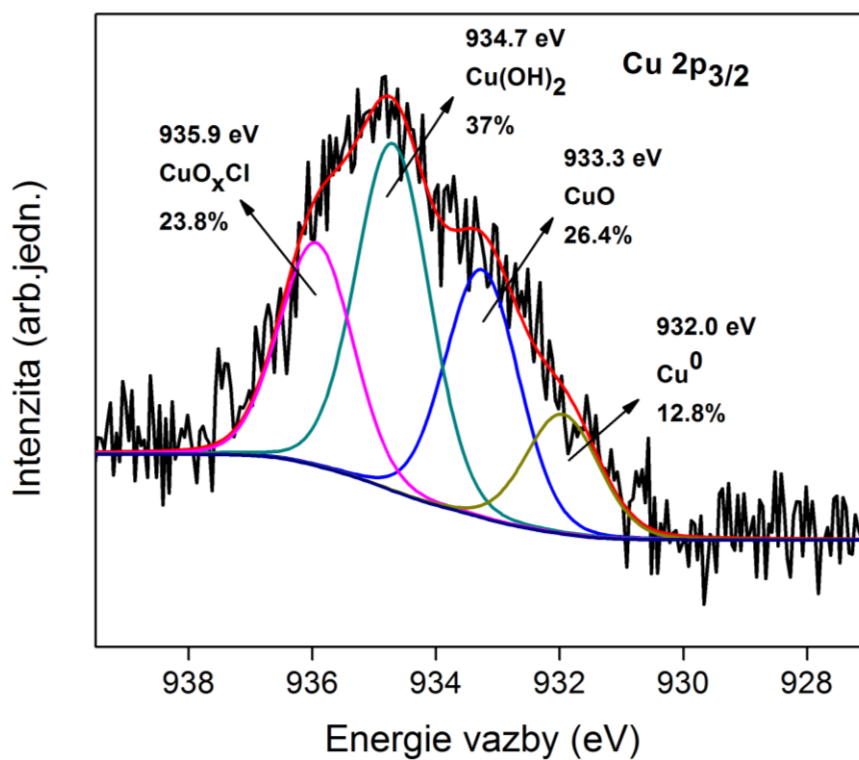
Ze spektra niklu $2p_{3/2}$ (viz Obr. 28) plyne, že veškerý nikl na elektrodě je ve vázané formě. Prakticky v rovnováze jsou oxidační stavy Ni^{2+} a Ni^{3+} . Oxid nikelnatý tvoří asi 17,5 % celkového množství niklu. Vzhledem k tomu, že jiskrový výboj probíhá za vysokých teplot, dá se usuzovat, že část oxidu přešla účinkem vzdušné vlhkosti na hydroxid nikelnatý (26 %). Nadpoloviční podíl pak tvoří Ni_2O_3 .

Ze spektra mědi $2p_{3/2}$ (viz Obr. 29) lze zjistit chemické formy mědi na ojiskřené elektrodě. Na rozdíl od niklu se měď na elektrodě nachází i ve svém elementárním stavu (přibližně 13 %). Dominantní podíl má hydroxid měďnatý (37 %), který analogicky jako u niklu vzniká navázáním vzdušné vlhkosti na částice CuO (26,4 %). Oxid je v podobném množství jako CuO_xCl (24 %).

Píky NiO při 854 eV byly ve slitinovém senzoru posunuty o 0,3 eV oproti elektrodě modifikované pouze niklem. Posun je způsoben přítomností směsných částic CuO a NiO na elektrodě. Podobně lze pozorovat posun i u píku CuO . Přibližně čtvrtina kovového materiálu naneseného na elektrodu během jiskrového výboje je směs oxidu nikelnatého a měďnatého v poměru přibližně 1:4 (at. Ni : at. Cu.).



Obr. 28 XPS spektrum měření niklu 2p_{3/2} na Cu/Ni ojiskřené elektrodě.



Obr. 29 XPS spektrum měření mědi 2p_{3/2} na Cu/Ni ojiskřené elektrodě

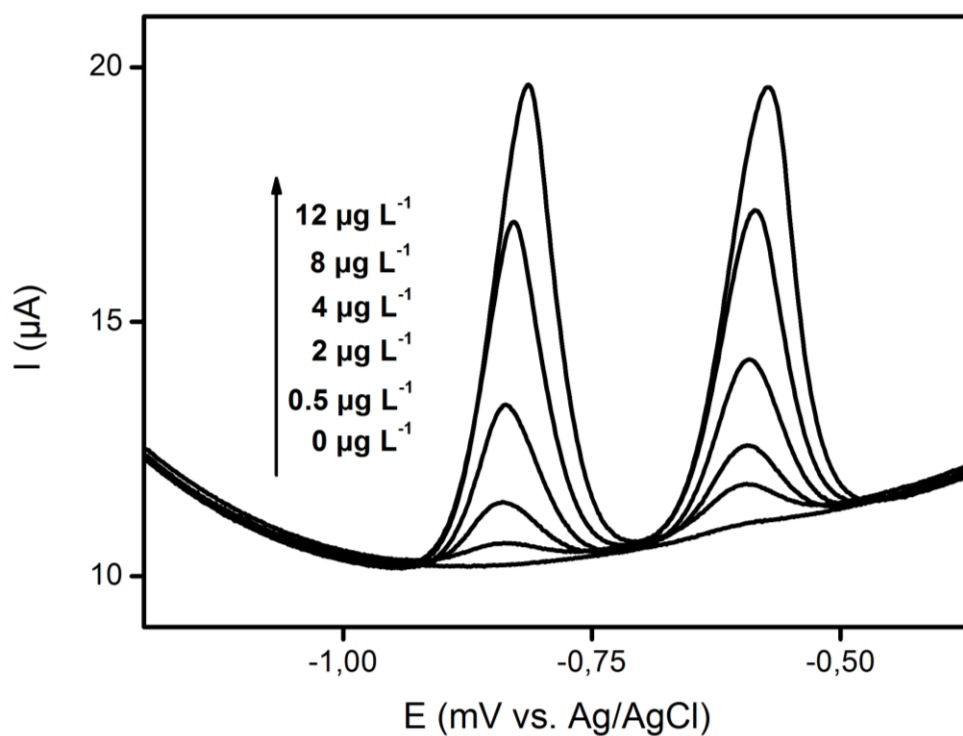
4.2 Analytické aplikace SPGE modifikovaných pomocí jiskrového výboje

Mezi technikami používanými k depozici kovových částic na elektrody patří jiskrový výboj k nejrychlejším a nejjednodušším metodám. Při jiskrovém výboji lze připravit částice různých velikostí a lze regulovat množství kovu. Metoda je též vhodná k depozici čistého kovu nebo jejich směsí. Pomocí depozice kovových částic lze připravit senzory schopné měřit velice široké spektrum analytů. V dalších podkapitolách bych rád stručně prezentoval praktické aplikace SPGE modifikovaných kovovými částicemi připravenými jiskrovým výbojem.

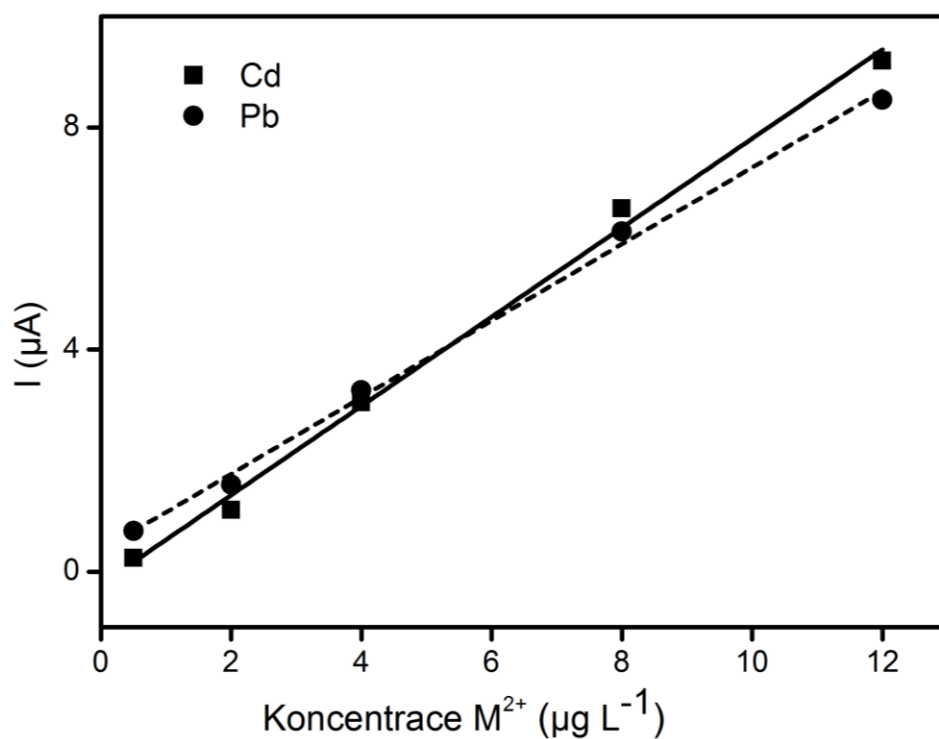
4.2.1 Měření olova a kadmia ve vzorcích pitné vody na Bi - SPGE

Zjištěné poznatky o průběhu jiskrového výboje a jeho vlivu na vlastnosti nanočástic byly využity při vývoji bismutem modifikovaných SPGE vhodných ke stanovení olova a kadmia. Olovo a kadmium jsou kovy nebezpečné pro životní prostředí, proto je potřeba monitorovat jejich koncentrace ve vodách, a to jak v průmyslových provozech, tak i při kontrole kvality vod s minimálním znečištěním. Koncentrace olovnatých a kademnatých iontů v pitné vodě je limitována státní normou (ČSN 75 7111 Pitná voda). Nízký obsah v pitné vodě vede k využívání citlivých analytických metod ke stanovení těchto nebezpečných látek. Vedle spektrálních metod lze využít i elektrochemickou detekci na rtuťových [7, 101, 189] nebo bismutových [190, 191] elektrodách.

SPGE modifikované bismutovými nanočásticemi připravenými jiskrovým výbojem poskytovaly stabilní proudové odezvy pro kademnaté a olovnaté ionty po 10 až 15 skenů, což je více než dostačující pro naměření kalibračních závislostí nebo analýzu vzorku metodou standardního přídatku. Odezva senzorů byla lineární v rozsahu koncentrací (každého kovu) od 0,5 do 12 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (pro Pb^{2+} $R^2 = 0,997$, pro Cd^{2+} $R^2 = 0,996$). Relativně úzký lineární rozsah může být způsoben rychlým nasycením relativně malého množství bismutu na elektrodě. Limit detekce (kadmium, olovo) byl 0,2 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro poměr signál/šum = 3, což je nižší hodnota, než je obvykle dosahováno u elektrod podobné konstrukce [97, 99]. Reprodukovatelnost mezi senzory vyjádřená pomocí % RSD byla u olova 10,2 %, u kadmia 8,9 % (pro $n = 4$, koncentrační hladina 10 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$).

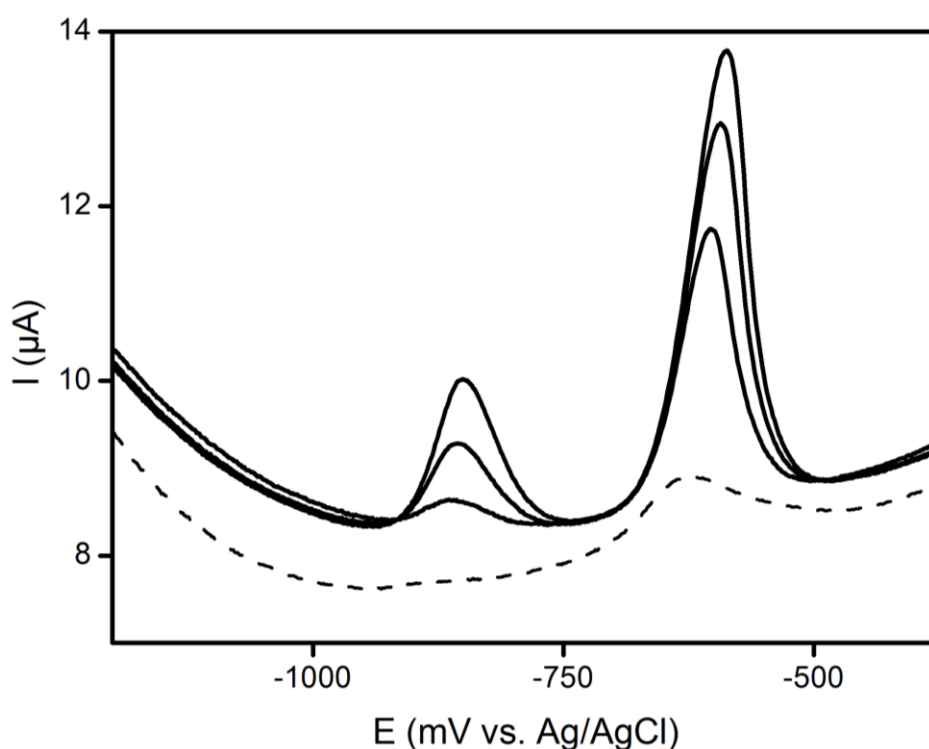


Obr. 30 Square wave voltamogramy měření těžkých kovů v koncentracích od 0 do $12 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ Pb^{2+} a Cd^{2+} , $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ octan sodný (pH 4,5), depoziční potenciál $-1,2 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) po dobu 120 s.



Obr. 31 Kalibrační závislosti měření Pb^{2+} a Cd^{2+} , $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ octan sodný (pH 4,5), depoziční potenciál $-1,2 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) po dobu 120 s.

Pitná voda je relativně jednoduchou maticí, jediné úskalí je přítomnost velkého množství měďnatých kationtů v roztoku, jejichž zdrojem jsou měděná potrubí. Cd^{2+} i Pb^{2+} tvoří s měďnatými kationty intermetalickou slitinu, která neposkytuje elektrochemickou odezvu (viz Obr. 32, čárkovaná křivka). Koncentrace mědi bývá až desetinásobně vyšší než koncentrace olova [183]. Odstranění této interference lze dosáhnout přidávkem $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, který měď váže do komplexu. Při výrazném nadbytku $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ však dochází ke tvorbě komplexů i s analyty a vede ke snížení odezvy obou kovů. Po optimalizaci úpravy vzorku vody byla k analýze kadmennatých a olovnatých kationtů použita metoda standardního přídatku.



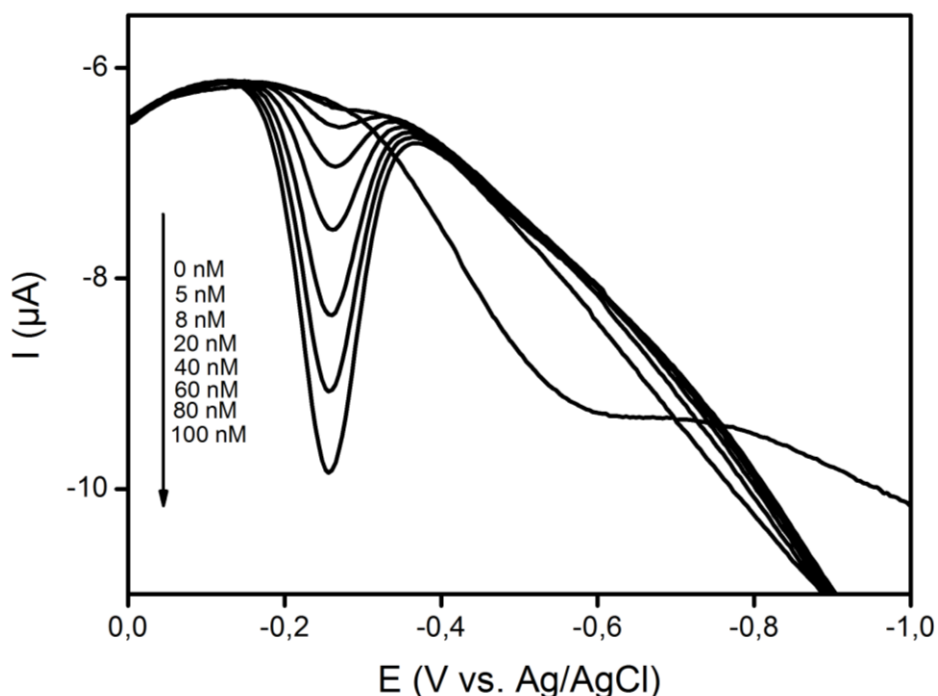
Obr. 32 Square wave voltamogramy měření těžkých kovů ve vzorku pitné vody bez úpravy (přerušovaná čára) a po přidání hexakyanoželeznatanu draselného (plná čára) s dvěma $2 \mu\text{mol.l}^{-1}$ přídatky standardního roztoku kadmennatých a olovnatých iontů, deponiční potenciál $-1,2 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) po dobu 120 s.

Pomocí bismutem ojiskřené SPGE byly úspěšně zjištěny koncentrace těžkých kovů ve vzorku pitné vody. Obsah kadmia byl $0,78 \mu\text{g.l}^{-1}$ a u olova $6,85 \mu\text{g.l}^{-1}$. Výsledky byly ve shodě s referentní metodou METROHM AN:V-086 (kadmium $0,75 \mu\text{g.l}^{-1}$ a olovo $6,73 \mu\text{g.l}^{-1}$). Předložené výsledky dokazují, že metoda jiskrového výboje může být použita k přípravě

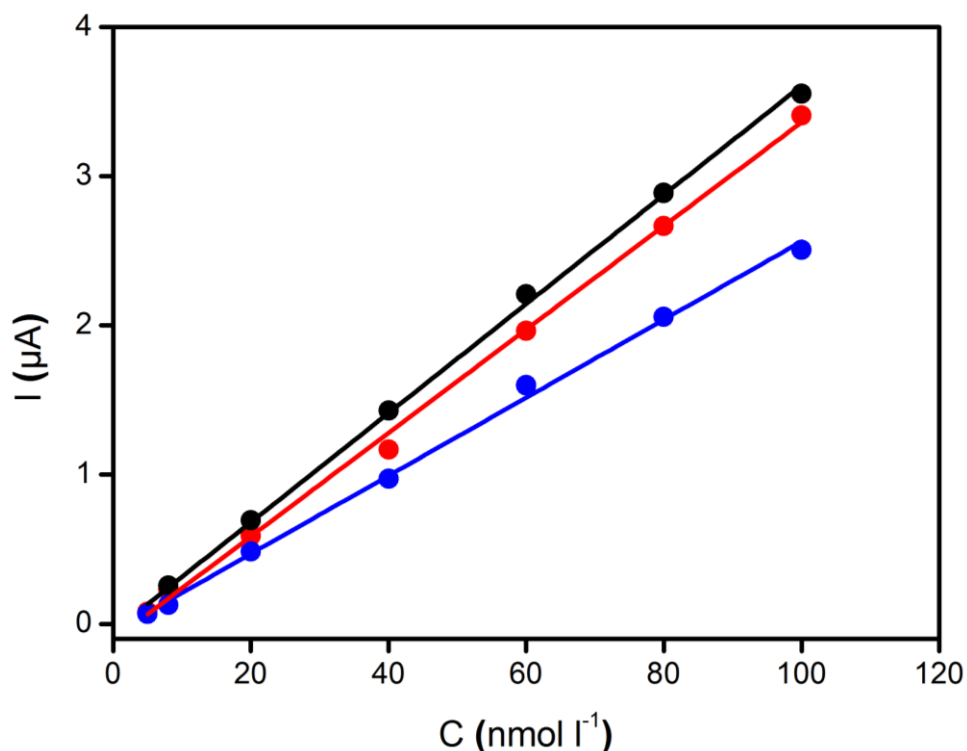
bismutových nanočástic na povrchu tištěných grafitových elektrod, které lze použít ke stanovení těžkých kovů v pitné vodě.

4.2.2 Stanovení riboflavinu v tabletě B-komplexu pomocí Bi - SPGE

Riboflavin (vitamín B2) je důležitý pro správnou funkci těla. Hraje roli v metabolismu živin jako součást enzymů apod. [192]. Část vitamínu B2 je přijímána ve formě potravinových doplňků, ve kterých je potřeba jeho obsah kontrolovat. Riboflavin v tabletách nebo přípravcích lze stanovit elektrochemicky, kdy se využívá jeho relativně snadné redukce. Riboflavin lze stanovit pomocí senzorů na bázi rtuti [126] nebo bismutu [132]. Jednou z předností SPGE modifikovaných jiskrovým výbojem je velmi malá vnímavost vůči interferující redukci rozpuštěného kyslíku. Lze tedy zkrátit čas potřebný pro měření a není potřeba zavádět přívod plynu k odstranění kyslíku. Jako další přednosti lze uvést vysokou citlivost na riboflavin. Bez předchozí prekoncentrace analytu (pouze difúzí transportovaný riboflavin) byl limit detekce (pro $S/N=3$) $0,7 \text{ nmol.l}^{-1}$ a lineární odezva v širokém rozsahu koncentrací od 5 do 100 nmol.l^{-1} riboflavinu ($R^2 = 0,998$). Sensory dosahovaly i velmi dobré mezielektrodové reprodukovatelnosti (viz Obr. 34 s kalibračními závislostmi na třech různých senzorech).

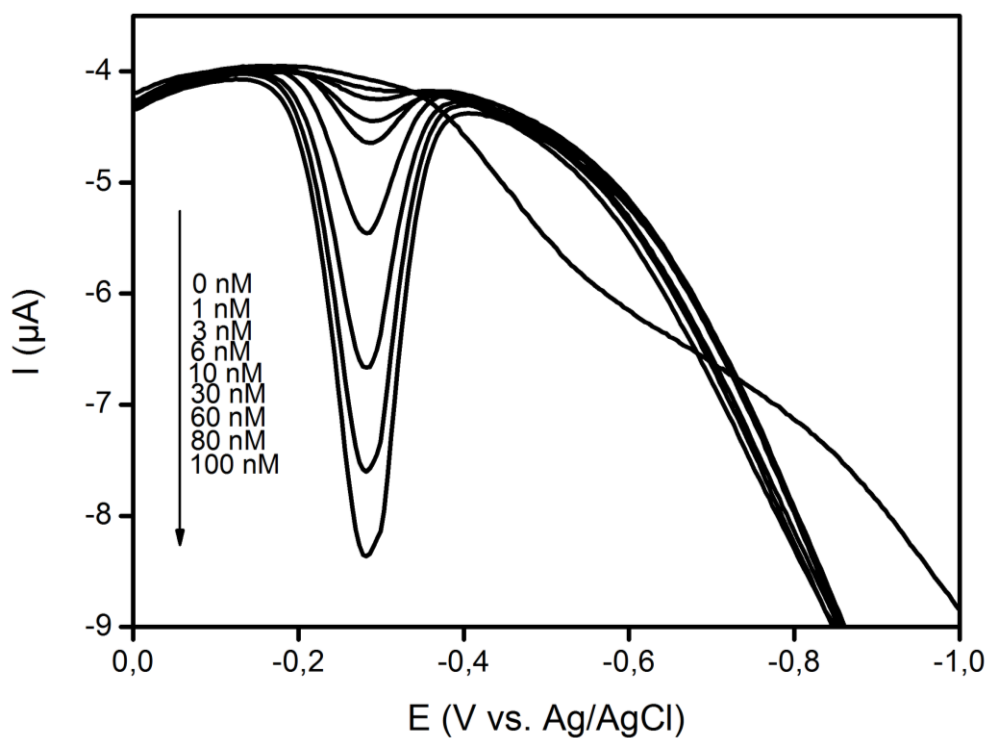


Obr. 33 Záznam SW voltametrických měření kalibračních roztoků riboflavinu v rozmezí koncentrací 0 až 100 nmol.l^{-1} za přítomnosti kyslíku bez prekoncentrace. ZE: $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octan sodný.

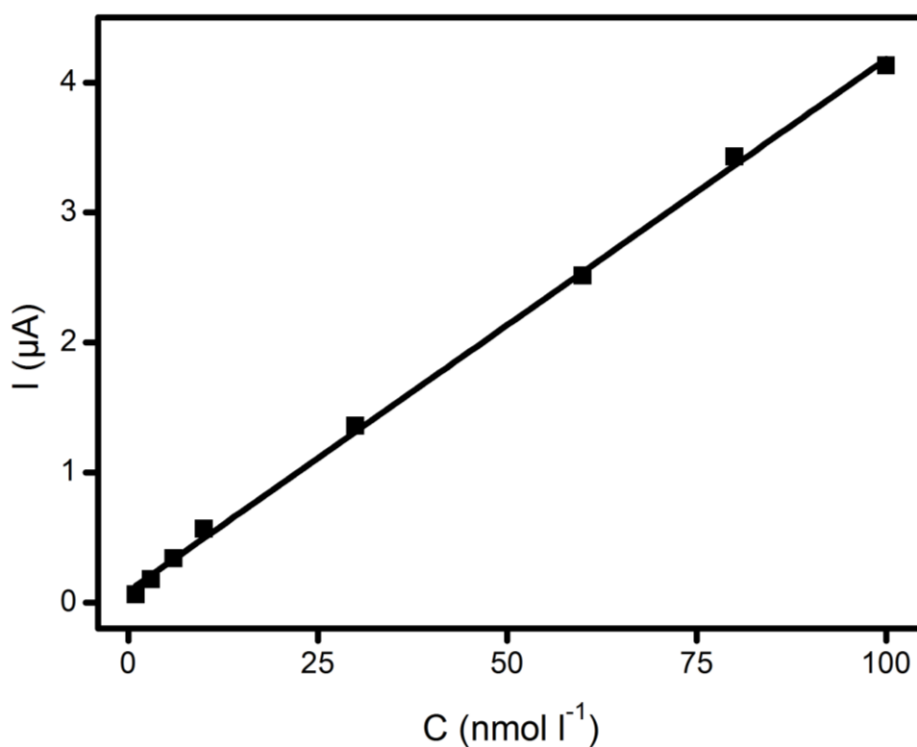


Obr. 34 Kalibrační závislosti třech bismutem ožiskřených SPGE měřených za nulového depozičního času za přítomnosti kyslíku, ZE 0,1 mol.l⁻¹ octan sodný.

Při 60 s míchání roztoku došlo k prekoncentraci (adsorpci) analytu na elektrodě, což vedlo ke zvýšení proudové odezvy. Sensory při prekoncentračním kroku poskytovaly lineární odezvy v řádu koncentrací od 1 do 100 nmol.l⁻¹ ($R^2 = 0,999$), limit detekce riboflavinu (pro $S/N = 3$) byl 0,5 nmol.l⁻¹. Vyšší časy depozice než 60 s pomohly snížit limity detekce metody, ale u vyšších koncentrací riboflavinu (od 50 nmol.l⁻¹) docházelo k deformaci a rozšiřování píku, což znesnadňovalo odečítání proudové odezvy. Mírné štěpení píku riboflavinu je patrné už i u nejvyšších koncentrací při 60 s prekoncentraci (viz Obr. 35). Příčinou štěpení signálu byla pravděpodobně interakce mezi molekulami analytu na povrchu senzoru [193].

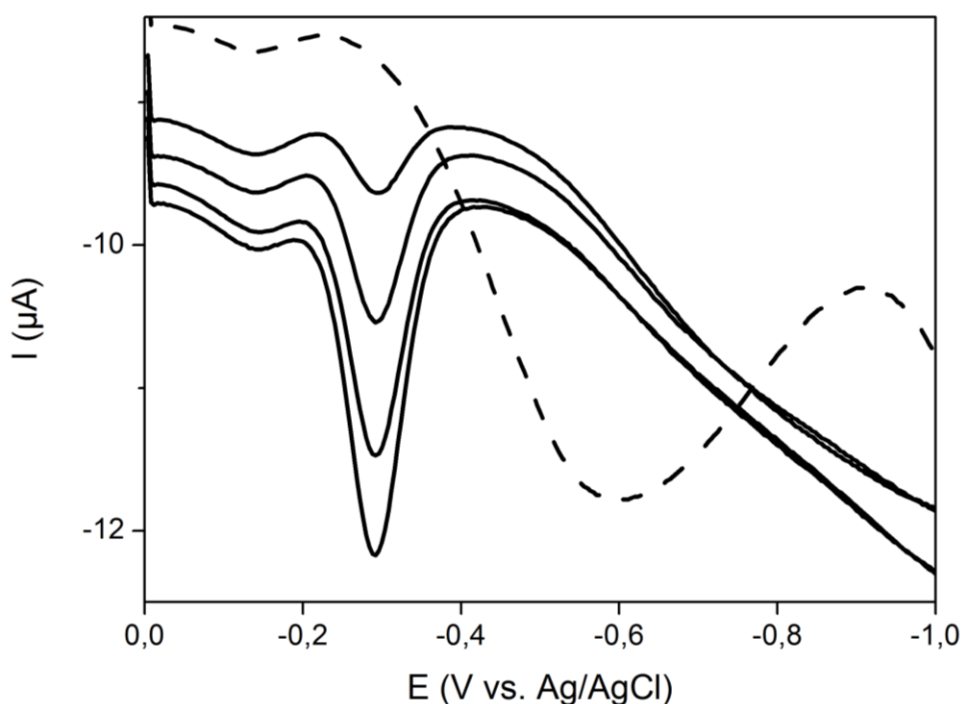


Obr. 35 Záznam SW voltamtrických měření kalibračních roztoků riboflavinu v rozmezí koncentrací 0 až 100 nmol.l⁻¹ za přítomnosti rozpuštěného kyslíku při depozičním čase 60 s za bezproudového stavu. ZE: 0,1 mol.l⁻¹ octan sodný.



Obr. 36 Kalibrační závislosti bismutem ojiskřené SPGE měřené za depozičního času 60 s při bezproudovém stavu za přítomnosti rozpuštěného kyslíku, ZE 0,1 mol.l⁻¹ octan sodný.

Za optimalizovaných podmínek byl stanoven riboflavin v extraktu tablet B-Komplexu forte (Zentiva Group a.s. Praha). Vodný extrakt tablety byl naředěn $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ acetátovým pufrům pH 4,5. Měření bylo provedeno na jiskrovým výbojem modifikované Bi-SPGE v přítomnosti kyslíku za depozičního času 0 s. Ke vzorku byly přidány tři přídavky standardního roztoku riboflavinu tak, aby každý přídavek způsobil změnu koncentrace o 20 nmol.l^{-1} . Výrobce je deklarovaný obsah 15 mg riboflavinu v tabletě, pomocí Bi-SPGE bylo změřeno 14,47 mg. Přesnost vyvinutých senzorů byla poté ověřena v „ospikovaném“ extraktu tablety. Výtěžnost metody byla 98 %.



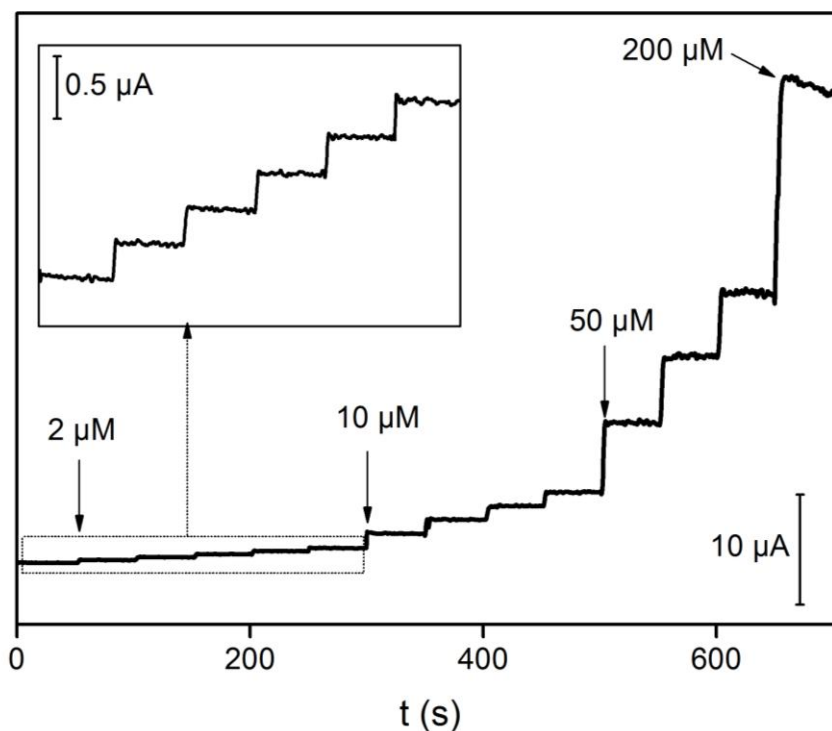
Obr. 37 Záznam SW voltametrických měření extraktu tablety B-komplexu Forte a třech 20 nmol.l^{-1} standardních přídavků riboflavinu pomocí bismutem ožiskřené SPGE, čárkovaně záznam blanku, měření provedeno bez prekoncentrace za bezproudového stavu. ZE: $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octan sodný.

Mezi výhody bismutem ožiskřených SPGE lze uvést velmi krátký čas potřebný pro přípravu elektrody, menší nároky na instrumentaci, kratší čas potřebný pro měření díky absenci probublávání k odstranění kyslíku, velmi dobrou reprodukovatelnost mezi jednotlivými senzory a v neposlední řadě také velmi vysokou citlivost senzorů. Limity detekce stanovení riboflavinu na bismutem ožiskřených SPGE jsou výrazně nižší než u běžně používaných elektrolyticky připravených bismutových elektrod [132] a jsou na podobné úrovni jako senzory na bázi rtuti [126].

4.2.3 Stanovení glukosy ve vzorku krevního séra pomocí Cu/Ni - SPGE

Glukosové senzory sloužící k rychlému orientačnímu zjištění a monitoringu koncentrace glukosy v krvi pacientů s diabetem. Nejčastěji se jedná o kovovou elektrodu, na které je imobilizován enzym glukosaoxidasa, která reakcí s glukosou vytváří peroxid vodíku (popř. jiný mediátor), který je poté detekován pomocí elektrody [134]. Možná denaturace enzymu a problémy s přenosem elektronu přes mediátor vedou ke snaze vyvinout neenzymatický senzor, který využívá katalytického účinku oxidů některých přechodných kovů k oxidaci glukosy. Výměna elektronu pak probíhá přímo mezi oxidem kovu na povrchu elektrody a glukosou. Měď a nikl jsou jedny z nejpoužívanějších materiálů používaných k přípravě glukosových senzorů.

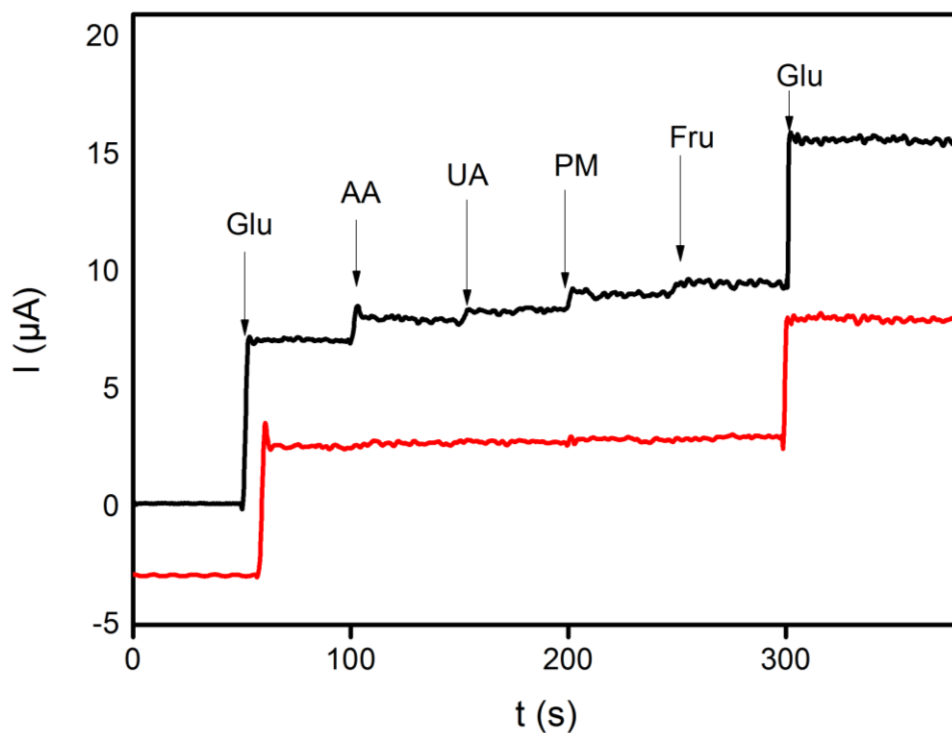
SPGE byly modifikovány jiskrovým výbojem pomocí mědi, niklu nebo jejich slitin. Z testovaných materiálů byla na základě výsledků ze SEMu, CV a amperometrie (kapitola 4.1.1.3) zvolena slitina mědi a niklu v hmotnostním poměru 50 : 50. Za optimalizovaných podmínek očištěné SPGE poskytovaly lineární odezvy v rozsahu 2 až 400 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ glukosy ($R^2 = 0,999$). Citlivost byla 1590 $\mu\text{A.mmol}^{-1}\text{cm}^{-2}$. Limit detekce pro glukosu byl 0,6 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ($S/N = 3$). Opakovatelnost mezi jednotlivými nástřiky na jednom senzoru vyjádřená jako procenta RSD byla menší než 4 % (pro koncentraci 2 $\mu\text{mol.l}^{-1}$, $n = 5$). Reprodukovatelnost amperometrické odezvy mezi pěti připravenými senzory byla testována na dvou koncentračních hladinách (10 a 50 $\mu\text{mol.l}^{-1}$). Rozdíly mezi senzory vyjádřené jako % RSD byly menší než 6 %.



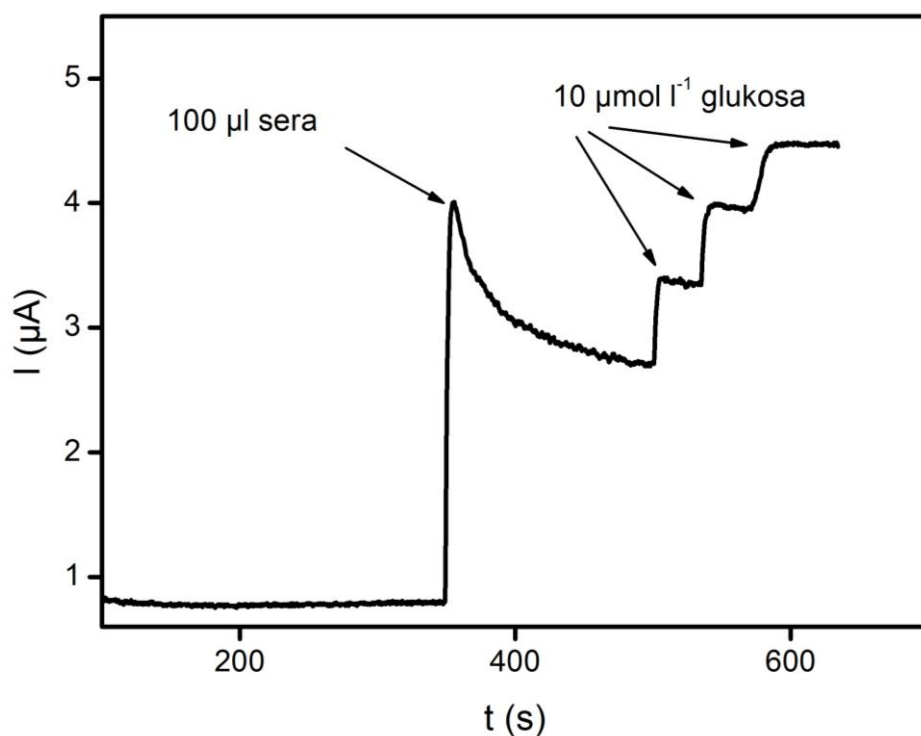
Obr. 38 Amperometrické měření glukosy na slitinou Cu a Ni ojiskřené SPGE v rozsahu 2 až 400 $\mu\text{mol.l}^{-1}$. $E = 0,55 \text{ V}$, $\text{ZE } 0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH}$

Typické rušivé látky nacházející se v krvi jsou askorbová kyselina (AA), močová kyselina (UA), paracetamol (PM) a fruktosa (Fru). Glukosa se v krvi nachází v přibližně třicetinasobném nadbytku nad těmito látkami [194, 195]. Při testování byly porovnávány odezvy v poměru glukosy ku interferentům 25 : 1 a 10 : 1. Z výsledků plyne, že ani v jednom poměru nemají interferující látky výrazný podíl na celkové odezvě senzoru a neměly by působit problémy při stanovení glukosy (viz Obr. 39). Přítomnost intereferentů nezpůsobovala zanesení aktivních míst senzoru, což dokazuje shodná proudová odezva na glukosu před aplikací interferentů a po aplikaci.

Připravené senzory byly využity při měření hladiny glukosy ve vzorku neupraveného krevního séra pomocí metody standardního přídatku. Změřená koncentrace glukosy v krevním vzorku byla $8,67 \pm 0,17 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($n = 3$), což bylo ve shodě s výsledkem komerčního glukometru ($8,44 \pm 0,21 \text{ mmol.l}^{-1}$ glukosy, $n = 3$). Přesnost metody byla stanovena pomocí spikovaného vzorku krevního séra, do kterého bylo přidáno 5 mmol.l^{-1} glukosy. Změřený nárůst koncentrace byl $4,85 \text{ mmol.l}^{-1}$ (návratnost 97 %).



Obr. 39 Srovnání amperometrické odezvy $100 \mu\text{mol.l}^{-1}$ glukosy a interferentů v poměru 10 : 1 (černá křivka) a 25 : 1 (červená křivka). $E = 0,55 \text{ V}$, ZE $0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH}$



Obr. 40 Záznam amperometrického měření vzorku krevního séra metodou standardního přidavku, $E = 0,55 \text{ V}$, ZE $0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH}$

Analytické vlastnosti slitinou ojiskřených SPGE jsou na podobné úrovni jako senzory publikované v odborné literatuře [141, 142, 144, 146]. Časová nenáročnost procesu modifikace SPGE pomocí jiskrového výboje však předčí většinu dalších způsobů přípravy modifikovaných elektrod a lze předpokládat (po zautomatizování procesu modifikace) použitelnost techniky pro masovou výrobu senzorů. Výhodou je také nulová spotřeba rozpouštědel a chemikálií při modifikaci.

5 Závěr

Metoda jiskrového výboje byla aplikována při depozici bismutových nanočástic na povrch SPGE, které byly důkladně charakterizovány pomocí SEM a CV. Jednou z nejběžnějších aplikací bismutových elektrod je stanovení těžkých kovů, kde bismut slouží jako nejedovatá náhrada za rtuť. Následně byla vyvinuta analytická metoda pro stanovení těžkých kovů a nalezeny optimální parametry pro zpracování vzorku pitné vody. Bi-SPGE byly použity jako jednorázové senzory pro stanovení stopových koncentrací kadmia a olova ve vzorku pitné vody.

Relativně neobvyklou aplikací bismutových elektrod je stanovení organických sloučenin. Vedle nízké citlivosti bismutových senzorů působí problémy i redukce kyslíku na elektrodě. Nanočástice bismutu generované při jiskrovém výboji byly pokryty vrstvou grafitu, který bránil interferenci kyslíku. Vedle této výhody vykazovaly Bi-SPGE vysokou citlivost na riboflavin, což dovolovalo provádět velmi rychlé analýzy bez zdlouhavých prekoncentračních kroků. Rychlost vyvinuté analytické metody a prakticky nulová interference kyslíku mimo jiné poukazují na vhodnost senzorů k použití v podmínkách, kde je obtížné zajistit odstranění kyslíku z roztoku (např. mimo laboratoř). Aplikovatelnost vyvinutých senzorů byla demonstrována při stanovení obsahu riboflavinu v tabletě B-komplexu.

Výhodami jiskrového výboje jsou rychlost modifikace a ekonomická nenáročnost, což jsou předpoklady vhodné pro použití při výrobě jednorázových elektrochemických čidel. Příkladem takových čidel mohou být neenzymatické senzory glukosy, které využívají katalytické účinky mědi nebo niklu. Pomocí jiskrového výboje byla na SPGE deponovaná slitina mědi a niklu v poměru 50/50. Na povrchu elektrod byly generovány převážně nanočástice mědi a niklu, avšak část nanočástic byla směs obou kovů, čímž došlo ke kombinaci výhod obou materiálů. K charakterizaci připravených senzorů byly použity metody CV, SEM, EDS a XPS. Následně byly optimalizovány parametry stanovení glukosy pomocí Cu/Ni-SPGE a testován vliv interferentů, které mohou rušit měření glukosy v krvi. Finální aplikací bylo stanovení koncentrace glukosy ve vzorku krevního séra.

Jiskrový výboj se osvědčil jako nová, jednoduchá, velmi rychlá a efektivní metoda modifikace elektrodového povrchu, která nezatěžuje životní prostředí ani rozpočet laboratoře použitím rozpouštědel a chemikálií k přípravě modifikačního media. Jednoduchost a časová nenáročnost procesu depozice předčí všechny dosud publikované metody modifikace SPGE. Metoda jiskrového výboje slibuje široké možnosti dalšího využití při vývoji elektrochemických senzorů modifikovaných dalšími materiály, které by dovolily stanovení

širokého spektra analytů. Dalším směrem výzkumu by měl být vývoj automatizovaného zařízení, jež by bylo schopno zajistit vyšší uniformitu připravených senzorů.

Seznam použitých zkratk

ASV anodická rozpouštěcí voltametrie
CSV katodická stripping voltametrie
AdSV adsorptivní stripping voltametrie
SV staircase voltametrie
BDD borem dopovaný diamant
CFME mikroelektroda z uhlíkového vlákna
FIA průtoková injekční analýza
HPLC vysokoúčinná kapalinová chromatografie
SPE sítotiskem připravená elektroda
SPGE sítotiskem připravená grafitová elektroda
SCE nasycená kalomelová elektroda
SEM skenovací elektronový mikroskop
TEM transmisní elektronový mikroskop
ZE základní elektrolyt
CV cyklická voltametrie
EDS energiově disperzní spektroskopie
XPS rentgenová fotoelektronová spektroskopie
RSD relativní směrodatná odchylka
AA askorbová kyselina
UA močová kyselina
Fru fruktosa
PM paracetamol
Glu glukosa
LOD limit detekce
LOQ limit kvantifikace
DA dopamin
chronoAMP chronoamperometrie
AMP amperometrie

Seznam použité literatury

- [1] E. Bakker, P. Buhlmann, E. Pretsch, Carrier-based ion-selective electrodes and bulk optodes. 1. General characteristics, *Chem Rev*, 97 (1997) 3083-3132.
- [2] J. Wang, *Analytical electrochemistry*, 2nd ed., John Wiley & Sons, New York, 2000.
- [3] F. Scholz, A.M. Bond, *Electroanalytical methods guide to experiments and applications*, in, Springer, Heidelberg ; New York, 2010, pp. 1 online resource.
- [4] F.G. Thomas, G. Henze, *Introduction to voltammetric analysis : theory and practice*, CSIRO Pub., Collingwood, Vic., 2001.
- [5] J.A. Turner, J.H. Christie, M. Vukovic, R.A. Osteryoung, Square-Wave Voltammetry at Dropping Mercury-Electrode - Experimental, *Abstr Pap Am Chem S*, 173 (1977) 140-140.
- [6] G.G. Neuburger, D.C. Johnson, Comparison of the Pulsed Amperometric Detection of Carbohydrates at Gold and Platinum-Electrodes for Flow-Injection and Liquid-Chromatographic Systems, *Anal Chem*, 59 (1987) 203-204.
- [7] J. Barek, A.G. Fogg, A. Muck, J. Zima, Polarography and voltammetry at mercury electrodes, *Crit Rev Anal Chem*, 31 (2001) 291-309.
- [8] R.S. Lawton, A.M. Yacynych, Adsorption of Sodium Mercaptoacetate on a Mercury-Electrode, *Anal Chem*, 53 (1981) 1523-1528.
- [9] C. Arino, Serrano, N., Díaz-Cruz, J. M., Esteban, m., Voltammetric determination of metal ions beyond mercury electrodes. A review, *Anal Chim Acta*, <https://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.07.069> (2017).
- [10] J. Sullivan, M. Douek, Determination of Carbohydrates in Wood, Pulp and Process Liquor Samples by High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection, *J Chromatogr A*, 671 (1994) 339-350.
- [11] L.E. Vanatta, Use of Combined Sodium-Hydroxide and Carbonate Bicarbonate Eluents with Various Anion-Exchange Columns, *J Chromatogr A*, 671 (1994) 83-88.
- [12] P.J. Vandenberg, D.C. Johnson, Pulsed Electrochemical Detection of Cysteine, Cystine, Methionine, and Glutathione at Gold Electrodes Following Their Separation by Liquid-Chromatography, *Anal Chem*, 65 (1993) 2713-2718.
- [13] W.R. Fawcett, M. Fedurco, Z. Kovacova, Z. Borkowska, Oxidation of Cysteine, Cysteinesulfinic Acid and Cysteic Acid on a Polycrystalline Gold Electrode, *J Electroanal Chem*, 368 (1994) 265-274.
- [14] E. Hamidi-Asl, F. Dardenne, R. Blust, K. De Wael, An Improved Electrochemical Aptasensor for Chloramphenicol Detection Based on Aptamer Incorporated Gelatine, *Sensors-Basel*, 15 (2015) 7605-7618.
- [15] K. Yamamoto, K. Sato, T. Chikuma, T. Kato, A highly sensitive and stable detection of acetylcholine by HPLC-osmium-horseradish peroxidase redox polymer electrode coated on a gold radial flow ring disk, *Anal Chim Acta*, 521 (2004) 209-213.
- [16] M. Korolczuk, M. Ochab, I. Rutyna, Determination of As(III) by anodic stripping voltammetry following double deposition and stripping steps at two gold working electrodes, *Talanta*, 144 (2015) 517-521.
- [17] A. Giacomino, O. Abollino, M. Lazzara, M. Malandrino, E. Mentasti, Determination of As(III) by anodic stripping voltammetry using a lateral gold electrode: Experimental conditions, electron transfer and monitoring of electrode surface, *Talanta*, 83 (2011) 1428-1435.

- [18] L.A. Colon, R. Dadoo, R.N. Zare, Determination of Carbohydrates by Capillary Zone Electrophoresis with Amperometric Detection at a Copper Microelectrode, *Anal Chem*, 65 (1993) 476-481.
- [19] J.M. Marioli, T. Kuwana, Electrochemical Detection of Carbohydrates at Nickel-Copper and Nickel-Chromium-Iron Alloy Electrodes, *Electroanal*, 5 (1993) 11-15.
- [20] P.F. Luo, F.Z. Zhang, R.P. Baldwin, Constant Potential Amperometric Detection of Underivatized Amino-Acids and Peptides at a Copper Electrode, *Anal Chem*, 63 (1991) 1702-1707.
- [21] M. Brezina, J. Koryta, M. Musilova, Electrode Processes of Oxygen and of Hydrogen Peroxide on a Silver Electrode in Alkali Hydroxide Solution, *Collect Czech Chem C*, 33 (1968) 3397-&.
- [22] R.L. McCreery, Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry, *Chem Rev*, 108 (2008) 2646-2687.
- [23] J.C. Bokros, Carbon Biomedical Devices, *Carbon*, 15 (1977) 355-371.
- [24] P.J.F. Harris, Fullerene-related structure of commercial glassy carbons, *Philos Mag*, 84 (2004) 3159-3167.
- [25] D.T. Fagan, I.F. Hu, T. Kuwana, Vacuum Heat-Treatment for Activation of Glassy-Carbon Electrodes, *Anal Chem*, 57 (1985) 2759-2763.
- [26] E. Bodoki, R. Sandulescu, L. Roman, Method validation in quantitative electrochemical analysis of colchicine using glassy carbon electrode, *Cent Eur J Chem*, 5 (2007) 766-778.
- [27] E.C. Guijarro, P. Yanezsenedo, J.M.P. Carrazon, L.M.P. Diez, Voltammetric Determination of 4-Chloro-3-Methylphenol at a Glassy-Carbon Electrode, *Fresen J Anal Chem*, 339 (1991) 193-196.
- [28] M. Robecke, K. Cammann, Determination of Tetraethyllead and Tetramethyllead Using High-Performance Liquid-Chromatography and Electrochemical Detection, *Fresen J Anal Chem*, 341 (1991) 555-558.
- [29] K.K. Shiu, F.Y. Song, Preconcentration and electroanalysis of copper species at electrochemically activated glassy carbon electrodes adsorbed with alizarin red S, *Electroanal*, 10 (1998) 256-261.
- [30] K. Vytras, I. Svancara, R. Metelka, Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry, *J Serb Chem Soc*, 74 (2009) 1021-1033.
- [31] G. Roa-Morales, M.T. Ramirez-Silva, R.L. Gonzalez, L. Galicia, M. Romero-Romo, Electrochemical characterization and determination of mercury using carbon paste electrodes modified with cyclodextrins, *Electroanal*, 17 (2005) 694-700.
- [32] R. Ojani, J.B. Raouf, E. Zarei, Poly(ortho-toluidine) modified for electrocatalytic reduction carbon paste electrode: A sensor of nitrite, *Electroanal*, 20 (2008) 379-385.
- [33] H. Svecova, J. Souckova, M. Pyszkova, J. Svitkova, J. Labuda, J. Skopalova, P. Bartak, Phospholipids improve selectivity and sensitivity of carbon electrodes: Determination of pesticide Paraquat, *Eur J Lipid Sci Tech*, 116 (2014) 1247-1255.
- [34] S. Gutierrez-Fernandez, M.C. Blanco-Lopez, M.J. Lobo-Castanon, A.J. Miranda-Ordieres, P. Tunon-Blanco, Adsorptive stripping voltammetry of rifamycins at unmodified and surfactant-modified carbon paste electrodes, *Electroanal*, 16 (2004) 1660-1666.
- [35] A. Kraft, Doped diamond: A compact review on a new, versatile electrode material, *Int J Electrochem Sc*, 2 (2007) 355-385.
- [36] T.A. Enache, A.M. Chiorcea-Paquim, O. Fatibello, A.M. Oliveira-Brett, Hydroxyl radicals electrochemically generated in situ on a boron-doped diamond electrode, *Electrochem Commun*, 11 (2009) 1342-1345.
- [37] O. Chailapakul, W. Siangproh, D.A. Tryk, Boron-doped diamond-based sensors: A review, *Sensor Lett*, 4 (2006) 99-119.

- [38] R.G. Compton, J.S. Foord, F. Marken, Electroanalysis at diamond-like and doped-diamond electrodes, *Electroanal*, 15 (2003) 1349-1363.
- [39] M.L. Huffman, B.J. Venton, Carbon-fiber microelectrodes for in vivo applications, *Analyst*, 134 (2009) 18-24.
- [40] M. Teltingdiaz, M.T. Kelly, C. Hua, M.R. Smyth, High-Performance Liquid-Chromatographic Determination of Nifedipine, Nicardipine and Pindolol Using a Carbon-Fiber Flow-through Amperometric Detector, *J Pharmaceut Biomed*, 9 (1991) 889-893.
- [41] K.A. Sagar, C. Hua, M.T. Kelly, M.R. Smyth, Analysis of Salbutamol in Human Plasma by High-Performance Liquid-Chromatography with Electrochemical Detection Using a Micro-Electrochemical Flow Cell, *Electroanal*, 4 (1992) 481-486.
- [42] V. Halouzka, J. Hrbac, D. Jirovsky, D. Riman, P. Jakubec, Z. Bartosova, V. Masek, P. Mojzes, J. Vacek, Electrochemical Pretreatment of Carbon Fiber Microelectrodes Based on Sinusoidal-wave Potential Cycling and its Application to Amperometric Sensing of Bioactive Compounds, *Curr Anal Chem*, 9 (2013) 305-311.
- [43] Y.V. Basova, H. Hatori, Y. Yamada, K. Miyashita, Effect of oxidation-reduction surface treatment on the electrochemical behavior of PAN-based carbon fibers, *Electrochem Commun*, 1 (1999) 540-544.
- [44] V. Halouzka, P. Jakubec, C. Gregor, D. Jancik, G. Valaskova, K. Papadopoulos, T. Triantis, J. Hrbac, Nanosilver-Nafion Coated Carbon Fiber Microelectrode for H₂O₂ Amperometry, *X Pracovni Setkani Fyzikalnich Chemiku a Electrochemiku/ 10th Workshop of Physical Chemists and Electrochemists*, (2010) 70-72.
- [45] V. Halouzka, P. Jakubec, J. Hrbac, L. Trnkova, Carbon Fiber Microelectrodes Modified by Silver for Determination of Hydrogen Peroxide, *Xxxiii Moderni Elektrochemicke Metody*, (2013) 56-59.
- [46] D. Riman, Z. Bartosova, V. Halouzka, J. Vacek, D. Jirovsky, J. Hrbac, Facile preparation of nanostructured copper-coated carbon microelectrodes for amperometric sensing of carbohydrates, *Rsc Adv*, 5 (2015) 31245-31249.
- [47] O.D. Renedo, M.A. Alonso-Lomillo, M.J.A. Martinez, Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications, *Talanta*, 73 (2007) 202-219.
- [48] 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 (2004) 20-24.
- [49] 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 Pharmaceut Biomed*, 43 (2007) 315-319.
- [50] M.F. Bergamini, M.V. Boldrin Zanoni, Anodic stripping voltammetric determination of aurothiomalate in urine using a screen-printed carbon electrode, *Electroanal*, 18 (2006) 1457-1462.
- [51] J.M. Zen, C.T. Hsu, Y.L. Hsu, J.W. Sue, E.D. Conte, Voltammetric peak separation of dopamine from uric acid in the presence of ascorbic acid at greater than ambient solution temperatures, *Anal Chem*, 76 (2004) 4251-4255.
- [52] 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, *Sensor Actuat B-Chem*, 115 (2006) 473-480.
- [53] A. Michopoulos, A.B. Florou, M.I. Prodromidis, Ultrasensitive Determination of Vitamin B-12 Using Disposable Graphite Screen-Printed Electrodes and Anodic Adsorptive Voltammetry, *Electroanal*, 27 (2015) 1876-1882.
- [54] K.C. Honeychurch, J.P. Hart, D.C. Cowell, D.W.M. Arrigan, Voltammetric behavior and trace determination of cadmium at a calixarene modified screen-printed carbon electrode, *Electroanal*, 14 (2002) 177-185.

- [55] 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 (2002) 565-574.
- [56] 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 (1998) 2905-2907.
- [57] M. Trojanowicz, Impact of nanotechnology on design of advanced screen-printed electrodes for different analytical applications, *Trac-Trend Anal Chem*, 84 (2016) 22-47.
- [58] N. Serrano, A. Alberich, J.M. Diaz-Cruz, C. Arino, M. Esteban, Coating methods, modifiers and applications of bismuth screen-printed electrodes, *Trac-Trend Anal Chem*, 46 (2013) 15-29.
- [59] K. Charoenkitamorn, O. Chailapakul, W. Siangproh, Development of gold nanoparticles modified screen-printed carbon electrode for the analysis of thiram, disulfiram and their derivative in food using ultra-high performance liquid chromatography, *Talanta*, 132 (2015) 416-423.
- [60] B. Rafiee, A.R. Fakhari, M. Ghaffarzadeh, Impedimetric and stripping voltammetric determination of methamphetamine at gold nanoparticles-multiwalled carbon nanotubes modified screen printed electrode, *Sensor Actuat B-Chem*, 218 (2015) 271-279.
- [61] R.A. Farghali, R.A. Ahmed, Gold Nanoparticles-Modified Screen-Printed Carbon Electrode for Voltammetric Determination of Sildenafil Citrate (Viagra) in Pure Form, Biological and Pharmaceutical Formulations, *Int J Electrochem Sc*, 10 (2015) 1494-1505.
- [62] S. Sanlloriente-Mendez, O. Dominguez-Renedo, M.J. Arcos-Martinez, Determination of Arsenic(III) Using Platinum Nanoparticle-Modified Screen-Printed Carbon-Based Electrodes, *Electroanal*, 21 (2009) 635-639.
- [63] W.C. Chen, P.Y. Li, C.H. Chou, J.L. Chang, J.M. Zen, A nonenzymatic approach for selective and sensitive determination of glycerol in biodiesel based on a PtRu-modified screen-printed edge band ultramicroelectrode, *Electrochim Acta*, 153 (2015) 295-299.
- [64] C.C. Yang, A.S. Kumar, J.M. Zen, Electrocatalytic reduction and determination of dissolved oxygen at a preanodized screen-printed carbon electrode modified with palladium nanoparticles, *Electroanal*, 18 (2006) 64-69.
- [65] J. Raveendran, P.E. Resmi, T. Ramachandran, B.G. Nair, T.G.S. Babu, Fabrication of a disposable non-enzymatic electrochemical creatinine sensor, *Sensor Actuat B-Chem*, 243 (2017) 589-595.
- [66] P.Y. Chen, H.H. Yang, C.C. Huang, Y.H. Chen, Y. Shih, Involvement of Cu(II) in the electrocatalytic reduction of bromate on a disposable nano-copper oxide modified screen-printed carbon electrode: hair waving products as an example, *Electrochim Acta*, 161 (2015) 100-107.
- [67] A.S. Kumar, J.M. Zen, Electrochemical investigation of glucose sensor fabricated at copper-plated screen-printed carbon electrodes, *Electroanal*, 14 (2002) 671-678.
- [68] J.M. Zen, H.H. Chung, A.S. Kumar, Selective detection of o-diphenols on copper-plated screen-printed electrodes, *Anal Chem*, 74 (2002) 1202-+.
- [69] J.M. Zen, Y.S. Song, H.H. Chung, C.T. Hsu, A.S. Kumar, Photoelectrochemical oxygen copper-plated screen-printed sensor using carbon electrodes, *Anal Chem*, 74 (2002) 6126-6130.
- [70] J.M. Zen, C.T. Hsu, A.S. Kumar, H.J. Lyuu, K.Y. Lin, Amino acid analysis using disposable copper nanoparticle plated electrodes, *Analyst*, 129 (2004) 841-845.
- [71] C.W. Yang, J.M. Zen, Y.L. Kao, C.T. Hsu, T.C. Chung, C.C. Chang, C.C. Chou, Multiple screening of urolithic organic acids with copper nanoparticle-plated electrode: Potential assessment of urolithic risks, *Anal Biochem*, 395 (2009) 224-230.

- [72] G.H. Hwang, W.K. Han, J.S. Park, S.G. Kang, Determination of trace metals by anodic stripping voltammetry using a bismuth-modified carbon nanotube electrode, *Talanta*, 76 (2008) 301-308.
- [73] H.L. Fang, H.X. Zheng, M.Y. Ou, Q. Meng, D.H. Fan, W. Wang, One-step sensing lead in surface waters with screen printed electrode, *Sensor Actuat B-Chem*, 153 (2011) 369-372.
- [74] 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 (2004) 770-775.
- [75] R.O. Kadara, L.E. Tothill, Resolving the copper interference effect on the stripping chronopotentiometric response of lead(II) obtained at bismuth film screen-printed electrode, *Talanta*, 66 (2005) 1089-1093.
- [76] S. Chuanwatanakul, W. Dungchai, O. Chailapakul, S. Motomizu, Determination of trace heavy metals by sequential injection-anodic stripping voltammetry using bismuth film screen-printed carbon electrode, *Anal Sci*, 24 (2008) 589-594.
- [77] M. Khairy, R.O. Kadara, D.K. Kampouris, C.E. Banks, In situ bismuth film modified screen printed electrodes for the bio-monitoring of cadmium in oral (saliva) fluid, *Anal Methods-Uk*, 2 (2010) 645-649.
- [78] S.A. Tukur, N.A. Yusof, R. Hajian, Linear sweep anodic stripping voltammetry: Determination of Chromium (VI) using synthesized gold nanoparticles modified screen-printed electrode, *J Chem Sci*, 127 (2015) 1075-1081.
- [79] P. Gupta, R.N. Goyal, Y.B. Shim, Simultaneous analysis of dopamine and 5-hydroxyindoleacetic acid at nanogold modified screen printed carbon electrodes, *Sensor Actuat B-Chem*, 213 (2015) 72-81.
- [80] M.M.S. Silva, A.C.M.S. Dias, M.T. Cordeiro, E. Marques, M.O.F. Goulart, R.F. Dutra, A thiophene-modified screen printed electrode for detection of dengue virus NS1 protein, *Talanta*, 128 (2014) 505-510.
- [81] L.A. Piankova, N.A. Malakhova, N.Y. Stozhko, K.Z. Brainina, A.M. Murzakaev, O.R. Timoshenkova, Bismuth nanoparticles in adsorptive stripping voltammetry of nickel, *Electrochem Commun*, 13 (2011) 981-984.
- [82] M.A.G. Rico, M. Olivares-Marin, E.P. Gil, Modification of carbon screen-printed electrodes by adsorption of chemically synthesized Bi nanoparticles for the voltammetric stripping detection of Zn(II), Cd(II) and Pb(II), *Talanta*, 80 (2009) 631-635.
- [83] P.A. Dimovasilis, M.I. Prodromidis, Bismuth-dispersed xerogel-based composite films for trace Pb(II) and Cd(II) voltammetric determination, *Anal Chim Acta*, 769 (2013) 49-55.
- [84] N. Gan, X. Yang, D.H. Xie, Y.Z. Wu, W.G. Wen, A Disposable Organophosphorus Pesticides Enzyme Biosensor Based on Magnetic Composite Nano-Particles Modified Screen Printed Carbon Electrode, *Sensors-Basel*, 10 (2010) 625-638.
- [85] M.H. Liao, J.C. Guo, W.C. Chen, A disposable amperometric ethanol biosensor based on screen-printed carbon electrodes mediated with ferricyanide-magnetic nanoparticle mixture, *J Magn Magn Mater*, 304 (2006) E421-E423.
- [86] S.H. Lee, H.Y. Fang, W.C. Chen, H.M. Lin, C.A. Chang, Electrochemical study on screen-printed carbon electrodes with modification by iron nanoparticles in Fe(CN)₆⁴⁻/Fe(CN)₆³⁻ redox system, *Anal Bioanal Chem*, 383 (2005) 532-538.
- [87] P. Reanpang, S. Themsirimongkon, S. Saipanya, O. Chailapakul, J. Jakmunee, Cost-effective flow injection amperometric system with metal nanoparticle loaded carbon nanotube modified screen printed carbon electrode for sensitive determination of hydrogen peroxide, *Talanta*, 144 (2015) 868-874.
- [88] O.A. Loaiza, P.J. Lamas-Ardisana, L. Anorga, E. Jubete, V. Ruiz, M. Borghei, G. Cabanero, H.J. Grande, Graphitized carbon nanofiber-Pt nanoparticle hybrids as sensitive tool

for preparation of screen printing biosensors. Detection of lactate in wines and ciders, *Bioelectrochemistry*, 101 (2015) 58-65.

[89] S.S. Mandal, V. Navratna, P. Sharma, B. Gopal, A.J. Bhattacharyya, Titania nanotube-modified screen printed carbon electrodes enhance the sensitivity in the electrochemical detection of proteins, *Bioelectrochemistry*, 98 (2014) 46-52.

[90] V.A. Gatselou, D.L. Giokas, A.G. Vlessidis, M.I. Prodromidis, Rhodium nanoparticle-modified screen-printed graphite electrodes for the determination of hydrogen peroxide in tea extracts in the presence of oxygen, *Talanta*, 134 (2015) 482-487.

[91] M. Velmurugan, N. Karikalalan, S.M. Chen, Synthesis and characterizations of biscuit-like copper oxide for the non-enzymatic glucose sensor applications, *J Colloid Interf Sci*, 493 (2017) 349-355.

[92] M. Garcia, A. Escarpa, Disposable electrochemical detectors based on nickel nanowires for carbohydrate sensing, *Biosens Bioelectron*, 26 (2011) 2527-2533.

[93] S.S. Hassan, Sirajuddin, A.R. Solangi, T.G. Kazia, M.S. Kalhor, Y. Junejo, Z.A. Tagar, N.H. Kalwar, Nafion stabilized ibuprofen-gold nanostructures modified screen printed electrode as arsenic(III) sensor, *J Electroanal Chem*, 682 (2012) 77-82.

[94] I. Tiwari, M. Singh, M. Gupta, J.P. Metters, C.E. Banks, Design of screen-printed bulk modified electrodes using anthraquinone-cysteamine functionalized gold nanoparticles and their application to the detection of dissolved oxygen, *Anal Methods-Uk*, 7 (2015) 2020-2027.

[95] T.A. Ali, G.G. Mohamed, Potentiometric determination of La(III) in polluted water samples using modified screen-printed electrode by self-assembled mercapto compound on silver nanoparticles, *Sensor Actuat B-Chem*, 216 (2015) 542-550.

[96] X.H. Niu, H.L. Zhao, M.B. Lan, Disposable Screen-printed Bismuth Electrode Modified with Multi-walled Carbon Nanotubes for Electrochemical Stripping Measurements, *Anal Sci*, 27 (2011) 1237-1241.

[97] R.O. Kadara, I.E. Tothill, Development of disposable bulk-modified screen-printed electrode based on bismuth oxide for stripping chronopotentiometric analysis of lead (II) and cadmium (II) in soil and water samples, *Anal Chim Acta*, 623 (2008) 76-81.

[98] G.H. Hwang, W.K. Han, J.S. Park, S.G. Kang, An electrochemical sensor based on the reduction of screen-printed bismuth oxide for the determination of trace lead and cadmium, *Sensor Actuat B-Chem*, 135 (2008) 309-316.

[99] N.A. Malakhova, N.Y. Stozhko, K.Z. Brainina, Novel approach to bismuth modifying procedure for voltammetric thick film carbon containing electrodes, *Electrochem Commun*, 9 (2007) 221-227.

[100] S.G. Leonardi, S. Marini, C. Espro, A. Bonavita, S. Galvagno, G. Neri, In-situ grown flower-like nanostructured CuO on screen printed carbon electrodes for non-enzymatic amperometric sensing of glucose, *Microchim Acta*, 184 (2017) 2375-2385.

[101] A. Economou, P.R. Fielden, Applications, potentialities and limitations of adsorptive stripping analysis on mercury film electrodes, *Trac-Trend Anal Chem*, 16 (1997) 286-292.

[102] J. Wang, J.M. Lu, S.B. Hocevar, P.A.M. Farias, B. Ogorevc, Bismuth-coated carbon electrodes for anodic stripping voltammetry, *Anal Chem*, 72 (2000) 3218-3222.

[103] A. Economou, Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis, *Trac-Trend Anal Chem*, 24 (2005) 334-340.

[104] M.A.G. Rico, M. Olivares-Marin, E.P. Gil, A Novel Cell Design for the Improved Stripping Voltammetric Detection of Zn(II), Cd(II), and Pb(II) on Commercial Screen-Printed Strips by Bismuth Codeposition in Stirred Solutions, *Electroanal*, 20 (2008) 2608-2613.

[105] O. Zaouak, L. Authier, C. Cugnet, A. Castetbon, M. Potin-Gautier, Bismuth-Coated Screen-Printed Microband Electrodes for On-Field Labile Cadmium Determination, *Electroanal*, 21 (2009) 689-695.

- [106] R.O. Kadara, N. Jenkinson, C.E. Banks, Disposable Bismuth Oxide Screen Printed Electrodes for the High Throughput Screening of Heavy Metals, *Electroanal*, 21 (2009) 2410-2414.
- [107] G.J. Lee, C.K. Kim, M.K. Lee, C.K. Rhee, Advanced Use of Nanobismuth/Nafion Electrode for Trace Analyses of Zinc, Cadmium, and Lead, *J Electrochem Soc*, 157 (2010) J241-J244.
- [108] N. Serrano, J.M. Diaz-Cruz, C. Arino, M. Esteban, Stripping analysis of heavy metals in tap water using the bismuth film electrode, *Anal Bioanal Chem*, 396 (2010) 1365-1369.
- [109] U. Injang, P. Noyrod, W. Siangproh, W. Dunchai, S. Motomizu, O. Chailapakul, Determination of trace heavy metals in herbs by sequential injection analysis-anodic stripping voltammetry using screen-printed carbon nanotubes electrodes, *Anal Chim Acta*, 668 (2010) 54-60.
- [110] N.A. Malakhova, A.A. Mysik, S.Y. Saraeva, N.Y. Stozhko, M.A. Uimin, A.E. Ermakov, K.Z. Brainina, A voltammetric sensor on the basis of bismuth nanoparticles prepared by the method of gas condensation, *J Anal Chem+*, 65 (2010) 640-647.
- [111] N. Serrano, J.M. Diaz-Cruz, C. Arino, M. Esteban, Ex situ Deposited Bismuth Film on Screen-Printed Carbon Electrode: A Disposable Device for Stripping Voltammetry of Heavy Metal Ions, *Electroanal*, 22 (2010) 1460-1467.
- [112] S.N. Tan, L.Y. Ge, W. Wang, Paper Disk on Screen Printed Electrode for One-Step Sensing with an Internal Standard, *Anal Chem*, 82 (2010) 8844-8847.
- [113] A. Mandil, R. Pauliukaite, A. Amine, C.M.A. Brett, Electrochemical Characterization of and Stripping Voltammetry at Screen Printed Electrodes Modified with Different Brands of Multiwall Carbon Nanotubes and Bismuth Films, *Anal Lett*, 45 (2012) 395-407.
- [114] J.F. Ping, Y.X. Wang, J. Wu, Y.B. Ying, Development of an electrochemically reduced graphene oxide modified disposable bismuth film electrode and its application for stripping analysis of heavy metals in milk, *Food Chem*, 151 (2014) 65-71.
- [115] Z.Q. Wang, H. Wang, Z.H. Zhang, G. Liu, Electrochemical determination of lead and cadmium in rice by a disposable bismuth/electrochemically reduced graphene/ionic liquid composite modified screen-printed electrode, *Sensor Actuat B-Chem*, 199 (2014) 7-14.
- [116] V.B. dos Santos, E.L. Fava, N.S.D.M. Curi, R.C. Faria, O. Fatibello, A thermostated electrochemical flow cell with a coupled bismuth film electrode for square-wave anodic stripping voltammetric determination of cadmium(II) and lead(II) in natural, wastewater and tap water samples, *Talanta*, 126 (2014) 82-90.
- [117] P.F. Niu, C. Fernandez-Sanchez, M. Gich, C. Ayora, A. Roig, Electroanalytical Assessment of Heavy Metals in Waters with Bismuth Nanoparticle-Porous Carbon Paste Electrodes, *Electrochim Acta*, 165 (2015) 155-161.
- [118] R. Maria-Hormigos, M.J. Gissera, J.R. Procopio, M.T. Sevilla, Disposable screen-printed electrode modified with bismuth-PSS composites as high sensitive sensor for cadmium and lead determination, *J Electroanal Chem*, 767 (2016) 114-122.
- [119] P.A. Dimovasilis, M.I. Prodromidis, Preparation of Screen-Printed Compatible Bismuth-Modified Sol-Gel Microspheres: Application to the Stripping Voltammetric Determination of Lead and Cadmium, *Anal Lett*, 49 (2016) 979-989.
- [120] K. Tyszczyk-Rotko, K. Domanska, Simple and Sensitive Voltammetric Procedure for Determination of Cd(II) and Pb(II) Using Bismuth-Coated Screen-Printed Carbon Electrode Prepared with Mediator, *J Electrochem Soc*, 164 (2017) H537-H544.
- [121] H. Wang, G. Zhao, Y. Yin, Z.Q. Wang, G. Liu, Screen-Printed Electrode Modified by Bismuth/Fe₃O₄ Nanoparticle/Ionic Liquid Composite Using Internal Standard Normalization for Accurate Determination of Cd(II) in Soil, *Sensors-Basel*, 18 (2018).
- [122] G.F. Combs, *The vitamins*, 4th ed., Elsevier/ Academic Press, Amsterdam ; Boston, 2012.

- [123] R. Garrett, Grisham C.M., *Biochemistry*, 5th ed., Brooks/Cole Cengage Learning, Belmont, CA (2013).
- [124] M.A. Jabbar, S. Salahuddin, A.J. Mahmood, R.J. Mannan, Voltammetric evidences for the interaction of riboflavin with cadmium in aqueous media, *J Saudi Chem Soc*, 20 (2016) 158-164.
- [125] J. Wang, D.B. Luo, P.A.M. Farias, J.S. Mahmoud, Adsorptive Stripping Voltammetry of Riboflavin and Other Flavin Analogs at the Static Mercury Drop Electrode, *Anal Chem*, 57 (1985) 158-162.
- [126] A. Economou, P.R. Fielden, A Study of Riboflavin Determination by Square-Wave Adsorptive Stripping Voltammetry on Mercury Film Electrodes, *Electroanal*, 7 (1995) 447-453.
- [127] M.J.F. Villamil, A.J.M. Ordieres, A.C. Garcia, P.T. Blanco, Simultaneous Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Riboflavin and Folic-Acid in Multivitamin Preparations, *Anal Chim Acta*, 273 (1993) 377-382.
- [128] A. Safavi, N. Maleki, H. Ershadifar, F. Tajabadi, Development of a sensitive and selective Riboflavin sensor based on carbon ionic liquid electrode, *Anal Chim Acta*, 674 (2010) 176-181.
- [129] D.R. Kumar, D. Manoj, J. Santhanalakshmi, Electrostatic fabrication of oleylamine capped nickel oxide nanoparticles anchored multiwall carbon nanotube nanocomposite: A robust electrochemical determination of riboflavin at nanomolar levels, *Anal Methods-Uk*, 6 (2014) 1011-1020.
- [130] E. Mehmeti, D.M. Stankovic, S. Chaiyo, L. Svorc, K. Kalcher, Manganese dioxide-modified carbon paste electrode for voltammetric determination of riboflavin, *Microchim Acta*, 183 (2016) 1619-1624.
- [131] M. Yamashita, S.S. Rosatto, L.T. Kubota, Electrochemical comparative study of riboflavin, FMN and FAD immobilized on the silica gel modified with zirconium oxide, *J Brazil Chem Soc*, 13 (2002) 635-641.
- [132] E.S. Sa, P.S. da Silva, C.L. Jost, A. Spinelli, Electrochemical sensor based on bismuth-film electrode for voltammetric studies on vitamin B-2 (riboflavin), *Sensor Actuat B-Chem*, 209 (2015) 423-430.
- [133] G.G. Guilbault, G.J. Lubrano, Enzyme Electrode for Amperometric Determination of Glucose, *Anal Chim Acta*, 64 (1973) 439-455.
- [134] J. Wang, Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges, *Electroanal*, 13 (2001) 983-988.
- [135] Z. El Rassi, *Carbohydrate analysis by modern chromatography and electrophoresis*, 1st ed., Elsevier, Amsterdam ; Boston, 2002.
- [136] M. Pasta, F. La Mantia, Y. Cui, A new approach to glucose sensing at gold electrodes, *Electrochem Commun*, 12 (2010) 1407-1410.
- [137] B. Cervera, J.L. Sanz, M.J. Ibanez, G. Vila, F. LLoret, M. Julve, R. Ruiz, X. Ottenwaelder, A. Aukauloo, S. Poussereau, Y. Journaux, M.C. Munoz, Stabilization of copper(III) complexes by substituted oxamate ligands, *J Chem Soc Dalton*, (1998) 781-790.
- [138] D.S. Hall, D.J. Lockwood, C. Bock, B.R. MacDougall, Nickel hydroxides and related materials: a review of their structures, synthesis and properties, *P Roy Soc a-Math Phy*, 471 (2015).
- [139] M. Jafarian, F. Forouzandeh, I. Danaee, F. Gobal, M.G. Mahjani, Electrocatalytic oxidation of glucose on Ni and NiCu alloy modified glassy carbon electrode, *J Solid State Electr*, 13 (2009) 1171-1179.
- [140] D. Riman, K. Spyrou, A.E. Karantzalis, J. Hrbac, M.I. Prodromidis, Glucose sensing on graphite screen-printed electrode modified by sparking of copper nickel alloys, *Talanta*, 165 (2017) 466-473.

- [141] X.J. Zhang, A.X. Gu, G.F. Wang, Y. Huang, H.Q. Ji, B. Fang, Porous Cu-NiO modified glass carbon electrode enhanced nonenzymatic glucose electrochemical sensors, *Analyst*, 136 (2011) 5175-5180.
- [142] 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 Interf Sci*, 381 (2012) 143-151.
- [143] 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) 185-191.
- [144] H. Liu, X.L. Wu, B. Yang, Z.J. Li, L.C. Lei, X.W. Zhang, Three-Dimensional Porous NiO Nanosheets Vertically Grown on Graphite Disks for Enhanced Performance Non-enzymatic Glucose Sensor, *Electrochim Acta*, 174 (2015) 745-752.
- [145] B. Wang, S.M. Li, J.H. Liu, M. Yu, Preparation of nickel nanoparticle/graphene composites for non-enzymatic electrochemical glucose biosensor applications, *Mater Res Bull*, 49 (2014) 521-524.
- [146] F.J. Miao, B.R. Tao, P.K. Chu, Ordered-standing nickel hydroxide microchannel arrays: Synthesis and application for highly sensitive non-enzymatic glucose sensors, *Microelectron Eng*, 133 (2015) 11-15.
- [147] C.W. Kung, Y.H. Cheng, K.C. 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) 159-166.
- [148] 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) 966-974.
- [149] 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) 93-101.
- [150] T. Watanabe, Y. Einaga, Design and fabrication of nickel microdisk-arrayed diamond electrodes for a non-enzymatic glucose sensor based on control of diffusion profiles, *Biosens Bioelectron*, 24 (2009) 2684-2689.
- [151] Y. Mu, D.L. Jia, Y.Y. He, Y.Q. Miao, H.L. Wu, Nano nickel oxide modified non-enzymatic glucose sensors with enhanced sensitivity through an electrochemical process strategy at high potential, *Biosens Bioelectron*, 26 (2011) 2948-2952.
- [152] T. Choi, S.H. Kim, C.W. Lee, H. Kim, S.K. Choi, S.H. 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) 325-330.
- [153] R.A. Soomro, Z.H. Ibupoto, Sirajuddin, M.I. Abro, M. Willander, Controlled synthesis and electrochemical application of skein-shaped NiO nanostructures, *J Solid State Electr*, 19 (2015) 913-922.
- [154] Z.D. Gao, Y.Y. Han, Y.M. Wang, J.W. Xu, Y.Y. Song, One-Step to Prepare Self-Organized Nanoporous NiO/TiO₂ Layers and its Use in Non-Enzymatic Glucose Sensing, *Sci Rep-Uk*, 3 (2013).
- [155] A.L. Sun, J.B. Zheng, Q.L. Sheng, A highly sensitive non-enzymatic glucose sensor based on nickel and multi-walled carbon nanotubes nanohybrid films fabricated by one-step co-electrodeposition in ionic liquids, *Electrochim Acta*, 65 (2012) 64-69.
- [156] K.E. Toghiani, L. Xiao, M.A. Phillips, R.G. Compton, The non-enzymatic determination of glucose using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron-doped diamond electrode or nickel foil electrode, *Sensor Actuat B-Chem*, 147 (2010) 642-652.

- [157] R.Q. Hang, Y.L. Liu, A. Gao, L. Bai, X.B. Huang, X.Y. Zhang, N.M. Lin, B. Tang, P.K. Chu, Highly ordered Ni-Ti-O nanotubes for non-enzymatic glucose detection, *Mat Sci Eng C-Mater*, 51 (2015) 37-42.
- [158] R.M.A. Hameed, Amperometric glucose sensor based on nickel nanoparticles/carbon Vulcan XC-72R, *Biosens Bioelectron*, 47 (2013) 248-257.
- [159] Z.G. Wang, Y. Hu, W.L. Yang, M.J. Zhou, X. Hu, Facile One-Step Microwave-Assisted Route towards Ni Nanospheres/Reduced Graphene Oxide Hybrids for Non-Enzymatic Glucose Sensing, *Sensors-Basel*, 12 (2012) 4860-4869.
- [160] C.H. Lien, J.C. Chen, C.C. Hu, D.S.H. Wong, Cathodic deposition of binary nickel-cobalt hydroxide for non-enzymatic glucose sensing, *J Taiwan Inst Chem E*, 45 (2014) 846-851.
- [161] J. Chen, J.B. Zheng, A highly sensitive non-enzymatic glucose sensor based on tremella-like Ni(OH)₂ and Au nanohybrid films, *J Electroanal Chem*, 749 (2015) 83-88.
- [162] J. Luo, S.S. Jiang, H.Y. Zhang, J.Q. Jiang, X.Y. Liu, A novel non-enzymatic glucose sensor based on Cu nanoparticle modified graphene sheets electrode, *Anal Chim Acta*, 709 (2012) 47-53.
- [163] G.Y. Liu, B.Z. Zheng, Y.S. Jiang, Y.Q. Cai, J. Du, H.Y. Yuan, D. Xiao, Improvement of sensitive CuO NFs-ITO nonenzymatic glucose sensor based on in situ electrospun fiber, *Talanta*, 101 (2012) 24-31.
- [164] T.G.S. Babu, T. Ramachandran, Development of highly sensitive non-enzymatic sensor for the selective determination of glucose and fabrication of a working model, *Electrochim Acta*, 55 (2010) 1612-1618.
- [165] Z.J. Fan, B. Liu, X.H. Liu, Z.P. Li, H.G. Wang, S.R. Yang, J.Q. Wang, A flexible and disposable hybrid electrode based on Cu nanowires modified graphene transparent electrode for non-enzymatic glucose sensor, *Electrochim Acta*, 109 (2013) 602-608.
- [166] A.A. Ensafi, M.M. Abarghoui, B. Rezaei, A new non-enzymatic glucose sensor based on copper/porous silicon nanocomposite, *Electrochim Acta*, 123 (2014) 219-226.
- [167] X.L. Wang, E.L. Liu, X.L. Zhang, Non-enzymatic glucose biosensor based on copper oxide-reduced graphene oxide nanocomposites synthesized from water-isopropanol solution, *Electrochim Acta*, 130 (2014) 253-260.
- [168] P. Salazar, V. Rico, R. Rodriguez-Amaro, J.P. Espinos, A.R. Gonzalez-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) 195-201.
- [169] S. Cherevko, C.H. Chung, The porous CuO electrode fabricated by hydrogen bubble evolution and its application to highly sensitive non-enzymatic glucose detection, *Talanta*, 80 (2010) 1371-1377.
- [170] J. Yang, L.C. Jiang, W.D. Zhang, S. Gunasekaran, A highly sensitive non-enzymatic glucose sensor based on a simple two-step electrodeposition of cupric oxide (CuO) nanoparticles onto multi-walled carbon nanotube arrays, *Talanta*, 82 (2010) 25-33.
- [171] J.A. Yang, W.D. Zhang, S. Gunasekaran, An amperometric non-enzymatic glucose sensor by electrodepositing copper nanocubes onto vertically well-aligned multi-walled carbon nanotube arrays, *Biosens Bioelectron*, 26 (2010) 279-284.
- [172] J.W. Huang, Z.P. Dong, Y.D. Li, J. Li, J. Wang, H.D. Yang, S.W. Li, S.J. Guo, J. Jin, R. Li, High performance non-enzymatic glucose biosensor based on copper nanowires-carbon nanotubes hybrid for intracellular glucose study, *Sensor Actuat B-Chem*, 182 (2013) 618-624.
- [173] N. Jeanvoine, F. Muecklich, FEM Simulation of the temperature distribution and power density at platinum cathode craters caused by high voltage ignition discharges, *J Phys D Appl Phys*, 42 (2009).

- [174] T.M.P. Briels, J. Kos, G.J.J. Winands, E.M. van Veldhuizen, U. Ebert, Positive and negative streamers in ambient air: measuring diameter, velocity and dissipated energy, *J Phys D Appl Phys*, 41 (2008).
- [175] R. Reinmann, M. Akram, Temporal investigation of a fast spark discharge in chemically inert gases, *J Phys D Appl Phys*, 30 (1997) 1125-1134.
- [176] P. Sigmund, Theory of Sputtering .I. Sputtering Yield of Amorphous and Polycrystalline Targets, *Phys Rev*, 184 (1969) 383-+.
- [177] A. Schmidt-Ott, New approaches to in situ characterization of ultrafine agglomerates, *J Aerosol Sci*, 19 (1988) 553-557.
- [178] S. Schwyn, E. Garwin, A. Schmidtott, Aerosol Generation by Spark Discharge, *J Aerosol Sci*, 19 (1988) 639-642.
- [179] H. Oh, S. Kim, Synthesis of ceria nanoparticles by flame electrospray pyrolysis, *J Aerosol Sci*, 38 (2007) 1185-1196.
- [180] C. Helsper, W. Molter, F. Löffler, C. Wadenpohl, S. Kaufmann, G. Wenninger, Investigations of a New Aerosol Generator for the Production of Carbon Aggregate Particles, *Atmos Environ a-Gen*, 27 (1993) 1271-1275.
- [181] N. Lezi, C. Kokkinos, A. Economou, M.I. Prodromidis, Voltammetric determination of trace Tl(I) at disposable screen-printed electrodes modified with bismuth precursor compounds, *Sensor Actuat B-Chem*, 182 (2013) 718-724.
- [182] P.A. Vitello, B.M. Penetrante, J.N. Bardsley, Simulation of Negative-Streamer Dynamics in Nitrogen, *Phys Rev E*, 49 (1994) 5574-5598.
- [183] N. Lezi, A. Economou, P.A. Dimovasilis, P.N. Trikalitis, M.I. Prodromidis, Disposable screen-printed sensors modified with bismuth precursor compounds for the rapid voltammetric screening of trace Pb(II) and Cd(II), *Anal Chim Acta*, 728 (2012) 1-8.
- [184] D.E. Evans, R.M. Harrison, J.G. Ayres, The generation and characterization of metallic and mixed element aerosols for human challenge studies, *Aerosol Sci Tech*, 37 (2003) 975-987.
- [185] J. Millar, C.W.A. Pelling, Improved methods for construction of carbon fibre electrodes for extracellular spike recording, *J Neurosci Meth*, 110 (2001) 1-8.
- [186] N.S. Tabrizi, M. Ullmann, V.A. Vons, U. Lafont, A. Schmidt-Ott, Generation of nanoparticles by spark discharge, *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (2009) 315-332.
- [187] J.R. Davis, Copper and copper alloys, ASM International, (2001).
- [188] N.S. Tabrizi, Q. Xu, N.M. van der Pers, U. Lafont, A. Schmidt-Ott, Synthesis of mixed metallic nanoparticles by spark discharge, *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (2009) 1209-1218.
- [189] J. Labuda, D. Saur, R. Neeb, Anodic-Stripping Voltammetric Determination of Heavy-Metals in Solutions Containing Humic Acids, *Fresen J Anal Chem*, 348 (1994) 312-316.
- [190] V. Rehacek, I. Hotovy, M. Vojs, T. Kups, L. Spiess, Nafion-coated bismuth film electrodes on pyrolyzed photoresist/alumina supports for analysis of trace heavy metals, *Electrochim Acta*, 63 (2012) 192-196.
- [191] S.B. Hocevar, I. Svancara, K. Vytras, B. Ogorevc, Novel electrode for electrochemical stripping analysis based on carbon paste modified with bismuth powder, *Electrochim Acta*, 51 (2005) 706-710.
- [192] E.E. Snell, Summary of Known Metabolic Functions of Nicotinic Acid, Riboflavin and Vitamin-B6, *Physiol Rev*, 33 (1953) 509-524.
- [193] M.I. Prodromidis, A.B. Florou, S.M. Tzouwara-Karayanni, M.I. Karayannis, The importance of surface coverage in the electrochemical study of chemically modified electrodes, *Electroanal*, 12 (2000) 1498-1501.

[194] S.P. Juraschek, E.R. Miller, A.C. Gelber, Effect of Oral Vitamin C Supplementation on Serum Uric Acid: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, *Arthrit Care Res*, 63 (2011) 1295-1306.

[195] Y.N. Zhang, Y.B. Hu, G.S. Wilson, D. Moattisirat, V. Poitout, G. Reach, Elimination of the Acetaminophen Interference in an Implantable Glucose Sensor, *Anal Chem*, 66 (1994) 1183-1188.



Short communication

Green and facile electrode modification by spark discharge: Bismuth oxide-screen printed electrodes for the screening of ultra-trace Cd(II) and Pb(II)

Daniel Riman^a, David Jirovsky^a, Jan Hrbac^{b,*}, Mamas I. Prodromidis^{c,*}^a Department of Analytical Chemistry, Palacky University, tr. 17. listopadu 12, 77146 Olomouc, Czech Republic^b Department of Chemistry, Masaryk University, Kamenice 5, Brno 625 00, Czech Republic^c Department of Chemistry, University of Ioannina, Ioannina 451 10, Greece

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 October 2014

Received in revised form 1 November 2014

Accepted 3 November 2014

Available online 9 November 2014

Keywords:

Electric discharge

Spark deposition

Bismuth electrode

Toxic heavy metals

Stripping voltammetry

Screen printed electrode

ABSTRACT

We report that highly effective electrode modification can be achieved by sparking process between a flat electrode substrate and a tip counter electrode. The concept is introduced by the development of Bi₂O₃-modified graphite screen printed electrodes (SPEs). SPEs were sparked with a bismuth wire at 1.2 kV under atmospheric conditions. The effect of polarity on the morphology of the sensing surface, bismuth loading and the sensitivity of the resulting sensors for the simultaneous anodic stripping voltammetric determination of Cd(II) and Pb(II) was investigated. Compared with electroplated and various bismuth precursors bulk-modified SPEs, the developed sparked electrodes exhibited considerably lower limit of detection (0.2 μg L⁻¹, S/N = 3) for each target ion. Therefore, sparking technique offers a facile and green approach for the development of highly sensitive bismuth-based electrodes, and a wide-scope of applicability in the development of metal-modified sensing surfaces.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

An electric discharge occurs when an electric field exceeds the dielectric field strength of air (3.6 kV·m⁻¹, [1]). Dielectric breakdown produces free electrons and ions originating from ionized molecules of air constituents and also from electrode material(s). In this way, temporary (spark) or sustained (arc) conductive channels between the electrodes are formed.

Despite its widespread use in industry for the machining of difficult-to-machine metals [2], the use of sparking process in other technological and scientific sectors is highly restricted. The related literature includes only a few applications on the preparation of nanoparticles (NPs), derived from the material(s) of the electrodes between which the sparking occurs [3,4], the deposition of them onto solid substrates [5–7], and the development of nanostructures [8,9].

The process of nanomaterial formation via sparking is mostly based on the heat accompanying bombardment of electrodes by electrons and ions. This results in melting of a thin layer of the electrode(s) material, which undergoes evaporation and nucleation to form nanodroplets, eventually transformed by the reactions with the environment, e.g. oxidation in the presence of air. Size and size distribution of the

prepared NPs can be controlled to some extent by the voltage employed and also by the configuration of the sparking device [10].

The sparking process for the purposes of electroanalysis is a largely unexplored field, and, therefore, further results in this field are required. Here, we demonstrate for the first time the applicability of the sparking process for the direct modification of graphite screen printed electrodes (SPEs) with bismuth, and show high performances of such prepared electrodes in the electrochemical sensing of toxic metals. Bismuth was chosen as a “green” electrode material, which can replace toxic mercury electrodes [11,12].

This study aimed at (i) the development of a green and facile procedure for the modification of graphite SPEs with bismuth by spark discharge, (ii) the evaluation of the effect of sparking polarity on the electroanalytical and morphological properties of the developed electrodes and (iii) the assessment of their suitability to the simultaneous anodic stripping voltammetric determination of Cd(II) and Pb(II) in tap water.

2. Experimental

2.1. Chemicals

Bismuth foil (0.5 mm thick, purity 99.99%) was purchased from Goodfellow and cut into thin wire-like strips. Potassium hexacyanoferrate(II) was obtained by Fluka. Standard solutions of lead

* Corresponding authors.

E-mail addresses: jhrbac@atlas.cz (J. Hrbac), mprodrom@cc.uoi.gr (M.I. Prodromidis).

and cadmium nitrate (10 mg L^{-1}) were prepared by diluting the corresponding atomic absorption standard solutions (1000 mg L^{-1} in 0.5 mol L^{-1} nitric acid; BDH Laboratory Supplies) in double distilled water. Acetate buffer solution (0.1 mol L^{-1} , pH 4.5) was used as a supporting electrolyte.

2.2. Apparatus

Electrochemical measurements were performed using the PGSTAT12 (Metrohm Autolab) workstation in a three-electrode configuration. Bare or sparked SPEs and a Pt-wire served as working and auxiliary electrodes, respectively. The reference electrode was Ag/AgCl, 3 M KCl electrode (IJ Cambria) and all potentials reported hereafter refer to this electrode. Stripping voltammetry experiments were carried out using the following protocol: preconcentration: 120 s at -1.2 V under stirring (ca. 1000 rpm) followed by 10 s equilibration time. Square wave (SW) voltammograms were then recorded from -1.0 V to -0.37 V using the following waveform: frequency: 50 Hz, step potential: 0.0015 V, amplitude: 0.050 V.

For sparking process, an in-house built regulated power supply (200–2000 V) consisting of a 10 kHz oscillator, transformer and 5-stage Cockroft–Walton multiplier was used.

Scanning electron microscopy (SEM) images were obtained on a VEGA3 TESCAN with an accelerating voltage of 10 kV.

2.3. Modification of the electrode surface

Modification of graphite SPEs was performed at 1.2 kV by applying a number of 20 (unless stated otherwise) sparking cycles, uniformly spaced across the surface of SPE, under atmospheric conditions. Each cycle was conducted by bringing a bismuth wire, connected to the positive pole of the power supply, into close proximity of SPE until the

spark discharge occurred. A typical procedure, employing 20 sparking cycles, required ca. 20–30 s to prepare the modified SPE. Details on the fabrication of low-cost, all-graphite SPEs are given in a previously published work [13].

3. Results and discussion

3.1. Modification of SPEs via spark deposition

Primary investigations aimed to define the optimum sparking polarity for the modification of graphite SPEs. For this purpose, 30 sparking cycles were applied between SPE and the bismuth tip, and both polarities (i.e., SPE was connected to the negative, or to the positive pole of the power supply) were tested. The resulting modified electrodes, hereafter denoted as Bi/SPE(–) and Bi/SPE(+), respectively along with a bare SPE, which used for comparison, were characterized by scanning electron microscopy (Fig. 1) and cyclic voltammetry (Fig. 2). SEM image (Fig. 1B) shows the sparking print at Bi/SPE(–) as a shallow crater of ca. $250 \mu\text{m}$ in diameter, while, the SEM image in Fig. 1B' indicates the formation of a fairly uniform coverage of SPE with finely dispersed Bi_2O_3 nanoparticles sized $<300 \text{ nm}$ along with the rare presence of higher agglomerates. On the other hand, SEM inspection at Bi/SPE(+) (Fig. 1C) revealed the formation of bismuth spots of $100 \mu\text{m}$ in diameter and the deposition (Fig. 1C') of a significantly higher amount of Bi_2O_3 with high proportion of micrometer-sized spherically-shaped Bi particles. Inset: SEM images show the surface of sparked SPEs at a reduced scale (1 mm).

The initial stage of a spark is the electron flow from the electrode connected as (–) pole to the electrode connected as (+) pole. Heat, introduced due to the flow of electricity leads to the formation of air plasma and vaporized nanoparticles by each electrode material (i.e. carbon and bismuth), the percentage of which depends on the polarity, with the material of the electrode connected to the negative

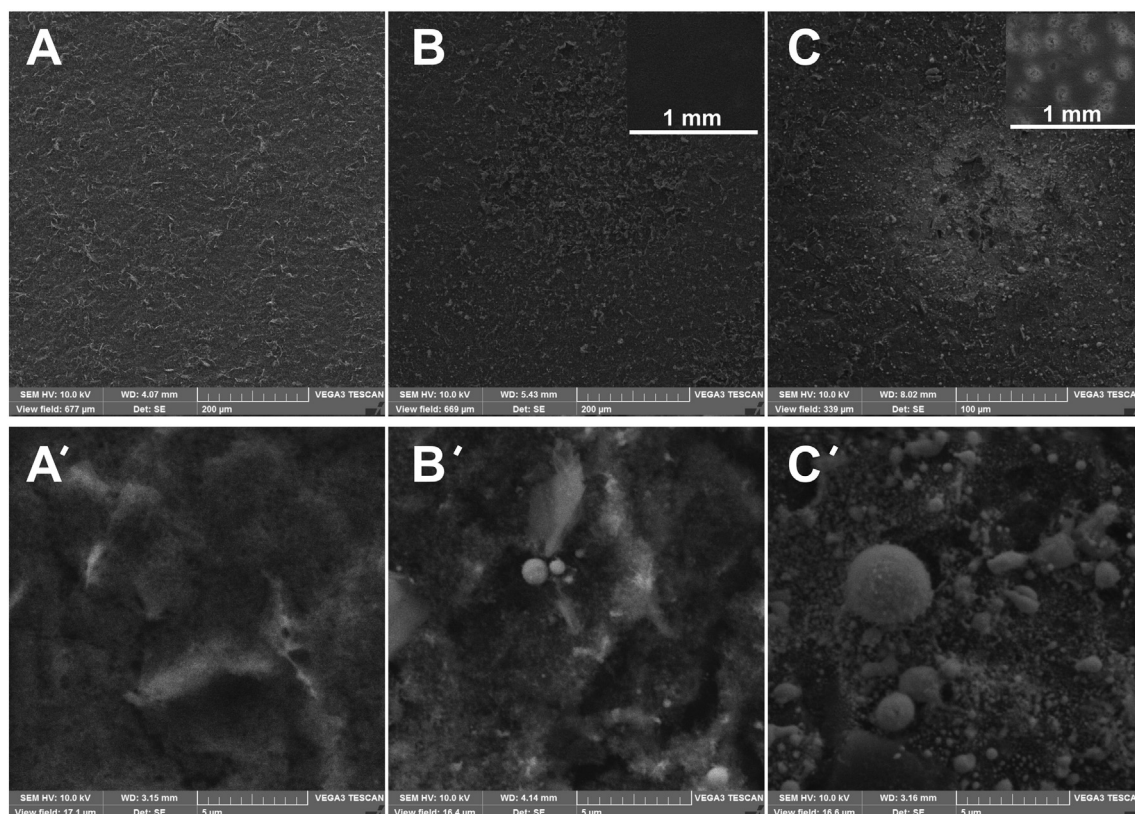


Fig. 1. A: SEM images of bare SPEs at (A) low and (A') high magnifications; Bi/SPEs(–) at (B) low and (B') high magnifications; Bi/SPEs(+) at (C) low and (C') high magnifications. Inset: SEM images in (B, C) show the appearance of the corresponding modified SPEs at $30\times$ magnification.

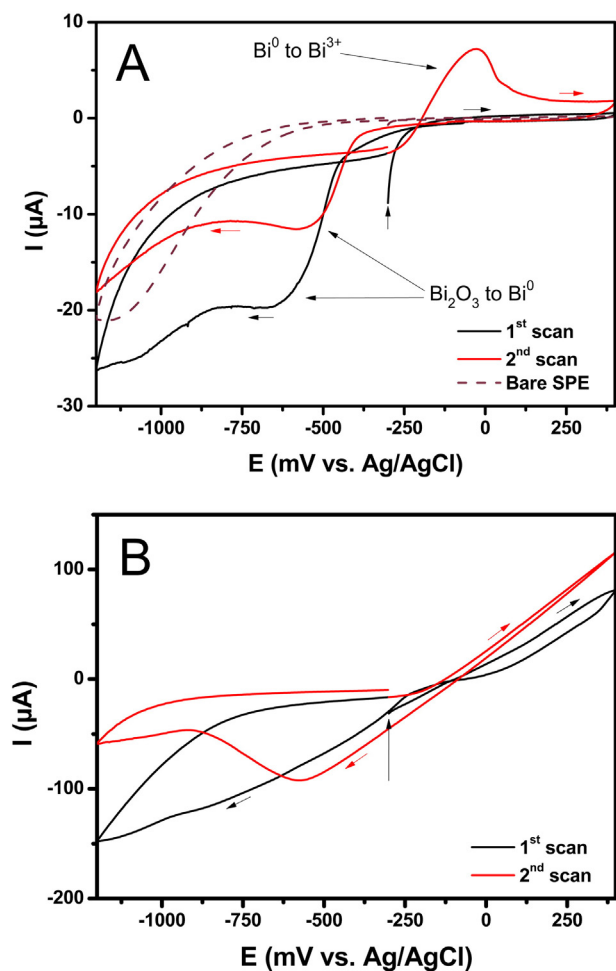


Fig. 2. CVs of (A) Bi/SPEs(−) and (B) Bi/SPEs(+) in comparison to the CV of a bare SPE. Electrolyte: 0.1 mol L^{−1} acetate buffer, pH 4.5, scan rate: 100 mV s^{−1}.

pole being in excess. The increased amount of Bi₂O₃ over the processed surface in the case of SPE(+) polarity, and the visible coverage of the Bi wire by carbon black in the case of SPE(−), constitutes evidence for this hypothesis. The vaporized electrodes' (composite) material is positioned in the sparking gap and it can be described as a cloud which, upon quenching of the discharge, solidifies and settles on the surface of the electrodes, unless removed by dielectric fluid flowing through the sparking gap [2].

Due to the high plasma temperature it is expected that vaporized bismuth is deposited as Bi₂O₃. For SPE(−), this is confirmed by the absence of the Bi⁰ → Bi³⁺ oxidation peak during the anodic scan in the first cycle of the CV illustrated in Fig. 2A, recorded using an initial potential of −0.3 V (where no transformation of Bi₂O₃ to Bi occurs).

On the other hand, the broad peak appearing in the first CV cycle at SPE(+) (Fig. 2B) during the anodic scan, could be explained by hypothesizing that the high amount of vaporized bismuth (nano)particles produced in the case of SPE(+) is not quantitatively oxidized to Bi₂O₃. Further observations regarding the potential-dependent pattern of the CV in the anodic region and the lower degree of reversibility of Bi₂O₃/Bi redox transitions, compared with those observed at SPE(−), are rather inexplicable and might be attributed to the broad size distribution of the deposited material according to a previous work [14].

3.2. Analytical figures of merit

The performance of sparked bismuth SPEs in the anodic stripping voltammetric determination of Pb(II) and Cd(II) was also investigated.

Comparative SW voltammograms at an extended positive potential limit to include stripping of bismuth at SPE(−) produced after 10, 20 and 30 sparking cycles, at SPE(+) produced after 20 sparking cycles and at a bare SPEs, in the presence of 20 µg L^{−1} of each target metal ion, are illustrated in Fig. 3. In line with the SEM inspection, SPE(+) gave a considerably higher stripping peak for bismuth. On the other hand, SPE(−) showed an increased sensitivity in the detection of Pb(II) and Cd(II) attributable to the size and distribution of Bi₂O₃ particles onto the surface of the electrode. Among the different tested SPEs(−), the SPEs(−) produced after 20 sparking cycles showed the highest sensitivity and therefore were used for the subsequent work.

Due to finely dispersed Bi₂O₃ in the modifying layer no special reduction protocol was used. The formation of the Bi⁰ layer was conducted in the cell containing the sample or the standard solutions during the electrolytic preconcentration step (−1.2 V for 120 s). The sensor's response to Pb(II) and Cd(II) increased within first 4–5 stripping analysis cycles and then became stable (within 10% SD) for about 10–12 cycles, thus enabling a complete analysis (i.e. standard addition method) to be conducted at a single sensor.

The effect of the deposition potential and time on the Pb and Cd peak heights was studied in the range of −0.4 to −1.8 V and 15 to 360 s, respectively. Values of −1.2 V and 120 s were chosen as a right compromise between sensitivity and total time of measurement. Under optimum conditions, calibration curves (Fig. 4A) were linear over the concentration range of 0–12 µg L^{−1} for each metal (R² = 0.997 and 0.996, respectively) while the achieved LODs (0.2 µg L^{−1}, S/N = 3) were significantly lower compared with the reported values for electroplated [15] or other bulk-modified SPEs [15–18]. The found inter-electrode reproducibility of 10.2 and 8.9% for Pb(II) and Cd(II), respectively (n = 4, 10 µg L^{−1} of each metal), was deemed as satisfactory. Bi/SPE(−) sensors were also applied to the simultaneous determination of lead and cadmium in drinking water using the standard addition method. To avoid interferences from copper ions (Fig. 4B) forming intermetallic alloys with Pb and Cd [15], potassium hexacyanoferrate(II) was added into the water sample in 20 µM final concentration. A volume of 27.0 mL of this solution was mixed with 3.0 mL of 1 mol L^{−1} acetate buffer, pH 4.5, and then SW voltammograms before and after two additions of standard solutions of Pb(II) and Cd(II) (final concentration of 2 µg L^{−1} each) were performed (Fig. 4B). The determined concentrations of 0.78 µg L^{−1} Cd(II) and 6.95 µg L^{−1} Pb(II) were in a good agreement with those obtained by the METROHM, AN:V-086 reference method (0.75 and 6.73 µg L^{−1}, respectively), verifying the suitability of the developed sparked bismuth-based SPEs for application to real samples.

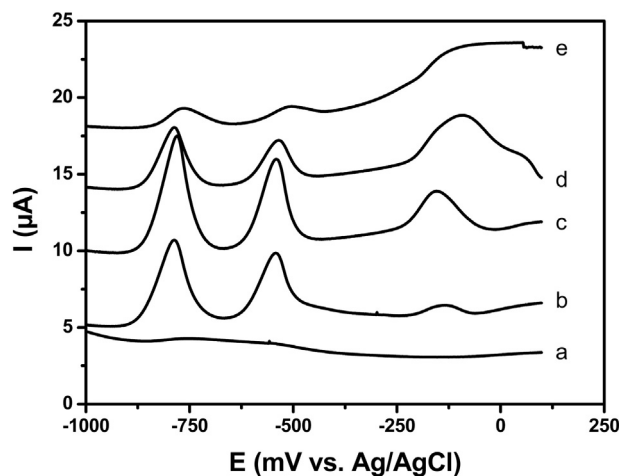


Fig. 3. SW voltammograms of (a) bare SPE, Bi/SPE(−) produced after (b) 10, (c) 20, and (d) 30 sparking cycles and of Bi/SPE(+) produced after (e) 20 sparking cycles in the presence of 20 µg L^{−1} Pb(II) and 20 µg L^{−1} Cd(II) in 0.1 mol L^{−1} acetate buffer, pH 4.5.

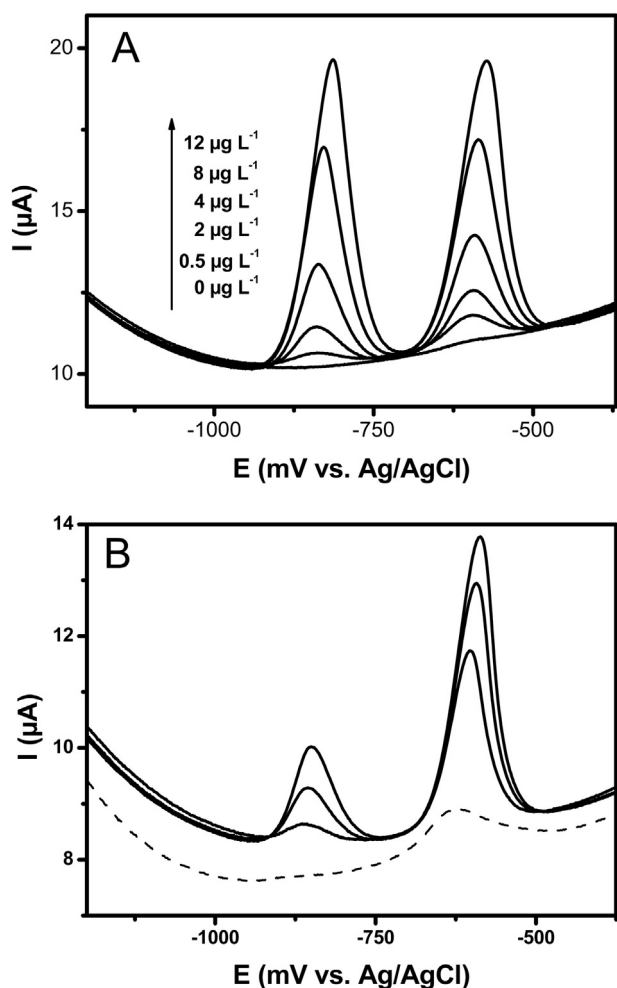


Fig. 4. (A) SW voltammograms at various concentrations of the target metal ions, and (B) stripping voltammograms of the water sample and standard additions of Pb(II) and Cd(II) ($2 \times 2 \mu\text{g L}^{-1}$ each). Dashed line shows the stripping voltammograms of the sample in the absence of hexacyanoferrate(II); electrodes, Bi/SPE(-); electrolyte, 0.1 mol L^{-1} acetate buffer, pH 4.5.

4. Conclusion

Spark discharge is emerged as a novel, facile and also as an environmentally friendly method for the modification of the surface of graphite screen-printed electrodes. These features along with the advanced analytical performance of the developed sensors render the sparking process as an attractive approach with certain advantages over traditional electroplating or bulk modified methods in the development of chemical sensors, sensing platforms and (electro)catalytic surfaces. Moreover, the nature of the spark discharge method enables expanding its application to a wide range of metals and substrates.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

The research was supported by European Social Fund (project CZ.1.07/2.4.00/31.0130) and Grant Agency of the Czech Republic, project P206/12/0796. The authors wish to thank V. Halouzka and M. Vujtek for the SEM images.

References

- [1] J.S. Rigden, *Macmillan Encyclopedia of Physics*, Simon & Schuster Macmillan, New York, 1996.
- [2] E.C. Jameson, *Electrical Discharge Machining*, Society of Manufacturing Engineers, 2001.
- [3] Z.W. Song, H. Dai, Bismuth titanate films produced by the anodic spark deposition technique, *Mater. Lett.* 123 (2014) 138–141.
- [4] W. Thongsuwan, T. Kumpika, P. Singjai, Photocatalytic property of colloidal TiO₂ nanoparticles prepared by sparking process, *Curr. Appl. Phys.* 8 (2008) 563–568.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] K. Han, W. Kim, J. Yu, J. Lee, H. Lee, C.G. Woo, M. Choi, A study of pin-to-plate type spark discharge generator for producing unagglomerated nanoaerosols, *J. Aerosol Sci.* 52 (2012) 80–88.
- [11] A. Economou, Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis, *TrAC Trends Anal. Chem.* 24 (2005) 334–340.
- [12] C. Kokkinos, A. Economou, I. Raptis, T. Speliotis, Disposable lithographically fabricated bismuth microelectrode arrays for stripping voltammetric detection of trace metals, *Electrochem. Commun.* 13 (2011) 391–395.
- [13] A. Michopoulos, A. Kouloumpis, D. Gournis, M.I. Prodromidis, Performance of layer-by-layer deposited low dimensional building blocks of graphene–Prussian blue onto graphite screen-printed electrodes as sensors for hydrogen peroxide, *Electrochim. Acta* 446 (2014) 477–484.
- [14] W.J. Plieth, Electrochemical properties of small clusters of metal atoms and their role in surface enhanced Raman-scattering, *J. Phys. Chem. US* 86 (1982) 3166–3170.
- [15] N. Lezi, A. Economou, P.A. Dimovasilis, P.N. Trikalitis, M.I. Prodromidis, Disposable screen-printed sensors modified with bismuth precursor compounds for the rapid voltammetric screening of trace Pb(II) and Cd(II), *Anal. Chim. Acta.* 728 (2012) 1–8.
- [16] R.O. Kadara, I.E. Tothill, Development of disposable bulk-modified screen-printed electrode based on bismuth oxide for stripping chronopotentiometric analysis of lead (II) and cadmium (II) in soil and water samples, *Anal. Chim. Acta.* 623 (2008) 76–81.
- [17] R.O. Kadara, N. Jenkinson, C.E. Banks, Disposable bismuth oxide screen printed electrodes for the high throughput screening of heavy metals, *Electroanalysis* 21 (2009) 2410–2414.
- [18] N.A. Malakhova, N.Y. Stozhko, K.Z. Brainina, Novel approach to bismuth modifying procedure for voltammetric thick film carbon containing electrodes, *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 221–227.



Sparked-bismuth oxide screen-printed electrodes for the determination of riboflavin in the sub-nanomolar range in non-deoxygenated solutions



Daniel Riman^a, Apostolos Avgeropoulos^b, Jan Hrbac^{c,*}, Mamas I. Prodromidis^{d,*}

^a Department of Analytical Chemistry, Palacky University, 77146 Olomouc, Czech Republic

^b Department of Materials Science Engineering, University of Ioannina, Ioannina 451 10, Greece

^c Department of Chemistry, Masaryk University, 625 00 Brno, Czech Republic

^d Department of Chemistry, University of Ioannina, Ioannina 451 10, Greece

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 February 2015

Received in revised form 6 March 2015

Accepted 7 March 2015

Available online 11 March 2015

Keywords:

electric discharge

spark deposition

bismuth electrode

riboflavin

screen printed electrodes

ABSTRACT

Despite their outstanding performance for the stripping voltammetric detection of trace metals, bismuth electrodes show poor sensitivity for the cathodic detection of organic compounds. Moreover, oxygen removal from samples is recommended to lower the background signal, which limits their application to on-site analysis. Herein, we propose recently introduced sparked-bismuth oxide screen printed electrodes for the cathodic detection of riboflavin, a reducible organic compound. The ultra-sensitive determination of riboflavin in the sub-nanomolar range in the presence of dissolved oxygen is demonstrated. After electroless preconcentration for 60 s, electrodes showed a linear response over the concentration range 1–100 nmol L⁻¹ riboflavin, while the limit of detection (S/N=3) was found to be 0.7 nmol L⁻¹ riboflavin, ca. 140-fold lower than that has been achieved with electroplated bismuth electrodes. Excellent interelectrode reproducibility and application to a pharmaceutical sample are also demonstrated.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Various types of bismuth electrodes, such as bismuth-bulk electrodes, bismuth-film electrodes (BiFEs), and bismuth precursor compounds-modified electrodes have been widely used for the stripping voltammetric determination of metals, and, without doubt, they are considered as the most successful alternative of ecologically questionable mercury electrodes [1,2]. The scope of the use of bismuth electrodes in electroanalysis is continuously enriched by applications to the cathodic electrochemical determination of organic compounds [3], benefiting from the high hydrogen overpotential and the relatively low background signal in the negative potential region. Different types of bismuth electrodes (mostly BiFEs) can serve as suitable surfaces for the electroanalysis of pharmaceuticals [4–8], pesticides [9–13], hormones [15], nitrocompounds [16,17] etc. However, the achieved detection capabilities are considerably lower compared with those that have been reported for the stripping voltammetric

determination of metals thus hampering the widespread application of bismuth electrodes for the detection of reducible organic compounds.

An extra obstacle is the electrocatalytic activity of bismuth electrodes to the reduction of dissolved oxygen, which limits their application to deoxygenated samples. Moreover, practical difficulties associated with sample deaeration outside the laboratory, also prevent their use to on-site applications. The few examples of BiF [10–12,15,18] and bismuth-carbon paste [14] electrodes dealing with applications at non-deoxygenated solutions also suffer from poor performance. The magnitude of the background signal regulates the achieved detection capabilities, while reliable analytical signals over oxygen reduction voltammetric wave can be obtained only in relatively high i.e., sub-micromolar [15,18] and, more commonly, micromolar [10–12,14] concentrations of the target analytes.

Therefore, the development of new bismuth surfaces to allow the detection of reducible organic compounds in the nanomolar range and in the presence of dissolved oxygen is highly desirable. In view of this analytical challenge, sparked-bismuth oxide graphite screen-printed electrodes (sparked-BiSPEs), recently devised by our group [19] were examined using riboflavin (vitamin B2) as a model compound.

* Corresponding authors. Tel.: +26 510 08301; fax: +26 510 08796.

E-mail addresses: jhrbac@atlas.cz (J. Hrbac), mprodrom@cc.uoi.gr (M.I. Prodromidis).

It has been demonstrated that highly effective BiSPEs can be prepared by a simple sparking process between a flat electrode substrate (graphite screen-printed electrode) and a tip counter electrode (bismuth wire) [19]. Sparking process is conducted in the absence of any electrolyte, while a typical sparking procedure requires ca. 20–30 s to prepare the modified electrode surface. The modification of the electrode surface through the sparking process relies on the application of an electric field capable of producing an electric discharge when the two conductors (the substrate and the tip electrodes), being connected with an external power supply, are brought into close proximity. The ensuing dielectric breakdown produces free electrons and ions originating from ionized molecules of air constituents, which in turn, bombard the sparked electrodes. Heat, introduced due to the flow of electricity leads to the formation of air plasma and vaporized (nano) particles by each electrode material (i.e. carbon and bismuth) at the closest points between them. The vaporized electrodes' material, eventually transformed by the reactions with the environment, e.g. oxidation in the presence of air, is positioned in the space between the two electrodes and upon the termination of the discharge, solidifies and deposited on the surface of the electrodes, unless carried away by dielectric fluid or inert gas flowing through the gap between the electrodes [19–21].

The facile and “green” fabrication procedure along with the attractive analytical performance of sparked-BiSPEs for the determination of riboflavin in the sub-nanomolar range, in the presence of dissolved oxygen, suggest that the developed sensors have the potential to be used for the on-site sensitive detection of a wide range of reducible organic compounds.

2. Experimental

2.1. Chemicals

Bismuth foil (0.5 mm thick, purity 99.99%) was purchased from Goodfellow and cut into narrow strips. Bismuth(III) nitrate pentahydrate and riboflavin were obtained from Sigma. The stock solution of riboflavin in double distilled water (DDW) was prepared weekly in a stoppered dark vial and kept at 4 °C. Working solutions of riboflavin were daily prepared by diluting the stock solution in DDW and kept in dark. 0.1 mol L⁻¹ buffer solutions of acetate (pH 4.5), phosphate (pH 7) and ammonia (pH 9.2) were used as supporting electrolytes. Samples of “B-Komplex Forte” (Zentiva) tablets containing B1, B2, B3, B5 and B6 vitamins were prepared as follows: An accurately weighed amount of ca. 100 mg grinded tablets was sonicated in DDW for 5 min. The suspension was filtered through a 0.45 μm filter and after successive washings with DDW the filtrate was diluted to an expected concentration of 15 μmol L⁻¹. For the recovery studies, samples were fortified with 35 μmol L⁻¹ riboflavin.

2.2. Apparatus

Electrochemical measurements were conducted with the PGSTAT12 (Metrohm Autolab) analyzer in a three-electrode cell. Bare, electroplated or sparked SPEs were used as the working electrodes. A Pt-wire and a Ag/AgCl, 3 M KCl electrode (IJ Cambria) served as auxiliary and reference electrodes, respectively. All potentials reported hereafter refer to this reference electrode. Cyclic voltammograms (CVs) were obtained at a scan rate of 0.1 V s⁻¹. The preconcentration of riboflavin was performed in an electroless mode under stirring and then, after 10 s equilibration time, both the diffusing and adsorbed species were reduced by means of a square wave (SW) voltammetry scan using the following waveform: frequency: 50 Hz, step potential: 0.0015 V, amplitude: 0.050 V.

Transmission electron microscope (TEM) images were obtained at 200 kV using a JEOL-2100 microscope. Samples were deposited on a carbon grid, after dispersing the active layer of sparked-BiSPEs in ethanol.

2.3. Modification of the electrode surface

The modification of graphite screen-printed electrodes was conducted with an in-house built power supply at 1.2 kV DC by applying a number of twenty electric discharge (sparking) cycles, under atmospheric conditions. Sparking cycles, evenly distributed over the surface of SPEs, were implemented by bringing into close proximity a bismuth wire, connected to the positive pole of the power supply, and the substrate (graphite screen-printed electrode) connected to the negative pole of the power supply. Details on the development of sparked-BiSPEs as well as the effect of the sparking polarity on the morphological characteristics of the sensing surfaces, the size of the bismuth oxide nanoparticles and the bismuth loading are given in an earlier work [19]. For comparison studies, electroplated bismuth SPEs were prepared by electrolysis of an acetate buffer solution (pH 4.5) containing 20 mg L⁻¹ Bi(III) at -1.2 V for 180 s under stirring [22].

3. Results and Discussion

3.1. Electrocatalytic performance

At the offset, bare and sparked-BiSPEs were examined in their efficiency to probe the electro reduction of riboflavin by performing comparative cyclic voltammetry experiments in three different electrolytes. All measurements were performed in non-deoxygenated solutions and after the cathodic polarization of the sparked-BiSPEs at -1.6 V for 5 min, which aimed to produce bismuth nanoparticles at their surface by the reduction of bismuth oxide formed by sparking process [19]. Based on a previous research, which has shown that certain electrochemical treatments might alter the electrochemical behavior, or even to endow chemical sensor properties at graphite SPEs [23], the CV behavior of sparked-BiSPEs was compared with that of both electrochemical treated (-1.6 V for 5 min) (Fig. 1) and untreated (Fig. S1) bare graphite screen-printed electrodes. Eventually, both types of bare electrodes exhibited almost identical CV patterns.

CVs illustrated in Figs. 1A–C show that the unmodified screen-printed electrodes (scans a, black lines) serve as suitable electrocatalytic surfaces for the electro reduction of riboflavin possessing well-defined peaks at -0.262 V (Fig. 1A), -0.451 V (Fig. 1B) and a broad peak centered at -0.386 V (Fig. 1C) in acetate, ammonia and phosphate buffer solutions, respectively. Most importantly, these peaks are considerably higher at the CVs obtained by sparked-BiSPEs (scans b, red lines) indicating that the as-formed bismuth nanoparticles [19] exhibit an enhanced electrocatalytic activity to the riboflavin reduction. Other peaks appeared during the cathodic scan attributed to the reduction of bismuth species produced during the anodic scan (for comparison the CVs obtained with sparked-bismuth graphite screen-printed electrodes in the absence of riboflavin in each electrolyte are illustrated with dashed lines) and to the reduction of dissolved oxygen. During the anodic scan, the first peak corresponds to the oxidation of riboflavin while the second peak is assigned to the stripping of bismuth ions according to previous studies [19] and the control CVs (dashed lines) in each electrolyte. In ammonia buffer, Fig. 1C, the double peak can be attributed to the stepwise oxidation (reduced hydroquinone to semiquinone to oxidized quinone) of the isalloxazine ring in the molecule of riboflavin [24].

The efficiency of sparked-BiSPEs to probe the electro reduction of riboflavin was also investigated by performing SW voltammetry

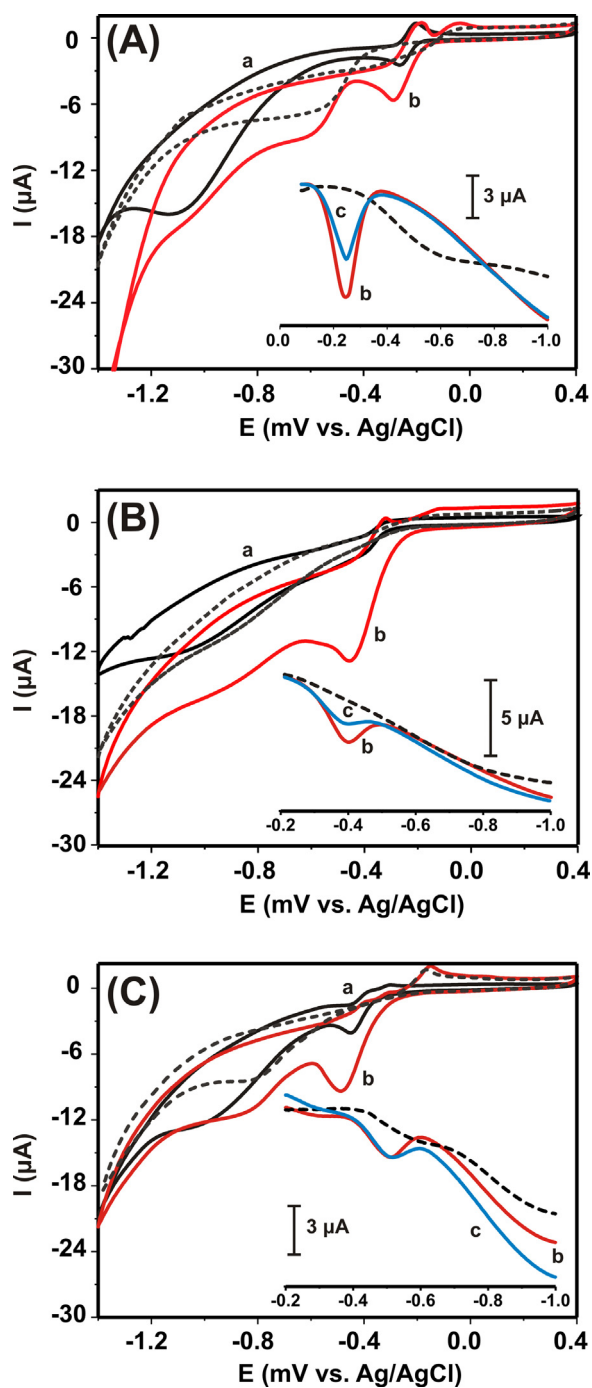


Fig. 1. CVs and (inset graphs) SW voltammograms of riboflavin in 0.1 mol L^{-1} buffer solutions of (A) acetate, pH 4.5, (B) phosphate, pH 7 and (C) ammonia, pH 9.2. Concentration of riboflavin, CV: $20 \mu\text{mol L}^{-1}$; SWV: $0.3 \mu\text{mol L}^{-1}$. Scans a, black lines: unmodified electrodes in the presence of riboflavin; Sparked BiSPEs in the (dashed lines) absence, in the (scans b, red lines) presence of riboflavin, and (scans c, blue lines) after transfer of the electrodes into pure electrolyte solution; Measurements were performed in non-deoxygenated solutions and after the application of a cathodic polarization step at -1.6 V for 5 min.

measurements (inset graphs Figs. 1A–C). Sparked-BiSPEs were undertaken a cathodic polarization step at -1.6 V for 5 min, then immersed in a solution of $0.3 \mu\text{mol L}^{-1}$ riboflavin and after 10 s equilibration time a SW voltammetry scan was recorded. In all the tested electrolytes, the sparked-bismuth SPEs gave rise to a large, sharp peak thus confirming a remarkable sensitivity to the electro reduction of riboflavin in the presence of dissolved oxygen. Taking as criterion the height of the reduction peaks in the three tested

electrolytes, all the subsequent studies were performed in the acetate buffer solution, pH 4.5. In addition, the reduction peak which was observed at the SW scans (scans c, blue lines) following the transfer of the tested electrodes into the corresponding pure electrolyte (i.e. in the absence of riboflavin) solutions indicates an irreversible absorption of riboflavin onto the surface of the electrodes. This behavior is in accordance with an earlier work [4] demonstrating that in the presence of high concentrations of riboflavin (in the sub- and micromolar range) the adsorption of the latter onto the surface of bismuth film electrodes (BiFEs) is irreversible, thus preventing the use of BiFEs for successive measurements due to carryover effects.

Our endeavor was thus focused to explore the experimental conditions (mostly the applicable concentration range of riboflavin and the preconcentration time before each measurement) under which the absence of carryover effects would allow the same sensor to be used for a number of successive measurements (ca. 8–10 measurements), thus enabling a complete analysis (i.e. standard addition method) to be conducted with a single electrode. Indeed, SW voltammograms illustrated in Fig. S2 verify that sparked-BiSPEs offer quite stable signals over successive measurements at two selected (at the nanomolar range) concentrations of 20 and 50 nmol L^{-1} riboflavin, thus indicating the absence of carryover effects and the ability of sparked Bi-SPEs to be used as semi-disposable sensors.

Another parameter which was further examined was the starting potential of the cathodic SW voltammograms, whose maximum anodic value is defined by the stripping potential of bismuth ions at ca. -0.1 V , according to the CV scan 1Ab. This value is very close to the potential where the reduction peak of riboflavin is appearing thus making the quantification of the peak current by using different starting potential values, within the narrow range from -0.08 to 0 V were recorded and compared. As can be seen from the results illustrated in Fig. S3, the SW voltammograms recorded from a starting potential of 0 V exhibited an excellent stability for at least 10 successive measurements with respect to the peak current corresponding to the reduction of riboflavin. These results indicate that despite the stripping of a (minute) amount of metallic bismuth between successive measurements under the specific voltammetric conditions, the remaining amount of metallic bismuth is still higher than the minimum amount (bismuth loading) necessary to obtain the maximum response.

3.2. Effect of the dissolved oxygen

The effect of dissolved oxygen on the performance of sparked-bismuth SPEs was investigated in comparative SW voltammetry experiments (Fig. 2) in deoxygenated and non-deoxygenated solutions of 0.1 mol L^{-1} acetate buffer solution, pH 4.5, in the (solid lines) presence of 40 nmol L^{-1} riboflavin. In addition, the performance of a conventional electroplated bismuth SPE in non-deoxygenated solutions was also examined. As can be seen from the comparison of the (dashed lines) background signals between the electroplated- and the sparked-BiSPEs, the latter exhibited a considerably lower reduction wave for dissolved oxygen thereby allowing the recording of an analytically useful signal in the presence of 40 nmol L^{-1} riboflavin, which is favorably compared with that observed with the same electrodes in deoxygenated solutions ($I_{C,O_2}/I_{C,N_2} = 0.74$). It therefore seems that sparked-BiSPEs represent an excellent surface for applications in non-deoxygenated solutions.

Even though we need more data to conclude the reasons why the sparked-BiSPEs showed moderate electrocatalysis to dissolved oxygen, this behavior could be attributed to the presence of a carbon sheath layer, which is formed around the bismuth(oxide)

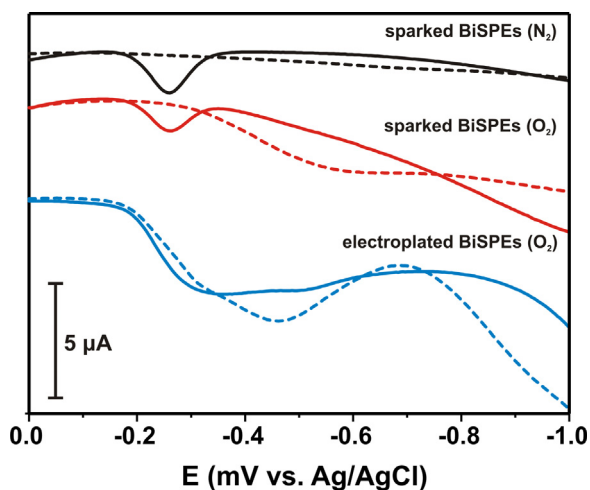


Fig. 2. SW voltammograms recorded using electroplated BiSPEs in non-deoxygenated electrolyte and sparked BiSPEs in non-deoxygenated and deoxygenated electrolyte in the (dashed lines) absence and in the (solid lines) presence of 40 nmol L^{-1} riboflavin. Electrolyte, 0.1 mol L^{-1} acetate buffer solution, pH 4.5.

nanoparticles due to the nature of the sparking process [19], thus restricting the interaction of oxygen with the catalytically active bismuth nanoparticles during the cathodic voltammetric scan. TEM image (Fig. 3A) verifies the presence of the carbon sheath layer (grey area) around the few nanometer sized bismuth(oxide) nanoparticles (black spots) produced by the sparking process. This is particularly evident in the high magnification TEM image illustrated in Fig. 3B, which shows the crystal planes of discrete 2–5 nm sized bismuth(oxide) nanoparticles and how they are separated by the carbon layer.

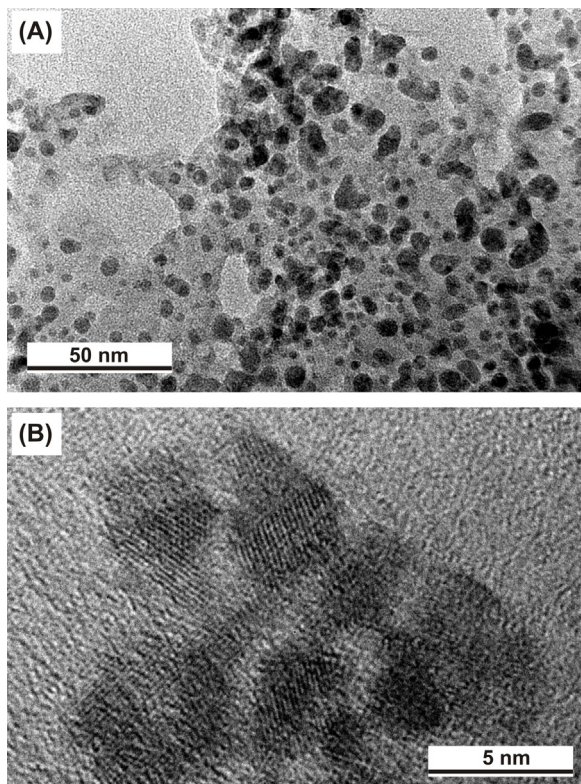


Fig. 3. (A, B) TEM images of spark-generated bismuth(oxide) nanoparticles.

It is worth noting that the background signal becomes even lower after the course of the first measurement of riboflavin. This behavior is probably attributed to the adsorbed species of the target analyte, which further restricts the interaction of dissolved oxygen molecules with bismuth nanoparticles. The same phenomenon was also observed at electroplated BiSPEs, however the consequence of this effect on the large background signal observed at electroplated bismuth SPE was negligible (Fig. 2).

3.3. Analytical performance

The effect of the preconcentration time on the performance of sparked-BiSPEs was also examined over the range 0–5 min for three different concentrations of riboflavin. As can be seen in Fig. 4, the kinetics of the electroless adsorption of riboflavin is rather fast resulting in a rapid increase of the height of the reduction peaks up to 2 min and an almost stable response thereafter.

Considering that during the equilibration period of 10 s under quiescent conditions before the recording of the SW voltammograms, the adsorption of solute species onto the surface of the electrodes is negligible, signals recorded at a preconcentration time of 0 s can be overwhelmingly attributed to the reduction of diffusing species. On the other hand, upon the increase of the preconcentration time the increase of the response is mainly attributed to adsorbed species. It is important to note that, similarly to the experiments illustrated in Fig. S2, the response of the electrodes between two successive measurements performed for each preconcentration time was almost identical (data not shown).

SW voltammograms illustrated in Fig. 5A and B show the excellent performance of sparked-BiSPEs in non-deoxygenated solutions, providing well-defined peaks and reliable analytical data for the detection of riboflavin over a wide concentration range $5\text{--}100 \text{ nmol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.998$) and $1\text{--}100 \text{ nmol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.999$) after electroless preconcentration for (Fig. 5A) 0 and (Fig. 5B) 60 s, respectively. At longer time intervals (data not shown) the reduction peaks are higher allowing the detection of even lower concentrations of riboflavin; however, at concentrations higher than 50 nmol L^{-1} the peaks are not symmetric making signal quantification difficult. The appearance of asymmetric peaks at longer preconcentration times and higher concentrations of riboflavin suggests a critical value of surface coverage over which the interactions between the adsorbed molecules resulted in voltammetric peak-broadening, indicative of the formation of multilayers [25]. An early stage of this behavior can be seen for the

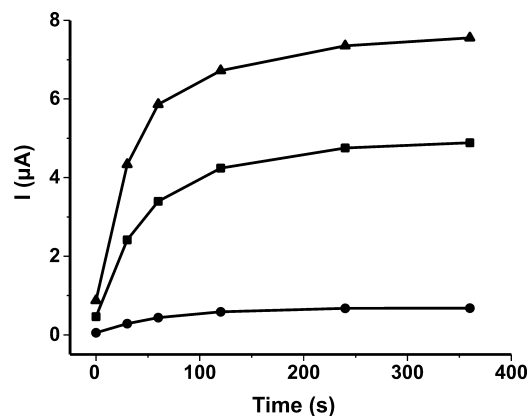


Fig. 4. Effect of the preconcentration time on the response of sparked BiSPEs in the presence of (●) 10, (■) 50, and (▲) 100 nmol L^{-1} riboflavin in acetate buffer solution, pH 4.5.

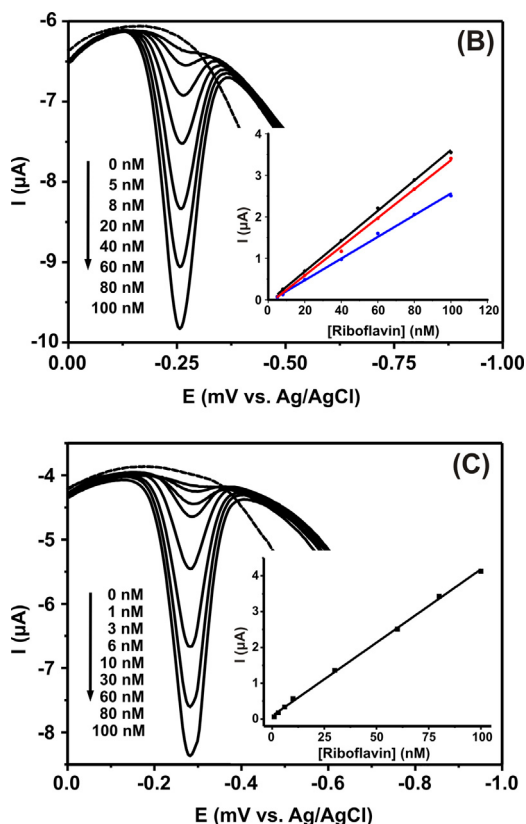


Fig. 5. SW voltammograms at various concentrations of riboflavin in non-deoxygenated solutions of 0.1 mol L^{-1} acetate buffer, pH 4.5 after (A) 0 and (B) 60 s electroless preconcentration time. Inset graphs: the corresponding calibration plots and (5A) the interelectrode reproducibility.

highest tested concentration in Fig. 5B. For a signal-to-noise ratio of 3, the detection limits were found to be 2 and 0.7 nmol L^{-1} riboflavin, remarkably lower (ca. 140-fold) than that recently reported for an electroplated, single use bismuth film electrode [4]. The observed limit of detection is also lower compared with those have been reported for other types of electrodes [26–30] while compared favorably with those have been achieved at mercury electrodes [31,32] or after an extended (10 min) preconcentration step [33].

The reproducibility between different sensors was assessed by comparing the calibration plots (inset graph, Fig. 5A) of three different sparked-BiSPEs over the concentration range 5–100 nmol L^{-1} riboflavin after 0 s electroless preconcentration time and deemed excellent. Finally, the developed sensors were applied to the determination of riboflavin in a multivitamin product. The content of riboflavin was determined 14.47 mg/tablet, which is in good agreement with the declared riboflavin content (15 mg/tablet). The accuracy of the method was further verified with recovery experiments at spiked samples. Recovery was 98%.

4. Conclusion

Sparked-bismuth oxide screen-printed electrodes showed an excellent performance as sensors for the determination of reducible organic compounds in the presence of dissolved oxygen. The ultra-sensitive determination of riboflavin, used as model compound, in the sub-nanomolar range along with the “green” character of the modification process, the excellent reproducibility between different sensors, and the low-cost screen-printed substrates render the developed electrodes superior to other

types of electrodes for the cathodic determination of organic compounds.

Acknowledgement

This research was partially supported by GACR 15-05198S project.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2015.03.056>.

References

- [1] C. Kokkinos, A. Economou, Stripping analysis at bismuth-based electrodes, *Curr. Anal. Chem.* 4 (2008) 183.
- [2] I. Svancara, C. Prior, S.B. Hocevar, J. Wang, A decade with bismuth-based electrodes in electroanalysis, *Electroanalysis* 22 (2010) 1405.
- [3] N. Lezi, V. Vyskocil, A. Economou, J. Barek, Electroanalysis of organic compounds at bismuth electrodes: A Short Review, University Press Centre, Pardubice, 2012.
- [4] É.S. Sá, P.S. da Silva, C.L. Jost, A. Spinelli, Electrochemical sensor based on bismuth-film electrode for voltammetric studies on vitamin B2 (riboflavin), *Sens. Actuators, B: Chem.* 209 (2015) 423.
- [5] L. Baldrianova, P. Agrafiotou, I. Svancara, K. Vytras, S. Sotiropoulos, The determination of cysteine at Bi-powder carbon paste electrodes by cathodic stripping voltammetry, *Electrochem. Commun.* 10 (2008) 918.
- [6] B. Nigovic, B. Simunic, S. Hocevar, Voltammetric measurements of aminosalicilic acid using bismuth film electrode, *Electrochim. Acta* 54 (2009) 5678.
- [7] I. Campestrini, O.C. de Braga, I.C. Vieira, A. Spinelli, Application of bismuth-film electrode for cathodic electroanalytical determination of sulfadiazine, *Electrochim. Acta* 55 (2010) 4970.
- [8] J.A. Rodriguez, E. Barrado, Y. Castrillejo, J.R. Santos, J.L.F.C. Lima, Validation of a tubular bismuth film amperometric detector. Determination of diclofenac sodium by multisyringe flow injection analysis, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 45 (2007) 47.
- [9] D. Du, X.P. Ye, J.D. Zhang, D.L. Liu, Cathodic electrochemical analysis of methyl parathion at bismuth-film-modified glassy carbon electrode, *Electrochim. Acta* 53 (2008) 4478.
- [10] A.S. Arribas, E. Bermejo, M. Chicharro, A. Zapardiel, Voltammetric detection of the herbicide metolachlor at a bismuth film electrode in nondeaerated solution, *Electroanalysis* 18 (2006) 2331.
- [11] M. Moreno, E. Bermejo, M. Chicharro, A. Zapardiel, A.S. Arribas, Cathodic electrochemical determination of herbicides in acid media using a bismuth film electrode, *Electroanalysis* 21 (2009) 415–421.
- [12] L.C.S. de Figueiredo, V.B. dos Santos, B.C. Janegitz, T.B. Guerreiro, O. Fatibello, R. C. Faria, L.H. Marcolino, Differential pulse voltammetric determination of paraquat using a bismuth-film electrode, *Electroanalysis* 22 (2010) 1260.
- [13] L.C.S. Figueiredo, D.C. Azzi, B.C. Janegitz, O. Fatibello, Determination of atrazine in natural water samples by differential pulse adsorptive stripping voltammetry using a bismuth film electrode, *Electroanalysis* 24 (2012) 303.
- [14] V. Guzsvany, Z. Papp, J. Zbiljic, O. Vajdle, M. Rodic, Bismuth modified carbon-based electrodes for the determination of selected neonicotinoid insecticides, *Molecules* 16 (2011) 4451.
- [15] C.A. de Lima, A. Spinelli, Electrochemical behavior of progesterone at an ex situ bismuth film electrode, *Electrochim. Acta* 107 (2013) 542–548.
- [16] E.A. Hutton, B. Ogorevc, S.B. Hocevar, F. Weldon, M.R. Smyth, J. Wang, An introduction to bismuth film electrode for use in cathodic electrochemical detection, *Electrochem. Commun.* 3 (2001) 707.
- [17] N. Lezi, A. Economou, J. Barek, M. Prodromidis, Screen-printed disposable sensors modified with bismuth precursors for rapid voltammetric determination of 3 ecotoxic nitrophenols, *Electroanalysis* 26 (2014) 766.
- [18] H. Sopha, S.B. Hocevar, B. Pihlar, B. Ogorevc, Bismuth film electrode for stripping voltammetric measurement of sildenafil citrate, *Electrochim. Acta* 60 (2012) 274.
- [19] D. Riman, D. Jirovsky, J. Hrbac, 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.
- [20] E.C. Jameson, *Electrical Discharge Machining*, Society of Manufacturing Engineers, 2001.
- [21] K. Inyawilert, A. Wisitsora-at, A. Tuantranont, P. Singjai, S. Phanichphant, C. Liewhiran, Ultra-rapid VOCs sensors based on sparked-In₂O₃ sensing films, *Sens. Actuators, B: Chem.* 192 (2014) 745.
- [22] W. Zhang, H. Tang, P. Geng, Q.H. Wang, L.T. Jin, Z.R. Wu, Amperometric method for rapid detection of *Escherichia coli* by flow injection analysis using a

- bismuth nano-film modified glassy carbon electrode, *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 833.
- [23] V. Kostaki, A.B. Florou, M.I. Prodromidis, Electrochemically induced chemical sensor properties in graphite screen-printed electrodes: The case of a chemical sensor for uranium, *Electrochim. Acta* 56 (2011) 8857.
- [24] R. Garrett, C.M. Grisham, *Biochemistry*, 5th ed., Brooks/Cole Cengage Learning, Belmont, CA, 2013.
- [25] M.I. Prodromidis, A.B. Florou, S.M. Tzouwara-Karayanni, M.I. Karayannis, The importance of surface coverage in the electrochemical study of chemically modified electrodes, *Electroanalysis* 12 (2000) 1498.
- [26] S.B. Revin, S.A. John, Simultaneous determination of vitamins B2 B9 and C using a heterocyclic conducting polymer modified electrode, *Electrochim. Acta* 75 (2012) 35.
- [27] A.A. Ensafi, E. Heydari-Bafrooei, M. Amini, DNA-functionalized biosensor for riboflavin based electrochemical interaction on pretreated pencil graphite electrode, *Biosens. Bioelectron.* 31 (2012) 376.
- [28] T. Nie, K.X. Zhang, J.K. Xu, L.M. Lu, L. Bai, A facile one-pot strategy for the electrochemical synthesis of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/zirconia nanocomposite as an effective sensing platform for vitamins B-2, B-6 and C, *J. Electroanal. Chem.* 717 (2014) 1.
- [29] E. Blanco, C.S.H. Dominguez, P. Hernandez, J.V. Hernandez, C. Quintana, L. Hernandez, Alkanethiols modified gold electrodes for selective detection of molecules with different polarity and molecular size. application to vitamin B2 analysis, *Electroanalysis* 21 (2009) 495.
- [30] H. Zhang, J.S. Zhao, H.T. Liu, H.S. Wang, R.M. Liu, J.F. Liu, Application of poly (3-methylthiophene) modified glassy carbon electrode as riboflavin sensor, *Int. J. Electrochem. Sci.* 5 (2010) 295.
- [31] A. Economou, P.R. Fielden, A study of riboflavin determination by square-wave adsorptive stripping voltammetry on mercury film electrodes, *Electroanalysis* 7 (1995) 447.
- [32] M.J.F. Villamil, A.J.M. Ordieres, A.C. Garcia, P.T. Blanco, Simultaneous adsorptive stripping voltammetric determination of riboflavin and folic acid in multivitamin preparations, *Anal. Chim. Acta* 273 (1993) 377.
- [33] A. Safavi, N. Maleki, H. Ershadifar, F. Tajabadi, Development of a sensitive and selective riboflavin sensor based on carbon ionic liquid electrode, *Anal. Chim. Acta* 674 (2010) 176.



Glucose sensing on graphite screen-printed electrode modified by sparking of copper nickel alloys



Daniel Riman^a, Konstantinos Spyrou^b, Alexandros E. Karantzalis^b, Jan Hrbac^{c,*}, Mamas I. Prodromidis^{d,*}

^a Department of Analytical Chemistry, Palacky University, 771 46 Olomouc, Czech Republic

^b Department of Materials Science and Engineering, University of Ioannina, Ioannina 451 10, Greece

^c Department of Chemistry, Masaryk University, 625 00 Brno, Czech Republic

^d Department of Chemistry, University of Ioannina, Ioannina 451 10, Greece

ARTICLE INFO

Keywords:

Sparked electrodes
Green method
Mixed copper nickel nanoparticles
Non enzymatic glucose sensor
Screen-printed electrodes

ABSTRACT

Electric spark discharge was employed as a green, fast and extremely facile method to modify disposable graphite screen-printed electrodes (SPEs) with copper, nickel and mixed copper/nickel nanoparticles (NPs) in order to be used as nonenzymatic glucose sensors. Direct SPEs-to-metal (copper, nickel or copper/nickel alloys with 25/75, 50/50 and 75/25 wt% compositions) sparking at 1.2 kV was conducted in the absence of any solutions under ambient conditions. Morphological characterization of the sparked surfaces was performed by scanning electron microscopy, while the chemical composition of the sparked NPs was evaluated with energy dispersive X-ray spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy. The performance of the various sparked SPEs towards the electro oxidation of glucose in alkaline media and the critical role of hydroxyl ions were evaluated with cyclic voltammetry and kinetic studies. Results indicated a mixed charge transfer- and hydroxyl ion transport-limited process. Best performing sensors fabricated by Cu/Ni 50/50 wt% alloy showed linear response over the concentration range 2–400 μM glucose and they were successfully applied to the amperometric determination of glucose in blood. The detection limit (S/N 3) and the relative standard deviation of the method were 0.6 μM and < 6% (n=5, 2 μM glucose), respectively. Newly devised sparked Cu/Ni graphite SPEs enable glucose sensing with distinct advantages over existing glucose chemical sensors in terms of cost, fabrication simplicity, disposability, and adaptation of green methods in sensor's development.

1. Introduction

Nonenzymatic glucose sensing belongs to intensely researched topics. The main promise is avoiding the use of glucose oxidase (GOx), and so, any drawbacks associated with the fragile nature of the enzymes in the recognition layer of the sensor [1]. Nonenzymatic glucose sensors rely on direct electro oxidation of glucose onto suitable electrocatalytic surfaces, and somehow, represent the most promising type of direct electron transfer (DET) sensors for the determination of glucose by overcoming electron communication issues between the (mediated) electrode surface and the flavin adenine dinucleotide (FAD) accounted in popular GOx-based biosensors.

Noble metal electrodes (gold and platinum) allow glucose oxidation in alkaline environment at moderate potentials; however, the products of glucose oxidation, chlorides as well as numerous other interfering ions and molecules are adsorbed onto the electrode surface preventing electron transfer from glucose [2]. Thereby, gold and/or platinum

electrodes are mostly used in pulsed amperometric detection, where the potential imposed onto electrode is periodically switched between analytical, cleaning and surface regeneration values [3,4]. To avoid the need for complicated pulsed waveform, electrodes capable to provide stable performance in constant potential amperometric glucose determination are being continuously developed. For this, more reactive electrode materials are used among which copper and nickel play prominent roles. The electro catalytic action of above metals is based on the formation of high valent Cu(III) or Ni(III) solid state oxides, capable to oxidize glucose [5,6]. Electrode fouling is less pronounced and chloride ions do not interfere with the analysis. Current interest towards this research topic is reflected in numerous papers dealing with the use of nanoscopic copper, nickel and their oxides to assemble glucose sensors. Glucose sensing on bulk Cu/Ni alloy and mixed Cu/Ni (nano)materials modified electrodes is much less studied. Marioli and Kuwana [7] showed that Cu/Ni alloy wire electrode provides stable response towards glucose and several other reducing saccharides and

* Corresponding authors.

E-mail addresses: jhrbac@atlas.cz (J. Hrbac), mprodrom@cc.uoi.gr (M.I. Prodromidis).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.12.064>

Received 28 October 2016; Received in revised form 20 December 2016; Accepted 23 December 2016

Available online 24 December 2016

0039-9140/ © 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

demonstrated its suitability for amperometric chromatography. In search of synergistic electrocatalytic benefit from the combined properties of Cu/Ni alloys, Yeo and Johnson [8] reported that the catalytic current for glucose is significantly larger on anodized Cu/Ni electrodes than the responses obtained at pure Cu or Ni electrodes. Casella and Gatta [9] also reported that gold electrodes modified with mixed Cu/Ni oxides provided higher oxidation current for glucose compared with those had been modified with single Cu or Ni oxides. Similar studies [10] demonstrated the effect of phase composition of Cu/Ni oxides on the electrocatalytic activity to glucose. Addition of copper was found to suppress the formation of unstable γ -NiOOH phase, which was found inactive in glucose electrocatalysis. An alternative explanation of improved electrocatalytic properties of Cu/Ni electrodes was offered by Wolfart et al. [11], who studied the behavior of platinum electrodes with electrodeposited Cu, Ni and Cu/Ni films. After anodization in NaOH, the formed $\text{NiCu}(\text{OH})_2$ couldn't be regarded as a mixture of $\text{Ni}(\text{OH})_2$ and $\text{Cu}(\text{OH})_2$ but rather a unique species, as evidenced by infrared spectroscopy and x-ray diffraction. In this sense, 50/50 wt% Cu/Ni material provided best sensitivity towards glucose. An optimum composition of 50/50 wt% Cu/Ni was also reported for sensors based on multiwall carbon nanotubes decorated with Cu/Ni nanoparticles (NPs) [12]. In another work, Cu-NiO nanoplates provided eight-fold higher electrocatalytic activity for glucose than NiO nanoplates [13].

In contrast, García and Escarpa [14] didn't observe clear advantage of Cu/Ni nanowires over pure Ni nanowires incorporated into graphite screen-printed electrodes (SPEs). In another attempt at constructing Cu/Ni based glucose sensor, highly ordered TiO_2 nanotube arrays, evenly modified by Ni/Cu NPs exhibited similar sensing properties to those modified with pure Ni or Cu NPs [15]. Previous works indicate that the performance of the resulting sensors is greatly affected not only by the composition of the Cu/Ni alloys used as electrocatalysts but also by the morphology/structure of the alloyed NPs, as a result of the synthesis method.

Synthesis of metal NPs is mainly based on lengthy and sometimes complicated protocols involving a number of steps and tedious separation/washings cycles using aqueous or organic solvents. Moreover, the inherent instability of the colloidal solutions used for the modification of the electrode surface, incurs the sensor's fabrication process with an increased cost and labor effort due to the need of the regular preparation of fresh batches of NPs in order to ensure optimum detection capabilities and satisfactory reproducibility between sensors made at different time periods. This fact also results in high waste loadings as only a minor fraction of each batch is eventually used.

Of the methods available for the modification of the electrode surface with metal nanoparticles, the pin-to-electrode substrate electrical spark discharge green method devised by our group was shown to have certain advantages, that is, simplicity (no solutions or advanced instrumentation are required), speed (sparking process typically takes 20–30 s), lack of wastes, broad applicability to a wide range of metals, scope for automation and, most importantly, the resulting sensors exhibit advanced analytical performance [16,17]. Previous works on sparked-bismuth graphite SPEs demonstrated the development of highly sensitive sensors that are able to detect sub-ppb levels of metal cations [16] or riboflavin at the nanomolar level [17].

The proposed green modification approach is based on electrical spark discharge carried out between two conductors, one being the source of the metal catalyst and the second a substrate onto which the catalyst is deposited. Sparks between the two electrodes form a vapor cloud leading to the generation of NPs on the basis of an evaporation-condensation mechanism [16–18]. In this work, we extended the pin-to-electrode substrate electrical spark discharge method to deposit single (Cu or Ni) as well as mixed (Cu/Ni) nano-sized electrocatalysts onto graphite SPEs. A detailed electrocatalytic, morphological and chemical characterization of the developed electrodes by using cyclic voltammetry (CV), amperometry, scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS), and X-ray photoelectron

spectroscopy (XPS) along with their analytical performance in standard and real samples are presented and discussed.

2. Experimental

2.1. Reagents

Glucose, fructose (Fru), ascorbic acid (AA), uric acid (UA), paracetamol (PA) and sodium hydroxide were purchased from Sigma-Aldrich. Stock solutions of 0.1 M glucose were prepared in water, left for 24 h at room temperature to allow equilibration of the anomers and then stored at 4 °C. Ultrapure water (18.2 M Ω m) produced by a Millipore Simplicity® system was used throughout. All other reagents were of analytical grade and were used without further purification.

2.2. Apparatus

Electrochemical measurements were performed using the PGSTAT12 (Metrohm Autolab) workstation in a three-electrode configuration. Bare or sparked SPEs and a Pt-wire served as working and auxiliary electrodes, respectively. The reference electrode was a Ag/AgCl, 3 M KCl electrode (IJ Cambria) and all potentials reported hereafter refer to this electrode.

SEM images and elemental microprobe analysis were performed on a JEOL JSM-6510LV scanning electron microscope equipped with an INCA PentaFETx3 (Oxford Instruments) energy dispersive X-ray detector. Samples were coated with a thin film of Au using a Polaron SC7620 sputter coater (Thermo VG Scientific).

XPS measurements were applied under ultrahigh vacuum with a base pressure of 2×10^{-9} mbar using a SPECS GmbH instrument equipped with a monochromatic MgK α source ($h\nu=1253.6$ eV) and a Phoibos-100 hemispherical analyzer. The energy resolution was set to 1.2 eV and the photoelectron take-off angle was 45° with respect to the surface normal. Recorded spectra were set with energy step set of 0.05 eV and dwell time of 1 s. All binding energies were referenced with regard to the C1s core level centered at 284.6 eV. Spectral analysis included a Shirley background subtraction and peak deconvolution involved mixed Gaussian–Lorentzian functions was conducted with a least squares curve-fitting program (WinSpec, University of Namur, Belgium).

2.3. Preparation of copper nickel alloys

The different materials were prepared by a home-made vacuum arc melting apparatus with tungsten electrode under DC conditions. The raw materials used were nickel (> 99% pure) and copper (> 99% pure). Arc melting was conducted on a water-cooled copper plate in an atmosphere of high purity argon. To achieve a homogeneous distribution of elements in the resulting alloys, the samples were re-melted twice and flipped for each melt. Five different compositions were prepared: pure Cu, pure Ni, and three Cu/Ni alloys of 75/25, 50/50, 25/75 ratio respectively, all in wt%. The arc current was 120 A. The resulted droplets, in the form of meniscus, were mounted in Bakelite thermosetting resin using a Struers LaboPress-1 hot pressing mounting machine and fine cut by a diamond wheel cutting saw (Struers AccuTom-5) in order to obtain thin slices of materials. The latter samples were further treated with a metal saw to receive narrow strips to be used as cathode materials in the sparking process.

2.4. Modification of SPEs by sparking process

For the modification of graphite SPEs via sparking process, an in-house built regulated power supply (200–2000 V) consisting of a 10 kHz oscillator, transformer and 5-stage Cockroft–Walton multiplier was used. Modification of graphite SPEs was performed at 1.2 kV by applying a number of 60 (unless stated otherwise) sparking cycles,

uniformly spaced across the surface of SPE, under atmospheric conditions. Each cycle was conducted by bringing a metal (Cu, Ni or Cu/Ni) tip, connected to the positive pole of the power supply [(+) connection] into close proximity (<1 mm) of SPE connected to negative pole until the spark discharge occurred. Details on the fabrication of the home-made graphite SPEs [19] have been previously published.

2.5. Measurements

All electrochemical measurements were performed in 0.5 mol L⁻¹ NaOH (unless stated otherwise) at room temperature. CV scans were recorded at a scan rate of 0.05 V s⁻¹. Amperometric measurements were conducted under mild stirring (ca. 300 rpm) at a polarization potential of 0.55 V and current changes due to the electro oxidation of glucose were taken as a measure of the target concentration.

Blood serum sample was obtained from healthy volunteer at the University Hospital in Olomouc, Czech Republic. 50 µL of untreated blood serum sample was introduced into the measuring cell containing 15.00 mL of 0.5 mol L⁻¹ NaOH and the concentration of glucose was determined by applying the standard addition method. For the recovery studies the samples were fortified with 5 mmol L⁻¹ M glucose.

3. Results and discussion

3.1. Electrochemical characterization

Initial experiments were dedicated to confirm the possibility to modify graphite SPEs with nickel, copper and Cu/Ni alloys using spark deposition. Fig. S1 (see Supporting information) shows the cyclic voltammetric behavior of Cu-sparked SPEs in alkaline medium. During the cathodic scan a broad peak centered at -0.373 V is associated with the sum of the two reduction peaks corresponding to Cu(II)→Cu(I)→Cu⁰ redox transitions in the solid material, while along the anodic scan, peaks located at -0.315 V and -0.087 V are attributed to Cu⁰→Cu(II) and Cu(I)→Cu(II) electro oxidation reactions, respectively, in accordance with previous results [20]. At Ni- and Cu/Ni-sparked SPEs, the CVs (black lines, Fig. 1C-F) are dominated by NiO/Ni(OH) redox transition, which is manifested as a semi-reversible pair of peaks centered at ca. 0.5 V. To assess the electrocatalytic activity of the aforementioned sparked surfaces, CVs were also recorded in the presence of 1 mmol L⁻¹ glucose. The voltammograms (red lines, Fig. 1B-F) indicate that Cu, Ni and Cu/Ni alloys modified SPEs exhibit, to varying degrees, electrocatalytic activity towards glucose. Bare graphite SPE, which was used for comparison, gave nil response (red line, Fig. 1A). The performance of modified SPEs in glucose sensing were further investigated by constant potential amperometry in stirred solutions (Fig. 1G) which indicates that sparked Cu-modified SPE provides negligible electrocatalytic activity, while comparable performances in terms of sensitivity is found for the tested nickel containing modified graphite SPEs. Of those, graphite SPEs sparked with Cu/Ni (50/50 wt%) alloy exhibited higher signal-to-noise ratio compared with those modified with pure nickel, which exhibited the most noisy signal, and alloys with other Cu/Ni ratios. Based on these results, Cu/Ni (50/50 wt%) alloy sparked graphite SPEs, hereafter denoted as Cu/Ni-SPEs, was selected for further studies, and SEM images aside, no data are presented to the other Cu/Ni alloy sparked electrodes.

To optimize the sparking protocol with respect to glucose sensing, the polarity and number of sparks were evaluated. It has been found that the electrocatalytic currents for glucose were two-fold for (+) connection compared with that observed with opposite polarity sparking. The optimum number of sparks was then evaluated and the highest response was observed by applying 60 spark cycles. More sparks caused damage of the SPE surface, which eventually led to the decline of the electrocatalytic current and elevated noise levels.

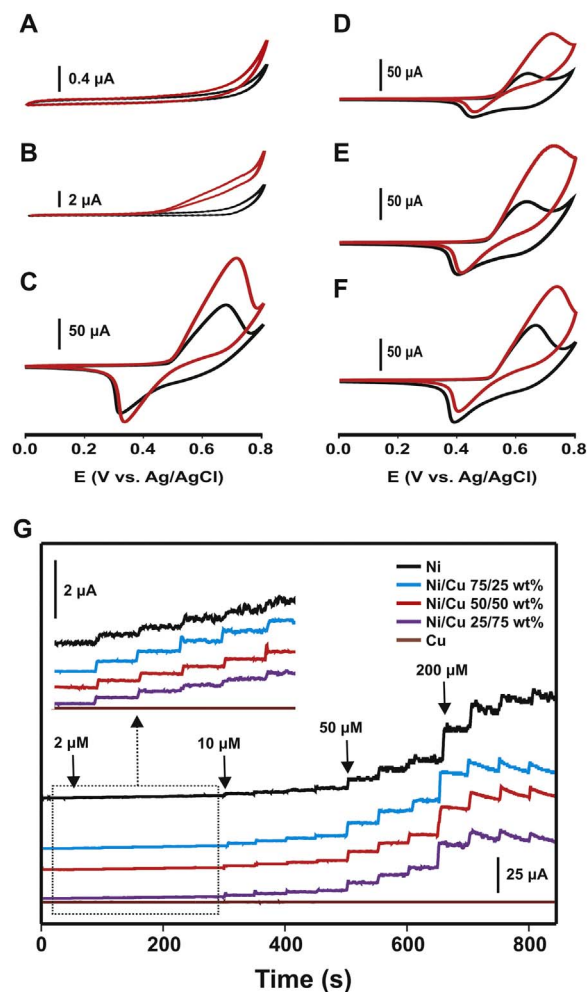


Fig. 1. CVs of (A) bare SPEs and SPEs modified with (B) Cu, (C) Ni, (D) Cu/Ni 75/25 wt %, (E) Cu/Ni 50/50 wt%, and (F) Cu/Ni 25/75 wt%; CVs were recorded in 0.5 mol L⁻¹ NaOH (black line) in the absence and (red line) in the presence of 1 mmol L⁻¹ glucose at 0.05 V s⁻¹ (G). Amperometric traces of Cu, Ni and different ratios Cu/Ni sparked modified SPEs at different glucose concentrations in 0.5 mol L⁻¹ NaOH at 0.55 V. Inset graph shows the response of the tested electrodes to five successive additions of 2 µmol L⁻¹ glucose. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

3.2. SEM and EDS studies

SEM images (Fig. 2A-C) and EDS mapping (Fig. 2D) reveal that the sparking process leads to coverage of SPE surface by both Cu and Ni NPs, which have been uniformly generated across the entire sparking spot. At all the three different sparked surfaces, nanodeposits appeared with an average dimension up to ca. 200 nm while the formation of larger agglomerates can be attributed to the ejection of liquid material from the electrodes during the sparking process [21,22]. EDS micro-analysis was used to estimate the composition of the sparked deposits (atomic% in Cu and Ni) in the resulting modified electrode surface. The observed deviations (Table 1) in Cu/Ni atomic ratio at the sparked graphite SPE surface (at% Cu/Ni=1.86), the bulk (at% Cu/Ni=0.92) and the sparking edge (at% Cu/Ni=0.77) of the alloy prompt us to further explore the behavior of each metal during the sparking process.

As shown in Table 1, while the expected content of Cu and Ni is found for bulk (Cu 50/Ni 50 wt%) alloy, elevated content of Ni is found at the tip of the alloy exposed to spark discharge, indicating that copper is removed from the alloy more easily compared with nickel. This fact is in agreement with the Llevellyn-Jones theory of electrode erosion by spark discharge [23,24] (Eq. (1)):

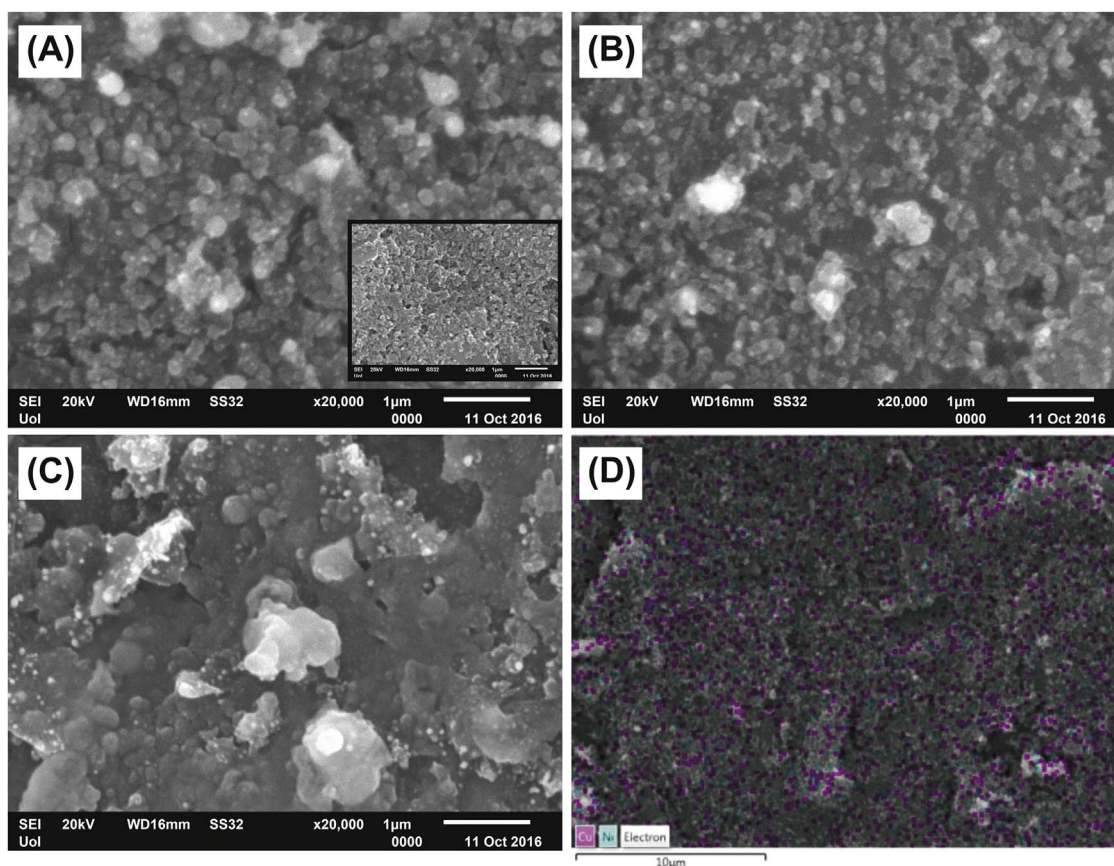


Fig. 2. SEM images of sparked graphite SPEs modified with (A) Cu/Ni 25/75 wt%, (B) Cu/Ni 50/50 wt%, and (C) Cu/Ni 75/25 wt% alloys. Inset image in A shows the morphology of the bare graphite SPE. (D) EDS mapping of sparked Cu/Ni 50/50 SPEs.

Table 1

EDS data at different sampling spots in the alloy (Cu/Ni 50/50 wt%) and at the spark modified electrode surface.

Sampling spot	Atomic%	
	Cu	Ni
Bulk of alloy	48	52
Sparking edge ^a (tip)	43.5	56.5
Spark modified SPE	65	35

^a after at least 600 sparks.

$$m = \frac{\frac{1}{2}V^2c_e - A\sigma tT_b^4 - gk(T_b - T)}{c_{ps}(T_b - T) + \frac{21T_b}{M}} \quad (1)$$

where V is applied voltage (V), c_e is effective capacity of the sparking gap (in Farads), A is the area of the hotspot (m^2), σ is the Stefan-Boltzmann constant ($5.67 \times 10^{-8} \text{ J s}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ K}^{-4}$), t is the duration of the discharge, T_b is the boiling point of the metal (K), T is the temperature of the surroundings, g is the constant ($0.95 \times 10^{-10} \text{ m s}^{-1}$), k is thermal conductivity of the metal ($\text{W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$), C_{ps} is the average value of the specific heat in the solid state over the whole temperature range $< T, T_b$

Table 2

Material constants of Ni and Cu.

Quantity Unit	T_b K	T_m K	ΔH_m kJ mol ⁻¹	ΔH_v kJ mol ⁻¹	k W m ⁻¹ K ⁻¹	C_{ps} J (g K) ⁻¹	M g mol ⁻¹
Ni	3003	1728	17.48	379	90.9	0.445	58.6934
Cu	2835	1358	13.26	300.4	401	0.3844	63.546

$> [J(g K)^{-1}]$ and M is the molar weight of the metal (g mol^{-1}). Substituting the material constants (Table 2) into Eq. (1) the mass of eroded material is $4.48 \times 10^{-7} \text{ g}$ for Ni and $5.74 \times 10^{-7} \text{ g}$ for Cu per spark, assuming the effective sparking area of 1 mm^2 . In the light of the above data, we expect the formation of a vapor cloud by spark event, which, amongst other particles (air plasma), is consisted of copper, nickel as well as carbon atoms eroded from the anode. After condensation (quenching of the sparking discharge and cooling), these vaporized atoms are deposited over the sparked surfaces (the coverage of Cu, Ni or Cu/Ni wires with carbon black is visible after a number of spark cycles), resulting in the desired modification of the electrode surface, with eventual the formation of mixed NPs [22].

3.3. XPS studies

XPS survey scan illustrated in Fig. 3A indicates the atomic composition of the Cu/Ni-SPE surface to be: C (78.7 ± 3.7), O (18.8 ± 0.8), Cu (1.8 ± 0.2), and Ni (0.7 ± 0.1). In agreement with the EDX results (see above), XPS data verify a surplus of copper over nickel (at% Cu/Ni=2.6) at Cu/Ni-SPE surface.

From the carbon 1s photoelectron peak (Fig. 3B) the different oxygen containing functional groups of carbon can be identified. The intense peak at 284.6 eV is due to C–C bonds while the peak at

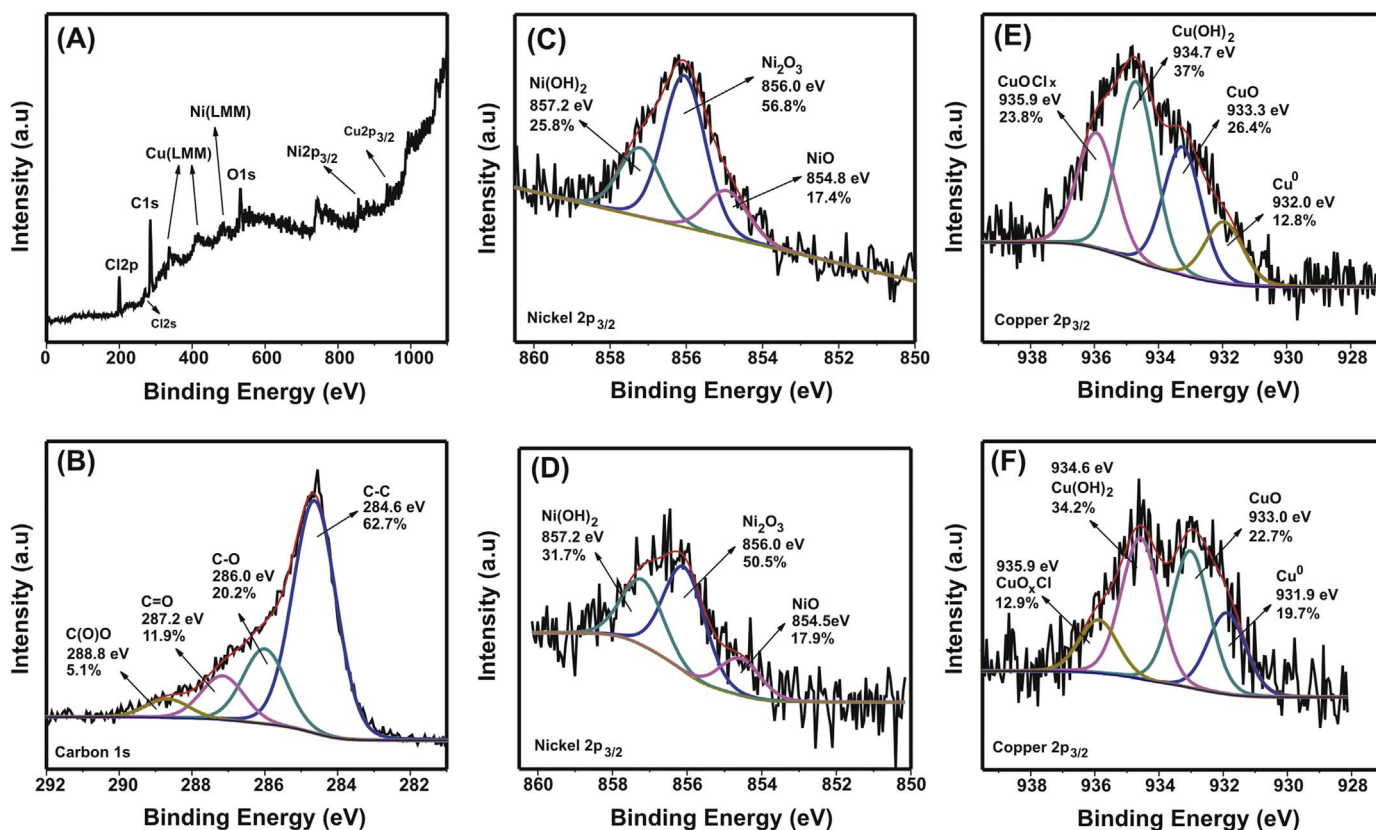


Fig. 3. (A) Survey XPS spectrum of the Cu/Ni-SPE surface; XPS spectra of (B) carbon 1s in Cu/Ni-SPE surface, (C) nickel 2p_{3/2} in Cu/Ni-SPE surface, (D) nickel 2p_{3/2} in Ni-SPE surface, (E) copper 2p_{3/2} in Cu/Ni-SPE surface, and (F) copper 2p_{3/2} in Cu-SPE surface.

286.0 eV is attributed to C-O functional groups, which represents the 20.2% of the total amount of carbon. Peaks at 287.2 eV and 288.8 eV are attributed to carbon double bond oxygen and carboxylic groups, respectively. The intriguing part is that no peaks corresponding to any chemical bond of carbon with nickel or copper are observed, which are expected at lower binding energies than this of C-C peak (284.6 eV) [25]. From the high resolution spectrum of nickel 2p_{3/2} illustrated in Fig. 3C can be inferred that nickel exists, almost equally, in its two main oxidation states, (II) and (III). More specifically, the peak centered at 854.8 eV is due to NiO, representing 17.4% of the total amount of nickel, while the peak at 856.0 eV is attributed to Ni₂O₃ (56.8% of the area of the nickel 2p_{3/2} peak) and finally, the peak at 857.2 eV corresponds to Ni(OH)₂. In order to distinguish if the above binding energies represent nickel forms at mixed Cu/Ni or single Ni nanoparticles, an extra XPS spectrum at Ni-sparked SPEs was also performed, as a reference. We avoided to compare our results with previously published data, as peaks of nickel compounds in single nickel-containing materials or in nickel-copper alloys are very close to each other. In such cases, even minor shifts of the peaks due to different experimental settings can lead to erroneous conclusions [26,27]. XPS spectrum of Ni-sparked SPE surface (Fig. 3D) also revealed three peaks attributed to NiO, Ni₂O₃ and Ni(OH)₂ compounds. A statistically significant shift of 0.3 eV observed only to the peak centered at 854.5 eV demonstrating that nearly one-fifth (17.4%) of the sparked nickel has been alloyed with copper. The high resolution fitting of the copper 2p_{3/2} at Cu/Ni-SME surface possessed four different peaks attributed to metallic Cu⁰ (932.0 eV, 12.8%), CuO species (933.3 eV, 26.4%), Cu(OH)₂ (934.7 eV, 37%) [27], while the photoelectron peak at 935.9 eV (23.8%) is probably due to CuO_xCl bonding (23.8%) [28]. Finally, comparison of the aforementioned peaks with those observed at the XPS spectrum of Cu-sparked SPE surface (Fig. 3F) indicates the existence of alloyed copper (with nickel). The peak shifts of 0.1 eV, observed for Cu⁰ and Cu(OH)₂ are considered

to fall within the measurement error. Based on the above results, sparked deposits are composed of ca. 24 at% mixed Cu/Ni NPs, as CuO and NiO, in a percentage atomic ratio ca. 4. Identical XPS spectra with those illustrated in Fig. 3C-F were obtained when measurements were duplicated at three different sampling areas on the corresponding sparked surfaces.

3.4. Electrochemical mechanism and kinetics studies

Fig. 4 shows the cyclic voltammetric behavior of Cu/Ni-SPEs in strong alkaline medium over a broad range of scan rates (0.01–

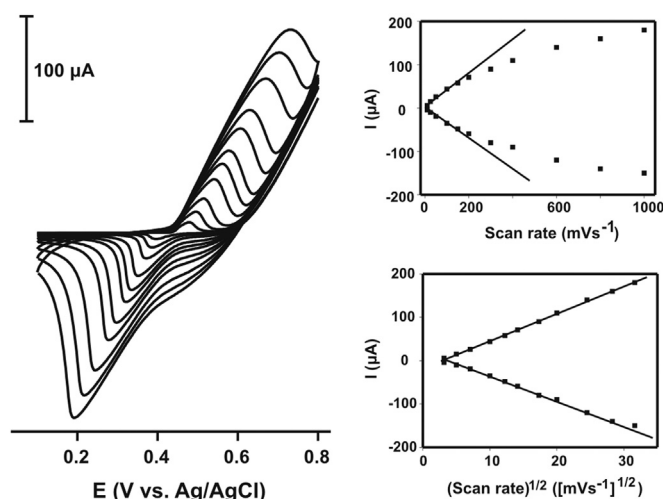


Fig. 4. CVs of Cu/Ni-SPEs in 0.5 mol L⁻¹ NaOH at different scan rates (0.01–1 V s⁻¹). Inset graphs show the dependence of the corresponding peak currents versus the (up right) scan rate and (bottom right) the square root of scan rate.

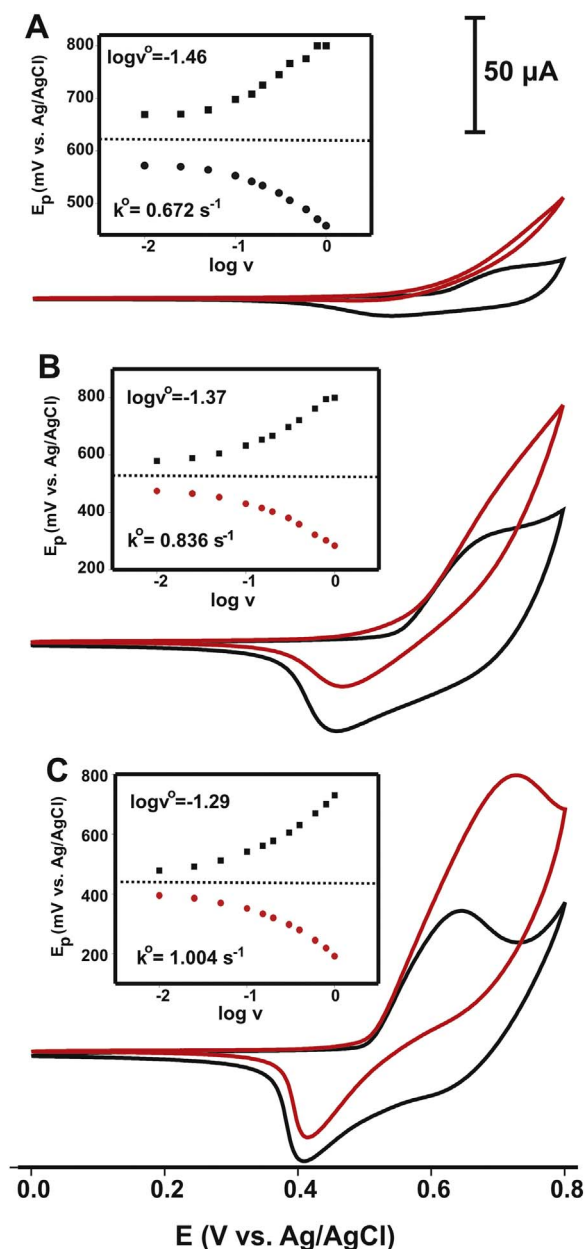


Fig. 5. CVs of Cu/Ni-SPEs in the (black lines) absence and (red lines) presence of 1 mmol L⁻¹ glucose at (A) 0.01, (B) 0.1 and (C) 0.5 mol L⁻¹ NaOH at 0.05 V s⁻¹. Insets graphs illustrate the dependence of E_p on log(v) and the graphical calculation of critical potential scan rate, v^o (Laviron method). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

1 V s⁻¹). Individual CVs are dominated by the redox transition of NiO/NiO(OH) redox couple that, at a moderate scan rate of 0.1 V s⁻¹, is appearing as a pair of well-defined peaks at a formal redox potential (E^o) of 0.445 V, while the peak potential separation (ΔE_p) value was calculated to be 0.189 V, considerably higher than the ideal value of 0 V expected for a surface confined electrocatalyst. Even though such deviations seem to be common [29] due to the interactions between the catalyst molecules or their interactions with the electrode surface, in this particular redox system the observed deviations are mostly attributable to NiO/NiO(OH) redox couple and the physical transport of hydroxyl ions (OH⁻), according to the following chemical equation:

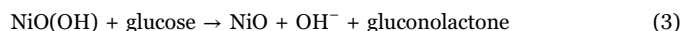


The role of hydroxyl ions in the overall electron transfer kinetics is demonstrated by the inset graphs in Fig. 4, which illustrates extended

linearity up to 1 V s⁻¹ observed at I_p=f(v^{1/2}) plot, verifying that the examined electrochemical transformation is controlled by diffusion of OH⁻ ions towards the electrode surface.

Current limitation by hydroxyl ions is also demonstrated by the patterns of CVs of CuNi-SPEs recorded in electrolytes of different alkaline strength. As can be seen from the CVs illustrated in Fig. 5A-C (black lines, 0.01, 0.1 and 0.5 mol L⁻¹ NaOH, respectively), both the anodic and cathodic current peak areas are increasing due to the effect of hydroxyl ions on the kinetic facility of the NiO/NiO(OH) redox couple. This tendency is expressed quantitatively by the (apparent) electron transfer rate constant k^o , which was calculated from the corresponding Laviron diagrams (Fig. 5, inset graphs) using the theoretical value 0.5 for the charge transfer coefficient and found to be 0.67, 0.84 and 1.00 s⁻¹, respectively. Similarly to previous studies [30], low values of k^o is partly attributable to the hydroxyl ions-coupled electron-transfer reactions according to Eq. (2).

An enhanced electrocatalytic performance of Cu/Ni-SPEs is demonstrated by the corresponding CVs recorded in the presence of 1 mmol L⁻¹ glucose (red lines in Fig. 5A-C). According to the chemical Eq. (3),



Cu/Ni-SPEs enable effective electro oxidation of glucose only in the presence of NiO(OH) reactive sites, i.e. at high concentrations of NaOH (Fig. 5C, red line), as documented by the peak-shaped cyclic voltammetric response (mass transfer limited conditions). At lower concentrations of NaOH (Fig. 5A,B red line) electro oxidation of glucose is described by a potential dependent response (kinetically limited conditions) as a result of the slow kinetics of NiO/NiO(OH) redox transition.

3.5. Analytical figures of merit

3.5.1. Calibration curves

Under selected detection variables (electrolyte, 0.5 mol L⁻¹ NaOH; number of sparks, 60; polarization potential, 0.55 V), the analytical performance of the developed Cu/Ni-SPEs was evaluated (Fig. 6). Cu/Ni-SPEs exhibited linear response over the concentration range 2–400 μmol L⁻¹ glucose (R²=0.999), while the sensitivity towards glucose was 1590 μA mM⁻¹cm⁻². The limit of detection (LOD) for a signal-to-noise ratio 3 (S/N 3) was 0.6 μmol L⁻¹ glucose and the reproducibility on the same sensor, expressed as the % relative standard deviation (%RSD) was < 4% (n=5, 2 μmol L⁻¹ glucose).

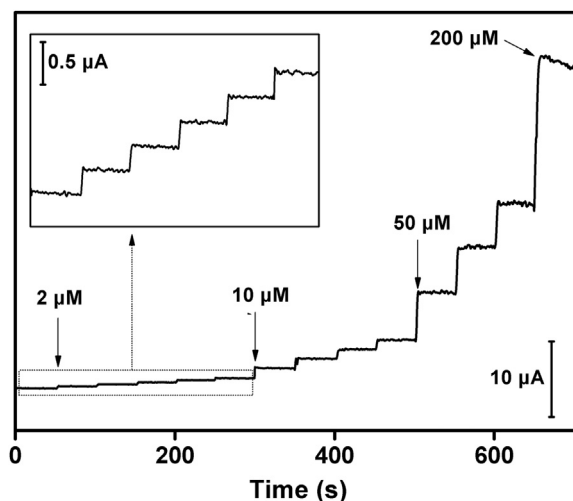


Fig. 6. Amperometric response of Cu/Ni-SPEs in the presence of 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200 and 400 μmol L⁻¹ glucose; Experimental conditions: electrolyte, 0.5 mol L⁻¹ NaOH; number of sparks, 60; polarization potential, 0.55 V.

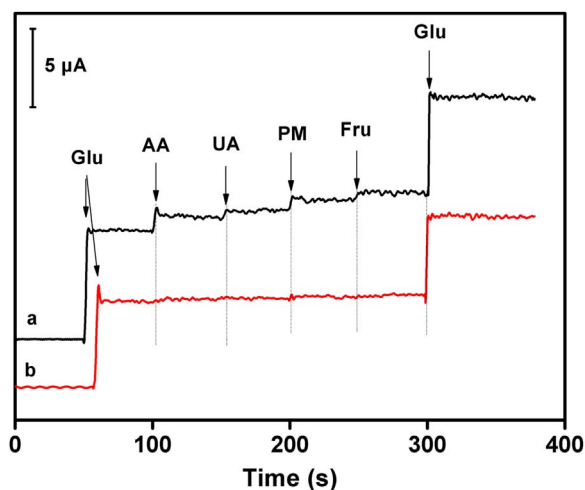


Fig. 7. Response of Cu/Ni-SPEs at $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ glucose and various interferents at different glucose/interferent molar ratios: (a) 10:1, (b) 25:1. Experimental conditions as in Fig. 6.

Based on the above data, the analytical properties of the developed sensors compare favorably to other published works (see Table S1, supporting information) thus demonstrating the effectiveness of electric spark discharge process for the development of green sensors with attractive sensing capabilities. The reproducibility among different sparked Cu/Ni-SPEs was evaluated by comparing the amperometric responses of five different sensors at two distinct concentration levels of glucose (10 and $50 \mu\text{mol L}^{-1}$) and, in both tests, it was found to be always $< 6\%$. This value is deemed satisfactory and it is expected to be further improved by performing the sparking process through an automated set-up being currently developed in our laboratory.

3.5.2. Interference study

The electrochemical response of potentially interfering species, i.e. ascorbate, urate, paracetamol and fructose was evaluated. Considering that the glucose concentration in human blood is at least 30 times greater than that of interfering species [31,32], relative responses between the target and selected interfering species were evaluated at two different concentration ratios, that is, 25:1 and 10:1. The results (Fig. 7) indicate that the contribution of electroactive components other than glucose will not produce significant interference in applications to blood serum samples and thus the developed Cu/Ni-SPEs have the potential to be used in routine glucose sensing.

3.5.3. Analytical application

In final experiments, Cu/Ni-SPEs were applied to the determination of glucose in blood plasma samples by employing amperometric measurements. The concentration of glucose was determined to be $8.67 \pm 0.17 \text{ mmol L}^{-1}$ ($n=3$), which is in a good agreement with the reference value of $8.44 \pm 0.21 \text{ mmol L}^{-1}$ ($n=3$) obtained by a portable glucometer. The mean relative error was -2.73% . The accuracy of the method was further established by recovery studies after spiking the plasma samples with 5.00 mmol L^{-1} glucose. Recovery was 97% thus confirming the suitability of the developed Cu/Ni sparked sensors for applications to clinical samples.

4. Conclusions

Screen printed electrodes were modified with copper, nickel and mixed copper-nickel nanoparticles using DC spark discharge in ambient atmosphere. XPS data showed that sparked deposits are composed of ca. 24% mixed Cu/Ni NPs, as CuO and NiO, in a percentage atomic ratio ca. 4. In accordance with theoretical calculations on the mass of the eroded materials, copper exists in surplus to nickel over the surface

of the sparked electrode.

The facile modification procedure along with the excellent analytical performance of the developed sensors, suggest that copper nickel alloy sparked graphite SPEs hold great promise to the mass production of low cost, disposable and “green” sensors for the nonenzymatic determination of glucose.

Acknowledgments

Financial Support from Grant Agency of the Czech Republic, project No. 15-05198S is gratefully acknowledged. Daniel Riman was supported also by Palacky University Student Grant (project IGA_PrF_2016_016). The authors wish to thank Aneta Hlouskova, MSc. for her assistance with amperometric measurements.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.talanta.2016.12.064.

References

- [1] J. Wang, Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges, *Electroanalysis* 13 (2001) 983–988.
- [2] M. Pasta, F. La Mantia, Y. Cui, A new approach to glucose sensing at gold electrodes, *Electrochem. Commun.* 12 (2010) 1407–1410.
- [3] G.G. Neuberger, D.C. Johnson, Comparison of the pulsed amperometric detection of carbohydrates at gold and platinum-electrodes for flow-injection and liquid-chromatographic systems, *Anal. Chem.* 59 (1987) 203–204.
- [4] G. Arfelli, E. Sartini, Characterisation of brewpub beer carbohydrates using high performance anion exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection, *Food Chem.* 142 (2014) 152–158.
- [5] Z. Li, Y. Chen, Y. Xin, Z. Zhang, Sensitive electrochemical nonenzymatic glucose sensing based on anodized CuO nanowires on three-dimensional porous copper foam, *Sci. Rep.-Uk* 5 (2015) 16115.
- [6] K.E. Toghill, R.G. Compton, Electrochemical non-enzymatic glucose sensors: a perspective and an evaluation, *Int. J. Electrochem. Soc.* 5 (2010) 1246–1301.
- [7] J.M. Marioli, T. Kuwana, Electrochemical detection of carbohydrates at nickel-copper and nickel-chromium-iron alloy electrodes, *Electroanalysis* 5 (1993) 11–15.
- [8] I.H. Yeo, D.C. Johnson, Electrochemical response of small organic molecules at nickel-copper alloy electrodes, *J. Electroanal. Chem.* 495 (2001) 110–119.
- [9] I.G. Casella, M. Gatta, Electrodeposition and characterization of nickel-copper alloy films as electrode material in alkaline media, *J. Electrochem. Soc.* 149 (2002) B465–B471.
- [10] I. Danaee, M. Jafarian, F. Forouzandeh, F. Gopal, M.G. Mahjani, Kinetic interpretation of a negative time constant impedance of glucose electrooxidation, *J. Phys. Chem. B* 112 (2008) 15933–15940.
- [11] F. Wolfart, A. Maciel, N. Nagata, M. Vidotti, Electrocatalytic properties presented by Cu/Ni alloy modified electrodes toward the oxidation of glucose, *J. Solid State Electrochem.* 17 (2013) 1333–1338.
- [12] K.C. Lin, Y.C. Lin, S.M. Chen, A highly sensitive nonenzymatic glucose sensor based on multi-walled carbon nanotubes decorated with nickel and copper nanoparticles, *Electrochim. Acta* 96 (2013) 164–172.
- [13] X.J. Zhang, A.X. Gu, G.F. Wang, Y. Huang, H.Q. Ji, B. Fang, Porous Cu-NiO modified glass carbon electrode enhanced nonenzymatic glucose electrochemical sensors, *Analyst* 136 (2011) 5175–5180.
- [14] M. Garcia, A. Escarpa, A class-selective and reliable electrochemical monosaccharide index in honeys, as determined using nickel and nickel-copper nanowires, *Anal. Bioanal. Chem.* 402 (2012) 945–953.
- [15] S.L. Luo, F. Su, C.B. Liu, J.X. Li, R.H. Liu, Y. Xiao, Y. Li, X.N. Liu, Q.Y. Cai, A new method for fabricating a CuO/TiO₂ nanotube arrays electrode and its application as a sensitive nonenzymatic glucose sensor, *Talanta* 86 (2011) 157–163.
- [16] D. Riman, D. Jirovsky, J. Hrbac, 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.
- [17] D. Riman, A. Avgeropoulos, J. Hrbac, 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.
- [18] N.S. Tabrizi, Q. Xu, N.M. van der Pers, A. Schmidt-Ott, Generation of mixed metallic nanoparticles from immiscible metals by spark discharge, *J. Nanopart. Res.* 12 (2010) 247–259.
- [19] A. Michopoulos, A. Kouloumpis, D. Gournis, M.I. Prodromidis, Performance of layer-by-layer deposited low dimensional building blocks of graphene-prussian blue onto graphite screen-printed electrodes as sensors for hydrogen peroxide, *Electrochim. Acta* 146 (2014) 477–484.
- [20] D. Riman, Z. Bartosova, V. Halouzka, J. Vacek, D. Jirovsky, J. Hrbac, Facile preparation of nanostructured copper-coated carbon microelectrodes for amperometric sensing of carbohydrates, *RSC Adv.* 5 (2015) 31245–31249.

- [21] C. Luo, S.J. Dong, X. Xiong, N. Zhou, Mass loss of copper alloy electrode during TiB₂ coating by electrospark deposition, *Surf. Coat. Technol.* 203 (2009) 3333–3337.
- [22] N.S. Tabrizi, Q. Xu, N.M. van der Pers, U. Lafont, A. Schmidt-Ott, Synthesis of mixed metallic nanoparticles by spark discharge, *J. Nanopart. Res.* 11 (2009) 1209–1218.
- [23] F.L. Jones, Electrode erosion by spark discharges, *Br. J. Appl. Phys.* 1 (1950) 60–65.
- [24] N.S. Tabrizi, M. Ullmann, V.A. Vons, U. Lafont, A. Schmidt-Ott, Generation of nanoparticles by spark discharge, *J. Nanopart. Res.* 11 (2009) 315–332.
- [25] P. Bebin, R.E. Prud'homme, Comparative XPS study of copper, nickel, and aluminum coatings on polymer surfaces, *Chem. Mater.* 15 (2003) 965–973.
- [26] O.Y. Podyacheva, A.N. Shmakov, A.I. Boronin, L.S. Kibis, S.V. Koscheev, E.Y. Gerasimov, Z.R. Ismagilov, A correlation between structural changes in a Ni-Cu catalyst during decomposition of ethylene/ammonia mixture and properties of nitrogen-doped carbon nanofibers, *J. Energy Chem.* 22 (2013) 270–278.
- [27] S.S. Chen, L. Brown, M. Levendorf, W.W. Cai, S.Y. Ju, J. Edgeworth, X.S. Li, C.W. Magnuson, A. Velamakanni, R.D. Piner, J.Y. Kang, J. Park, R.S. Ruoff, Oxidation Resistance of Graphene-Coated Cu and Cu/Ni Alloy, *ACS Nano* 5 (2011) 1321–1327.
- [28] A.M. Beccaria, Y.Z. Wang, G. Poggi, Study of passive film formation on Cu-Ni 70/30 alloy in seawater at high-temperature, *Surf. Interface Anal.* 21 (1994) 442–446.
- [29] R.W. Murray, Chemically modified electrodes, *Acc. Chem. Res.* 13 (1980) 135–141.
- [30] 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) 185–191.
- [31] S.P. Juraschek, E.R. Miller, A.C. Gelber, Effect of oral vitamin C supplementation on serum uric acid: a meta-analysis of randomized controlled trials, *Arthrit. Care Res.* 63 (2011) 1295–1306.
- [32] Y.N. Zhang, Y.B. Hu, G.S. Wilson, D. Moattisirat, V. Poitout, G. Reach, Elimination of the acetaminophen interference in an implantable glucose sensor, *Anal. Chem.* 66 (1994) 1183–1188.

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

**Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie**

**Studium a vývoj elektrochemických senzorů a jejich
aplikace v detekčních systémech**

Disertační práce

Autor práce:

Mgr. Daniel Riman

Vedoucí práce:

doc. RNDr. David Jirovský, Ph.D.

OLOMOUC 2018

Uchazeč: Mgr. Daniel Riman

Školitel: doc. RNDr. David Jirovský, Ph.D.

Oponenti: prof. RNDr. Libuše Trnková, CSc.

prof. Ing. Ján Labuda, DrSc.

prof. RNDr. Juraj Ševčík, Ph.D.

Abstract

Surfaces of screen printed graphite electrodes (SPGEs) were modified by metal nanoparticles using electric spark discharge. The electric discharge was carried out by bringing into close proximity the SPGE (substrate electrode) and a target metal pin-shaped electrode (serving as a source of the nanomaterial) while connected to a power supply delivering typically 1.2 kV. This modification method was shown as new, simple, very fast and effective way to prepare metal nanoparticles' modified electrodes. Spark discharge is green and economic method of modification due to the zero solvent consumption. Methods of metal nanoparticles modification published in the literature take much longer time and require the use of solvents or electrolytes.

Spark discharge was employed for the preparation of bismuth nanoparticles' modified SPGEs which were applied as disposable mercury-free sensors for sensitive heavy metal sensing. Deposition parameters such as polarity of electrodes, applied voltage and number of spark discharges were optimized. Bismuth sparked electrodes were then characterized using SEM and cyclic voltammetry. Prepared Bi-sparked SPGEs were used for the determination of cadmium and lead. Sensors achieved very low detection limits ($0.2 \mu\text{g.L}^{-1}$ for both metals, for $S/N = 3$), good reproducibility and stability of the signal. Bi-sparked SPGEs were successfully used for the determination of heavy metal content in tap water sample.

Developed Bi-sparked SPGEs were also employed for the determination of riboflavin. Graphite layer on the surface of bismuth nanoparticles prevents the reduction of oxygen on electrodes and allows to measure in non-deoxygenated solutions. Low sensitivity to oxygen simplifies the setup and reduces the time of analysis. Prepared sensors reached very low detection limits of riboflavin (0.7 nmol.L^{-1} for $S/N = 3$) and allowed to determine the riboflavin in a pharmaceutical preparation, specifically a B-complex pill (Zentiva Group a.s. CZ).

To demonstrate wider applicability of the technique, the spark discharge was carried between SPGE and copper, nickel and copper-nickel alloy, respectively. In the case of copper-nickel alloy, XPS measurements confirmed presence of mixed nanoparticles on the SPGE sensor surface. Copper-nickel modified SPGEs were applied as nonenzymatic glucose sensor. Under optimized conditions Cu/Ni-sparked SPGEs reached low limit of detection

($0.6 \mu\text{mol.L}^{-1}$ for $S/N = 3$). Prepared copper-nickel alloy modified SPGEs were used for the determination of glucose level in blood serum sample.

Several successful applications of developed sensors demonstrate the possibility of electrode surface modification by spark discharge. This new method is very fast and simple and offers a viable alternative to “wet” methods.

1 ÚVOD

Hmotnostní spektrometrie a chromatografie jsou v dnešní době nejpoužívanější techniky v analytických laboratořích. V některých případech vedou jejich relativně vysoké pořizovací a provozní náklady a také nesnadná miniaturizace k vývoji jednodušších analytických postupů. Vhodnou alternativou mohou být elektroanalytické metody, které díky jednoduchosti, nízkým pořizovacím a provozním nákladům a snadné miniaturizaci nalézají uplatnění v mnoha analytických aplikacích. Kromě konduktometrických a potenciometrických technik se uplatňuje i široké spektrum voltametrických a amperometrických technik, kdy principem je výměna elektronů mezi analytem a pracovní elektrodou. Elektrochemická čidla a ovládací elektroniku lze upravit do podoby přenosných zařízení použitelných k měření v terénu. Vlastnosti pracovní elektrody jsou do značné míry ovlivněny chemickým a materiálovým složením elektrody. Nejpoužívanějšími materiály jsou rtuť, zlato, platina a různé formy uhlíku. Velmi často je prováděna modifikace povrchu elektrod, ať už s cílem snížení ceny vyrobeného senzoru nebo zajištění lepších elektroanalytických vlastností ve srovnání s nemodifikovanou elektrodou - např. selektivity, stability odezvy, vyšší citlivosti k analytům apod. Pro zajištění selektivity a stability odezvy se velmi často využívá modifikace elektrody polymerními vrstvami. Polymerní vrstva představuje bariéru, která zabraňuje interferujícím látkám dosáhnout povrchu elektrody. Zlepšení vlastností elektrody z hlediska vyšší citlivosti k analytům lze dosáhnout buďto pokrytím vrstvou způsobující nahromadění (prekoncentraci) elektroaktivní látky, nebo elektrokatalytickou vrstvou, která usnadňuje elektronovou výměnu mezi elektrodou a analytem. Elektrokatalýzy lze často dosáhnout jednoduchou změnou fyzikálně-chemických vlastností povrchu (typickým postupem je např. elektrochemická aktivace ve vhodném elektrolytu, způsobující funkcionalizaci povrchu). Další možností může být opatření povrchu elektrody modifikátorem, kterým může být vrstva redox aktivního polymeru (velmi často koordinační sloučeniny přechodných kovů). V současnosti jsou široce

zkoumány elektrokatalytické vlastnosti nanomateriálů. Často jde o nanočástice kovů, jednoduchých sloučenin kovů (oxidy, sulfidy apod.) nebo nekovové nanomateriály.

Cílem dizertační práce je využití doposud nepublikované úpravy elektrod pomocí jiskrového výboje. Jiskrový výboj prováděný mezi dvěma elektrodami je zdrojem tepla, které vede k odpaření materiálu z povrchu elektrod, který je spolu s ionizovanými molekulami okolní atmosféry převeden do formy plazmatu. V případě použití kovové elektrody jako zdroje materiálu dochází při ochlazení plazmatu ke vzniku nanočástic příslušného kovu, nebo jeho jednoduchých sloučenin, které mohou vznikat reakcí s okolní atmosférou – např. pokud je jiskrový výboj prováděn na vzduchu, mohou reakcí s kyslíkem vznikat oxidy, s dusíkem nitridy apod. Vzniklé nanomateriály se usazují na protielektrodě, která je jimi modifikována. Jedná se o rychlou, ekologicky a ekonomicky nenáročnou metodu úpravy elektrodového povrchu, která může být alternativou k běžně užívaným složitějším postupům, jako např. nanášení nanomateriálů na elektrodu, pokrývání elektrody v pokovovací lázni apod.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Jiskrový výboj jako metoda přípravy nanočástic

Plyny za normálních podmínek neobsahují volně se pohybující nabitě částice a fungují jako izolant. Vysoké napětí na elektrodách vede k formování tzv. streamerů, což jsou drobné kanálky plazmatu vznikající mezi elektrodami [1]. Elektrony s nízkou hmotností (tzv. záporně nabitě streamery) se v elektrickém poli pohybují směrem k anodě a narážejí do neutrálních částic plynů. Pokud je napětí na elektrodách dostatečné, jsou elektrony urychleny do té míry, že při kolizi s neutrálním plynem dojde k vyražení dalšího elektronu a vzniku kationtu. Dochází k lavinovému šíření proudu elektronů. Relativně hmotné kationty plynů, tvořící tzv. kladné streamery, se začnou pohybovat ke katodě (ve srovnání s elektrony pomaleji). V další fázi dochází k absorpci elektronů na anodě. Přebytek kationtů naruší rovnováhu distribuce náboje mezi elektrodami. Vlivem převládajícího kladného náboje dochází k lokálnímu zesílení elektrického pole, což vede k nárůstu energie volných elektronů a zvýšení efektivity ionizace [2]. Popsaný proces vzniku výboje probíhá za dostatečně vysokých napětí a nazývá se mechanismus negativních streamerů. Za nízkých napětí nemají elektrony dostatečnou

rychlost a při srážce s neutrálními částicemi plynu nedojde k vyražení elektronů. Elektrony ztrácejí svou kinetickou energii a nedochází ke vzniku lavinového efektu.

Ionizace a disociace molekul vzduchu vede k vytvoření vodivého kanálu. Teplota výboje dosahuje až 20 000 K, při které dochází k odpaření materiálu obou elektrod [3]. Další podíl materiálu uvolněného do plazmatu je vyrážen z katody nárazem kationtů (tzv. rozprašování, angl. *sputtering*) [4]. Vlivem vysokých teplot dochází v plazmatu k chemickým reakcím mezi uvolněným materiálem a složkami okolní atmosféry (např. oxidace vzdušným kyslíkem). Nakonec dochází k rekombinaci nosičů náboje a vychladnutí plazmatu, což vede ke kondenzaci odpařeného materiálu. Kondenzované částičky materiálu elektrod pak podléhají nukleaci, vlivem srážek dochází ke srůstání a aglomeraci ve formě nanočástic [5]. Metodu jiskrového výboje využil jako první Schwyn a kol. v roce 1988 k vytvoření nanočástic zlata [6]. Metodou lze generovat částice jakéhokoli vodivého materiálu, ať už se jedná o kov (např. zlato [6]), oxid kovu (např. oxid ceričitý [7]) nebo uhlík [8].

Cíle práce:

1. Otestování vlivu jiskrového výboje aplikovaného přímo na tištěnou grafitovou elektrodu (SPGE), depozice nanočástic oxidu bismutitého na SPGE, její charakterizaci pomocí SEMu a TEMu
2. Využít bismutem modifikovanou elektrodu pro stanovení iontů těžkých kovů (Pb^{2+} a Cd^{2+}) metodou anodické rozpouštěcí voltametrie s citlivostí dostatečnou pro analýzu přirozeného obsahu uvedených iontů v pitné vodě.
3. Využít stejnou elektrodu pro analýzu riboflavinu (vit. B2) jako modelové organické látky a stanovit její obsah v tabletě B-komplexu.
4. Modifikovat SPGE jiskrovým výbojem pomocí nanočástic mědi, niklu a slitin měď-nikl v různém složení, s cílem připravit neenzymatické senzory pro stanovení glukosy v krevní plasmě.

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie, příprava zásobních roztoků a přístrojové vybavení

K modifikaci elektrod byl použit vysokonapěťový zdroj regulovatelný v rozmezí od 200 do 2000 V, sestavený z 10 kHz oscilátoru, transformátoru a pětistupňového Cockroft-Waltonova násobiče napětí. Přístroj byl sestaven doc. RNDr. Janem Hrbáčem, Ph.D. Všechna elektrochemická měření probíhala na přístroji PGSTAT12 (Metrohm Autolab, Švýcarsko) v tříelektrodovém zapojení, jako pracovní elektroda sloužila SPGE, popř. modifikovaná SPGE, referentní elektroda byla Ag/AgCl, (IJ Cambria, UK), jako pomocná elektroda sloužil platinový drátek.

K míchání roztoků při měření byla použita míchačka VARIOMAG Compact (Thermo Electron Corporation, USA).

Snímky Bi-SPGE ze skenovacího elektrodového mikroskopu (SEM) byly pořízeny na přístroji VEGA3 TESCAN (TESCAN, Česká republika) při akceleračním napětí 10 kV. Měření na transmisním elektronovém mikroskopu (TEM) byla prováděna na přístroji JEOL-2100 (JEOL, Japonsko) při napětí 200 kV. Natištěná uhlíková vrstva SPGE byla po modifikaci bismutem seškrábána pomocí skalpelu a dispergována v ethanolu. Poté byla nanesena na grafitovou mřížku, na níž probíhalo TEM měření.

SEM snímky a elementární analýza složení SPGE (modifikovaných Cu, Ni a slitinami Cu/Ni) byly provedeny na přístroji JSM-6510LV (JEOL, Japonsko), který byl vybaven energiově disperzním spektrometrem (EDX) INCA PentaFETx3 (Oxford Instruments, UK). Pro měření byly vzorky pokryty zlatem na přístroji Polaron SC7620 (Thermo VG Scientific, USA).

XPS měření byla provedena za vysokého vakua při tlaku $2 \cdot 10^{-9}$ mbar na přístroji SPECS GmbH vybaveným monochromatickým zdrojem MgK α ($h\nu = 1253,6$ eV) a hemisferickým analyzátozem Phoibos-100. Rozlišení energií bylo nastaveno na 1,2 eV a startovací úhel fotoelektronů byl 45 °. Při spektrální analýze byl proveden Shirleyho odečet pozadí, dekonvoluce píku využívající smíšenou Gausovsko-Lorentzianovou funkci byla provedena softwarem na prokládání křivek WinSpec (University of Namur, Belgie) využívající metodu nejmenších čtverců.

3.2 Příprava elektrod

Výroba sítotiskem připravených grafitových elektrod vycházela z postupu publikovaného v práci Prodromidisea jeho kolektivu [9]. Uvedený postup byl mírně modifikován. Grafitový inkoust Elektrodag PF-407A (Acheson Colloiden, Nizozemí) byl přes polyesterová síta protlačěn pomocí tiskárny Model 247 screen printer (DEK, UK) na polyesterový substrát. Nejprve byly vytištěny vodivé spoje, které byly tvořeny dvěma vrstvami inkoustu. Po prvním tisku byly substráty s natištěnými kontakty sušeny při 120°C po 30 min. Následně byly natištěny plochy pracovních elektrod (ve dvou vrstvách inkoustu) a sušeny při 120°C po 30 min. Po vysušení byly elektrody ponechány přibližně týden na vzduchu. Na každém substrátu byly tištěny po pěti kusech. Před použitím byly jednotlivé elektrody vystříženy ze substrátu tak, aby nebyla poškozena natištěná vrstva.

3.3 Modifikace elektrod

Před vlastní modifikací byly elektrody opláchnuty redestilovanou vodou a osušeny v proudu dusíku. Modifikace na sítotiskem připravených grafitových elektrodách byla prováděna na vysokonapětovém zdroji při napětí 1,2 kV. Modifikace jiskrovým výbojem („ojiskření“) byla prováděna na vzduchu (tj. za přístupu kyslíku) při laboratorní teplotě (přibližně 25 °C). Zapojení elektrod bude označováno dle polarity SPGE. Elektroda zapojená ke kladnému pólu VN zdroje bude (v souladu s relevantní literaturou [10]) označována jako anoda (resp. anodické zapojení SPGE), k zápornému pólu zdroje jako katoda (katodické zapojení SPGE). Zapojení SPGE záviselo na kovu použitým jako materiál protielektrody. Pro bismut byla použita obě zapojení SPGE, při modifikaci niklem, mědí a slitinami Cu/Ni byla SPGE zapojena vždy ke kladnému pólu.

Postup depozice: hrot kovu byl přibližován k SPGE na vzdálenost menší než 0,5 mm, kdy došlo k jiskrovému výboji. Postup byl opakován na ploše celého terčíku (plocha pracovní elektrody). Aplikováno bylo 30 jisker při modifikaci bismutem a 60 při modifikaci niklem, mědí a slitinami Cu/Ni (pokud není uvedeno jinak). Každá část pracovní elektrody byla zasažena jiskrovým výbojem pouze jednou. Celý proces modifikace trval přibližně 30 s. Modifikovaná („ojiskřená“) elektroda byla použita ihned nebo odložena na suché místo a skladována při laboratorní teplotě.

Pro srovnání byly Bi-SPGE připraveny klasickou metodou popsanou v práci Prodromidise a kol. [11]. Příprava spočívala v elektrochemické redukci bismutu z roztoku dusitanu bismutitého v acetátovém pufru. Depozice bismutové vrstvy byla prováděna při $-1,2$ V (vs. Ag/AgCl) po dobu 180 s, koncentrace Bi^{3+} byla 20 mg l^{-1} .

3.4 Elektrochemická měření

Všechna měření proběhla v tříelektrodovém uspořádání, kdy jako pracovní elektroda byla zapojena sítotiskem připravená grafitová elektroda modifikovaná nanomateriály vzniklými při jiskrovém výboji (odvozené od Bi, Ni, Cu nebo slitiny Cu/Ni), resp. neupravená sítotiskem připravená grafitová elektroda. Potenciály byly vztaženy k referentní Ag/AgCl elektrodě naplněné 3 mol.l^{-1} KCl (IJ Cambria). Veškeré potenciály uvedené v experimentální části práce vztaženy k této elektrodě. Jako pomocná elektroda sloužil platinový drátek.

Všechna měření při vývoji senzorů těžkých kovů probíhala v $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ acetátovém pufru. Voltametrická měření probíhala v módu ASV, kdy byla provedena prekoncentrace kovů při potenciálu $-1,2$ V po dobu dvou minut za intenzivního míchání (přibližně $1000 \text{ ot. min}^{-1}$). Před vlastním skenem následoval klidový čas 10 s při počátečním potenciálu. SWV byly měřeny od -1 do $-0,37$ V při frekvenci 50 Hz, potenciálovém kroku $0,0015$ V a amplitudě $0,05$ V. Před měřením nebyl odstraňován rozpuštěný kyslík.

Při měření riboflavinu byly jako základní elektrolyty použity $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ acetátový pufr (pH 4,5), $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ fosfátový pufr (pH 7) a $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ amoniakální pufr (pH 9,2). CV byly měřeny při skenovací rychlosti $0,1 \text{ V.s}^{-1}$. Prekoncentrace riboflavinu (fyzikální adsorpce) probíhala za bezproudového stavu, tj. při rozpojeném elektrickém kontaktu na pracovní elektrodě za míchání po dobu 60 s (pokud není uvedeno jinak). Po 10 s klidového stavu byla změřena SWV voltametrické měření při frekvenci 50 Hz, potenciálovém kroku $0,0015$ V a amplitudě $0,05$ V.

Elektrochemická měření glukosy na Cu, Ni a CuNi modifikovaných elektrodách probíhala v $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ roztoku hydroxidu sodného (pokud není uvedeno jinak). Měření CV probíhala při skenovací rychlosti $0,05 \text{ V.s}^{-1}$. Amperometrická měření probíhala za mírného míchání (přibližně 300 ot min^{-1}). Potenciál aplikovaný na pracovní elektrodu byl $0,55$ V.

3.5 Úprava a zpracování reálných vzorků

Úprava vzorku pitné vody

Vzorek pitné vody byl odebrán po deseti minutách volného odtékání vody (kvůli případné kontaminaci v potrubí). Po odstátí vody bylo do 100 ml odměrné baňky napipetováno 10 ml 1 mol.l^{-1} acetátového pufru (pH 4,5) a doplněno po rysku pitnou vodou. Takto připravený vzorek obsahoval měďnaté kationty, které tvoří intermetalickou sloučeninu s kadmíem i olovem [11].

Analýza vzorku tablety B-komplexu

Několik tablet B-Komplexu forte (Zentiva) obsahujícího vitamíny B1, B2, B3, B5 a B6 bylo rozdrceno v třecí misce. Z rozdrceného materiálu bylo přesně odváženo přibližně 100 mg, převedeno do 50 ml redestilované vody a extrahováno pět minut na ultrazvukové lázni. Suspenze byla přefiltrována přes stříkačkový mikrofiltr (velikost pórů $0,45 \text{ }\mu\text{m}$) a filtr propláchnut dalším podílem vody. Filtrát byl poté zředěn redestilovanou vodou na předpokládanou koncentraci $15 \text{ }\mu\text{mol.l}^{-1}$. Správnost vyvinuté metody byla ověřena při měření extraktu tablety, ve kterém bylo množství riboflavinu navýšeno přídatkem standardu (tzv. „spikování“).

Měření glukosy ve vzorku krevního séra

Vzorek krevního séra zdravého dobrovolníka byl získán ve Fakultní nemocnici v Olomouci. 100 μl neupraveného krevního séra bylo nastříknuto do měřicí cely obsahující 30 ml $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH. Koncentrace krevní glukosy byla změřena metodou standardního přídatku. Výsledek byl srovnán s hodnotou naměřenou přenosným glukometrem. K dalšímu ověření správnosti měření byla před měřením navýšena koncentrace glukosy v krevním séru o 5 mmol.l^{-1} .

4 Výsledky a diskuze

4.1 Studium jiskrového výboje a jeho užití k modifikaci SPGE pomocí kovových nanočástic

Jiskrový výboj je rychlá a relativně jednoduchá metoda přípravy nanočástic odvozených od materiálů elektrod, mezi kterými výboj probíhá. Postup se vyznačuje nulovou spotřebou

rozpouštědel a chemikálií. Vznikající nanočástice lze ovlivnit složením atmosféry, v níž jiskrový výboj probíhá. V atmosféře inertního plynu dochází k tvorbě částic kovu, v přítomnosti kyslíku vznikají částice oxidů. Metodu lze také využít ke tvorbě směsných nanočástic [12]. Výhodou metody tvorby nanočástic pomocí jiskrového výboje je vysoká čistota vytvořených částic, protože nehrozí kontaminace nečistotami obsaženými v modifikačním mediu.

Doposud jediným příkladem použití jiskrového výboje pro úpravu elektrody je práce Millara a kol. [13], která se věnuje úpravě mikroelektrod z uhlíkových vláken. Cílem však nebyla depozice nanočástic odvozených od materiálu protielektrody, ale pouze vytvoření ostrého hrotu na konci vlákna. Jako materiál protielektrody byl použit wolfram, jehož vysoké teploty tání a varu nedovolují převedení kovu do formy plazmatu a následnou depozici. Jiskrový výboj doposud nebyl využit k přímé depozici nanočástic kovu za účelem přípravy modifikovaných elektrod. V disertační práci bych rád demonstroval první využití jiskrového výboje prováděného mezi SPGE a kovovou protielektrodou na vzduchu jako velmi rychlé, efektivní, ekologicky a ekonomicky výhodné metody modifikace SPGE nanočásticemi kovových oxidů odvozených od materiálu protielektrody.

4.1.1 Vliv průběhu jiskrového výboje na vznikající senzory

Průběh jiskrového výboje je dán řadou parametrů, které zásadně ovlivňují množství, tvar a velikost vznikajících kovových nanočástic. V následujících podkapitolách je diskutován vliv napětí, polarit a materiálu elektrod na výsledné analytické vlastnosti vyrobených senzorů.

4.1.1.1 Vliv průrazového napětí

Značný vliv má během jiskrového výboje tzv. průrazové napětí (breakdown voltage), při kterém v první fázi dojde k ionizaci plynů mezi elektrodami a vytvoření vodivého kanálu. Hodnota průrazového napětí (V_d) je dána tvarem elektrod, vzdáleností mezi elektrodami, složením a tlakem plynu mezi elektrodami [14]. Se zvětšující se vzdáleností se zvyšuje i hodnota V_d potřebného k vytvoření vodivého kanálu. Složení atmosféry výrazně ovlivňuje efektivitu výboje, protože elektronegativní molekuly zachycují volné elektrony a zabraňují vzniku výboje. Např. u vzácných plynů (He a Ar) dochází k mnohem menšímu záchytu elektronů a průrazové napětí je mnohem nižší než v dusíku nebo vzduchu. Vyšší tlak plynu způsobuje také navýšení hodnoty V_d .

Celková energie jiskrového výboje je dána velikostí průrazového napětí a kapacitance zdroje C

$$E = \frac{1}{2} CV_d^2$$

Testování vlivu napětí aplikovaného na bismutový hrot bylo prováděno za laboratorních podmínek ve vzduchu. Aplikována byla napětí v rozmezí 500 – 1500 V. Velikost napětí ovlivňuje mezielektrodovou vzdálenost, při které dojde k výboji při přiblížení protielektrody k SPGE. V rozmezí 500 až 900 V bylo obtížné dosáhnout výboje, kvůli velkému přiblížení elektrod docházelo ke kontaktu hrotu a SPGE a nedošlo k jiskře. Od 1000 do 1200 V bylo napětí dostatečné ke spolehlivému průběhu výboje. Při aplikaci vysokých napětí nad 1300 V docházelo již k silnému poškození grafitové vrstvy SPGE. Výboj navíc probíhal nekontrolovaně, místo zásahu nebylo určeno přiblížením hrotu k vybranému místu na elektrodě, ale výboj proběhl do místa s vyšší kumulací náboje (například proběhl mezi protielektrodou a okrajem SPGE).

Optimální napětí na zdroji pro modifikaci bylo 1200 V, při kterém byl jiskrový výboj stabilní, nedocházelo k poškození grafitové vrstvy SPGE a připravené elektrody byly dostatečně modifikovány..

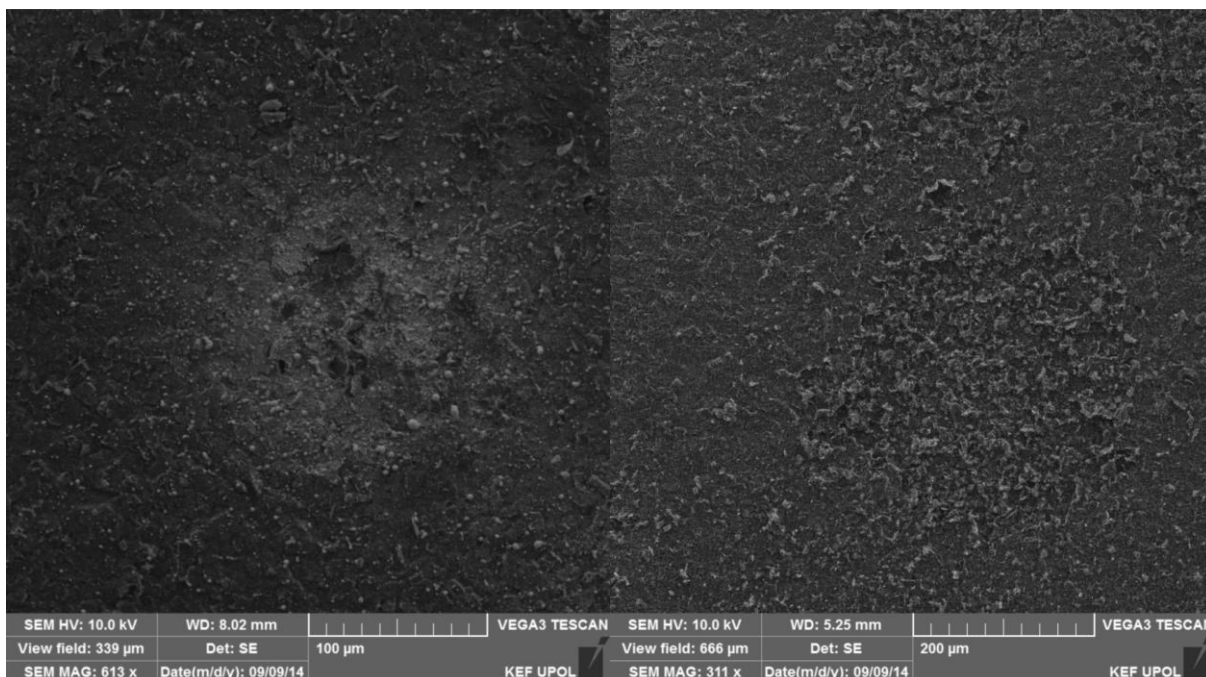
4.1.1.2 Vliv polaritý elektrod

Eroze materiálu při jiskrovém výboji probíhá na obou elektrodách. Úbytek materiálu však není stejný a závisí na polaritě elektrod. Pokud by byly obě elektrody stejné (tvar a materiál), dojde k mnohem větší erozi katody [14]. Důvodem je rozdílná kinetická energie částic předaná při nárazu na protielektrodu (kationtů na katodu, elektronů na anodu). Nerovnoměrnost depozice při jiskrovém výboji v závislosti na polaritě potvrdila i data získaná pomocí SEM a CV.

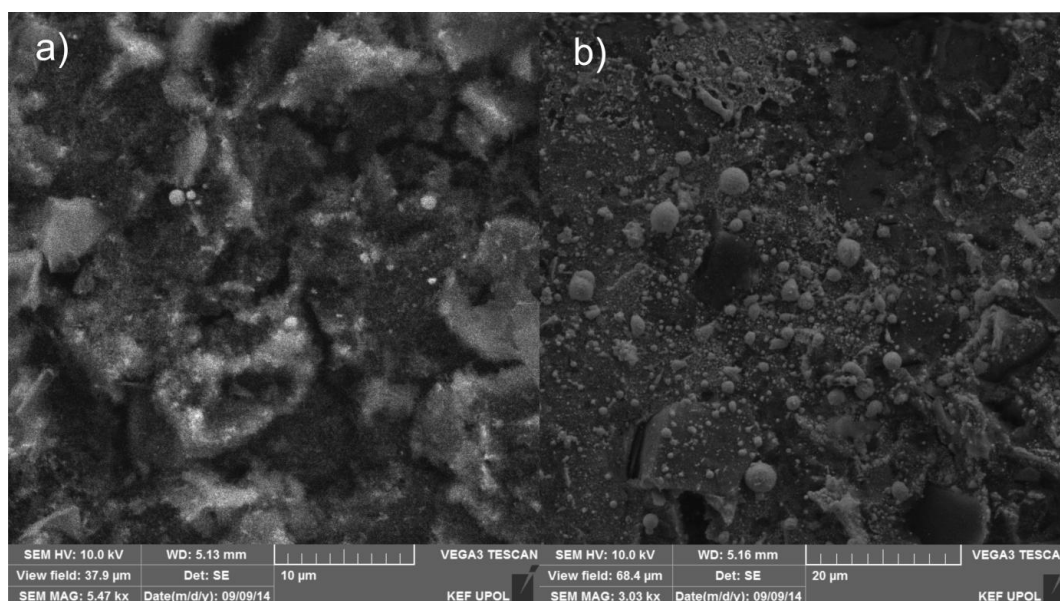
Aplikací jiskrového výboje na SPGE zapojenou ke kladnému pólu napájecího zdroje došlo k přenosu relativně velkého množství bismutu. Bismut vytvořil v místě dopadu jiskry jednak kompaktní vrstvu pokrývající grafitový substrát (viz Obr. 1 vlevo) a také bismutové částice o velikostech v řádu stovek nm (viz Obr. 2 b)). Při depozici došlo k oxidaci části bismutu na Bi_2O_3 vzdušným kyslíkem. Přítomnost elementárního bismutu dokládá oxidační pík okolo 100 mV v prvním skenu na cyklickém voltamogramu (viz. Obr. 3 vlevo).

Rozdílná situace nastává při katodickém zapojení SPGE. Větší část energie jiskrového výboje je pohlcena SPGE, na níž došlo k odpaření grafitu z elektrody, vzniku kráterů a zdrsnění povrchu v místě dopadu (viz Obr. 1 vpravo). Na SEM snímcích je patrné, že

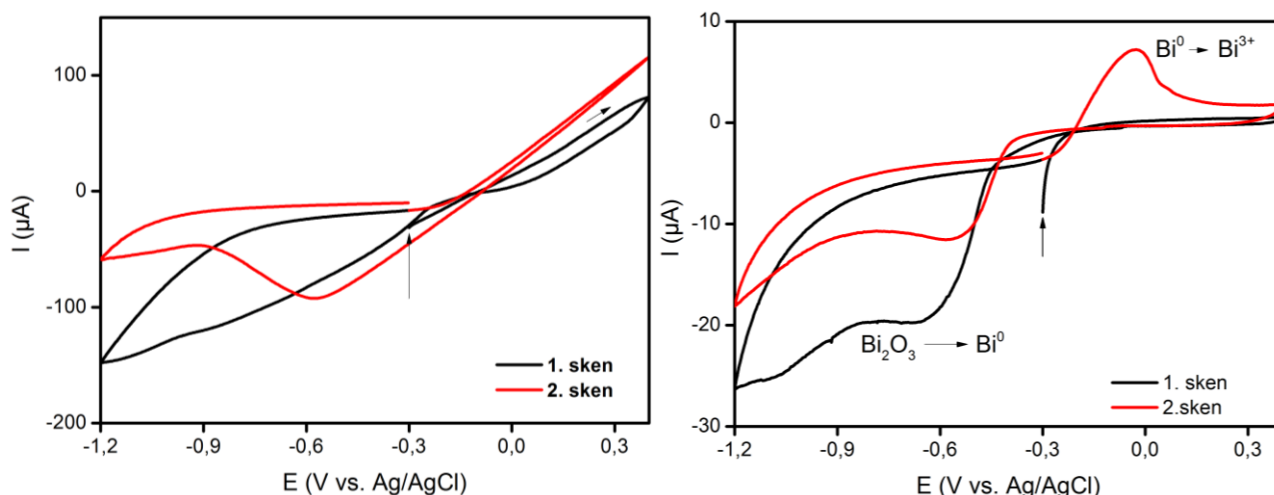
kompaktní bismutová vrstva v místě dopadu výboje zcela chybí. Kulovitých částic oxidu bismutu je podstatně méně a jejich rozměry nepřekračují 100 nm (viz Obr. 2 a)). Bismut na katodicky modifikované SPGE je pouze ve formě oxidu, což dokazuje absence oxidačního píku bismutu při -100 mV v prvním skenu (černá křivka Obr. 3 vpravo). Ve druhém skenu je již patrný oxidační pík elementárního bismutu vzniklého redukcí Bi_2O_3 při katodickém skenu (viz červená křivka Obr. 3 vpravo).



Obr. 1 SEM snímek bismutem ojiskřené SPGE zapojené jako anoda (vlevo) a katoda (vpravo).



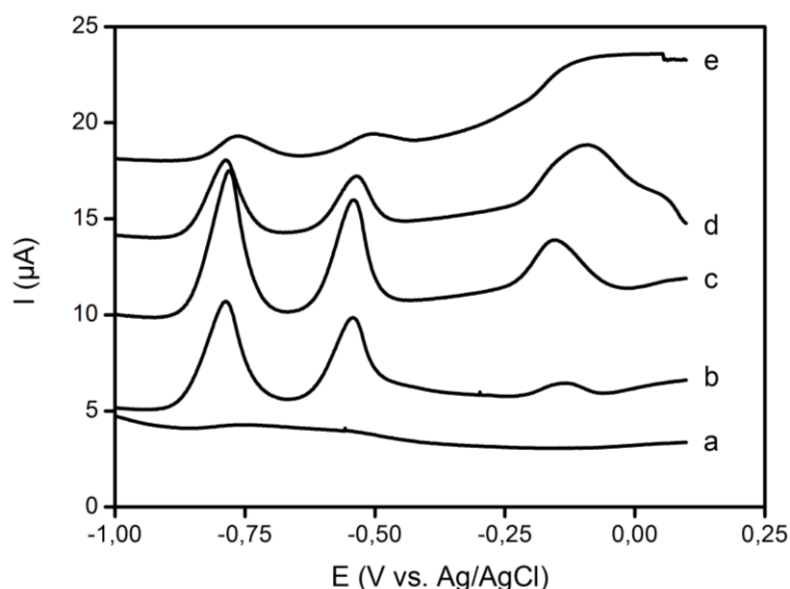
Obr. 2 SEM snímky bismutem ojiskřených SPGE: detail na místo dopadu jiskrového výboje při a) katodickém zapojení b) anodickém zapojení



Obr. 3 CV Bi-SPGE zapojené jako: vlevo anoda, vpravo katoda. Skenovací rychlost $0,1 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ acetátový pufr (pH 4,5), šipka označuje začátek skenu.

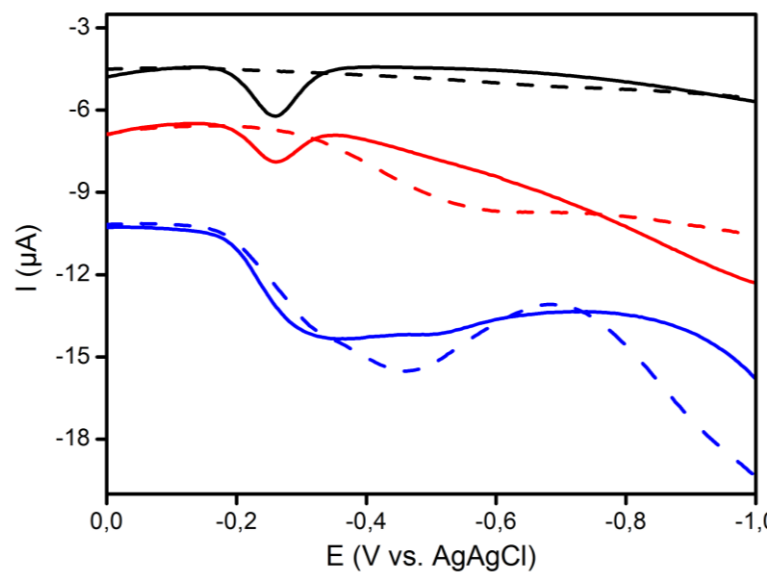
Vliv polarity zapojení senzorů při modifikaci na citlivost ASV stanovení byl testován na modelové směsi olovnatých a kademnatých iontů v acetátovém pufru. Množství bismutu (pík při -100 mV) na senzorech upravených v katodickém zapojení při depozici (viz Obr. 4 křivky b), c) a d)) bylo mnohem menší než v případě anodického (Obr. 4 křivka e)). Je patrné, že odezva na těžké kovy (píky: Cd^{2+} -800 mV , Pb^{2+} -550 mV) nezávisí na celkovém množství bismutu na elektrodě. SPGE se vzniklou kompaktní vrstvou bismutu (resp. Bi_2O_3) vznikající při kladném zapojení vykazovaly mnohem menší odezvu než SPGE pokrytá menším množstvím malých diskretních nanočástic vznikajících při katodické modifikaci.

Navýšení množství diskretních nanočástic na katodicky zapojené SPGE nebylo vhodné dosahovat zvýšením počtu jiskrových výbojů. Vyšší počet výbojů vede k překryvu zasažených míst, což pravděpodobně způsobuje narušení vzniklé vrstvy nanočástic. Optimální počet jisker byl pro bismut přibližně 20 až 25, při aplikaci vyššího počtu výbojů docházelo ke snižování odezvy na těžké kovy.

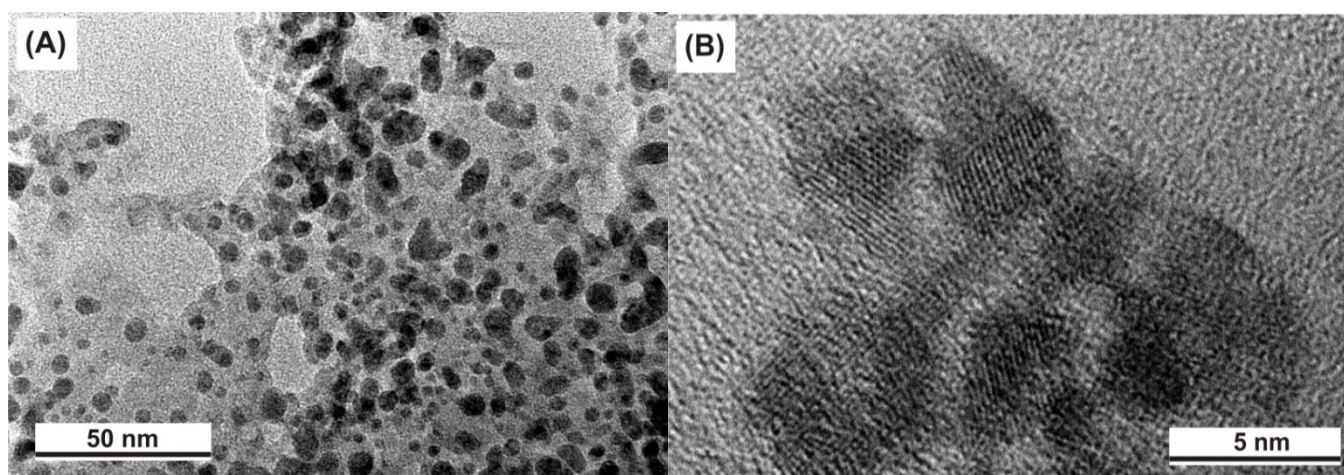


Obr. 4 Srovnání SW voltametrických měření na a) neupravené SPGE, b) katodicky ojiskřené Bi-SPGE s 10 jiskrami při modifikaci, c) katodicky ojiskřené Bi-SPGE s 20 jiskrami při modifikaci, d) katodicky ojiskřené Bi-SPGE s 30 jiskrami při modifikaci, e) anodicky ojiskřené Bi-SPGE s 30 jiskrami při modifikaci. Podmínky při měření: 0,1 mol.l⁻¹ octan sodný (pH 4,5), 50 µg.l⁻¹ Pb²⁺ a Cd²⁺.

Další výhody katodického zapojení SPGE během modifikace jiskrovým výbojem lze demonstrovat při stanovení riboflavinu, který byl zvolen jako modelový analyt reprezentující elektroaktivní organickou látku. Při použití elektrolyticky připravené bismutem modifikované elektrody působí redukce rozpuštěného kyslíku značné nesnáze (viz Obr. 5, modré křivky). I přes relativně vysokou koncentraci riboflavinu v měřeném roztoku je jeho odezva zcela překryta proudovou odezvou redukce kyslíku. Oproti tomu na záznamu jiskrovým výbojem modifikované Bi-SPGE není patrná žádná interference rozpuštěného kyslíku (Obr. 5, červená křivka). Lze předpokládat, že příčinou je grafitová vrstva pokrývající nanočástice oxidu bismutitého. Na TEM snímcích je patrný šedý grafitový film pokrývající nanočástice bismutu (viz Obr. 6). V průběhu jiskrového výboje při katodickém zapojení SPGE dochází k odpaření velkého množství uhlíku. Ten po ukončení výboje kondenzuje na nanočásticích oxidu bismutitého deponovaných na SPGE.



Obr. 5 SWV 40 nmol.l⁻¹ riboflavinu v 0,1 mol.l⁻¹ acetátovém pufru na bismutem modifikované SPGE v roztoku a) bez rozpuštěného kyslíku (černá), b) s rozpuštěným kyslíkem (červená), c) měření na elektrolyticky pobismutované SPGE v přítomnosti kyslíku (modrá). Prekoncentrace probíhala za bezproudového stavu po dobu 60 s. Čárkovaně jsou uvedeny záznamy základního elektrolytu.



Obr. 6 TEM snímky nanočástic oxidu bismutitého z povrchu katodicky ožiskřené SPGE pokryté vrstvou grafitu.

Další testování vlivu polarity proběhlo při modifikaci SPGE pomocí niklu, mědi a jejich slitin. Mnohem vyšší energetické nároky na přenos těchto kovů do formy plazmatu byly

katodicky modifikované elektrody pokryty příliš malým množstvím kovových částic, což vedlo k výrazně nižším odezvám glukosy, a dané zapojení dále nebylo testováno.

4.1.1.3 Vliv fyzikálních vlastností materiálu na množství hmoty převáděné při jiskrovém výboji do plazmatu

Velikost průrazového napětí a polarita zapojení určují velikost celkové energie jiskrového výboje, která způsobuje roztavení a odpaření materiálu elektrod. Množství materiálu uvolněného do plazmatu závisí na fyzikálních vlastnostech. Vliv parametrů ovlivňujících přibližnou hmotnost látky, která je přenesena z elektrody při jiskrovém výboji, je popsán rovnicí 2 [14].

Rovnice 2:

$$m = \frac{\frac{1}{2}c_e V^2 - bT_b^4 - gk(T_b - T)}{C_{ps}(T_m - T) + \Delta H_m + C_{pl}(T_b - T_m) + \Delta H_v}$$

c_e - kapacitance prostředí (F)

V - průrazové napětí (V)

$b = A\sigma t$ ($J K^{-4}$) kde σ je Stefan-Boltzmanova konstanta a t je čas trvání energetického přenosu.

T_b je teplota varu kovu (K)

k je tepelná vodivost materiálu ($W m^{-1} K^{-1}$)

T je teplota kovu daleko od místa zasaženého výbojem (ve většině případů laboratorní teplota, K)

$g = 2(\pi A)^{0.5}$ kde A odpovídá poloměru r (m) za předpokladu, že $(r^2/Kt)^{0.5} \ll 1$ (K je tepelná difuzivita ($m^2 s^{-1}$) t je čas (ms))

C_{ps} průměrná tepelná kapacita pevného materiálu ($J g^{-1} K^{-1}$)

T_m je teplota tání kovu (K)

ΔH_m enthalpie tání daného materiálu ($J g^{-1}$)

C_{pl} průměrná tepelná kapacita roztaveného kovu ($J g^{-1} K^{-1}$)

ΔH_v enthalpie vypařování kovu ($J g^{-1}$)

Konstanty c_e , b a g jsou nezávislé na materiálu elektrody.

Rovnice popisuje vliv základních materiálových vlastností a procesů, které mají vliv na využití energie výboje. První člen v čitateli ($\frac{1}{2}c_e V^2$) reprezentuje efektivní energii výboje. Tato energie je předávána hrotu protielektrody, dochází však ke ztrátám tepla vyzařováním

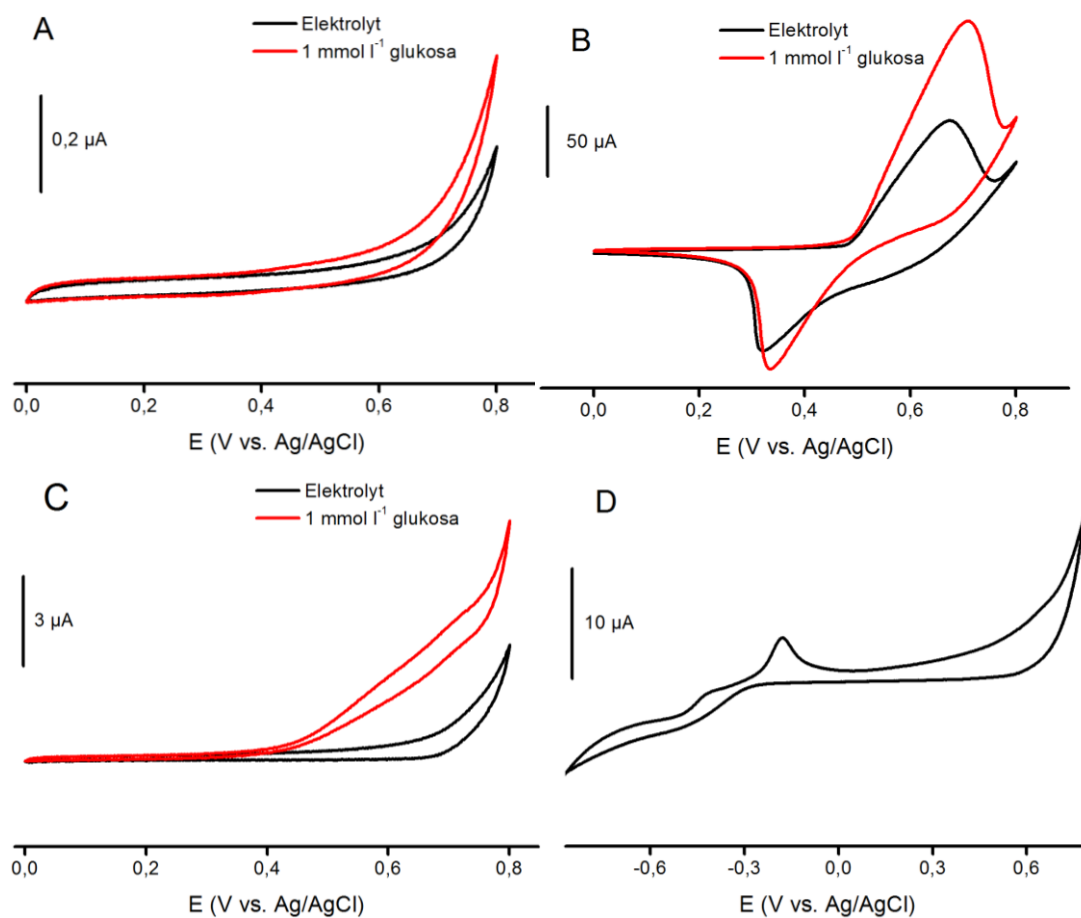
$(-bT_b^4)$ a vedením $(-gk(T_b - T))$. Jmenovatel popisuje energetické nároky potřebné k zahřátí kovu k bodu tání $(c_{ps}(T_m - T) + \Delta H_m)$ a bodu varu $(c_{pl}(T_b - T_m) + \Delta H_v)$.

Před odpařením musí kov dosáhnout teploty tání a varu. Obecně lze konstatovat, že kovy s nižší teplotou tání a varu lze deponovat snadněji. I přes vysokou rychlost ohřevu kovu během jiskrového výboje dochází ke ztrátám tepelné energie. Menší část energie ztratí elektroda ve formě záření, větší ztráty jsou způsobeny tepelnou kondukcí. Množství odvedené tepelné energie je ovlivněno tepelnou vodivostí materiálu. Vliv rozdílů v teplotách tání, varu a tepelné vodivosti lze velmi dobře demonstrovat při přípravě SPGE modifikovaných pomocí mědi, niklu nebo jejich vzájemných slitin. Tyto materiály vykazují katalytické účinky na oxidaci glukózy, což bylo využito při vývoji neenzymatických senzorů glukózy (viz kapitola 4.2.3).

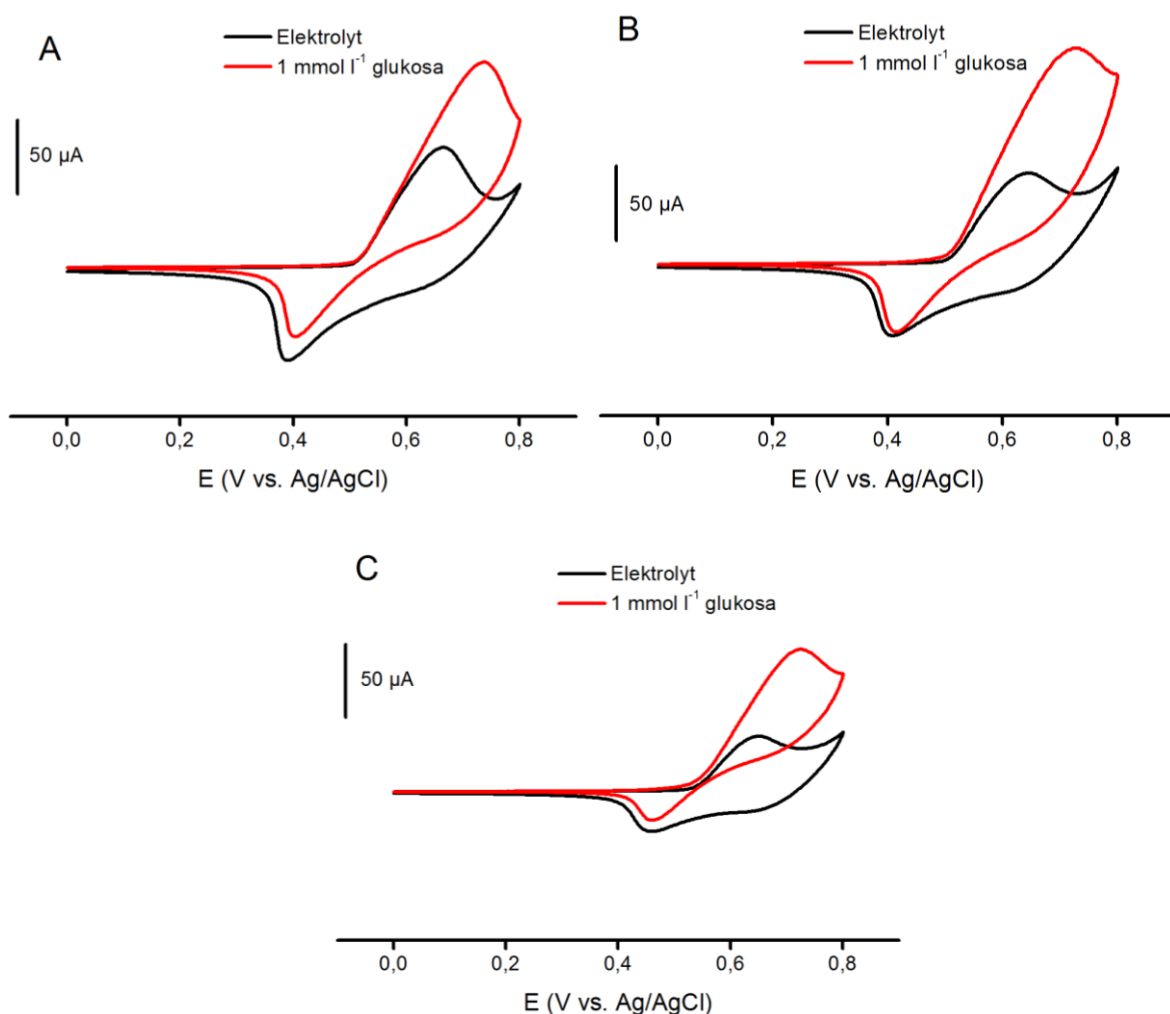
SPGE byly modifikovány niklem, mědí nebo jejich slitinami v hmotnostních poměrech 25/75, 50/50 a 75/25. Pomocí CV bylo sledováno množství deponovaného materiálu a velikost proudové odezvy modifikovaných senzorů na oxidaci glukózy. Kov deponovaný na elektrodě se projevoval charakteristickými píky odpovídající oxidaci/redukci v silně zásaditém prostředí. Při CV niklem ojikšené SPGE byl patrný výrazný redoxní pár Ni^{2+}/Ni^{3+} při potenciálu 500 mV (proti Ag/AgCl, viz Obr. 7 b)). Zcela rozdílná situace nastává u SPGE modifikovanou mědí, kde v anodickém skenu není patrný žádný pík odpovídající přechodům mezi oxidačními stupni mědi (Obr. 7 c)). Přítomnosti mědi na elektrodě prokázal až sken v katodické oblasti, kde jsou patrné píky redoxních přeměn mědi (Cu^{I-II} , Obr. 7 d)). Během jiskrového výboje byla depozice niklu mnohem účinnější, a to i přesto, že měď má nižší teplotu tání a varu než nikl (viz Tab. 1). Rozdíl je způsoben účinnějším ochlazením měděného hrotu díky její více než čtyřnásobné tepelné vodivosti a v konečném důsledku nízké efektivitě depozice materiálu na SPGE.

Tab. 1 Srovnání tepelné vodivosti a teplot tání a varu mědi, niklu a slitiny Cu/Ni [15]

Materiál	Tepelná vodivost ($W m^{-1} K^{-1}$)	T_m (K)	T_b (K)
Cu	401	1358	2835
Ni	91	1728	3003
Slitina Cu a Ni	20	1480	-



Obr. 7 CV změřené na a) neupravené SPGE, b) niklem ojiskřené SPGE, c) mědi ojiskřené SPGE, d) mědi ojiskřené SPGE rozšířená do katodické oblasti s píky přechodů mědi. Černá křivka: základní elektrolyt, červená: 1 mmol.l⁻¹ glukosy. Podmínky při měření: ZE 0,5 mol.l⁻¹ NaOH, skenovací rychlost 0,05 V.s⁻¹.



Obr. 8 CV změřené pomocí SPGE modifikovaných slitinami mědi a niklu v hmotnostním poměru a) 75 % Ni a 25 % Cu, b) 50 % Ni a 50 % Cu, c) 25 % Ni a 75 % Cu. Černé křivky: ZE, červená: 1 mmol.l⁻¹ glukosy. Podmínky při měření: ZE 0,5 mol.l⁻¹ NaOH, skenovací rychlost 0,05 V.s⁻¹.

Oproti čistým kovům mají slitiny mědi a niklu rozdílné fyzikální vlastnosti. Teplota tání je sice vyšší než v případě čisté mědi, zásadní je však snížení tepelné vodivosti slitin dosahující přibližně jedné dvacetiny mědi a čtyřnásobně menší než u niklu. Nízká tepelná vodivost vede k menšímu ochlazování hrotu, což má za následek větší přenos kovu do plazmatu a následnou kondenzaci. Ve srovnání s elektrodou modifikovanou čistým niklem je na CV patrné snížení celkového množství niklu na úkor mědi korespondující se snižujícím se obsahem niklu ve slitině (viz Obr. 8). Poměr kovů přenesených na elektrodu však zcela neodpovídal složení slitiny použité k modifikaci. Během ojiskřování dochází díky nižší teplotě varu mědi k účinnějšímu přenosu. Proces připomíná destilaci, při níž dochází ke zvýšení obsahu méně těkavé složky (niklu) na hrotu slitiny (viz Tab. 2) a většímu přenosu těkavější složky (mědi)

do plazmatu, respektive na elektrodový povrch. Obdobné chování směsí kovů s rozdílnou teplotou tání a varu je také popisováno v literatuře [16].

Tab. 2 Srovnání složení slitiny před a po jiskrovém výboji a deponovaného materiálu na SPGE získaných pomocí EDS

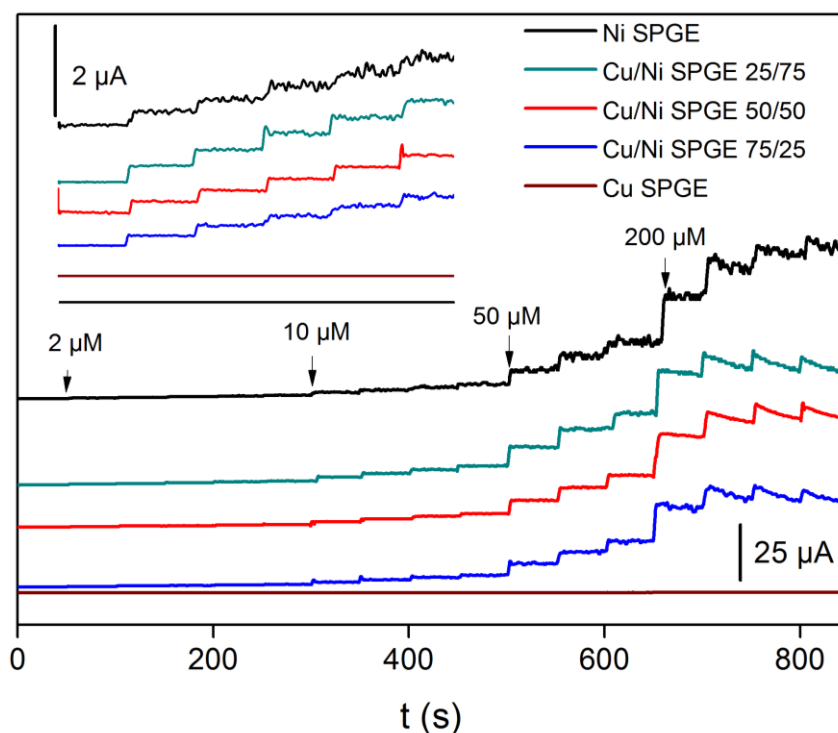
	atomová %	
	Cu	Ni
Slitina Cu/Ni 50/50	48	52
Hrot slitiny*	43,5	56,5
Ojiskřená Cu/Ni-SPGE	65	35

*po přibližně 600 jiskrových výbojích

Ze SEM snímků byla patrná rovnoměrná distribuce kovových částic na celé ploše zasažené jiskrovým výbojem. Při modifikaci niklem a slitinami mědi a niklu (ve všech třech poměrech) vznikají částice o velikosti přibližně 200 nm. Větší aglomeráty lze přisoudit přenosu kapalného materiálu během jiskrového výboje [14].

V dalších experimentech byly porovnávány různě modifikované SPGE podle velikosti proudové odezvy na oxidaci glukosy. CV potvrdily, že na nemodifikované elektrodě nedochází ke katalýze. Po modifikaci kovovými částicemi je vidět nárůst odezvy. V případě mědi je nárůst relativně malý, což může být způsobeno menším množstvím kovu na elektrodě, resp. jeho nižší aktivitou ve srovnání s niklem. Jak je vidět z CV, v případě niklu nebo slitinových senzorů byla proudová odezva mnohem vyšší (viz Obr. 7 a 8). Důvodem může být vyšší množství kovu na elektrodě. Je patrné, že elektrody modifikované materiálem s vyšším obsahem niklu (50 hm. % nebo více) mají v CV vyšší odezvy na glukosu.

Při testování v amperometrickém uspořádání (viz Obr. 9) se ukázalo, že elektrody modifikované čistou mědí dosahovaly výrazně menší odezvy než senzory obsahující nikl. Čistým niklem modifikované elektrody ale vykazovaly mnohem vyšší šum než slitinové senzory při relativně obdobné odezvě na přídatky glukosy. Podobně jako v CV se i v amperometrii velikost signálu lehce zvyšovala s narůstajícím obsahem niklu u slitinových senzorů. Nejvyšší stabilita signálu a zároveň nejvyšší poměr signálu k šumu byly registrovány na elektrodách modifikovaných slitinou Cu/Ni v poměru 50/50.



Obr. 9 Srovnání amperometrických měření glukosy na SPGE modifikovaných niklem (černá), slitinou Cu/Ni ve hmotnostním poměru 25/75 (zelená), slitinou Cu/Ni ve hmotnostním poměru 50/50 (červená), slitinou Cu/Ni ve hmotnostním poměru 75/25 (modrá) a mědi (hnědá). Vložený obrázek: detail na prvních pět nástřiků glukosy ($2 \mu\text{mol.l}^{-1}$). Podmínky při měření: ZE $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH, $E = 0,55 \text{ V}$.

Pomocí XPS bylo změřeno složení senzorů připravených modifikací pomocí slitiny mědi a niklu v hmotnostním poměru 50/50. Aktivní plocha senzoru obsahovala $78,7 \pm 3,7 \%$ uhlíku, $18,8 \pm 0,8 \%$ kyslíku, $1,8 \pm 0,2 \%$ mědi a $0,7 \pm 0,1 \%$ niklu (% at.). Celkové množství mědi je ve výrazném přebytku nad niklem, což je ve shodě s výsledky EDS měření (viz Tab. 5). Z výsledků lze vyloučit přítomnost sloučenin s vazbou Cu-C, resp. Ni-C.

Ze spektra niklu $2p_{3/2}$ plyne, že veškerý nikl na elektrodě je ve vázané formě. Prakticky v rovnováze jsou oxidační stavy Ni^{2+} a Ni^{3+} . Oxid nikelnatý tvoří asi 17,5 % celkového množství niklu. Vzhledem k tomu, že jiskrový výboj probíhá za vysokých teplot, dá se usuzovat, že část oxidu přešla účinkem vzdušné vlhkosti na hydroxid nikelnatý (26 %). Nadpoloviční podíl pak tvoří Ni_2O_3 .

Ze spektra mědi $2p_{3/2}$ lze zjistit chemické formy mědi na ožiskřené elektrodě. Na rozdíl od niklu se měď na elektrodě nachází i ve svém elementárním stavu (přibližně 13 %). Dominantní podíl má hydroxid měďnatý (37 %), který analogicky jako u niklu vzniká navázáním vzdušné vlhkosti na částice CuO (26,4 %). Oxid je v podobném množství jako CuO_xCl (24 %).

Píky NiO při 854 eV byly ve slitinovém senzoru posunuty o 0,3 eV oproti elektrodě modifikované pouze niklem. Posun je způsoben přítomností směsných částic CuO a NiO na elektrodě. Podobně lze pozorovat posun i u píku CuO. Přibližně čtvrtina kovového materiálu naneseného na elektrodu během jiskrového výboje je směs oxidu nikelnatého a měďnatého v poměru přibližně 1:4 (at. Ni : at Cu.).

4.2 Analytické aplikace SPGE modifikovaných pomocí jiskrového výboje

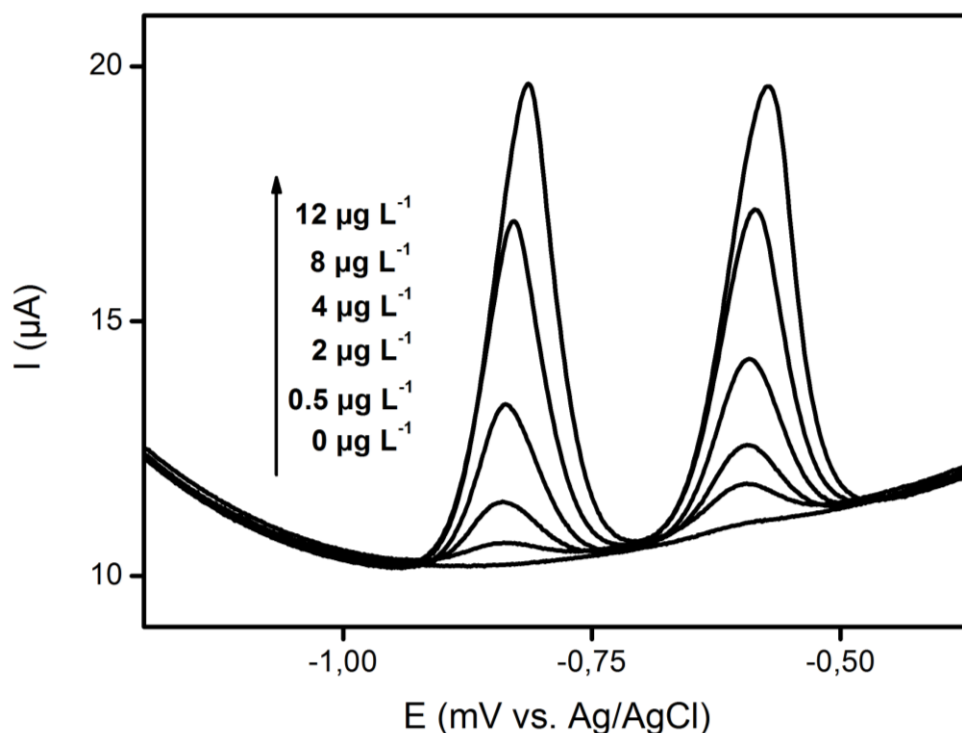
Mezi technikami používanými k depozici kovových částic na elektrody patří jiskrový výboj k nejrychlejším a nejjednodušším metodám. Při jiskrovém výboji lze připravit částice různých velikostí a lze regulovat množství kovu. Metoda je též vhodná k depozici čistého kovu nebo jejich směsí. Pomocí depozice kovových částic lze připravit senzory schopné měřit velice široké spektrum analytů. V dalších podkapitolách bych rád stručně prezentoval praktické aplikace SPGE modifikovaných kovovými částicemi připravenými jiskrovým výbojem.

4.2.1 Měření olova a kadmia ve vzorcích pitné vody na Bi - SPGE

Zjištěné poznatky o průběhu jiskrového výboje a jeho vlivu na vlastnosti nanočástic byly využity při vývoji bismutem modifikovaných SPGE vhodných ke stanovení olova a kadmia. Olovo a kadmium jsou kovy nebezpečné pro životní prostředí, proto je potřeba monitorovat jejich koncentrace ve vodách, a to jak v průmyslových provozech, tak i při kontrole kvality vod s minimálním znečištěním. Koncentrace olovnatých a kademnatých iontů v pitné vodě je limitována státní normou (ČSN 75 7111 Pitná voda). Nízký obsah v pitné vodě vede k využívání citlivých analytických metod ke stanovení těchto nebezpečných látek. Vedle spektrálních metod lze využít i elektrochemickou detekci na rtuťových [17-19] nebo bismutových [20, 21] elektrodách.

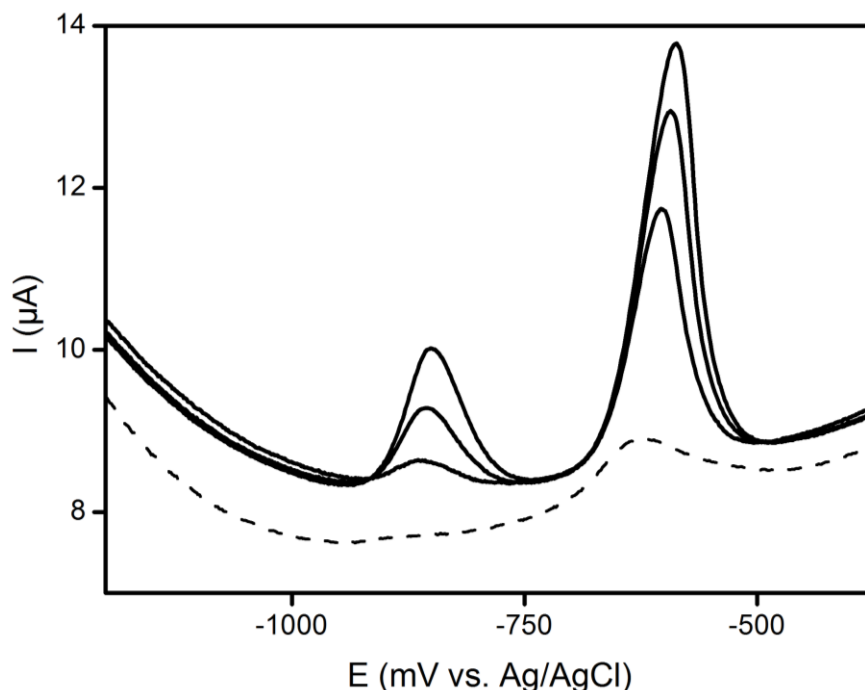
SPGE modifikované bismutovými nanočásticemi připravenými jiskrovým výbojem poskytovaly stabilní proudové odezvy pro kademnaté a olovnaté ionty po 10 až 15 skenů, což je více než dostačující pro naměření kalibračních závislostí nebo analýzu vzorku metodou standardního přídatku. Odezva senzorů byla lineární v rozsahu koncentrací (každého kovu) od 0,5 do 12 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (pro Pb^{2+} $R^2 = 0,997$, pro Cd^{2+} $R^2 = 0,996$). Relativně úzký lineární rozsah může být způsoben rychlým nasycením relativně malého množství bismutu na elektrodě.

Limit detekce (kadmium, olovo) byl $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ pro poměr signál/šum = 3, což je nižší hodnota, než je obvykle dosahováno u elektrod podobné konstrukce [22, 23]. Reprodukovatelnost mezi senzory vyjádřená pomocí % RSD byla u olova 10,2 %, u kadmia 8,9 % (pro $n = 4$, koncentrační hladina $10 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$).



Obr. 10 Square wave voltamogramy měření těžkých kovů v koncentracích od 0 do $12 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ Pb^{2+} a Cd^{2+} , $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ octan sodný (pH 4,5), depoziční potenciál $-1,2 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) po dobu 120 s.

Pitná voda je relativně jednoduchou matricí, jediné úskalí je přítomnost velkého množství měďnatých kationtů v roztoku, jejichž zdrojem jsou měděná potrubí. Cd^{2+} i Pb^{2+} tvoří s měďnatými kationty intermetalickou slitinu, která neposkytuje elektrochemickou odezvu (viz Obr. 11, čárkovaná křivka). Koncentrace mědi bývá až desetinásobně vyšší než koncentrace olova [11]. Odstranění této interference lze dosáhnout přidávkem $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, který měď váže do komplexu. Při výrazném nadbytku $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ však dochází ke tvorbě komplexů i s analyty a vede ke snížení odezvy obou kovů. Po optimalizaci úpravy vzorku vody byla k analýze kadmnatých a olovnatých kationtů použita metoda standardního přídatku.



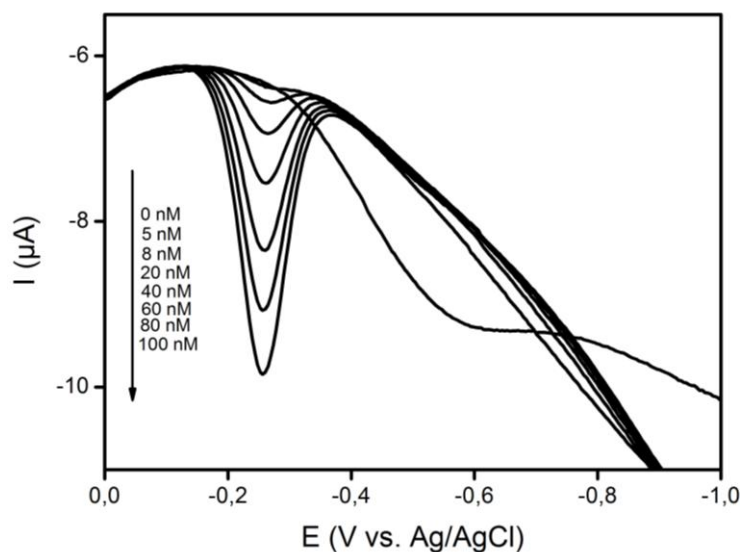
Obr. 11 Square wave voltamogramy měření těžkých kovů ve vzorku pitné vody bez úpravy (přerušovaná čára) a po přidání hexakyanoželeznatanu draselného (plná čára) s dvěma $2 \mu\text{mol.l}^{-1}$ přísady standardního roztoku kademnatých a olovnatých iontů, deponiční potenciál $-1,2 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl) po dobu 120 s.

Pomocí bismutem ojiskřené SPGE byly úspěšně zjištěny koncentrace těžkých kovů ve vzorku pitné vody. Obsah kadmia byl $0,78 \mu\text{g.l}^{-1}$ a u olova $6,85 \mu\text{g.l}^{-1}$. Výsledky byly ve shodě s referentní metodou METROHM AN:V-086 (kadmium $0,75 \mu\text{g.l}^{-1}$ a olovo $6,73 \mu\text{g.l}^{-1}$). Předložené výsledky dokazují, že metoda jiskrového výboje může být použita k přípravě bismutových nanočástic na povrchu tištěných grafitových elektrod, které lze použít ke stanovení těžkých kovů v pitné vodě.

4.2.2 Stanovení riboflavinu v tabletě B-komplexu pomocí Bi - SPGE

Riboflavin (vitamín B2) je důležitý pro správnou funkci těla. Hraje roli v metabolismu živin jako součást enzymů apod. [24]. Část vitamínu B2 je přijímána ve formě potravinových doplňků, ve kterých je potřeba jeho obsah kontrolovat. Riboflavin v tabletách nebo přípravcích lze stanovit elektrochemicky, kdy se využívá jeho relativně snadné redukce. Riboflavin lze stanovit pomocí senzorů na bázi rtuti [25] nebo bismutu [26]. Jednou z předností SPGE modifikovaných jiskrovým výbojem je velmi malá vnímavost vůči interferující redukci rozpuštěného kyslíku. Lze tedy zkrátit čas potřebný pro měření a není potřeba zavádět přívod plynu k odstranění kyslíku. Jako další předností lze uvést vysokou citlivost na riboflavin. Bez předchozí prekoncentrace analytu (pouze difúzí transportovaný

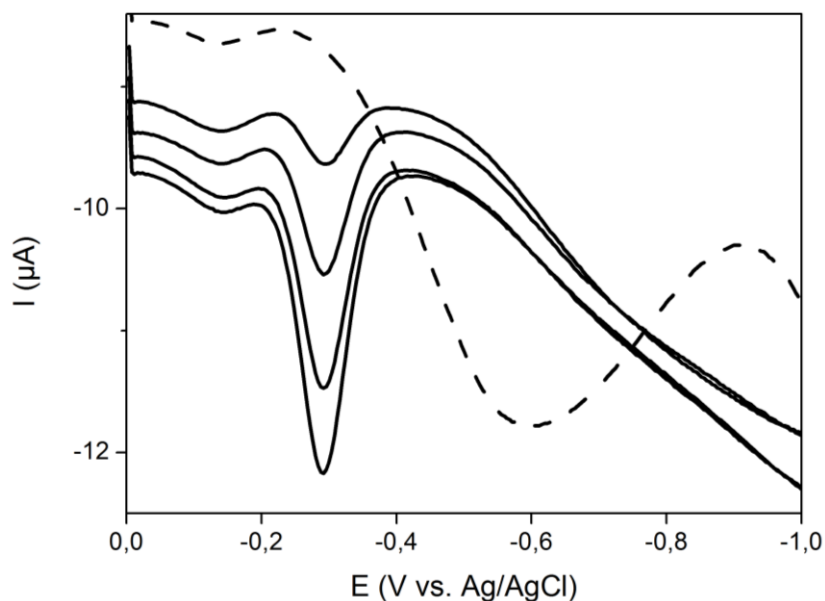
riboflavin) byl limit detekce (pro $S/N=3$) $0,7 \text{ nmol.l}^{-1}$ a lineární odezva v širokém rozsahu koncentrací od 5 do 100 nmol.l^{-1} riboflavinu ($R^2 = 0,998$).



Obr. 12 Záznam SW voltammetrických měření kalibračních roztoků riboflavinu v rozmezí koncentrací 0 až 100 nmol.l^{-1} za přítomnosti kyslíku bez prekoncentrace. ZE: $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octan sodný.

Při 60 s míchání roztoku došlo k prekoncentraci (adsorpci) analytu na elektrodě, což vedlo ke zvýšení proudové odezvy. Senzory při prekoncentračním kroku poskytovaly lineární odezvy v řádu koncentrací od 1 do 100 nmol.l^{-1} ($R^2 = 0,999$), limit detekce riboflavinu (pro $S/N = 3$) byl $0,5 \text{ nmol.l}^{-1}$. Vyšší časy depozice než 60 s pomohly snížit limity detekce metody, ale u vyšších koncentrací riboflavinu (od 50 nmol.l^{-1}) docházelo k deformaci a rozšiřování píku, což znesnadňovalo odečítání proudové odezvy. Mírné štěpení píku riboflavinu je patrné už i u nejvyšších koncentrací při 60 s prekoncentrací. Příčinou štěpení signálu byla pravděpodobně interakce mezi molekulami analytu na povrchu senzoru [27].

Za optimalizovaných podmínek byl stanoven riboflavin v extraktu tablet B-Komplexu forte (Zentiva Group a.s. Praha). Vodný extrakt tablety byl naředěn $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ acetátovým pufrům pH 4,5. Měření bylo provedeno na jiskrovým výbojem modifikované Bi-SPGE v přítomnosti kyslíku za depozičního času 0 s. Ke vzorku byly přidány tři přídavky standardního roztoku riboflavinu tak, aby každý přídavek způsobil změnu koncentrace o 20 nmol.l^{-1} . Výrobce je deklarovaný obsah 15 mg riboflavinu v tabletě, pomocí Bi-SPGE bylo změřeno 14,47 mg. Přesnost vyvinutých senzorů byla poté ověřena v „ospikovaném“ extraktu tablety. Výťažnost metody byla 98 %.



Obr. 13 Záznam SW voltametrických měření extraktu tablety B-komplexu Forte a třech 20 nmol.l^{-1} standardních přídavek riboflavinu pomocí bismutem ojiskřené SPGE, čárkovaně záznam blanku, měření provedeno bez prekoncentrace za bezproudového stavu. ZE: $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ octan sodný.

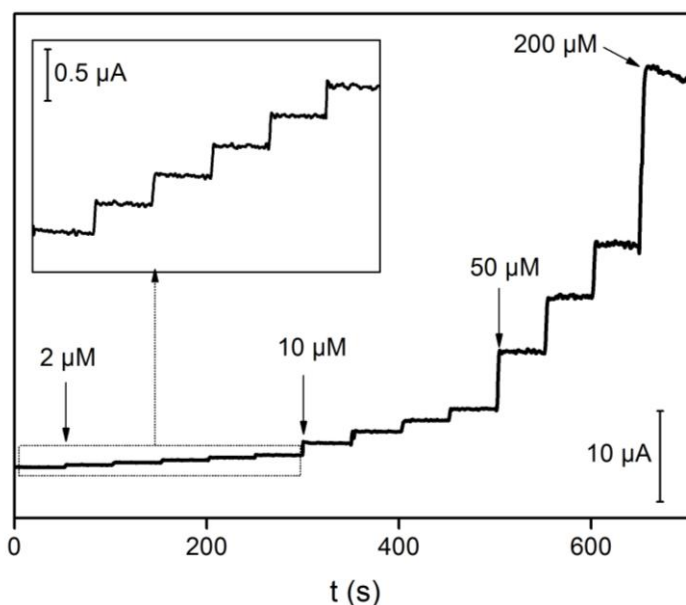
Mezi výhody bismutem ojiskřených SPGE lze uvést velmi krátký čas potřebný pro přípravu elektrody, menší nároky na instrumentaci, kratší čas potřebný pro měření díky absenci probublávání k odstranění kyslíku, velmi dobrou reprodukovatelnost mezi jednotlivými senzory a v neposlední řadě také velmi vysokou citlivost senzorů. Limity detekce stanovení riboflavinu na bismutem ojiskřených SPGE jsou výrazně nižší než u běžně používaných elektrolyticky připravených bismutových elektrod [26] a jsou na podobné úrovni jako senzory na bázi rtuti [25].

4.2.3 Stanovení glukosy ve vzorku krevního séra pomocí Cu/Ni - SPGE

Glukosové senzory sloužící k rychlému orientačnímu zjištění a monitoringu koncentrace glukosy v krvi pacientů s diabetem. Nejčastěji se jedná o kovovou elektrodu, na které je imobilizován enzym glukosaoxidasa, která reakcí s glukosou vytváří peroxid vodíku (popř. jiný mediátor), který je poté detekován pomocí elektrody [28]. Možná denaturace enzymu a problémy s přenosem elektronu přes mediátor vedou ke snaze vyvinout neenzymatický senzor, který využívá katalytického účinku oxidů některých přechodných kovů k oxidaci glukosy. Výměna elektronu pak probíhá přímo mezi oxidem kovu na povrchu elektrody

a glukosou. Měď a nikl jsou jedny z nejpoužívanějších materiálů používaných k přípravě glukosových senzorů.

SPGE byly modifikovány jiskrovým výbojem pomocí mědi, niklu nebo jejich slitin. Z testovaných materiálů byla na základě výsledků ze SEMu, CV a amperometrie (kapitola 4.1.1.3) zvolena slitina mědi a niklu v hmotnostním poměru 50 : 50. Za optimalizovaných podmínek očištěná SPGE poskytovaly lineární odezvy v rozsahu 2 až 400 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ glukosy ($R^2 = 0,999$). Citlivost byla $1590 \mu\text{A.mmol}^{-1}\text{cm}^{-2}$. Limit detekce pro glukosu byl $0,6 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ($S/N = 3$). Opakovatelnost mezi jednotlivými nástřiky na jednom senzoru vyjádřená jako procenta RSD byla menší než 4 % (pro koncentraci $2 \mu\text{mol.l}^{-1}$, $n = 5$). Reprodukovatelnost amperometrické odezvy mezi pěti připravenými senzory byla testována na dvou koncentračních hladinách (10 a $50 \mu\text{mol.l}^{-1}$). Rozdíly mezi senzory vyjádřené jako % RSD byly menší než 6 %.



Obr. 14 Amperometrické měření glukosy na slitinou Cu a Ni očištěné SPGE v rozsahu 2 až 400 $\mu\text{mol.l}^{-1}$. $E = 0,55 \text{ V}$, $\text{ZE } 0,5 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH}$

Typické rušivé látky nacházející se v krvi jsou askorbová kyselina (AA), močová kyselina (UA), paracetamol (PM) a fruktosa (Fru). Glukosa se v krvi nachází v přibližně třicetinásobném nadbytku nad těmito látkami [29, 30]. Při testování byly porovnávány odezvy v poměru glukosy ku interferentům 25 : 1 a 10 : 1. Z výsledků plyne, že ani v jednom poměru nemají interferující látky výrazný podíl na celkové odezvě senzoru a neměly by působit problémy při stanovení glukosy. Přítomnost intereferentů nezpůsobovala zanesení aktivních

míst senzoru, což dokazuje shodná proudová odezva na glukosu před aplikací interferentů a po aplikaci.

Připravené senzory byly využity při měření hladiny glukosy ve vzorku neupraveného krevního séra pomocí metody standardního přídávku. Změřená koncentrace glukosy v krevním vzorku byla $8,67 \pm 0,17 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($n = 3$), což bylo ve shodě s výsledkem komerčního glukometru ($8,44 \pm 0,21 \text{ mmol.l}^{-1}$ glukosy, $n = 3$). Přesnost metody byla stanovena pomocí spikovaného vzorku krevního séra, do kterého bylo přidáno 5 mmol.l^{-1} glukosy. Změřený nárůst koncentrace byl $4,85 \text{ mmol.l}^{-1}$ (návratnost 97 %).

Analytické vlastnosti slitinou ožiskřených SPGE jsou na podobné úrovni jako senzory publikované v odborné literatuře [31-34]. Časová nenáročnost procesu modifikace SPGE pomocí jiskrového výboje však předčí většinu dalších způsobů přípravy modifikovaných elektrod a lze předpokládat (po zautomatizování procesu modifikace) použitelnost techniky pro masovou výrobu senzorů. Výhodou je také nulová spotřeba rozpouštědel a chemikálií při modifikaci.

5 Závěr

Metoda jiskrového výboje byla aplikována při depozici bismutových nanočástic na povrch SPGE, které byly důkladně charakterizovány pomocí SEM a CV. Jednou z nejběžnějších aplikací bismutových elektrod je stanovení těžkých kovů, kde bismut slouží jako nejedovatá náhrada za rtuť. Následně byla vyvinuta analytická metoda pro stanovení těžkých kovů a nalezeny optimální parametry pro zpracování vzorku pitné vody. Bi-SPGE byly použity jako jednorázové senzory pro stanovení stopových koncentrací kadmia a olova ve vzorku pitné vody.

Relativně neobvyklou aplikací bismutových elektrod je stanovení organických sloučenin. Vedle nízké citlivosti bismutových senzorů působí problémy i redukce kyslíku na elektrodě. Nanočástice bismutu generované při jiskrovém výboji byly pokryty vrstvou grafitu, který bránil interferenci kyslíku. Vedle této výhody vykazovaly Bi-SPGE vysokou citlivost na riboflavin, což dovolovalo provádět velmi rychlé analýzy bez zdlouhavých prekoncentračních kroků. Rychlost vyvinuté analytické metody a prakticky nulová interference kyslíku mimo jiné poukazují na vhodnost senzorů k použití v podmínkách, kde je obtížné zajistit odstranění kyslíku z roztoku (např. mimo laboratoř). Aplikovatelnost vyvinutých senzorů byla demonstrována při stanovení obsahu riboflavinu v tabletě B-komplexu.

Výhodami jiskrového výboje jsou rychlost modifikace a ekonomická nenáročnost, což jsou předpoklady vhodné pro použití při výrobě jednorázových elektrochemických čidel. Příkladem takových čidel mohou být neenzymatické senzory glukosy, které využívají katalytické účinky mědi nebo niklu. Pomocí jiskrového výboje byla na SPGE deponovaná slitina mědi a niklu v poměru 50/50. Na povrchu elektrod byly generovány převážně nanočástice mědi a niklu, avšak část nanočástic byla směs obou kovů, čímž došlo ke kombinaci výhod obou materiálů. K charakterizaci připravených senzorů byly použity metody CV, SEM, EDS a XPS. Následně byly optimalizovány parametry stanovení glukosy pomocí Cu/Ni-SPGE a testován vliv interferentů, které mohou rušit měření glukosy v krvi. Finální aplikací bylo stanovení koncentrace glukosy ve vzorku krevního séra.

Jiskrový výboj se osvědčil jako nová, jednoduchá, velmi rychlá a efektivní metoda modifikace elektrodového povrchu, která nezatěžuje životní prostředí ani rozpočet laboratoře použitím rozpouštědel a chemikálií k přípravě modifikačního media. Jednoduchost a časová nenáročnost procesu depozice předčí všechny dosud publikované metody modifikace SPGE. Metoda jiskrového výboje slibuje široké možnosti dalšího využití při vývoji elektrochemických senzorů modifikovaných dalšími materiály, které by dovolily stanovení širokého spektra analytů. Dalším směrem výzkumu by měl být vývoj automatizovaného zařízení, jež by bylo schopno zajistit vyšší uniformitu připravených senzorů.

Seznam použité literatury

- [1] N. Jeanvoine, F. Muecklich, FEM Simulation of the temperature distribution and power density at platinum cathode craters caused by high voltage ignition discharges, *J Phys D Appl Phys*, 42 (2009).
- [2] T.M.P. Briels, J. Kos, G.J.J. Winands, E.M. van Veldhuizen, U. Ebert, Positive and negative streamers in ambient air: measuring diameter, velocity and dissipated energy, *J Phys D Appl Phys*, 41 (2008).
- [3] R. Reinmann, M. Akram, Temporal investigation of a fast spark discharge in chemically inert gases, *J Phys D Appl Phys*, 30 (1997) 1125-1134.
- [4] P. Sigmund, Theory of Sputtering .I. Sputtering Yield of Amorphous and Polycrystalline Targets, *Phys Rev*, 184 (1969) 383-+.
- [5] A. Schmidt-Ott, New approaches to in situ characterization of ultrafine agglomerates, *J Aerosol Sci*, 19 (1988) 553-557.
- [6] S. Schwyn, E. Garwin, A. Schmidtott, Aerosol Generation by Spark Discharge, *J Aerosol Sci*, 19 (1988) 639-642.
- [7] H. Oh, S. Kim, Synthesis of ceria nanoparticles by flame electrospray pyrolysis, *J Aerosol Sci*, 38 (2007) 1185-1196.
- [8] C. Helsper, W. Molter, F. Loffler, C. Wadenpohl, S. Kaufmann, G. Wenninger, Investigations of a New Aerosol Generator for the Production of Carbon Aggregate Particles, *Atmos Environ a-Gen*, 27 (1993) 1271-1275.
- [9] N. Lezi, C. Kokkinos, A. Economou, M.I. Prodromidis, Voltammetric determination of trace Tl(I) at disposable screen-printed electrodes modified with bismuth precursor compounds, *Sensor Actuat B-Chem*, 182 (2013) 718-724.
- [10] P.A. Vitello, B.M. Penetrante, J.N. Bardsley, Simulation of Negative-Streamer Dynamics in Nitrogen, *Phys Rev E*, 49 (1994) 5574-5598.
- [11] N. Lezi, A. Economou, P.A. Dimovasilis, P.N. Trikalitis, M.I. Prodromidis, Disposable screen-printed sensors modified with bismuth precursor compounds for the rapid voltammetric screening of trace Pb(II) and Cd(II), *Anal Chim Acta*, 728 (2012) 1-8.
- [12] D.E. Evans, R.M. Harrison, J.G. Ayres, The generation and characterization of metallic and mixed element aerosols for human challenge studies, *Aerosol Sci Tech*, 37 (2003) 975-987.
- [13] J. Millar, C.W.A. Pelling, Improved methods for construction of carbon fibre electrodes for extracellular spike recording, *J Neurosci Meth*, 110 (2001) 1-8.
- [14] N.S. Tabrizi, M. Ullmann, V.A. Vons, U. Lafont, A. Schmidt-Ott, Generation of nanoparticles by spark discharge, *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (2009) 315-332.
- [15] J.R. Davis, Copper and copper alloys, ASM International, (2001).
- [16] N.S. Tabrizi, Q. Xu, N.M. van der Pers, U. Lafont, A. Schmidt-Ott, Synthesis of mixed metallic nanoparticles by spark discharge, *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (2009) 1209-1218.
- [17] J. Barek, A.G. Fogg, A. Muck, J. Zima, Polarography and voltammetry at mercury electrodes, *Crit Rev Anal Chem*, 31 (2001) 291-309.
- [18] A. Economou, P.R. Fielden, Applications, potentialities and limitations of adsorptive stripping analysis on mercury film electrodes, *Trac-Trend Anal Chem*, 16 (1997) 286-292.
- [19] J. Labuda, D. Saur, R. Neeb, Anodic-Stripping Voltammetric Determination of Heavy-Metals in Solutions Containing Humic Acids, *Fresen J Anal Chem*, 348 (1994) 312-316.

- [20] V. Rehacek, I. Hotovy, M. Vojs, T. Kups, L. Spiess, Nafion-coated bismuth film electrodes on pyrolyzed photoresist/alumina supports for analysis of trace heavy metals, *Electrochim Acta*, 63 (2012) 192-196.
- [21] S.B. Hocevar, I. Svancara, K. Vytras, B. Ogorevc, Novel electrode for electrochemical stripping analysis based on carbon paste modified with bismuth powder, *Electrochim Acta*, 51 (2005) 706-710.
- [22] R.O. Kadara, I.E. Tothill, Development of disposable bulk-modified screen-printed electrode based on bismuth oxide for stripping chronopotentiometric analysis of lead (II) and cadmium (II) in soil and water samples, *Anal Chim Acta*, 623 (2008) 76-81.
- [23] N.A. Malakhova, N.Y. Stozhko, K.Z. Brainina, Novel approach to bismuth modifying procedure for voltammetric thick film carbon containing electrodes, *Electrochem Commun*, 9 (2007) 221-227.
- [24] E.E. Snell, Summary of Known Metabolic Functions of Nicotinic Acid, Riboflavin and Vitamin-B6, *Physiol Rev*, 33 (1953) 509-524.
- [25] A. Economou, P.R. Fielden, A Study of Riboflavin Determination by Square-Wave Adsorptive Stripping Voltammetry on Mercury Film Electrodes, *Electroanal*, 7 (1995) 447-453.
- [26] E.S. Sa, P.S. da Silva, C.L. Jost, A. Spinelli, Electrochemical sensor based on bismuth-film electrode for voltammetric studies on vitamin B-2 (riboflavin), *Sensor Actuat B-Chem*, 209 (2015) 423-430.
- [27] M.I. Prodromidis, A.B. Florou, S.M. Tzouwara-Karayanni, M.I. Karayannis, The importance of surface coverage in the electrochemical study of chemically modified electrodes, *Electroanal*, 12 (2000) 1498-1501.
- [28] J. Wang, Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges, *Electroanal*, 13 (2001) 983-988.
- [29] S.P. Juraschek, E.R. Miller, A.C. Gelber, Effect of Oral Vitamin C Supplementation on Serum Uric Acid: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, *Arthrit Care Res*, 63 (2011) 1295-1306.
- [30] Y.N. Zhang, Y.B. Hu, G.S. Wilson, D. Moattisirat, V. Poitout, G. Reach, Elimination of the Acetaminophen Interference in an Implantable Glucose Sensor, *Anal Chem*, 66 (1994) 1183-1188.
- [31] X.J. Zhang, A.X. Gu, G.F. Wang, Y. Huang, H.Q. Ji, B. Fang, Porous Cu-NiO modified glass carbon electrode enhanced nonenzymatic glucose electrochemical sensors, *Analyst*, 136 (2011) 5175-5180.
- [32] 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 Interf Sci*, 381 (2012) 143-151.
- [33] H. Liu, X.L. Wu, B. Yang, Z.J. Li, L.C. Lei, X.W. Zhang, Three-Dimensional Porous NiO Nanosheets Vertically Grown on Graphite Disks for Enhanced Performance Non-enzymatic Glucose Sensor, *Electrochim Acta*, 174 (2015) 745-752.
- [34] F.J. Miao, B.R. Tao, P.K. Chu, Ordered-standing nickel hydroxide microchannel arrays: Synthesis and application for highly sensitive non-enzymatic glucose sensors, *Microelectron Eng*, 133 (2015) 11-15.

Životopis

Jméno: Mgr. Daniel Riman

Adresa: Čechovická 246/16, Prostějov, 796 01

Datum narození: 21. 7. 1988

e-mail: danielriman@seznam.cz

VŠ vzdělání

2013 až dosud doktorské studium Analytická chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého v Olomouci

2011 až 2013 magisterský obor Analytická chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého v Olomouci, získán titul Mgr.

2009 až 2011 bakalářský obor Aplikovaná chemie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého v Olomouci, získán titul Bc.

Pracovní zkušenosti a zahraniční stáže

- 2013 až doposud: výzkum a vývoj elektrochemických detekčních systémů pro HPLC založené na mikroelektrodě z uhlíkového vlákna, vývoj amperometrických a voltametrických senzorů modifikovaných nanočásticemi kovů, člen výzkumného týmu doc. RNDr. Jana Hrbáče, Ph.D. a doc. RNDr. Davida Jirovského, Ph.D.
- absolvováno několik zahraničních stáží na University of Ioannina, Řecko (mezi lety 2014–2016), kde jsem se pod vedením profesora Mamantose Prodromidise, Ph.D, seznámil s přípravou tištěných grafitových elektrod, které jsem posléze modifikoval jiskrovým výbojem a využil k detekci řady analytů.

Vedení závěrečných prací:

BP: Kateřina Krčová: Uhlíkové mikroelektrody modifikované slitinou mědi a niklu ke stanovení glukosy, práce úspěšně obhájena 2017

Publikační činnost:

Z. Bartosova, D. Riman, P. Jakubec, V. Halouzka, J. Hrbac, D. Jirovsky, Electrochemically Pretreated Carbon Microfiber Electrodes as Sensitive HPLC-EC Detectors, Sci World J, (2012).

V. Halouzka, J. Hrbac, D. Jirovsky, D. Riman, P. Jakubec, Z. Bartosova, V. Masek, P. Mojzes, J. Vacek, Electrochemical Pretreatment of Carbon Fiber Microelectrodes Based on Sinusoidal-wave Potential Cycling and its Application to Amperometric Sensing of Bioactive Compounds, Curr Anal Chem, 9 (2013) 305-311.

Z. Bartosova, D. Jirovsky, D. Riman, V. Halouzka, M. Svidrnoch, J. Hrbac, HPLC-ED of low-molecular weight brominated phenols and tetrabromobisphenol A using pretreated carbon fiber microelectrode, Talanta, 122 (2014) 115-121.

- D. Riman, D. Jirovsky, J. Hrbac, 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.
- D. Riman, A. Avgeropoulos, J. Hrbac, 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.
- D. Riman, Z. Bartosova, V. Halouzka, J. Vacek, D. Jirovsky, J. Hrbac, Facile preparation of nanostructured copper-coated carbon microelectrodes for amperometric sensing of carbohydrates, *Rsc Adv*, 5 (2015) 31245-31249.
- Z. Bartosova, D. Riman, V. Halouzka, J. Vostalova, V. Simanek, J. Hrbac, D. Jirovsky, A comparison of electrochemically pre-treated and spark-platinized carbon fiber microelectrode. Measurement of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in human urine and plasma, *Anal Chim Acta*, 935 (2016) 82-89.
- D. Riman, K. Spyrou, A.E. Karantzalis, J. Hrbac, M.I. Prodromidis, Glucose sensing on graphite screen-printed electrode modified by sparking of copper nickel alloys, *Talanta*, 165 (2017) 466-473.