

Charakteristika grafitové tuhy jako referenční elektrody pro voltametrii

Adam Urbánek

Bakalářská práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Adam Urbánek**
Osobní číslo: **T20477**
Studijní program: **B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace: **Ochrana životního prostředí**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Charakteristika grafitové tuhy jako referenční elektrody pro voltametrii**

Zásady pro vypracování

- 1) Literární rešerše – různé typy referenčních elektrod
- 2) Základní voltametrická charakteristika elektrod z grafitové tuhy a porovnání s komerčně dostupnými referenčními elektrodami (argentchloridovými)
- 3) Testování charakterizovaných referenčních elektrod pro voltametrickou detekci různých typů polutantů – anorganické ionty, organické látky
- 4) Zhodnocení zjištěných informací, jejich zpracování do formy bakalářské práce

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] PANDEY, Annu et al., 2020. Review—Pencil Graphite Electrode: An Emerging Sensing Material. *Journal of The Electrochemical Society*, 167, 037501. DOI 10.1149/2.0012003JES
- [2] LISBOA, Thalles Pedrosa et al., 2022. A pencil graphite-based disposable device for electrochemical monitoring of sulfanilamide in honey and water samples. *Analytical Methods* 14, 3867-3874. DOI 10.1039/D2AY01137A.
- [3] BARBERIS, Antonio et al., 2010. New Ultralow-Cost Telemetric System for a Rapid Electrochemical Detection of Vitamin C in Fresh Orange Juice. *Analytical Chemistry* 82, 5134–5140.
- [4] Další vědecké práce zahrnuté v databázích Web of Science, ScienceDirect, SciFinder Scholar, Medline aj.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Jaroslav Filip, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Jaroslav Filip, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 6. února 2024

Příloha č. 1 – Prohlášení autora BP

**PROHLÁŠENÍ AUTORA
BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá použitím a základní charakterizací grafitových mikrotuh jako referenčních elektrod pro voltametrii a srovnáním s komerční argentchloridovou referenční elektrodou. Jednoduché mikrotuhové elektrody představují levnější alternativu pro některá měření a mohou být použity jako součást elektrochemických senzorů. Testovány byly mikrotuhy 3 různých tvrdostí (2B, HB a H) a dva způsoby konstrukce pro tento typ elektrod. Připravené elektrody byly charakterizovány sérií měření pomocí cyklické voltametrie v roztoku KCl s redoxní sondou $K_3[Fe(CN)_6]$, které ukázaly dlouhodobou stabilitu těchto elektrod. Vybrané mikrotuhy pak byly testovány jako referenční elektrody pro elektrochemické stanovení vybraných anorganických a organických polutantů, a to ionty olova metodou rozpouštěcí voltametrie se čtvercovou vlnou a histamin metodou diferenční pulzní voltametrie. Zatímco v prvním případě mikrotuha poskytla výsledky porovnatelné s komerční argentchloridovou elektrodou, produkty oxidace histaminu se pravděpodobně sorbovaly i na grafit referenční mikrotuhové elektrody.

Klíčová slova: voltametrie, grafit, mikrotuha, referenční elektroda

ABSTRACT

This thesis deals with the use and basic characterization of graphite micro pencil leads as reference electrodes for voltammetry and the comparison with a commercial silver/silver chloride reference electrode. Simple micro pencil graphite lead electrodes represent a cheaper alternative for some measurements and can be used as part of electrochemical sensors. Graphite leads of 3 different harnesses (2B, HB and H) and two construction methods for this type of electrode were tested. Prepared electrodes were characterized by a series of measurements using cyclic voltammetry in KCl solution with the redox probe $K_3[Fe(CN)_6]$, which showed the long-term stability of these electrodes. Selected graphite leads were then tested as reference electrodes for the electrochemical determination of selected inorganic and organic pollutants, namely lead ions by square wave stripping

voltammetry and histamine by differential pulse voltammetry. While in the first case the graphite lead electrode gave results comparable to a commercial argent chloride electrode, histamine oxidation products were also likely adsorbed to the graphite of the reference graphite lead electrode.

Keywords: voltammetry, graphite, micro pencil lead, reference electrode

Především velice děkuji svému vedoucímu Ing. Jaroslavu Filipovi, Ph.D. za vedení této nelehké a časově náročné práce, za předání jeho znalostí a zkušeností v oblasti elektrochemie a jeho trpělivost. Největší poděkování patří mé přítelkyni, která mi pomáhala v osobním životě při psaní bakalářské práce, poděkování taktéž patří mé rodině, která se snažila, abych měl co nejvíce času při vypracovávání této práce.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 VOLTAMETRIE.....	11
1.1 CYKlickÁ VOLTAMETRIE.....	12
1.1.1 Reversibilní a nereversibilní voltamogram	13
1.1.2 Vliv pH na reversibilní cyklickou voltametrii	16
2 ELEKTRODY	18
2.1 PRACOVNÍ ELEKTRODY	19
2.2 POMOCNÉ ELEKTRODY	20
2.3 REFERENČNÍ ELEKTRODY	20
2.3.1 Argentchloridová referenční elektroda.....	21
2.4 KVAZIREFERENCEČNÍ A PSEUDOREFERENCEČNÍ ELEKTRODY	22
2.4.1 Uhlíkové a mikrotuhové elektrody.....	23
2.4.2 Modifikované uhlíkové elektrody	25
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	26
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	27
3.1 METODIKA	28
3.1.1 Měření iontů Pb^{2+}	29
3.1.2 Měření histaminu	29
3.2 PRVNÍ GENERACE ELEKTROD.....	29
3.3 DRUHÁ GENERACE ELEKTROD.....	30
4 VÝSLEDKY A DISKUSE	31
4.1 PRVNÍ GENERACE ELEKTROD.....	31
4.2 DRUHÁ GENERACE ELEKTROD.....	33
4.3 STABILITA	35
4.4 STANOVENÍ IONTŮ Pb^{2+}	42
4.5 VOLTAMETRICKÁ DETEKCE HISTAMINU	44
ZÁVĚR	46
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	48
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	51
SEZNAM OBRÁZKŮ	52
SEZNAM TABULEK.....	54
SEZNAM PŘÍLOH.....	55

ÚVOD

Grafit, jedna z forem uhlíku, je poměrně všestranný materiál s průmyslově využitelnými vlastnostmi. Historie jeho využití je opravdu bohatá, od náplní tužek, kontaktů v elektrotechnice, odporů v elektronice, průmyslových lubrikačních prostředků, žáruvzdorného materiálu až po použití jako elektrod v zinko-uhlíkových bateriích. Jeho využití v elektronice je dáno jeho vhodnou elektrickou a tepelnou vodivostí.

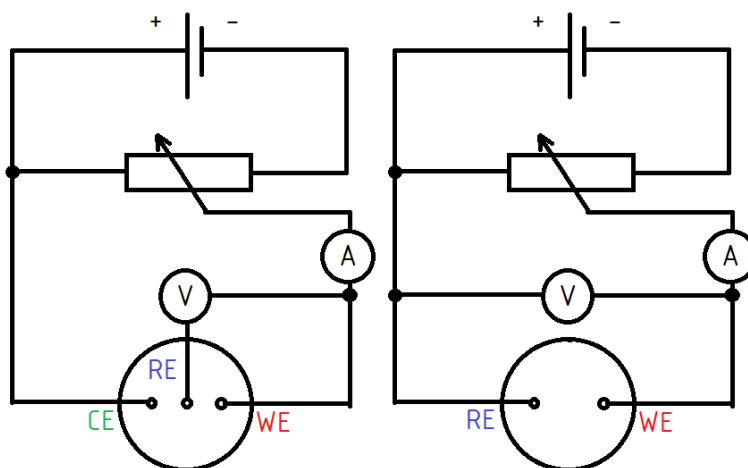
Elektrochemie je obor chemie, při kterém se zkoumají děje na rozhraní elektrod a elektrolytu, což se uplatňuje při detekci a odstraňování znečišťujících látek ze životního prostředí nebo v průmyslové výrobě při úpravě povrchů. Jednou z elektrochemických analytických metod je voltametrie, která je založená na měření proudu v závislosti na napětí vloženém mezi tzv. pracovní a referenční elektrodu. Druhá jmenovaná bývá nejčastěji elektrodou druhého typu, což představuje složitější konstrukci a vyšší cenu. Kromě toho lze ale využít i tzv. pseudoreferenční elektrody, jejich složení je mnohem jednodušší.

Cílem této práce je ověřit, zda by grafitová mikrotuha mohla fungovat jako pseudoreferenční elektroda pro jednoduchá voltametrická měření. Tento předpoklad vychází z faktu, že mikrotuhová grafitová elektroda byla v jiných odborných pracích úspěšně použita při voltametrii jako pracovní elektroda a zároveň je i několik prací popisující voltametrická měření s nemodifikovanými uhlíkovými referenčními elektrodami. Mikrotuhové referenční elektrody by tedy představovaly ekonomicky výhodnou a konstrukčně jednoduchou alternativu ke komerčním elektrodám při zachování měřících vlastností. Své uplatnění by mohly nalézt jako součást elektrochemických senzorů pro měření a stanovování polutantů v životním prostředí, ale i jiných organických a anorganických látek.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VOLTAMETRIE

Elektrochemické děje souvisí s tokem elektronů v závislosti na chemických změnách v soustavě obsahující ionty. Voltametrie je elektroanalytická dynamická metoda, při které se sleduje elektrochemická reakce pomocí měřeného proudu protékajícího obvodem v závislosti na časově proměnném aplikovaném vnějším potenciálu na povrchu pracovní elektrody. Hodnota zaznamenávaného proudu je funkcí koncentrace analytu.

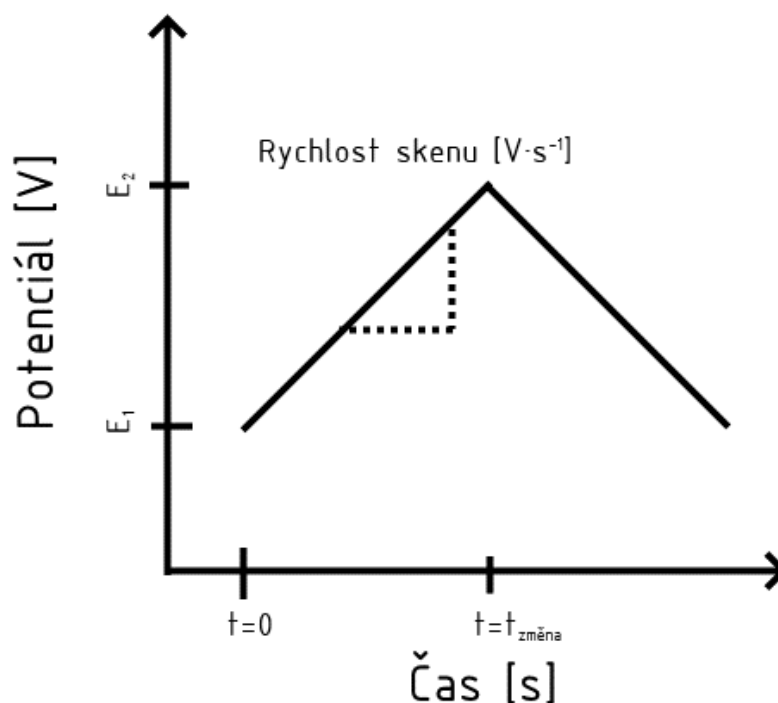


Obrázek 1: Schéma tříelektrodového (vlevo) a dvouelektrodového zapojení (vpravo)

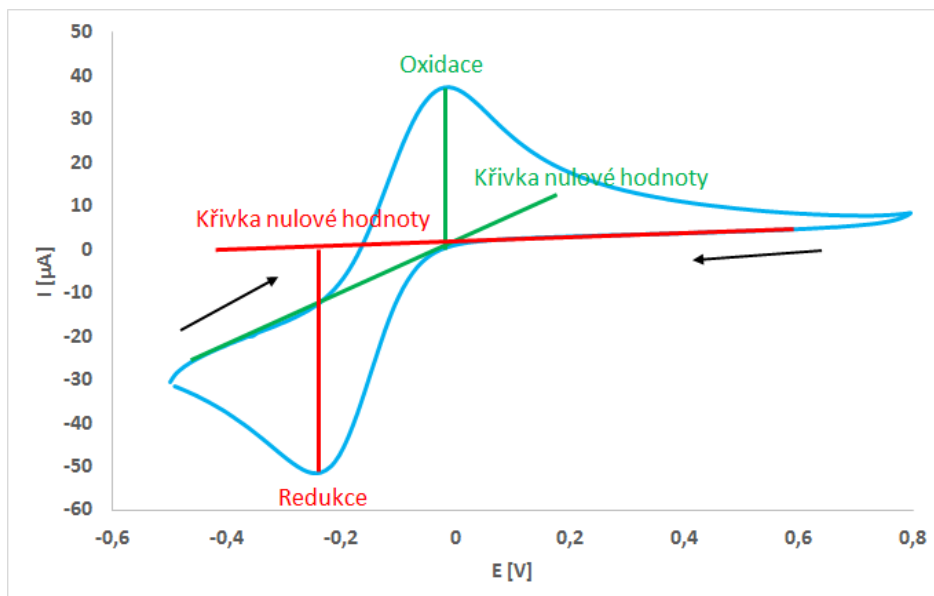
Obvod sestává většinou ze dvou nebo tří elektrod ponořených v podpůrném elektrolytu – pracovní (WE), referenční (RE) a pomocné (CE), jak je znázorněno na obrázku č. 1. K obvodu je dále připojen potenciostat jako zdroj potenciálu na pracovní elektrodě. Ten se zajišťuje vkládáním napětí mezi pracovní a referenční elektrodu, která svou konstrukcí (viz dále – kapitola 2.3) zajišťuje známý (referenční) potenciál. Teče-li obvodem elektrický proud, pak mezi pracovní a pomocnou elektrodou, což zajišťuje ochranu a stabilitu referenční elektrody. Aby obvodem tekla elektrický proud, musí být elektrolyt dostatečně vodivý a neklást zbytečně velký odpor. To lze docílit zvýšením koncentrace iontů, je ale nutné, aby byly všechny komponenty elektrolytu chemicky a elektrochemicky inertní a dobře rozpustné ve zvoleném rozpouštědle. Při velkém odporu elektrolytu klesá značně přesnost získaných výsledků. Výstupem voltametrie je závislost proudu na napětí, kdy výsledný graf se označuje jako voltamogram. Typů voltametrií je několik, liší se především průběhem aplikovaného potenciálu na pracovní elektrodu [1].

1.1 Cyklická voltametrie

V metodě cyklické voltametrie (CV) je na pracovní elektrodu aplikován potenciál, který se mění lineárně v čase. Při dodržení konvencí IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), kdy zvyšující se potenciál na vodorovné ose jde zleva doprava nebo na svislé směrem vzhůru stoupá, by aplikovaný potenciál v závislosti na čase měl průběh jako na obrázku č. 2. Zde se během jednoho CV cyklu (skenu) potenciál polovinu trvání cyklu konstantně zvyšuje a v polovině se začne konstantně snižovat. Na obrázku je znázorněna i rychlost skenu jako podíl rozdílu potenciálů a času, jednotkou je pak $\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$. Ta se uvádí také jako rychlost polarizace dE/dt [1, 2, 3].



Obrázek 2: Průběh potenciálu pracovní elektrody v závislosti na čase u cyklické voltametrie [2]



Obrázek 3: Ilustrativní cyklický voltamogram s vyznačenými výškami oxidačního a redukčního píku

Výstupem cyklické voltametrie je cyklický voltamogram (viz Obrázek 3), kdy na ose x je vynesena aplikovaný potenciál a na ose y výsledný procházející proud. Směr skenování je naznačen černými šipkami. Při zvyšování napětí, tedy dopředném skenu, dojde k oxidaci látek, pokud je v elektrolytu látka schopná oxidace. Vzniklému vrcholu říkáme oxidační vrchol (anodic peak), jehož výška je vztažena k přímce nulové hodnoty (baseline). Při zpětném skenu se látky v analytu schopné redukce a zoxidované při první polovině cyklu redukuje a vznikne redukční vrchol (cathodic peak) [1].

1.1.1 Reversibilní a nereversibilní voltamogram

Chemická reversibilita je jev, kdy je analyt stabilní po redukci a může být následně reoxidován. To, zda je sledovaná reakce reversibilní nebo nereversibilní určuje rychlost kinetiky elektrodové reakce a přenos látky k elektrodě. Do značné míry také souvisí s rychlostí skenu, kdy množství náboje přeneseného během jednoho skenu souvisí s tloušťkou difúzní vrstvy, která určuje rychlost přenosu látky k elektrodě. V konečném důsledku se v přenosu hmoty odráží 1. Fickův zákon, který předpovídá větší toky pro jednotkový koncentrační spád přes tenčí difúzní vrstvu [1, 2].

Pro jednoelektronovou reversibilní redoxní reakci platí, že vrcholový proud (peak current) I_p je roven:

$$I_p = 0,446 \cdot F \cdot A \cdot c \cdot \sqrt{\frac{F \cdot D \cdot v}{R \cdot T}} \quad (1)$$

Zjednodušeně při $T = 298 \text{ K}$:

$$I_p = 2,69 \cdot 10^5 \cdot A \cdot D^{\frac{1}{2}} \cdot c \cdot v^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

Pro jednoelektronovou nereversibilní redoxní reakci platí, že vrcholový proud (peak current) I_p je roven:

$$I_p = 0,496 \cdot \sqrt{\alpha} \cdot F \cdot A \cdot c \cdot \sqrt{\frac{F \cdot D \cdot v}{R \cdot T}} \quad (3)$$

Zjednodušeně při $T = 298 \text{ K}$:

$$I_p = 2,99 \cdot 10^5 \cdot \sqrt{\alpha} \cdot D^{\frac{1}{2}} \cdot c \cdot A \cdot v^{\frac{1}{2}} \quad (4)$$

Kde:

I_p	Proud ve vrcholu [A]
F	Faradayova konstanta [96485,3 C·mol ⁻¹]
A	Plocha elektrody [cm ²]
c	Koncentrace látky v analytu [mM]
D	Difuzní koeficient [cm ² ·s ⁻¹]
v	Rychlost skenu [V·s ⁻¹]
R	Univerzální plynová konstanta [8,31447 J·K ⁻¹ ·mol ⁻¹]
T	Teplota [K]
α	Koeficient přenosu náboje [-]

To, zda je reakce reversibilní či ne určuje vztah mezi rychlostí reakce k^0 a přenosem hmoty m_T kdy, pokud je reversibilní, pak:

$$k^0 \gg m_T \quad (5)$$

V případě reakce nereversibilní, pak:

$$k^0 \ll m_T \quad (6)$$

Koeficient přenosu hmoty lze pak vypočítat jako:

$$m_T = \frac{D}{\delta} \quad (7)$$

Kdy tloušťka difusní elektrické dvouvrstvy δ závisí na čase t :

$$\delta \sim \sqrt{D \cdot t} \quad (8)$$

Pak čas potřebný pro skenování voltamogramu je přibližně:

$$t \sim \frac{R \cdot T}{F \cdot v} \quad (9)$$

Přibližně pak lze dostat konečný vztah:

$$m_T \sim \sqrt{\frac{D}{\left(\frac{R \cdot T}{F \cdot v}\right)}} \quad (10)$$

Kde:

D Difuzní koeficient [$\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$]

δ Tloušťka difusní vrstvy [cm]

m_T Koeficient přenosu hmoty [-]

k^0 Standardní elektrochemická rychlostní konstanta [$\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$]

t Čas [s]

R Univerzální plynová konstanta [$8,31447 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$]

T Teplota [K]

F Faradayova konstanta [$96485,3 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$]

v Rychlost skenu [$\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$]

Z výše popsaných vztahů lze tedy odvodit, že rychlost skenování je poměrně důležitá, kdy s rychlejším skenováním je difusní vrstva tenčí a důsledkem toho jsou pozorovány vyšší proudy, I_p tedy roste lineárně s druhou odmocninou rychlosti skenování [1, 2].

Dalším důležitým rozdílem reversibilního a nereversibilního voltamogramu je potenciálová separace vrcholů (peaků) ΔE_{pp} :

$$\Delta E_{pp} = |E_{p(a)} - E_{p(k)}| \quad (11)$$

Kde:

ΔE_{pp} Potenciálová separace vrcholů [V]

$E_{p(a)}$ Potenciál anodického vrcholu [V]

$E_{p(c)}$ Potenciál katodického vrcholu [V]

Při podmínkách reversibilních je limit $\Delta E_{pp} \approx 59$ mV (při $T = 298$ K) a potenciál píku je nezávislý na rychlosti skenování, při podmínkách kvazi- a nereversibilních je ΔE_{pp} větší, závisí na rychlosti skenování (rychlosti polarizace) a hodnotách α a k^0 [2, 3].

1.1.2 Vliv pH na reversibilní cyklickou voltametrii

Při voltametrických měřeních bude pozice píku analytu, při jehož redoxní přeměně dochází k výměně jak elektronů, tak protonů, záviset na pH. Předpokládejme, že při redukci A na B dojde k přenosu m -protonů a n -elektronů:



Z Nernstovy rovnice pak plyne posun potenciálu:

$$E = E_f^0(A/B) - \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{[B]}{[A][H^+]^m} \quad (13)$$

$$E = E_f^0(A/B) + \frac{RT}{nF} \cdot \ln[H^+]^m - \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{[B]}{[A]} \quad (14)$$

$$E = E_f^0(A/B) - 2,303 \frac{mRT}{nF} \cdot pH - \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{[B]}{[A]} \quad (15)$$

Kde:

A oxidovaná forma dané látky

B redukovaná forma dané látky

E elektrodový potenciál

$E_f^0(A/B)$ standardní elektrodový potenciál

R molární plynová konstanta [$8,31447 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$]

T Absolutní teplota [K]

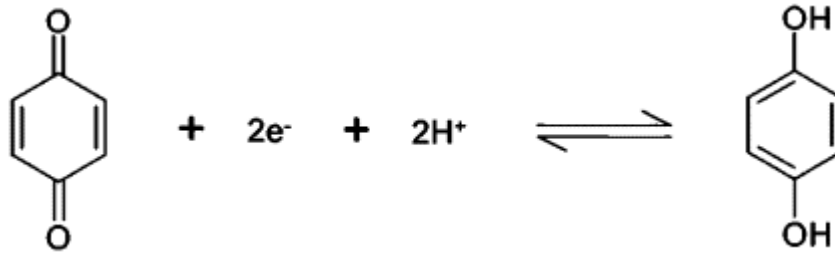
m stechiometrický počet protonů přenesených během reakce (12)

n stechiometrický počet elektronů přenesených během reakce (12)

F Faradayova konstanta [$96485,3 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$]

Střední hodnota potenciálu se tedy mění s hodnotou členu $2,303 \frac{mRT}{nF}$ na jednotku pH, což v případě, kdy m se rovná n , odpovídá změně pH posun o ~ 59 mV při teplotě 298 K [2, 3].

Příkladem reakce s přesunem ekvivalentního množství protonů a elektronů může být redukce *p*-benzochinonu na hydrochinon při hodnotě pH pod ~ 9 , kdy $m = 2$ a $n = 2$:



Obrázek 4: Redukce *p*-benzochinonu [2]

2 ELEKTRODY

Elektrodu představuje vodivá nebo polovodivá tuhá (či kapalná, nemísitelná) fáze, která je v kontaktu s kapalným (příp. tuhým) elektrolytem. Na tomto fázovém rozhraní vzniká elektroodový potenciál $\Delta\varphi$. Často jde o soustavu tvořenými vzájemně se dotýkajícími fázemi, např. kdy kov je pokryt vrstvou sraženiny či adsorbovaným filmem plynné nebo kapalné fáze. Soustava je tvořená vodičem 1. řádu, kde se většinou jedná o kov nebo grafit, kdy elektrický náboj je přenášen volnými elektrony a chemické složení vodiče se při průchodu proudu nemění, nebo vodičem 2. řádu, kde je přenos náboje uskutečňován ionty a průchodem proudu se vodič chemicky mění. Nelze však měřit individuální elektroodový potenciál, pouze rozdíl potenciálů dvou elektrod, tedy napětí mezi těmito elektrodami. Je-li jednou z nich SHE (standardní vodíková elektroda), která má, dle konvence, za všech teplot nulový potenciál, lze pak z naměřeného napětí odvodit i potenciál druhé elektrody. Takto se stanovuje potenciál referenčních elektrod, vůči nimž se pak měří napětí na pracovních elektrodách ve voltametii [3].

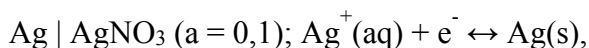
Polarizovatelnost elektrod

Pokud elektrodou prochází proud a dochází k chemickým změnám na povrchu elektrody, začne se měnit potenciál elektrody a hodnoty tedy budou nabývat odlišných hodnot od hodnot rovnovážných. Takový jev se nazývá polarizace a takové elektrody se pak nazývají elektrody polarizované. Tento jev je způsoben pomalou kinetikou jednoho z dílčích dějů, tedy transportu elektroaktivní látky k fázovému rozhraní, transportu produktů elektroodové reakce od fázového rozhraní a vlastní elektrochemické přeměny látky na fázovém rozhraní. Vzhledem k tomu rozlišujeme polarizaci koncentrační, polarizaci přenosovou a polarizaci ohmickou, která je způsobena elektrickým odporem článku dle Ohmova zákona [3].

Bude-li mít elektroda malý povrch, bude proudová hustota velká, koncentrační změny v jejím okolí také, a i změna jejího potenciálu bude velká. Ideálně polarizovaná elektroda tedy bude mít potenciálové okno, ve kterém se mění potenciál, ale proud zůstává prakticky konstantní. Bude-li mít elektroda povrch velký, pak bude proudová hustota malá a koncentrační změny budou malé. Ideálně nepolarizovaná elektroda pak bude mít potenciál nezávislý na procházejícím proudu a koncentraci [3].

Elektrody prvního a druhého druhu

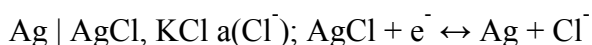
Elektrody prvního druhu jsou tvořeny kovem ponořeným v roztoku svých iontů. Příkladem je stříbrná elektroda s níže uvedeným schématickým znázorněním a reakcí určující její potenciál:



Existují i elektrody plynové, které jsou tvořeny plynem vystaveným jejich iontům v roztoku. Reakci mezi plynem a ionty zajišťuje platina, která se sama redoxní reakce přímo neúčastní, ale funguje jako katalyzátor reakce. Z hlediska teorie má nejdůležitější význam plynová elektroda vodíková, protože jsou k ní vztahovány elektrodové potenciály ostatních elektrod a označuje se zkratkou SHE (standard hydrogen electrode; standardní vodíková elektroda).

Elektrody druhého druhu sestávají z kovu pokrytého vrstvou jeho málo rozpustné soli v roztoku obsahujícím anion této soli. Běžně to mohou být:

argentchloridová elektroda



elektroda kalomelová



Dalším typem jsou elektrody oxidačně redukční, které jsou z inertního kovu (Pt, Au nebo Hg), případně z uhlíku, ponořeného v roztoku obsahující jak oxidovanou, tak redukovanou formu dané látky. Rovnováha je ustanovena prostřednictvím elektronů, jejichž koncentrace v roztoku je čistě hypotetická a jejichž elektrochemický potenciál v roztoku je vyjádřen vhodnou kombinací hodnot elektrochemických potenciálů redukované a oxidované formy, které pak odpovídají dané energetické hladině elektronů v roztoku. Příkladem takového typu je elektroda $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$: $\text{Pt} \mid \text{Fe}^{3+} (a = 0,01), \text{Fe}^{2+} (a = 0,001); \text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$ [3, 4].

Při praktickém provádění voltametrických měření tedy používáme následující typy elektrod:

2.1 Pracovní elektrody

Pracovní elektrody pro voltametrii mohou být kapalné rtuťové nebo z pevných materiálů. Od elektrod rtuťových se postupně ustupuje kvůli jejich toxicitě, historicky mají však velký význam jako první elektrody použité pro polarografii, za kterou dostal prof. PhDr. Jaroslav Heyrovský, DrSc. v roce 1959 Nobelovu cenu za chemii [4].

Ostatní běžně používané materiály zahrnují buďto čisté kovy (Au, Pt, Ag...) nebo různé formy uhlíku. Z těch je nejznámější „glassy carbon“ elektroda (tento název je spíše komerční a je doporučováno používat „glass-like carbon“), tedy elektroda ze skelného uhlíku. Jedná se o amorfní alotrop uhlíku vyráběný pyrolýzou příslušného polymeru nebo fenolových pryskyřic [3, 4].

Různé materiály pracovní elektrody poskytují rozdílná potenciálová okna (tedy možnost provádět měření v různých oblastech potenciálu). Dále hraje důležitou roli pH prostředí a použitý základní elektrolyt. Ideální pracovní elektroda by měla být (ideálně) polarizovatelná, tedy vykazovat velkou změnu potenciálu při infinitesimální změně proudu. Takto je možné sledovat průběh elektrochemických dějů, které jsou předmětem zájmu. Jelikož sledované děje jsou závislé i na velikosti povrchu elektrody a jeho čistotě, povrch této elektrody je nutné chemicky nebo fyzicky čistit [5].

2.2 Pomocné elektrody

Pomocné elektrody, v případě tříelektrodového zapojení, slouží pro průchod proudu mezi pracovní a pomocnou elektrodou. Tento proud by ve dvouelektrodovém upořádání byl měřen mezi pracovní a referenční elektrodou, čímž by mohlo dojít k poškození druhé zmiňované. Požadavky na pomocnou elektrodu jsou, aby materiál, ze kterého je zhotovena, byl vodivý, co nejvíce inertní a měl dostatečně velkou aktivní plochu. Většinou jde o elektrody z ušlechtilých kovů nebo v některých případech byl použit i nerezový šroub. Děje na této elektrodě nejsou většinou předmětem zájmu a nesledují se, bývá to reakce složek základního elektrolytu či oxidace vody nebo redukce vodíkových iontů [3, 6].

2.3 Referenční elektrody

Referenční elektrody jsou většinou druhého druhu pro jejich vysokou míru reprodukovatelnosti a stability potenciálu, např. elektroda argentchloridová, kalomelová nebo merkurosulfátová. Většinou jsou odděleny od analyzovaného roztoku fritou nebo iontoměničovou membránou. Dobrá referenční elektroda si musí po celou dobu trvání experimentu zachovat své měřicí vlastnosti, aby byl zajištěn stabilní potenciál pro ovládání a regulaci potenciálu na pracovní elektrodě. Ideální referenční elektroda by měla být nepolarizovatelná, tedy aby se potenciál neměnil. Při výběru referenční elektrody je nutné vzít v úvahu několik aspektů, zejména to, aby materiál elektrody nereagoval se složkami

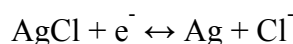
v elektrolytu. Je nutné brát v úvahu také teplotu a tlak, kdy může být ovlivněna rovnováha redoxního páru [3, 5, 7].

Zdrojem napětí v tříelektrodovém zapojení je potenciostat, který udržuje požadované napětí mezi referenční a pracovní elektrodou. Je-li pak konstantní (a známá, jako rozdíl proti potenciálu SHE) hodnota potenciálu referenční elektrody, změnou tohoto napětí měníme hodnotu potenciálu pracovní elektrody. Toho se dosáhne tím, že potenciostat neustále porovnává aktuální napětí mezi referenční a pracovní elektrodou s požadovanou hodnotou a koriguje napětí tak, aby byl tento rozdíl minimální [3]. Je tedy nasnadě, že stabilita referenční elektrody je klíčová pro přesné určení potenciálu pracovní elektrody.

Jak již bylo zmíněno výše, v odstavci o elektrodách prvního a druhého druhu, standardní vodíková elektroda (SHE) s uzančně určeným elektrochemickým standardním potenciálem $E^0 = 0$ V za všech teplot, je referenčním bodem pro všechny ostatní elektrody dle konvence. Její využití je hlavně teoretické [5].

2.3.1 Argentchloridová referenční elektroda

Argentchloridové elektrody, které jsou elektrodami druhého druhu, jsou jedny z nejpoužívanějších a konstrukčně jednoduchých elektrod. Jedná se nejčastěji o soustavu kovového stříbra, AgCl a roztoku KCl. Elektrodu pak charakterizuje tato reakce:



Rychlost této reakce je velmi důležitá pro správné fungování elektrody, musí být rychlá [8].

Potenciál této elektrody je závislý na aktivitě chloridových iontů dle rovnice:

$$E = E_{\text{Ag}/\text{Ag}^+}^0 + \frac{RT}{F} \ln a_{\text{Ag}^+} = E_{\text{Ag}/\text{Ag}^+}^0 + \frac{RT}{F} \ln K_{\text{sol}(\text{AgCl})} - \frac{RT}{F} \ln a_{\text{Cl}^-} \quad (16)$$

Kde:

E elektroodový potenciál [V]

$E_{\text{Ag}/\text{Ag}^+}^0$ standardní elektroodový potenciál systému Ag/Ag⁺ [V]

R molární plynová konstanta [8,31447 J·K⁻¹·mol⁻¹]

T Absolutní teplota [K]

$K_{\text{sol}(\text{AgCl})}$ Součín rozpustnosti AgCl

a_i Aktivitní koeficient příslušných iontů

F Faradayova konstanta [96485,3 C·mol⁻¹]

Hodnota standardního elektrodového potenciálu elektrody Ag/AgCl (3M KCl) $E^0 = 0,209$ V, standardní elektrodový potenciál se s rostoucí teplotou snižuje [5].

Běžně elektrodu tvoří stříbrný drátek pokrytý vrstvou chloridu stříbrného v roztoku KCl o určité koncentraci, která pak ovlivňuje výsledný elektrodový potenciál. Tento roztok je od analyzovaného roztoku nejčastěji oddělen fritou. Tělo elektrody může být z různých typů materiálu, nejběžnější je pak sklo nebo teflon (díky své chemické a mechanické odolnosti). Pro speciální aplikace může být tělo elektrody např. i z křemene, což umožní měření za vysokých teplot. Využití je při sledování dějů v taveninách, kde ostatní referenční elektrody selhávají [8].

Elektrolyt uvnitř nemusí tvořit pouze kapalný roztok, ale i gel nasycený požadovaným roztokem, např. želatina nebo syntetizované polymery jako třeba polyvinylalkohol. Toto uspořádání umožňuje měření při různé prostorové orientaci. Další z výhod gelového elektrolytu je odolnost vůči vnějšímu tlaku, který by mohl vytlačit analyzovaný roztok dovnitř elektrody. Použití těchto gelů rozšiřuje rozsah teplot, při kterých lze takový typ referenčních elektrod použít, a navíc mohou být značně odolné vůči redoxním látkám. Rychlost transportu iontů a vodivost není ovlivněna ve srovnání s vodnými roztoky. Nevýhodou takového typu je stárnutí gelu, nemožnost jeho regenerace a možné hromadění mikroorganismů v gelu [8].

2.4 Kvazireferenční a pseudoreferenční elektrody

Nejprve je důležité zmínit, že pojmy kvazireferenční a pseudoreferenční elektrody jsou zaměnitelné a často uváděny jako synonyma [8, 9].

Definice těchto elektrod není pevně daná a dle studie [9] pojednávající o rozdílech mezi referenčními a kvazireferenčními elektrodami, jsou jejich vlastnosti často rozdílné. Jedna z definic [9] popisuje tyto elektrody jako kovový drátek ponořený v pracovním roztoku, kdy tento systém není v termodynamické rovnováze s jeho ionty. Dle elektrochemického slovníku [10] jde o elektrodu, která udržuje určitou, ale ne předem známou hodnotu potenciálu během sérií měření.

Potenciál, získaný takovou elektrodou (platinový [10] nebo stříbrný drátek) závisí na přítomnosti různých látek (často Ag₂O nebo Pt₂O) na povrchu elektrody, jejichž koncentrace není přesně známa. Potenciál se tedy výrazně změní v následujících případech: vyskytující

se nečistoty v médiu; rozpouštění oxidovaných látek na kovovém povrchu elektrody v rozpouštědle; polarizace, která nastane při nedostatečné potenciostatické kontrole; nebo historie elektrody. Tyto děje mohou být i důsledky prováděného měření. Proto je nutné tento systém kalibrovat vůči dobře známému referenčnímu redoxnímu páru nebo vhodné pravé referenční elektrodě [10]. Jako referenční redoxní systém může být uváděný ferocen nebo kobaltocen [8].

Tyto elektrody se téměř vždy používají v tříelektrodovém uspořádání při potenciostatických nebo potenciodynamických měření. Jejich výhodou je jednoduchost a malý odpor (impedance) díky jejich možnému přímému ponoření do analyzovaného roztoku. Nevýhodami pak jsou: absence termodynamické rovnováhy, takže není možné odvodit jejich potenciál; nejsou ideálně nepolarizovatelné, takže dochází k posunu potenciálu v průběhu měření, což záleží na proudové hustotě; jsou limitovány podmínkami měření jako je pH a teplota, kdy mimo tyto podmínky mohou být značně nestabilní. Uvádí se také, že jsou používány převážně v nevodném prostředí [8].

2.4.1 Uhlíkové a mikrotuhové elektrody

Uhlíkové, především grafitové elektrody, byly již úspěšně použity jako pracovní elektrody, kdy výchozím materiálem pro přípravu elektrod byly použity běžné grafitové mikrotuhy na psaní. Použity byly jak samotné mikrotuhy, tak i modifikované verze, kdy právě modifikace nebo aktivace vykazovaly vyšší citlivost nebo selektivitu vůči určitým měřeným látkám. Studie [11] popisuje použité elektrody jako nanokompozit grafitu, jílových částic a pojiva, kdy jílové částice mají kromě strukturální funkce i vlastnost ovlivňování iontové výměny. Struktura povrchu, která je dána mj. zrnitostí jednotlivých složek, má také značný vliv na vlastnosti elektrod. Autoři dále uvádí, že při testování redoxního systému $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+/2+}$ mají pracovní elektrody z tohoto materiálu srovnatelné vlastnosti jako elektrody ze skelného uhlíku. Hlavní výhodou mikrotuhových pracovních elektrod oproti pracovním elektrodám ze skelného uhlíku byla vyšší citlivost. Dále pak jsou výhodné pro svou, ve srovnání s komerčními produkty, nízkou cenou a dostupností. Navíc odpadá proces náročného čištění typického pro většinu komerčních elektrod, kdy může být odstraněna část aktivní plochy a jednoduše nahrazena novou [11].

Vlivu tvrdosti na měřících vlastnostech se věnuje práce [12], která jako výchozí materiál pro pracovní elektrody využívá grafitové tuhy od firmy KOH-I-NOOR (Hardtmuth a.s., Česká republika). Práce pojednává konkrétně o tvrdostech grafitových tuh 2B, 5B a 8B, přičemž

vyšší číslo znamená v tomto případě vyšší podíl grafitu a menší podíl jílové složky. Konkrétní chemické zastoupení složek a charakterizaci grafitové tuhy bylo provedeno Energiově disperzní rentgenovou spektroskopií (EDX) a Ramanovou spektroskopií, výsledky EDX jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1: Chemické složení (hm. %) grafitových tuh měřené EDX [12]

Prvek	2B	5B	8B
	hm. %	hm. %	hm. %
C	59,23	69,16	75,08
O	20,72	14,78	13,79
Si	9,13	7,43	5,26
Al	7,54	5,85	4
K	0,75	0,49	0,25
Ca	0,26	0,24	0,26
Mg	0,18	0,19	0,28
Ti	0,37	0,16	0,3
Fe	1,82	0,8	1,24

Při voltametrickém stanovení pentachlorofenolu (PCP) bylo srovnáváno mezi sebou 9 elektrod ve třech modifikacích (elektrody z neupravené tuhy (PGE), elektrody pastové z těchto tuh (CPE) a elektrody z prášku tuh (PE)) a o třech již zmíněných tvrdostech. Limity detekce byly nejnižší u CPE, u PGE a PE byl limit detekce skoro dvojnásobný. Dle předpokladu vždy vykazovaly nejvyšší citlivost tuhy nejměkčí, tedy 8B. Při srovnání s komerční pracovní elektrodou ze skelného uhlíku (GCE), byl limit detekce, uvedený v $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$, $5,7\cdot 10^{-5}$ pro CPE/8B, $2,77\cdot 10^{-4}$ pro PGE/2B a $4,5\cdot 10^{-5}$ pro GCE. Je tedy možné dosáhnout citlivosti srovnatelné s jednou z nejpoužívanějších pracovních elektrod [12].

Daleko méně studií se zabývalo využitím uhlíkových elektrod jako pseudoreferenčních. Jednou z nich je studie [13], kdy byly připraveny sítotiskem tištěné elektrody uhlíkovým inkoustem na keramický podklad. Vybraným analytem byly Al^{3+} ionty stanovené metodou anodické rozpouštěcí voltametrie. Potenciálový posun redukčního píku do oblasti rozkladu vody na plynný vodík H_2 a kyslík O_2 znemožňoval získat věrohodný analytický signál. Přítomnost iontů Zn^{2+} však vedla ke snížení napětí a bezproblémovému hromadění hliníku na pracovní elektrodě bez uvolňování plynného vodíku. Dále je zmíněno, že pod hodnotu 50 ppb Al^{3+} bylo nutné vyhodnotit pík manuálně z důvodu elektrochemického šumu, nad tuto hodnotu bylo vyhodnocení provedeno automaticky softwarem. Byla

sestrojena kalibrační křivka pro koncentrace Al^{3+} od 10 ppb do 450 ppb, kdy limit detekce byl 8 ppb, za touto hranicí již nebylo možné věrohodně stanovit výšku píku [13].

Využitím uhlíkové (grafitové) elektrody jako pracovní, kvazireferenční i pomocné elektrody se zabývá studie [14], kde je předmětem zájmu efektivně stanovit kyselinu L-askorbovou citrusových plodů. Sonda sestává z grafitových tuh 2H Staedler (Staedler Mars GmbH & Co. KG, Německo) o délce 30 mm a průměru 0,3 mm. Pracovní elektrodě byla mechanicky upravena aktivní plocha ($0,158 \text{ mm}^2$) a zbytek elektrody, vyjma kontaktů, byl pokryt epoxidovou pryskyřicí, referenční a pomocná elektroda nebyla nikterak upravována. Analyt byl stanovován cyklickou voltametrií v octanovém pufru při $\text{pH} = 3,75$ s potenciálem pracovní elektrody -300 mV až $+700 \text{ mV}$ vůči uhlíkové pseudoreferenční elektrodě. Autoři práce zvolili hodnotu pH blízké přirozené kyselosti vybraných citrusových plodů, popisují také problematiku, kdy v jiných [14, 15] studiích byly použity jiné pufrы a měří při jiné hodnotě pH . V podstatě jsou však měření prováděna v oblasti kyselé a záleží na konkrétní zvolené sestavě měřicí sondy. Uváděný limit detekce byl $0,61 \pm 0,06 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny L-askorbové. Citlivost této metody, ve srovnání s titrací a chromatografií, byla nižší o 7 % a 4,5 % [16].

2.4.2 Modifikované uhlíkové elektrody

Modifikace může spočívat v dopování uhlíku (jedné z jeho forem) určitým prvkem, v chemické úpravě povrchu nebo v úpravě povrchu polymerem. Modifikací elektrody lze docílit vyšší chemické a elektrochemické stability, širšího využitelného potenciálového okna a odolnosti vůči zanášení povrchu [5].

Příkladem je bórem dopovaný diamant (BDD), který byl použit ve studii [17] pro přípravu systému, kde všechny elektrody (RE, WE, CE) byly právě z BDD. Stanovován byl volný chlór a dopamin. Připravené elektrody se lišily množstvím bóru a různou chemickou modifikací. Nejlepším typem byla kombinace 1% koncentrace bóru a povrch terminován vodíkem. Stabilita byla testována především v silně oxidačním vodném roztoku volného chlóru, kde kalibrační křivka chronoamperometrie vykazovala výbornou lineární odezvu s koeficientem determinace $r^2 = 0,998$. Při stanovení dopaminu byly výsledky ještě lepší, kdy pseudoreferenční BDD elektroda vykazovala stejně dobré výsledky jako elektroda Ag/AgCl , nebyl zde takřka žádný rozdíl v potenciálu [17].

Využití nemodifikovaných uhlíkových kvazireferenčních elektrod je doposud málo prozkoumáno, účelem této práce je tedy rozšířit tento směr výzkumu.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Použité pomůcky a laboratorní technika

- Potenciostat EmStat4S Low Range, v.č. ES4S-LR2209023109 (PalmSens BV, Nizozemsko)
- Potenciostat PGSTAT101, v.č. AUT40649 (Metrohm Autolab B.V., Nizozemsko)
- Elektrochemická cela skleněná (50 ml) s otvory pro usazení elektrod (Polarosensors, Česká republika)
- Elektroda referenční Ag, AgCl / 3M KCl, 6.0733.100 (Metrohm, Nizozemsko)
- Elektroda pracovní ze skleněho uhlíku $\varnothing = 3$ mm, MF-2012 (BASi, USA)
- Platinová elektroda spirálová (redoxme AB, Švédsko)
- Analytické váhy
- Automatické pipety

Použité chemikálie a výchozí materiál

- Hexakynoželezitan tridraselný $K_3[Fe(CN)_6]$ čistý (Penta s.r.o., Česká republika)
- Chlorid draselný p.a. (Penta s.r.o., Česká republika)
- Dusičnan sodný p.a. (Penta s.r.o., Česká republika)
- Kyselina dusičná (Lachner, s.r.o., Česká republika)
- Hydroxid sodný (Lachner, s.r.o., Česká republika)
- Dusičnan sodný p.a. (Penta s.r.o., Česká republika)
- Dusičnan olovnatý (Penta s.r.o., Česká republika)
- Histamin dihydrochlorid $\geq 99\%$ (TLC), powder (Merck)
- Hydrogenfosforečnan sodný (Penta s.r.o., Česká republika)
- Dihydrogenfosforečnan sodný (Penta s.r.o., Česká republika)
- Al_2O_3 prášek MicroPolish Alumina 0,3 μ m 40-10077 (Buehler, USA)
- Al_2O_3 prášek MicroPolish Alumina 0,05 μ m 40-10075 (Buehler, USA)
- Leštící podložky MicroCloth (Buehler, USA)

- Grafitové mikrotuhy 2B, HB a H, $\varnothing = 0,5$ mm (Hardtmuth a.s., Česká republika)
- Pipetovací špičky 1ml a 10 μ l
- Smršťovací bužírky
- Přívodní měděný vodič

3.1 Metodika

Základní měření byla prováděna ve skleněné elektrochemické cele naplněné 30 ml požadovaného elektrolytu, v němž byly ponořené elektrody. Ty byly připojeny k potenciostatu EmStat4S LR kontrolovaného softwarovým rozhraním PSTrace. Aplikována byla cyklická voltametrie s nastavením: rozsah E: -0,5 V až 0,8 V; rychlost skenu: 0,1 V/s; počet cyklů: 10; potenciálový krok: 0,008 V.

Byl připraven zásobní 50mM $K_3[Fe(CN)_6]$ v roztoku 0,1M KCl, z něj byl přidáním 0,1M KCl před každým měřením připraven výsledný elektrolyt o složení 5mM $K_3[Fe(CN)_6]$ v 0,1M KCl. Pro některá měření (specifikováno dále v textu) bylo pH výsledného elektrolytu ještě upraveno pomocí kyseliny dusičné nebo hydroxidu sodného.

Elektrody, se kterými bylo měřeno (WE – glassy carbon, RE – mikrotuha, CE – platinová), byly vloženy a upevněny tak, aby celá jejich aktivní plocha byla ponořena v roztoku a nedocházelo vlivem okolního prostředí laboratoře k ovlivnění výsledků (např. zvlnění hladiny při chůzi osob). Elektrody byly zapojeny k příslušným kontaktům potenciostatu v závislosti na režimu měření mikrotuhových elektrod (tj. zda byly testovány jako referenční nebo pracovní). Pokud byly testovány jako pracovní, byla použita argentchloridová jako referenční elektroda. Před a po dokončení měření (10 cyklů) byla každá pracovní elektroda opláchnuta demineralizovanou vodou. Polovina mikrotuhových elektrod daného typu byla vždy čištěna prostým 10vteřinovým opisováním čísla „8“ na papír, avšak bez zřejmého vlivu na měření.

Před začátkem měření byla pracovní elektroda ze skelného uhlíku očištěna (vyleštěna) krouživým pohybem ve tvaru čísla „8“ o leštící podložku s připravenou Al_2O_3 leštící pastou, jak popisuje článek [1], po dobu 1 minuty, pak byla opláchnuta destilovanou vodou a vložena do kádinky s destilovanou vodou, která byla postavena do ultrazvukové lázně po dobu 10 minut. Celá elektroda byla opět opláchnuta destilovanou vodou a vzduchem vysušena.

3.1.1 Měření iontů Pb^{2+}

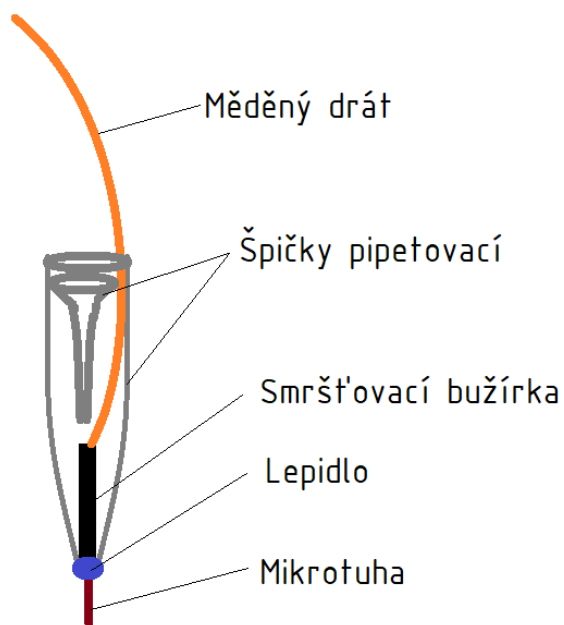
Jako anorganický polutant bylo vybráno olovo, konkrétně roztoky o jeho požadované koncentraci připravené ze zásobního roztoku $Pb(NO_3)_2$ o koncentraci iontů $Pb^{2+} = 100 \text{ mg/l}$ v $0,1M \text{ NaNO}_3$. Ředění zásobního roztoku bylo prováděno $0,1M \text{ NaNO}_3$ okyseleným na hodnotu $pH \approx 2,5$. Měření byla prováděna s pracovní elektrodou ze skelného uhlíku, grafitovou mikrotuhou jako referenční elektrodou a platinovou pomocnou elektrodou. Pro porovnání byla provedena i měření, kde místo grafitové mikrotuhy byla použita komerční referenční $Ag/AgCl$ elektroda. Měřeno bylo pomocí potenciostatu EmStat4S LR s metodou rozpouštěcí voltametrie se čtvercovou vlnou v softwarovém prostředí PSTrace s nastavením: rozsah E: $-1,445$ až $-0,65 \text{ V}$; rychlost skenu: $0,01 \text{ V/s}$; E depozice: $-1,5 \text{ V}$; čas depozice: 40 s ; frekvence: $7,5 \text{ Hz}$; amplituda: $0,025 \text{ V}$.

3.1.2 Měření histaminu

Pro měření organického polutantu byl vybrán histamin dihydrochlorid, kdy byl připraven jeho roztok o koncentraci $= 40 \text{ mmol/l}$ a následně doředěn fosfátovým puforem o $pH = 6,97$ na požadovanou hodnotu koncentrace ($1,29 \text{ mM}$ a $2,5 \text{ mM}$). Měření bylo provedeno ve stejné elektrodové sestavě jako olovo. Měřeno bylo pomocí potenciostatu PGSTAT101 metodou diferenční pulzní voltametrie v softwarovém prostředí Nova s nastavením: rozsah E: $0,2$ až $1,3 \text{ V}$; krok V: $0,005 \text{ V}$; modulační amplituda: $0,1 \text{ V}$; modulační čas: $0,2 \text{ s}$; modulační interval: $0,25 \text{ s}$.

3.2 První generace elektrod

Základem tuhových elektrod je nemodifikovaná grafitová mikrotuha společnosti KOH-I-NOOR (Hardtmuth a.s., Česká republika) s tvrdostí 2B o průměru $0,5 \text{ mm}$. Ta je spojena prostým těsným dolehnutím měděného přívodního vodiče ve smršťovací bužírce. Všechny tyto prvky jsou vloženy do 1 ml pipetovací špičky, které byla nůžkami vhodně upravena špička tak, aby průměr otvoru co nejlépe odpovídal průměru mikrotuhy. Posledním krokem bylo prosté vmáčknutí menší pipetovací špičky do sestavy pro jednoduché mechanické zafixování vodiče. Sestava elektrody je znázorněna na Obrázku 5, kde je již znázorněno utěsnění lepidlem, které bylo provedeno až u druhé generace.



Obrázek 5: Schéma mikrotuhové elektrody

3.3 Druhá generace elektrod

Sestava druhé generace elektrod se téměř nelišila od první, pouze došlo k vyřešení pronikání elektrolytu dovnitř elektrody pokrytím konce pipetovací špičky lepidlem, jak je uvedeno výše na Obrázku 5. Elektrody byly připraveny ze třech typů mikrotuh lišící se tvrdostí (H, HB, 2B) – které jsou, dle škály výrobce, středně tvrdé. Tuha 2B je v tomto experimentu nejměkčí a H jako nejtvrdší.

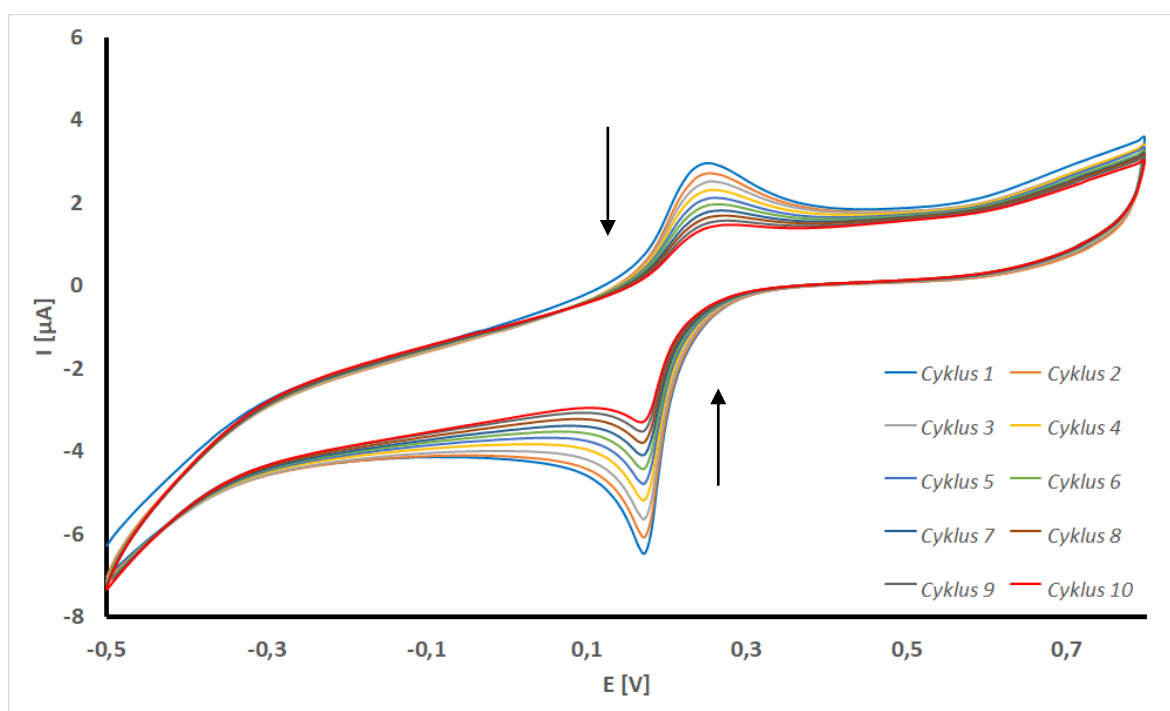
4 VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 První generace elektrod

Nejprve byly všechny tuhé elektrody testovány pomocí CV jako pracovní elektrody, aby se ověřilo, zda je funkční jejich konstrukce (kontakt s měděným vodičem atd.). V této fázi byla prováděna měření v elektrolytu s 5mM ferrikyanidem, u nějž bylo upraveno pH na hodnoty uvedené níže.

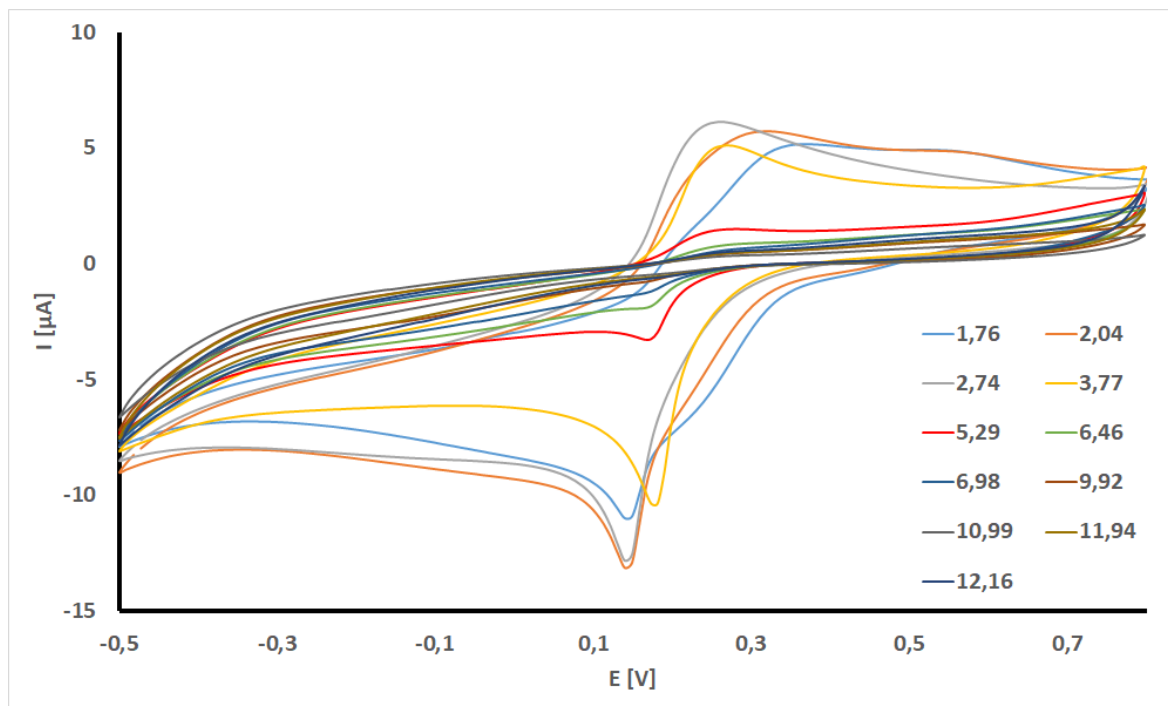
Získané výsledky nebyly konzistentní a stabilní kvůli těmto hlavním faktorům: 1) při nízkém pH vzniká berlínská modř $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ [18] deponující se na elektrody a k tomu srážení, vypadávání z roztoku; 2) pravděpodobný průsak elektrolytu až k měděnému vodiči – jiná elektrochemická reakce, jiný tvar píku.

Při sérii měření v různých pH bylo pozorováno, že se elektrody s každým dalším cyklem zanášejí a snižují viditelně výšku píku. Ilustrativní voltamogramy viz Obrázek 6.



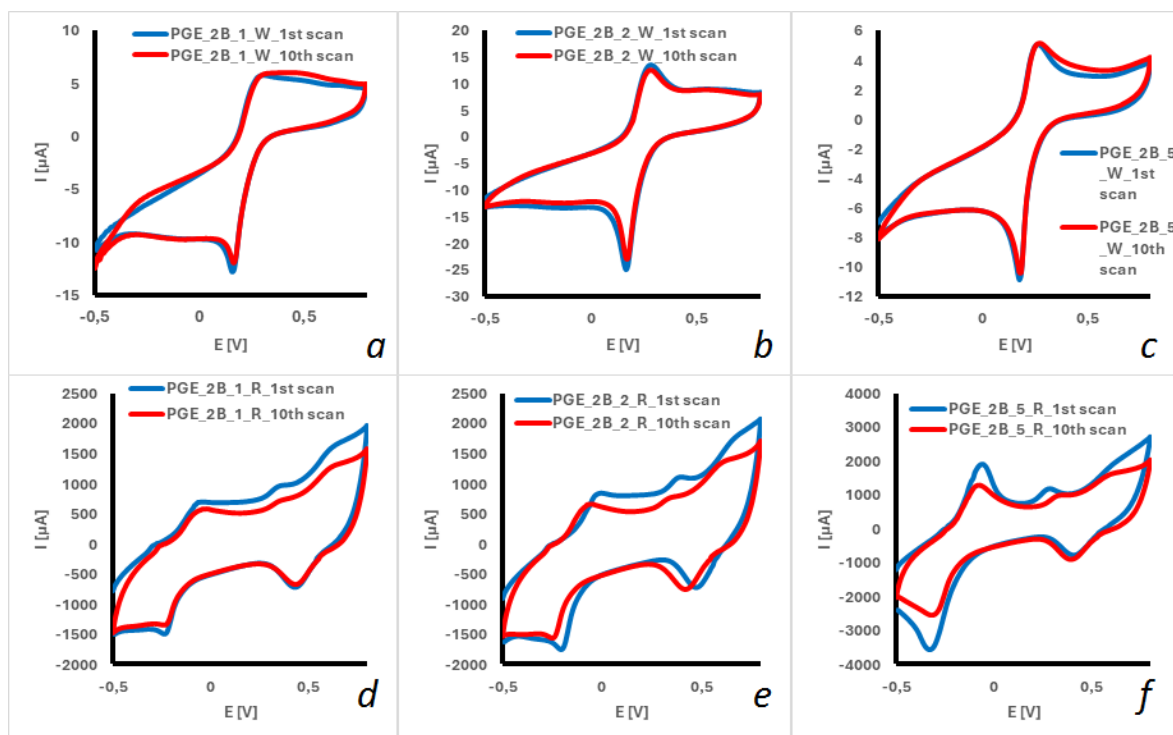
Obrázek 6: Cyklické voltamogramy naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy 2B jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu, okyseleno na $\text{pH} = 5,29$.

Od $\text{pH} = 6,46$ (viz Obrázek 7) již nebylo možné pozorovat stabilní pík.



Obrázek 7: Cyklické voltamogramy naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy 2B jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu, $\text{pH} = 1,76$ až 12,16.

S těmito měřeními byly provedeny i experimenty, kdy jako pracovní elektroda byla použita platinová plíšková a testované mikrotuhové elektrody byly zapojeny jako referenční. Získané voltamogramy (v roztocích s $\text{pH} = 3,7$) jsou vidět na obr. 8. Jak je vidno, jejich stabilita během měření (viz rozdíl 1. a 10. CV cyklus, tj. modrá a červená křivka) je nižší než u mikrotuhových elektrod použitých jako pracovní. Mohlo to být dáno již zmíněným pronikáním elektrolytu dovnitř elektrody až k měděnému přívodnímu vodiči, který pak svým složením mohl způsobit změnu potenciálu. Důležité je rovněž poznamenat, že naměřené voltamogramy vykazovaly dvě sady redoxních píků, což není pro ferrikyanid typické. Na vině může být jednak typ elektrody (Pt může působit jako katalyzátor různých reakcí, např. elektrolýzy vody nebo redukce protonů na plynný vodík) a jednak její velikost (plocha Pt plíšku je cca 1 cm^2). Pro další experimenty proto byly zvoleny jako pracovní elektrody GCE.

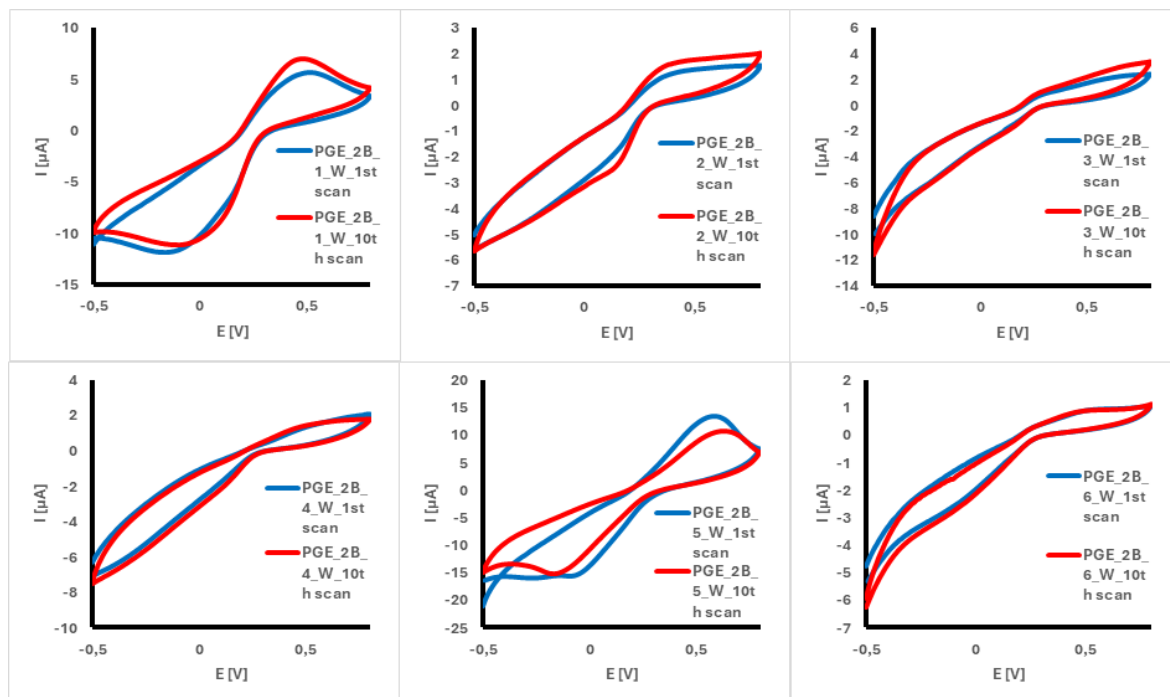


Obrázek 8: Cyklické voltamogramy naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy 2B jako pracovní elektrody (a-c) a referenční elektrody (d-f), (modrá - 1. cyklus, červená - 10. cyklus), Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu, okyseleno na pH = 3,7

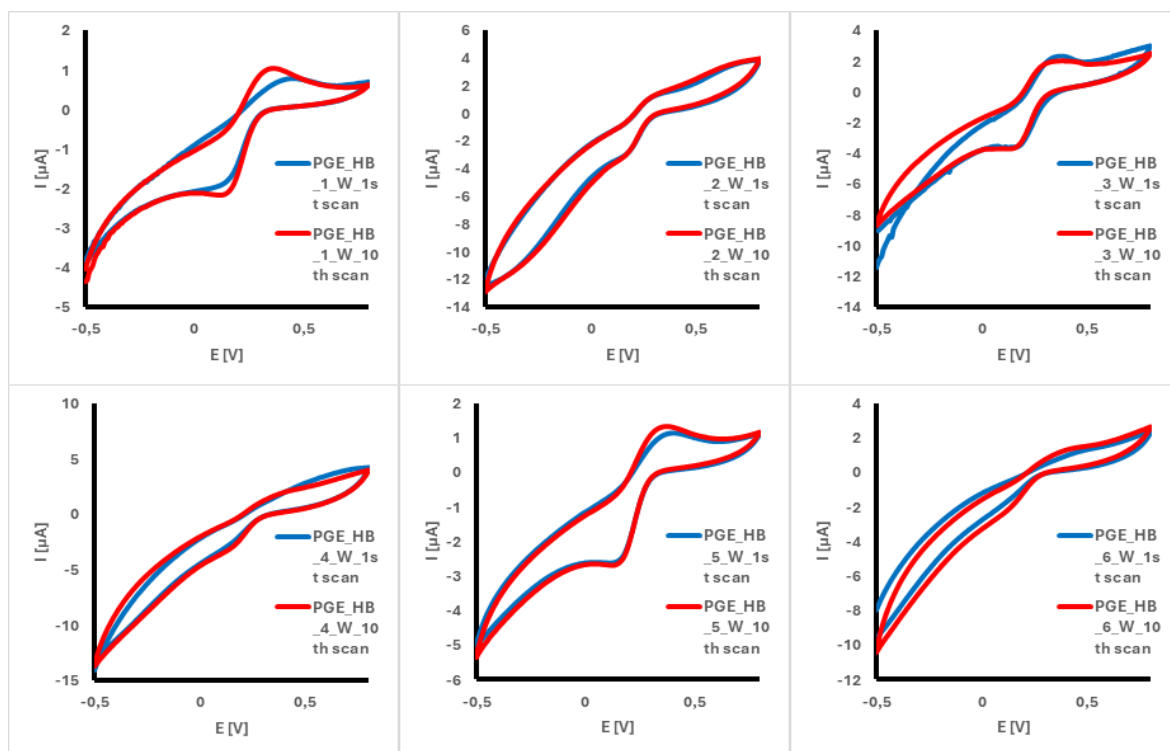
4.2 Druhá generace elektrod

S druhou generací elektrod bylo taktéž měřeno v režimu pracovních elektrod, ovšem při prvotních měřeních s těmito nově připravenými elektrodami nebyly píky příliš viditelné. To neodpovídá výsledkům prezentovaným v jiných studiích [12, 19, 20], což může poukazovat na potřebu jejich aktivace, např. anodizace [19, 20]. Ta nicméně nebyla v této práci předmětem zkoumání. Na Obrázcích 9, 10 a 11 jsou vyobrazeny voltamogramy elektrod všech tří zkoumaných tvrdostí, kdy modrý voltamogram je vždy první cyklus a červeně cyklus poslední (tj. desátý). Nejviditelnější rozdíly jsou vidět u tvrdostí HB a H (Obrázek 10 a 11), kdy právě poslední, 10. cyklus měl téměř vždy vyšší pík.

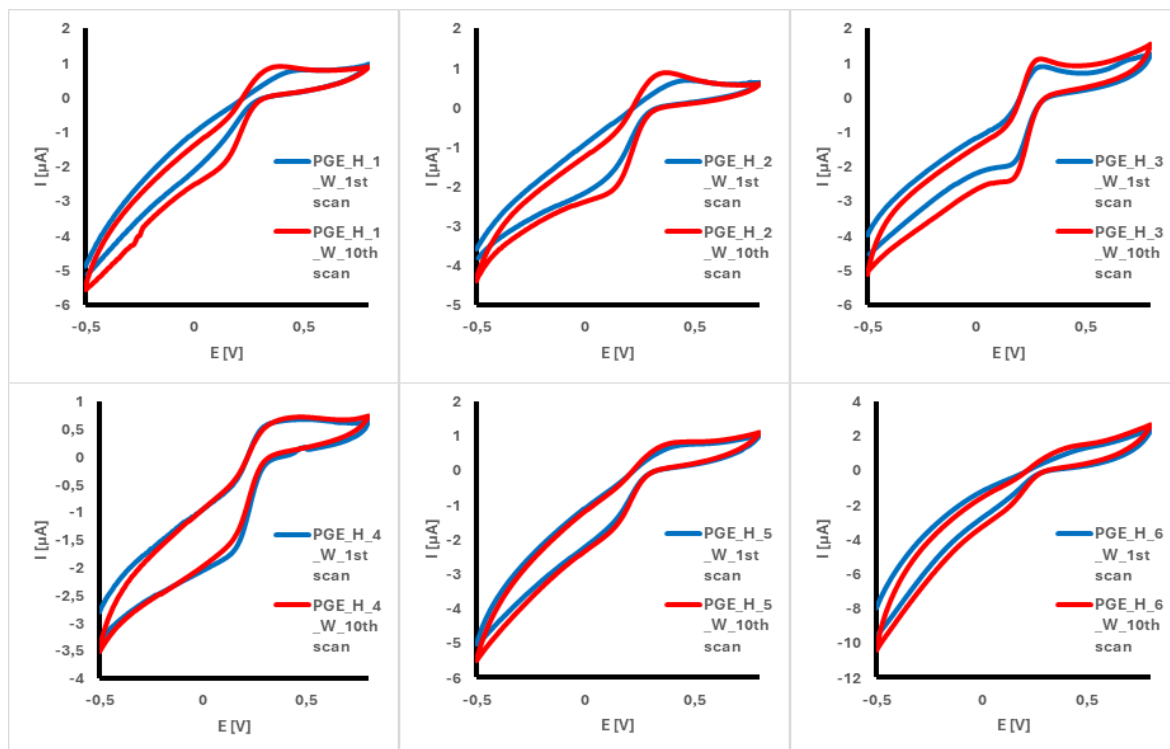
Prvotní použití druhé generace mikrotuhových elektrod v režimu referenčních elektrod (s pracovní elektrodou komerční GCE) je vyobrazeno na Obrázcích 25, 26 a 27, které jsou umístěny v příloze P I.



Obrázek 9: Cyklické voltamogramy (první cyklus – modré křivky; desátý cyklus – červené křivky) naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy 2B jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.



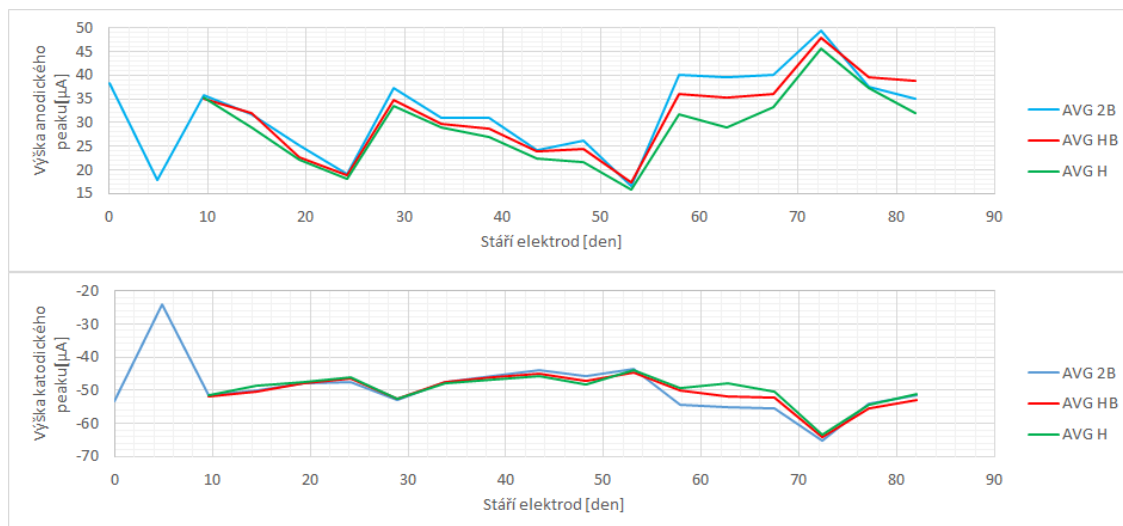
Obrázek 10: Cyklické voltamogramy (první cyklus – modré křivky; desátý cyklus – červené křivky) naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy HB jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.



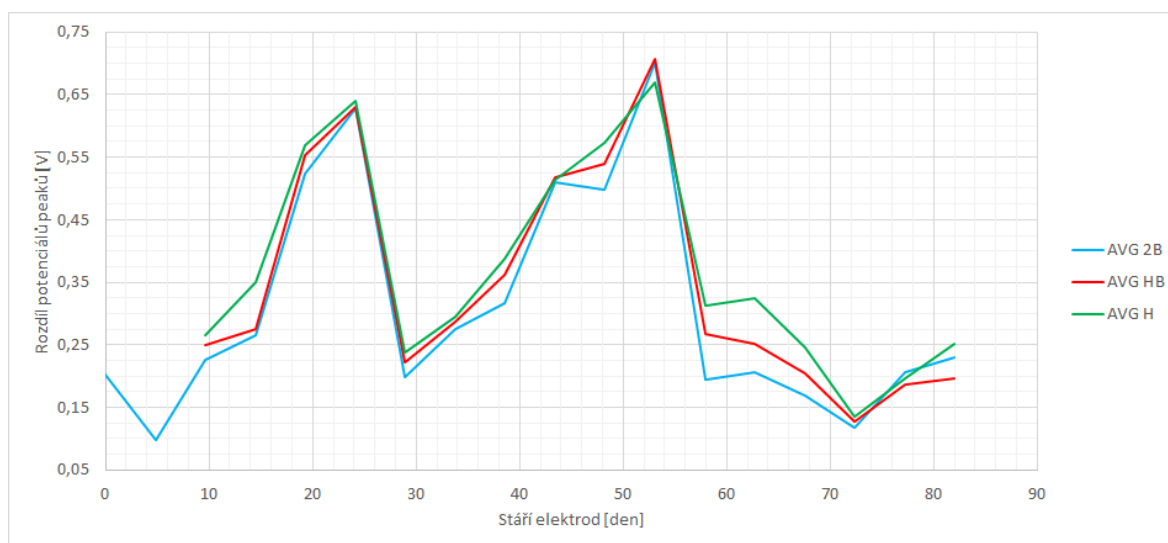
Obrázek 11: Cyklické voltamogramy (první cyklus – modré křivky; desátý cyklus – červené křivky) naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy H jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.

4.3 Stabilita

Při opakovaných měřeních s pracovní elektrodou ze skelného uhlíku v roztoku ferrikyanidu s mikrotuhovými elektrodami jako referenčními byl pozorován víceméně lineární pokles výšky anodického píku s každým dalším měřením - viz Obrázek 12. Při měření 24. den se výšky píků vrátili na hodnotu podobnou počáteční výšce píku z příčin, které se nepodařilo objasnit. V 53. dni, kdy již výška píků byla minimální, byla provedena regenerace (viz níže). Po této regeneraci se vlastnosti elektrod zlepšily po ustálení na přibližně původní stav. Oproti tomu výšky katodických píků zůstávaly téměř celou dobu (kromě pátého dne) na podobných hodnotách, zásadnější změna přišla až po provedení regenerace.



Obrázek 12: Graf časového průběhu výšek anodických (horní graf) a katodických (dolní graf) píků. Naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy jako referenční elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.



Obrázek 13: Graf časového průběhu separace píků zjištěných při měřeních za podmínek jako v obr. 12.

Dalším ukazatelem stability byla zvolena separace píků (Obrázek 13), která korespondovala s výše uvedenými výsledky na Obrázku 12. Hodnoty kolísaly od počáteční separace kolem 200 mV až k hodnotám 650 mV. Přičemž teoretická hodnota separace anodického a katodického píku je pro plně reverzibilní systém 59 mV [21]. Při celkovém zhodnocení všech tří typů elektrod nebyl pozorován zásadní rozdíl. Dá se však tvrdit, že nejnižší separace a nejvyšší výšky píků vykazovaly elektrody 2B, tedy nejměkčí s nejvyšším podílem uhlíku. Regenerace, která byla provedena, spočívala v tom, že mikrotuhové elektrody byly připojeny jako pracovní při metodě cyklické voltametrie s tím rozdílem, že rozsah potenciálu

byl -0,8 V až 0,8 V a elektrolyt obsahoval pouze 0,1M chlorid draselný. Dle grafů na Obrázcích 28, 29 a 30, které jsou uvedeny v příloze P II, se zjevně desorbovaly látky, které při sériích měření na elektrodách ulpěly. Nejvíce nečistot ulpělo dle voltamogramů na nejměkčích elektrodách a nejméně na nejtvrdějších, kdy nebyl pozorován téměř žádný pík.

Aby bylo možné zjistit, zda za změny může referenční elektroda nebo pracovní elektroda, potažmo elektrolyt, byla data jednak normalizována a za druhé provedena korelační analýza. Absolutní hodnoty pozice píků *Rel E*, jejich separace a výšky (*Rel I*) byly normalizovány a vyjádřeny dle vztahu 17:

$$Rel = \frac{Abs - Min}{Max - Min} \quad (17)$$

Kde:

Rel Relativní hodnota [-]

Abs Absolutní hodnota

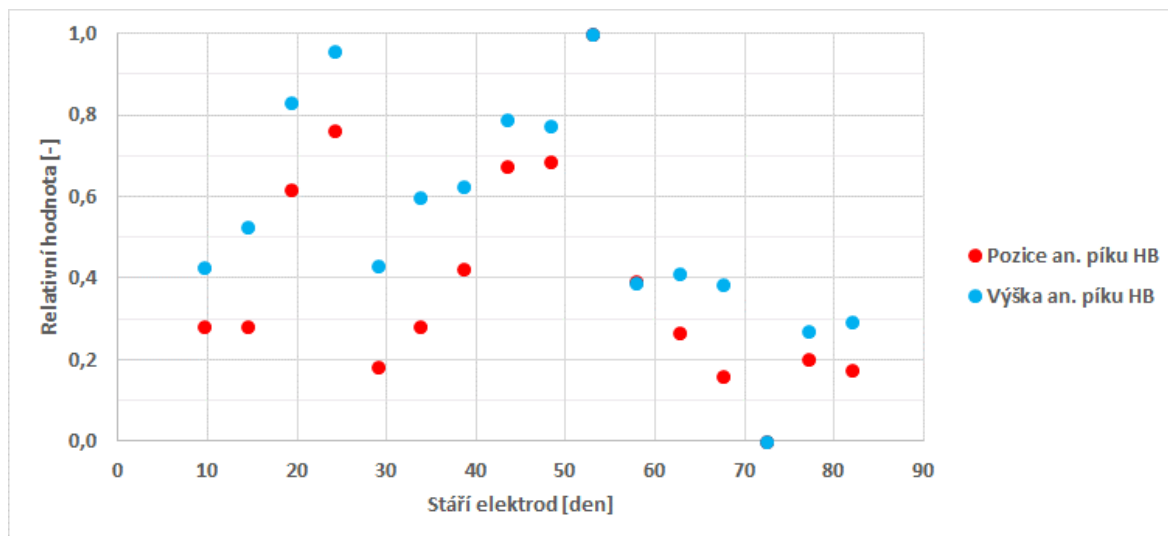
Min Minimální absolutní hodnota

Max Maximální absolutní hodnota

Normalizované hodnoty výšek a příslušných pozic píků pak mohou být vyneseny do jednoho grafu (v závislosti na čase), což umožní porovnat jejich průběh, resp. změny během opakovaných měření.

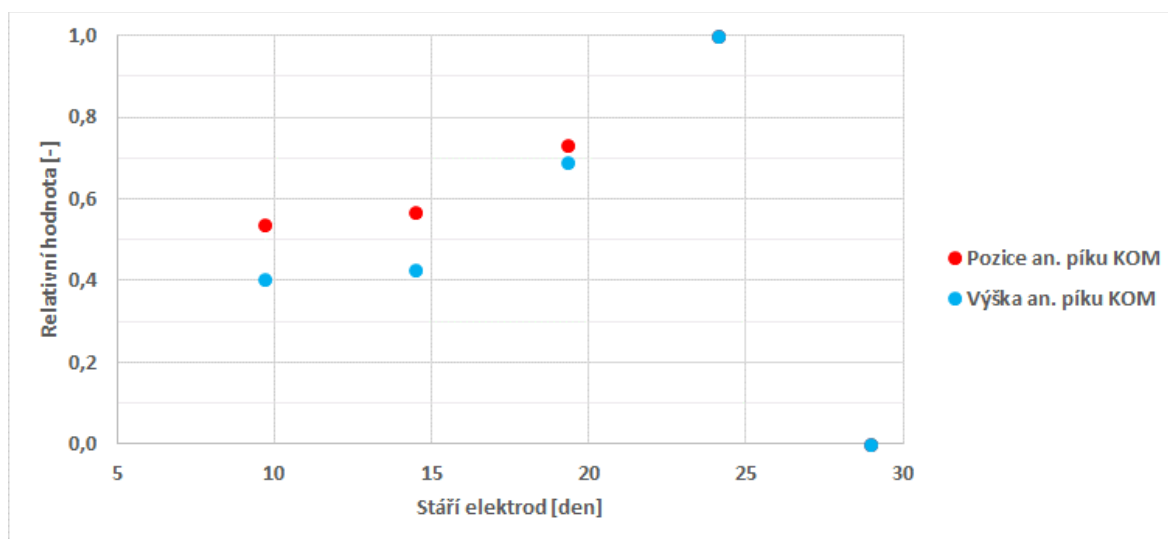
Obrázek 14 zobrazuje průběh normalizované výšky a pozice anodického píku zjištěných měřeními s využitím HB mikrotuhy jako referenční elektrody. Z teorie [21] i z praxe (Obr. 31 v příloze PIII) vyplývá, že při „zanášení“ elektrody dochází jak k poklesu výšky, tak k posunu anodického píku k vyšším potenciálům. Bude-li tedy změna výšky píku stejná, jako změna jeho pozice, bude předpoklad, že pozorované nestability jsou způsobeny změnou pracovní elektrody, příp. elektrolytu.

Z obr. 14 je patrné, že očekávaná shoda normalizovaných pozic výšky a pozice píku nastala jen při měření mezi 50. a 60. dnem a 72. den. V ostatní dny je průběh obou hodnot pouze podobný. Obdobné výsledky byly dosaženy i u dalších dvou typů elektrod, jak je patrné z grafů na obr. 32 a 33 v příloze P III.



Obrázek 14: Relativní hodnoty anodických píků CV voltamogramů naměřených s GCE elektrodami jako pracovní a PGE_HB jako referenční

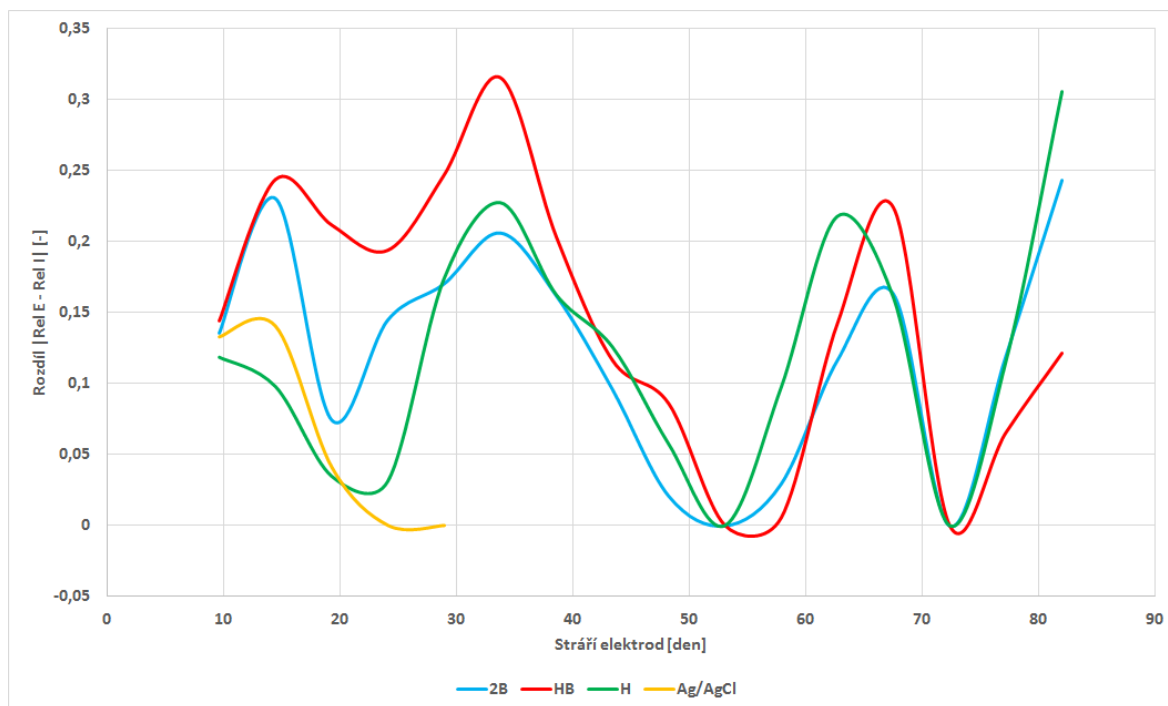
Pro srovnání bylo provedeno stejné vyhodnocení a normalizace anodických píků voltamogramů získaných komerční GCE elektrodou ve spojení s referenční Ag/AgCl elektrodou. Z Obrázku 15 je patrné, že ani při měření s argentschloridovou elektrodou nebylo dosaženo shody mezi průběhem změn výšek a pozic píků.



Obrázek 15: Relativní hodnoty anodických píků CV voltamogramů naměřených s GCE elektrodami jako pracovními a argentschloridovou jako referenční

Na Obrázku 16 jsou pak uvedeny časové průběhy rozdílů normalizovaných výšek a pozic píků pro všechny typy použitých referenčních elektrod, včetně argentschloridové, jako míra výše diskutované nestability.

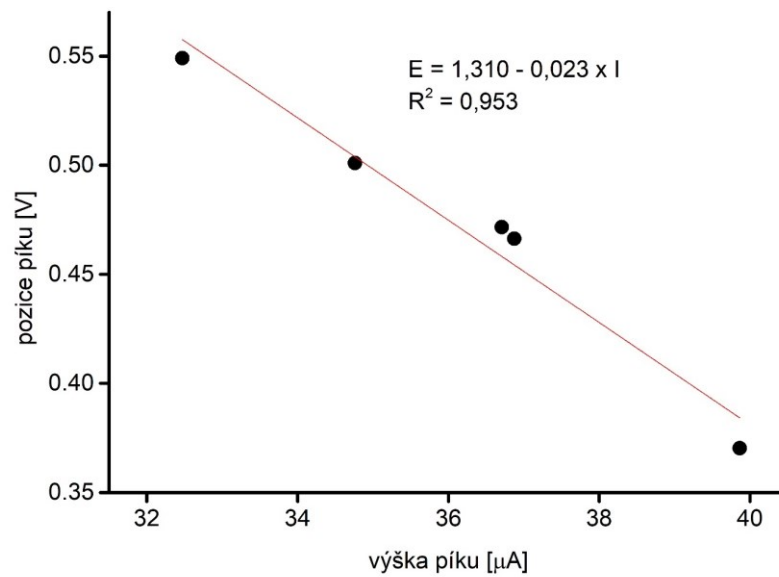
Podle grafu níže se jako nejvíce stabilní (tj. s nejmenším rozdílem normalizovaných výšek a pozic píků) ukázala do 35. dne referenční elektroda z tuhy nejtvrdější (H – zelená), která měla stabilitu srovnatelnou s komerční argentchloridovou (žlutá). V dalším průběhu měření se rozdíly mezi jednotlivými typy elektrod snížily.



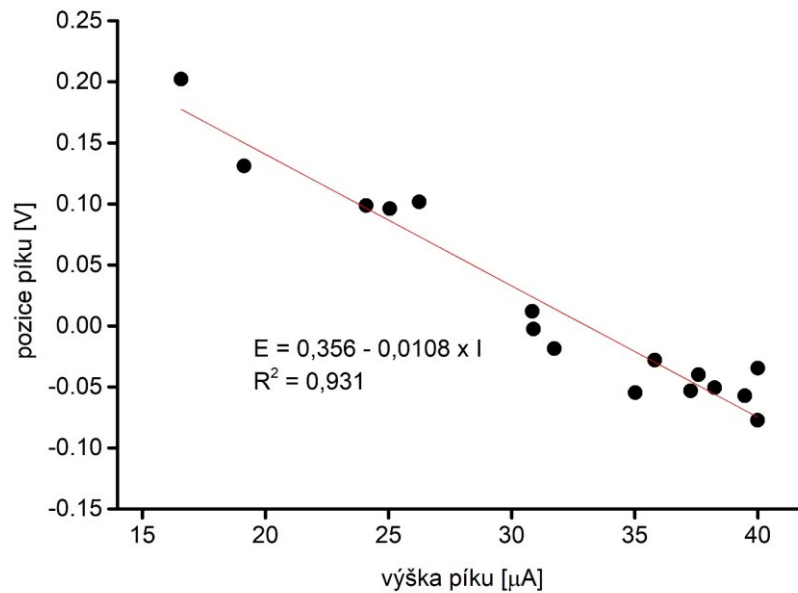
Obrázek 16: Rozdíl normalizovaných hodnot výšky píku a jeho pozice pro referenční mikrotuhové elektrody (komerční Ag/AgCl elektroda – žlutá) a pracovní ze skelného uhlíku

Další metodou analýzy vzájemné závislosti výšky a pozice anodických píků je korelace pomocí regresní analýzy. Ta vychází z předpokladu, že pokud se vytvoří graf závislosti výšky na příslušné pozici píku, pak by vzniklá závislost měla mít ideálně lineární tvar. Na Obrázku 17 je vztah mezi výškami píků a jejich pozicemi odečtených z voltamogramů naměřených pracovní GCE elektrodou v kombinaci s argentchloridovou elektrodou jako referenční. Data tvoří lineární závislost s korelačním koeficientem $R^2 = 0,95$, což lze považovat za „referenční“ chování systému kde odchylka pozic píků je důsledkem zanášení pracovní elektrody (a s tím spojeného poklesu výšky píku), nikoliv nestability referenční elektrody. Na Obrázcích 18, 19 a 20 jsou stejným způsobem vyhodnocená data pro všechny typy mikrotuhových elektrod, kdy nejlépe, pokud ukazatelem je nejvyšší korelační koeficient R^2 , dopadly elektrody nejměkčí (2B) s $R^2 = 0,93$, které mají i nejvyšší strmou směrnici, zbylé 2 typy elektrod dopadly stejně s nižším R^2 . Celkově se dá z uvedených dat

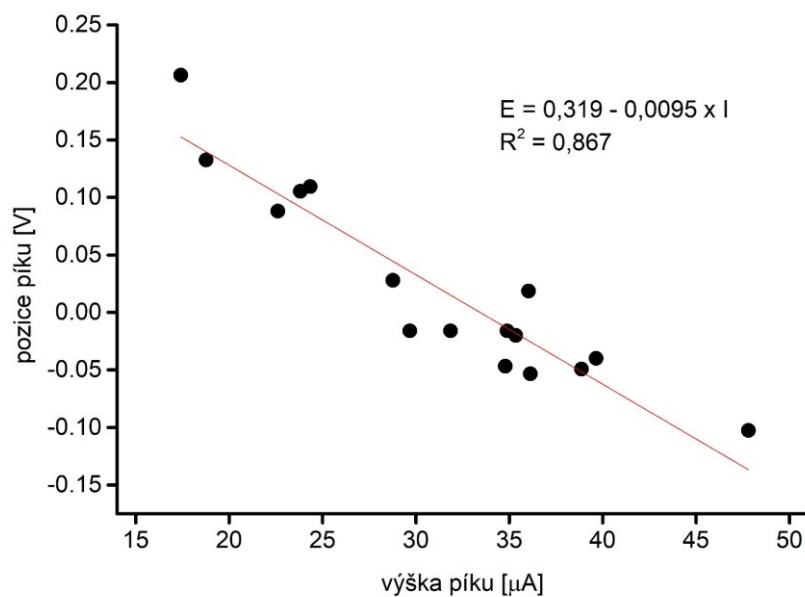
odvodit, že mikrotuhy jako referenční elektrody vykazují dobrou stabilitu a zjištěné odchylky pouze kopírují nestabilní odezvu pracovních elektrod.



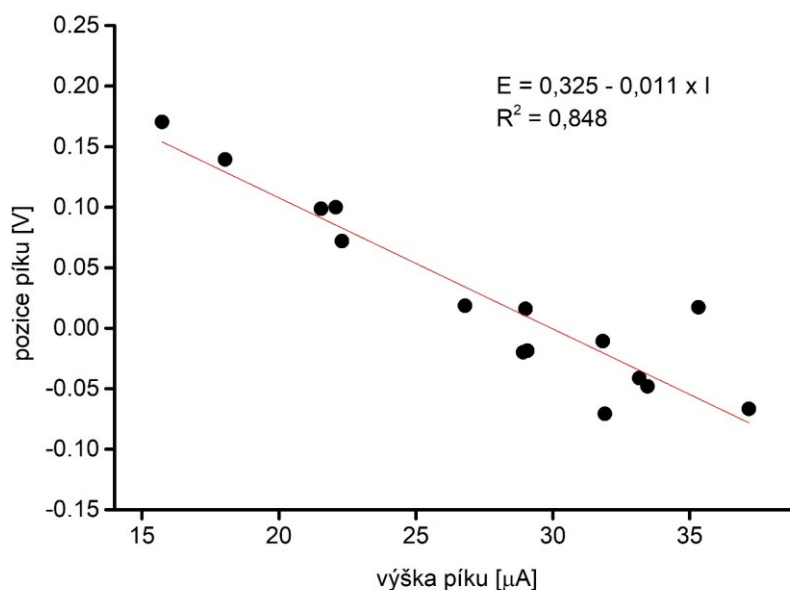
Obrázek 17: Korelace pozice píku a jeho výšky – GCE jako pracovní a Ag/AgCl jako referenční elektroda



Obrázek 18: Korelace pozice píku a jeho výšky – GCE jako pracovní a PGE_2B jako referenční elektroda



Obrázek 19: Korelace pozice píku a jeho výšky – GCE jako pracovní a PGE_HB jako referenční elektroda



Obrázek 20: Korelace pozice píku a jeho výšky – GCE jako pracovní a PGE_H jako referenční elektroda

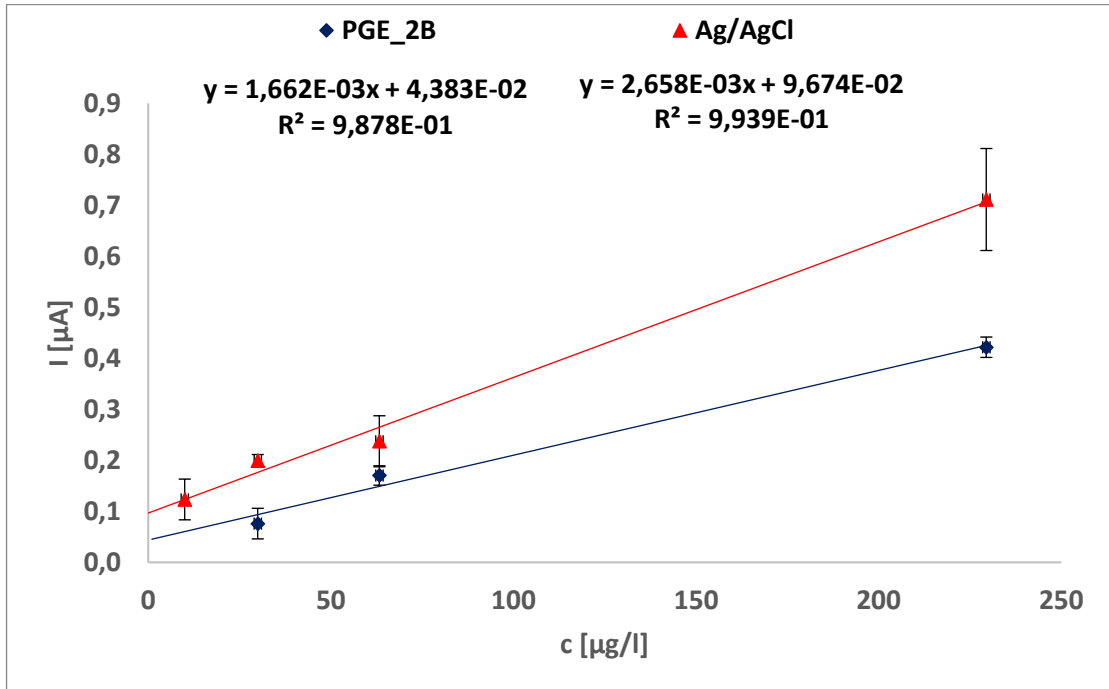
Důležitým parametrem charakterizujícím referenční elektrody je jejich potenciál proti standardní vodíkové elektrodě. V případě mikrotuhových elektrod byly zjištěny jednoduchým porovnáním průměrných pozic anodických píků hodnoty -400 (2B), -392 (HB) a -414 (H) mV vůči Ag/AgCl elektrodě, tj. -191 (2B), -183 (HB) a -205 (H) vůči SHE.

4.4 Stanovení iontů Pb^{2+}

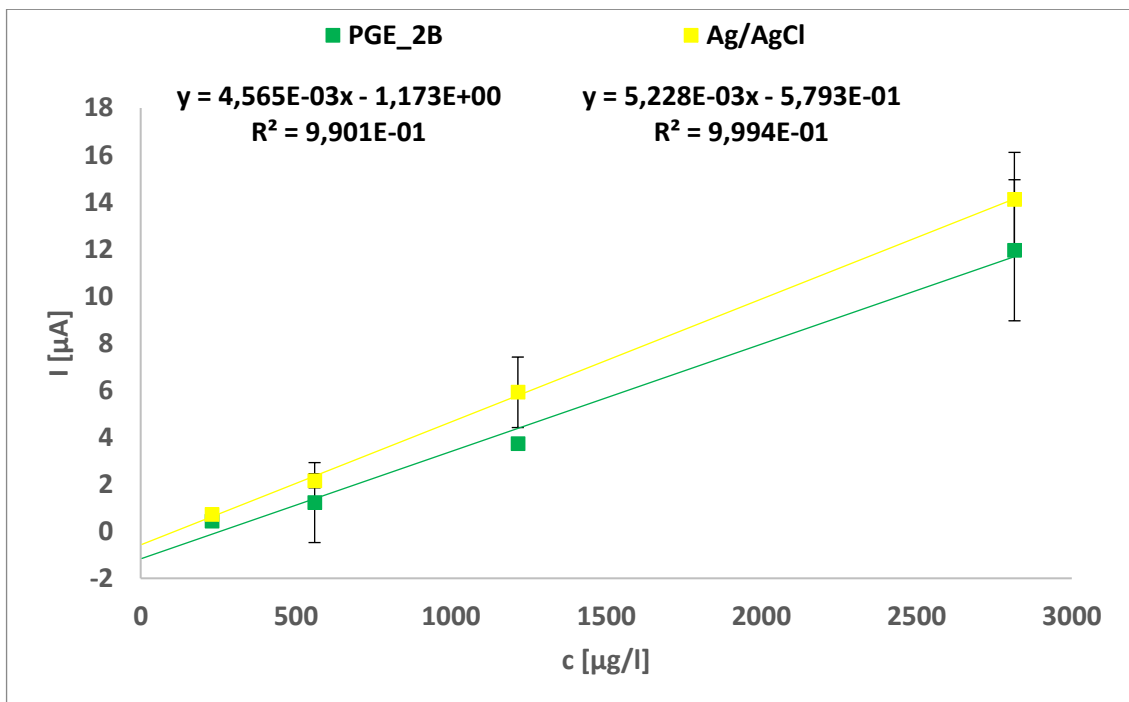
Při měření koncentrace olovnatých iontů Pb^{2+} metodou rozpouštěcí voltametrie se čtvercovou vlnou v roztoku 0,1M $NaNO_3$ bylo měřeno s pracovní elektrodou ze skelného uhlíku a jako referenční byla použita $Ag/AgCl$ elektroda nebo mikrotuhová elektroda 2B. Z naměřených výšek voltametrických píků vyneseny proti koncentraci Pb^{2+} v roztoku byly sestrojeny kalibrační křivky pro obě referenční elektrody. V obou případech byly pozorovány různé citlivosti pro nízké (10 až 230 $\mu g/l$) a vysoké (230 až 3000 $\mu g/l$) koncentrace – viz Obrázek 21 a 22. Při srovnání kalibračních křivek pro oba rozsahy je vidět, že citlivost stanovení při použití mikrotuhové referenční elektrody (nízké koncentrace $1,66 \cdot 10^{-3} \mu A \cdot l/\mu g$; vysoké koncentrace $4,57 \cdot 10^{-3} \mu A \cdot l/\mu g$) je mírně nižší než při použití komerční argentchloridové elektrody (nízké koncentrace $y = 2,66 \cdot 10^{-3} \mu A \cdot l/\mu g$; vysoké koncentrace $y = 5,23 \cdot 10^{-3} \mu A \cdot l/\mu g$). V druhém případě je vidět i nižší rozptyl dat ($R^2 = 0,9939$) v porovnání se stanovením s mikrotuhovou referenční elektrodou ($R^2 = 0,9878$). Navině může být nižší absolutní hodnota depozičního potenciálu, což je způsobeno tím, že se mění potenciál tuhové elektrody v závislosti na složení (koncentraci) roztoku (viz ΔV v Tabulce 2). Proto nejde přesně nastavit vkládaný potenciál na pracovní elektrodu, a díky tomu se může deponovat v depozičním kroku metody méně iontů na povrch pracovní elektrody. Jedno z možných řešení (a zároveň potenciální výhoda testované pseudoreferenční elektrody) je, že by se nevkládala fixní potenciál vůči referenční elektrodě, ale potenciál vůči OCP (potenciálu při nulovém proudu), který závisí právě na složení roztoku. Tím bude docíleno pokaždé stejné napětí, a tedy pokaždé stejná absolutní velikost depozičního potenciálu. Použití mikrotuhové elektrody 2B je tedy možné, avšak s nepatrně menší citlivostí. Za daných podmínek při koncentraci Pb^{2+} iontů $c = 10 \mu g/l$ nebylo možné rozeznat analytický signál od šumu, od koncentrace Pb^{2+} iontů $c = 30 \mu g/l$ však již byl signál rozlišitelný od šumu.

Stejně jako u předchozích voltametrických měření byl srovnán posun potenciálu ΔV mikrotuhové referenční elektrody vůči argentchloridové elektrodě. Zjištěná hodnota je okolo -500 mV s přesnými hodnotami pro jednotlivá měření uvedenými v Tab. 2. Zde je evidentní, že hodnota ΔV se s narůstající koncentrací olovnatých iontů snižuje. To může být způsobeno změnou pH jako důsledek přidavků „neutrálního“ roztoku dusičnanu olovnatého k základnímu elektrolytu okyselenému na $pH = 2,5$. Je tedy evidentní, že pro anodickou rozpouštěcí voltametrii by bylo možné použít mikrotuhové referenční elektrody jen za podmínky již zmíněné aplikace potenciálů nikoliv vůči referenční elektrodě ale proti OCP.

Zároveň je zjištěná hodnota referenčního potenciálu mikrotuhové elektrody odlišná od referenčního potenciálu zjištěného při měřeních s ferrikyanidem, což opět ilustruje závislost potenciálu těchto kvazireferenčních elektrod na složení elektrolytu.



Obrázek 21: Kalibrační křivky – měření iontů Pb^{2+} nízké koncentrace



Obrázek 22: Kalibrační křivky – měření iontů Pb^{2+} vysoké koncentrace

Tabulka 2: Pozice a výšky píků pro Pb^{2+} pro rozpouštěcí voltametrii se čtvercovou vlnou. SmO – směrodatná odchylka. Píky odečteny z voltamogramů změřených na čisté GCE elektrodě s argentchloridovou (sloupce Ag/AgCl + GCE) mikrotuhovou (sloupce PGE_2B + GCE) referenční elektrodou

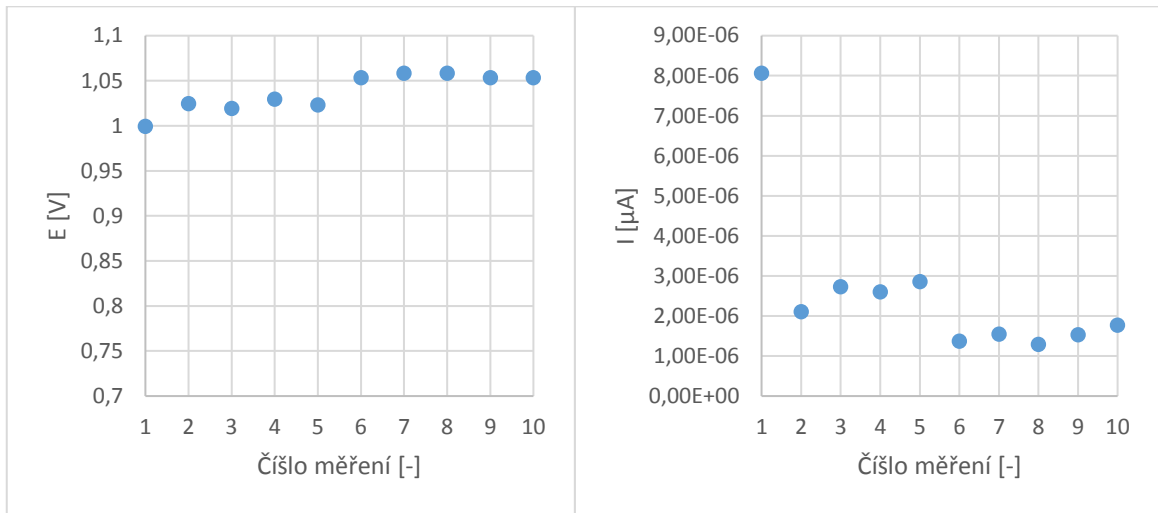
c [μg/l]	Ag/AgCl + GCE				PGE_2B + GCE				ΔE [V]
	E [V]	SmO	I [μA]	SmO	E [V]	SmO	I [μA]	SmO	
10	-0,601	0,04	0,12	0,04					
29,99	-0,57	0,03	0,199	0,012	-1,14	0,04	0,08	0,03	0,574
63,30	-0,54	0,12	0,24	0,05	-1,108	0,015	0,170	0,019	0,564
229,5	-0,561	0,016	0,71	0,10	-1,045	0	0,42	0,02	0,484
560,2	-0,525	0	2,1	0,3	-1,03	0,04	1,2	1,7	0,504
1215	-0,511	0,016	5,9	1,5	-1,015	0	3,72	0,08	0,504
2815	-0,498	0,016	14,1	2,0	-0,995	0	12	3	0,497

4.5 Voltametrická detekce histaminu

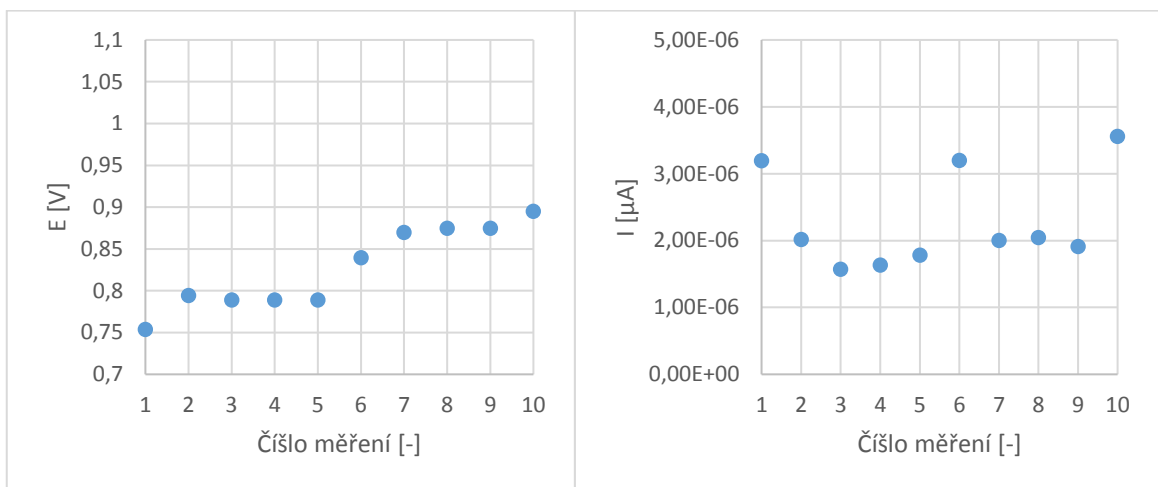
Při měření modelového organického polutantu histaminu byla využita metoda diferenční pulzní voltametrie, která se na základě předchozích studií ukázala jako optimální. Voltametrie byla prováděna ve fosfátovém pufru při $pH \approx 7$. Z naměřených voltamogramů je patrné, že dochází s největší pravděpodobností k elektropolymerizaci histaminu [22], a následnému rychlému zanášení pracovní elektrody ze skleného uhlíku jeho polymerem, kdy po prvním měření výrazně a ireverzibilně poklesla výška píku. Vizualně je popisovaný jev na obrázcích 23 a 24, kdy jsou srovnávány výšky a pozice voltametrických píků měřených na nemodifikované GCE s použitím komerční Ag/AgCl referenční elektrody (obr. 23) a mikrotuhové ref. elektrody 2B (obr. 24). Ve druhém případě navíc došlo zřejmě i k interakci produktů oxidace histaminu s povrchem referenční mikrotuhové elektrody, což lze pozorovat jako posun pozice píků o celkově 150 mV. Oproti tomu pozice píků zjištěných s použitím Ag/AgCl referenční elektrody se během série měření posunuly pouze o 60 mV.

Díky uvedenému jevu pak zjištěná výška píku neodpovídala stanovované koncentraci histaminu v analytu, která byla zvýšena 2x (měření číslo 6). Hypotéza je taková, že pak již mohlo docházet pouze k odezvě samotného deponovaného filmu, avšak její ověření je již mimo rozsah této práce. Depozici produktů oxidace histaminu by mohlo být zabráněno modifikací povrchu elektrody vhodným polymerem, jak je např. uvedeno v práci [23], kde byly elektrody potaženy filmem nanohybridního hydrogelu z hydroxyethylcelulózy a kyseliny citrónové s příměsí oxidů grafenu, kdy došlo k eliminaci zanášení elektrody.

Obdobný efekt vykazoval i Nafion – polymer na bázi teflonu se záporně nabitými sulfoskupinami [22].



Obrázek 23: Grafy závislosti pozice (vlevo) a výšky (vpravo) voltametrických píků získaných diferenční pulzní voltametrií, GCE jako pracovní el. a Ag/AgCl jako referenční el., $pH \approx 7$, koncentrace 1,29 mM a 2,5 mM histamin



Obrázek 24: Grafy závislosti pozice (vlevo) a výšky (vpravo) voltametrických píků získaných diferenční pulzní voltametrií, GCE jako pracovní el. a PGE_2B jako referenční el., $pH \approx 7$, koncentrace 1,29 mM a 2,5 mM histamin.

ZÁVĚR

Cílem práce bylo provést základní voltametričnou charakteristiku elektrod z grafitové tuhy a porovnat je s komerčně dostupnými referenčními elektrodami (argentchloridovými). Dalším úkolem bylo provést testování charakterizovaných referenčních elektrod pro voltametričnou detekci různých typů polutantů – anorganické ionty, organické látky.

Nejdříve byly připraveny 2 generace elektrod z tuh o 3 nejběžnějších tvrdostech tuh (2B, HB a H), kdy 2. generace byla dokonalejší konstrukce, zejména lepším utěsněním špičky elektrody, aby bylo zamezeno průniku elektrolytu dovnitř elektrody. Tím se nejen zvýšila pevnost celé elektrody, ale i reprodukovatelnost výsledků.

U takto připravených elektrod byla testována dlouhodobá stabilita pomocí cyklické voltametrie v roztoku ferrikyanidu. Během téměř tříměsíčního testování byly pozorovány odchylky analytického signálu, nicméně analýza dat ukázala na pravděpodobný vliv nestability pracovních elektrod, nikoliv referenčních. Tvrdost testovaných tuh nevykazovala výrazný vliv na výsledky měření, což bylo očekávatelné vzhledem k podobnému obsahu grafitu. Avšak na 2B tuhách, které obsahují nejvyšší podíl uhlíku z testovaných typů, se deponovalo největší množství nečistot, což by mohlo být důsledkem přítomnosti vyššího počtu funkčních skupin. Pomocí těchto měření byl stanoven potenciál tuhových elektrod -200 mV proti SHE.

Vybrané tuhy byly testovány jako referenční elektrody pro stanovení iontů olova pomocí rozpouštěcí voltametrie se čtvercovou vlnou. Z naměřených výšek píků byly sestrojeny kalibrační přímky pro nízké a vysoké koncentrace, kdy citlivost systému s mikrotuhovou referenční elektrodou (nízké koncentrace $1,66 \cdot 10^{-3} \mu\text{A} \cdot \text{l}/\mu\text{g}$; vysoké koncentrace $4,57 \cdot 10^{-3} \mu\text{A} \cdot \text{l}/\mu\text{g}$) byla podobná jako citlivost systému s argentchloridovou referenční elektrodou (nízké koncentrace $2,66 \cdot 10^{-3} \mu\text{A} \cdot \text{l}/\mu\text{g}$; vysoké koncentrace $5,23 \cdot 10^{-3} \mu\text{A} \cdot \text{l}/\mu\text{g}$). Zároveň bylo zjištěno, že pro tato měření bude zřejmě vhodnější vkládat potenciál proti potenciálu s nulovým proudem.

Ve stejných systémech byla testována voltametričká odezva na modelový organický analyt – histamin. Měření bylo prováděno ve fosfátovém pufru o $\text{pH} \approx 7$ metodou diferenční pulzní voltametrie. Histamin, resp. produkty jeho elektrochemické oxidace, se však s největší pravděpodobností deponoval na povrchu referenční i pracovní elektrody a odezva, která byla získána, byla pravděpodobně jen odezvou vrstvy oxidovaného histaminu. Tento jev byl méně patrný u argentchloridové referenční elektrody, která má aktivní část tvořenou

skleněnou fritou s nižší afinitou k produktům oxidace histaminu než grafit. To bylo patrné i ze samovolné změny potenciálu voltametrického píku během měření s referenční mikrotuhovou elektrodou, zatímco s argentchloridovou referenční elektrodou byly tyto změny méně patrné.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ELGRISHI, Noémie; ROUNTREE, Kelley J.; MCCARTHY, Brian D.; ROUNTREE, Eric S.; EISENHART, Thomas T. et al. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. Online. *Journal of Chemical Education*. 2018, roč. 95, č. 2, s. 197-206. ISSN 0021-9584. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>. [cit. 2023-11-20].
- [2] COMPTON, Richard G a BANKS, Craig E. *Understanding Voltammetry*. Online. 3rd ed. WORLD SCIENTIFIC (EUROPE), 2018. ISBN 978-1-78634-526-4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1142/q0155>. [cit. 2023-12-10].
- [3] BAREK, Jiří; OPEKAR, František a ŠTULÍK, Karel. *Elektroanalytická chemie*. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 80-246-1146-5.
- [4] KORYTA, Jiří; DVOŘÁK, Jiří a KAVAN, Ladislav. *Principles of Electrochemistry*. 2, ilustrované vydání. Chichester (New York): John Wiley, 1993. ISBN 9780471937135.
- [5] ZOSKI, Cynthia G. (ed.). *Handbook of Electrochemistry*. Online. Amsterdam: Elsevier, 2007. ISBN 9780444519580. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-51958-0.X5000-9>. [cit. 2024-01-14].
- [6] VYDRA, František; JULÁKOVÁ, Eva a ŠTULÍK, Karel. *Rozpouštěcí polarografie a voltametrie*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1977.
- [7] GAMBURG, Yuliy. *The Fundamentals of Electrochemistry*. United Kingdom: Cambridge Scholars Publishing, 2023. ISBN 978-1527501645.
- [8] INZELT, György; LEWENSTAM, Andrzej a SCHOLZ, Fritz (ed.). *Handbook of reference electrodes*. Heidelberg: Springer, 2013. ISBN 978-3-642-36187-6.
- [9] AJ TORRIERO, Angel. Understanding the Differences between a Quasi-Reference Electrode and a Reference Electrode. Online. *Medicinal & Analytical Chemistry International Journal*. 2019, roč. 3, č. 3, s. 1-3. ISSN 26392534. Dostupné z: <https://doi.org/10.23880/MACIJ-16000144>. [cit. 2024-01-23].
- [10] BARD, Allen J.; INZELT, György a SCHOLZ, Fritz (ed.). *Electrochemical Dictionary*. Berlin: Springer - Verlag, 2008. ISBN 978-3-540-74597-6.

- [11] PANDEY, Annu; SHARMA, Swati; JAIN, Rajeev a RAJA, Antony Nitin. Review—Pencil Graphite Electrode: An Emerging Sensing Material. Online. *Journal of The Electrochemical Society*. 2019, roč. 167, č. 3. ISSN 0013-4651. Dostupné z: <https://doi.org/10.1149/2.0012003JES>. [cit. 2024-01-28].
- [12] SKRZYPCZYŃSKA, Katarzyna; KUŚMIEREK, Krzysztof; ŚWIĄTKOWSKI, Andrzej a DĄBEK, Lidia. The Influence of Pencil Graphite Hardness on Voltammetric Detection of Pentachlorophenol. Online. *International Journal of Electrochemical Science*. 2018, roč. 13, č. 1, s. 88-100. ISSN 14523981. Dostupné z: <https://doi.org/10.20964/2018.01.100>. [cit. 2024-01-31].
- [13] W. DILLEEN, John; J. BIRCH, Brian a G. D. HAGGETT, Barry. Electrochemical detection of aluminium using single-use sensors. Online. *Analytical Communications*. 1999, roč. 36, č. 11-12. ISSN 1359-7337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/a907667k>. [cit. 2024-01-29].
- [14] CASELLA, Innocenzo G. a GUASCITO, Maria R. Electrocatalysis of ascorbic acid on the glassy carbon electrode chemically modified with polyaniline films. Online. *Electroanalysis*. 1997, roč. 9, č. 18, s. 1381-1386. ISSN 1040-0397. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/elan.1140091802>. [cit. 2024-05-07].
- [15] IVANOV, Svetlozar; TSAKOVA, Vessela a MIRSKY, Vladimir M. Conductometric transducing in electrocatalytical sensors: Detection of ascorbic acid. Online. *Electrochemistry Communications*. 2006, roč. 8, č. 4, s. 643-646. ISSN 13882481. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2006.02.006>. [cit. 2024-05-07].
- [16] BARBERIS, Antonio; BAZZU, Gianfranco; CALIA, Giammario; PUGGIONI, Giulia M. G.; ROCCHITTA, Gaia G. et al. New Ultralow-Cost Telemetric System for a Rapid Electrochemical Detection of Vitamin C in Fresh Orange Juice. Online. *Analytical Chemistry*. 2010, roč. 82, č. 12, s. 5134-5140. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ac100303p>. [cit. 2024-02-01].
- [17] PENG, Zhen; FIORANI, Andrea; AKAI, Kazumi; MURATA, Michio; OTAKE, Atsushi et al. Boron-Doped Diamond as a Quasi-Reference Electrode. Online. *Analytical Chemistry*. 2022, roč. 94, č. 48, s. 16831-16837. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c03923>. [cit. 2024-02-14].

- [18] KARYAKIN, Arkady. Prussian Blue and Its Analogues: Electrochemistry and Analytical Applications. *Electroanalysis*. 2001, roč. 13, č. 10, s. 813-819.
- [19] SRINIVAS, Sakthivel; SENTHIL KUMAR, Sakkarapalayam Murugesan a SENTHIL KUMAR, Annamalai. Edge and Basal Plane Anisotropy of a Preanodized Pencil Graphite Electrode Surface Revealed Using Scanning Electrochemical Microscopy and Electrocatalytic Dopamine Oxidation as a Molecular Probe. Online. *Langmuir*. 2023, roč. 39, č. 36, s. 12563-12575. ISSN 0743-7463. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.3c01112>. [cit. 2024-05-07].
- [20] ASIR, Suleyman; DIMILILER, Kamil; KIRSAL-EVER, Yoney; OZSOZ, Mehmet a SHAMA, Nemah Abu. Electrochemical Determination of Potassium Ferricyanide using Artificial Intelligence. Online. In: *2019 3rd International Symposium on Multidisciplinary Studies and Innovative Technologies (ISMSIT)*. IEEE, 2019, s. 1-4. ISBN 978-1-7281-3789-6. Dostupné z: <https://doi.org/10.1109/ISMSIT.2019.8932910>. [cit. 2024-05-07].
- [21] YAMADA, Hirohisa; YOSHII, Kazuki; ASAHII, Masafumi; CHIKU, Masanobu a KITAZUMI, Yuki. Cyclic Voltammetry Part 1: Fundamentals. Online. *Electrochemistry*. 2022, roč. 90, č. 10, s. 102005-102005. ISSN 1344-3542. Dostupné z: <https://doi.org/10.5796/electrochemistry.22-66082>. [cit. 2024-05-07].
- [22] PUTHONGKHAM, Pumidech; LEE, Scott T. a VENTON, B. Jill. Mechanism of Histamine Oxidation and Electropolymerization at Carbon Electrodes. Online. *Analytical Chemistry*. 2019, roč. 91, č. 13, s. 8366-8373. ISSN 0003-2700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b01178>. [cit. 2024-04-28].
- [23] SOTOLAROVA, Jitka; OSIČKA, Josef; PLACHY, Tomas a FILIP, Jaroslav. Tailoring electrochemical properties of hydrogel by different types of graphene oxide. Online. *Applied Surface Science*. 2024, roč. 661. ISSN 01694332. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2024.160064>. [cit. 2024-04-29].

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BDD	Bórem dopovaný diamant
CE	Pomocná elektroda
CV	Cyklická voltametrie
GCE	elektroda ze skelného uhlíku
PGE	grafitová mikrotuhová elektroda
RE	Referenční elektroda
SHE	Standardní vodíková elektroda
WE	Pracovní elektroda

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Schéma tříelektrodového (vlevo) a dvouelektrodového zapojení (vpravo)</i>	11
<i>Obrázek 2: Průběh potenciálu pracovní elektrody v závislosti na času u cyklické voltametrie [2]</i>	12
<i>Obrázek 3: Ilustrativní cyklický voltamogram s vyznačenými výškami oxidačního a redukčního píku.....</i>	13
<i>Obrázek 4: Redukce p-benzochinonu [2]</i>	17
<i>Obrázek 5: Schéma mikrotuhové elektrody</i>	30
<i>Obrázek 6: Cyklické voltamogramy naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy 2B jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu, okyseleno na pH = 5,29. ...</i>	31
<i>Obrázek 7: Cyklické voltamogramy naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy 2B jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu, pH = 1,76 až 12,16.</i>	32
<i>Obrázek 8: Cyklické voltamogramy naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy 2B jako pracovní elektrody (a-c) a referenční elektrody (d-f), (modrá - 1. cyklus, červená – 10. cyklus), Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu, okyseleno na pH = 3,7.....</i>	33
<i>Obrázek 9: Cyklické voltamogramy (první cyklus – modré křivky; desátý cyklus – červené křivky) naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy 2B jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.</i>	34
<i>Obrázek 10: Cyklické voltamogramy (první cyklus – modré křivky; desátý cyklus – červené křivky) naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy HB jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.</i>	34
<i>Obrázek 11: Cyklické voltamogramy (první cyklus – modré křivky; desátý cyklus – červené křivky) naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy H jako pracovní elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.</i>	35
<i>Obrázek 12: Graf časového průběhu výšek anodických (horní graf) a katodických (dolní graf) píků. Naměřené při zapojení grafitové mikrotuhy jako referenční elektrody. Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.</i>	36
<i>Obrázek 13: Graf časového průběhu separace píků zjištěných při měřeních za podmínek jako v obr. 12.</i>	36
<i>Obrázek 14: Relativní hodnoty anodických píků CV voltamogramů naměřených s GCE elektrodami jako pracovní a PGE_HB jako referenční.....</i>	38
<i>Obrázek 15: Relativní hodnoty anodických píků CV voltamogramů naměřených s GCE elektrodami jako pracovními a argentchloridovou jako referenční</i>	38
<i>Obrázek 16: Rozdíl normalizovaných hodnot výšky píku a jeho pozice pro referenční mikrotuhové elektrody (komerční Ag/AgCl elektroda – žlutá) a pracovní ze skelného uhlíku</i>	39
<i>Obrázek 17: Korelace pozice píku a jeho výšky – GCE jako pracovní a Ag/AgCl jako referenční elektroda</i>	40
<i>Obrázek 18: Korelace pozice píku a jeho výšky – GCE jako pracovní a PGE_2B jako referenční elektroda</i>	40

<i>Obrázek 19: Korelace pozice píku a jeho výšky – GCE jako pracovní a PGE_HB jako referenční elektroda</i>	41
<i>Obrázek 20: Korelace pozice píku a jeho výšky – GCE jako pracovní a PGE_H jako referenční elektroda</i>	41
<i>Obrázek 21: Kalibrační křivky – měření iontů Pb^{2+} nízké koncentrace</i>	43
<i>Obrázek 22: Kalibrační křivky – měření iontů Pb^{2+} vysoké koncentrace</i>	43
<i>Obrázek 23: Grafy závislosti pozice (vlevo) a výšky (vpravo) voltametrických piků získaných diferenční pulzní voltametrií, GCE jako pracovní el. a Ag/AgCl jako referenční el., pH \approx 7, koncentrace 1,29 mM a 2,5 mM histamin</i>	45
<i>Obrázek 24: Grafy závislosti pozice (vlevo) a výšky (vpravo) voltametrických piků získaných diferenční pulzní voltametrií, GCE jako pracovní el. a PGE_2B jako referenční el., pH \approx 7, koncentrace 1,29 mM a 2,5 mM histamin</i>	45
<i>Obrázek 25: Cyklické voltamogramy naměřené na GCE při zapojení grafitových mikrotuh 2B jako referenční elektrody (modrá - 1. cyklus, červená – 10. cyklus). Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu</i>	56
<i>Obrázek 26: Cyklické voltamogramy naměřené na GCE při zapojení grafitových mikrotuh HB jako referenční elektrody (modrá - 1. cyklus, červená – 10. cyklus). Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu</i>	57
<i>Obrázek 27: Cyklické voltamogramy naměřené na GCE při zapojení grafitových mikrotuh H jako referenční elektrody (modrá - 1. cyklus, červená – 10. cyklus). Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu</i>	57
<i>Obrázek 28: Ilustrativní průběh regenerace elektrody 2B cyklickou voltametrií v 0,1M KCl</i>	58
<i>Obrázek 29: Ilustrativní průběh regenerace elektrody HB cyklickou voltametrií v 0,1M KCl</i>	58
<i>Obrázek 30: Ilustrativní průběh regenerace elektrody H cyklickou voltametrií v 0,1M KCl</i>	58
<i>Obrázek 31: Změna pozice a výšky píku</i>	59
<i>Obrázek 32: Relativní výšky a pozice anodických piků GC elektrody jako pracovní a PGE_2B jako referenční</i>	59
<i>Obrázek 33: Relativní hodnoty anodických piků GC elektrody jako pracovní a PGE_H jako referenční</i>	60

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Chemické složení (hm. %) grafitových tuh měřené EDX [12]</i>	<i>24</i>
<i>Tabulka 2: Pozice a výšky píků pro Pb^{2+} pro rozpouštěcí voltametrii se čtvercovou vlnou. SmO – směrodatná odchylka. Píky odečteny z voltamogramů změřených na čisté GCE elektrodě s argentchloridovou (sloupce Ag/AgCl + GCE) mikrotuhovou (sloupce PGE_2B + GCE) referenční elektrodou</i>	<i>44</i>

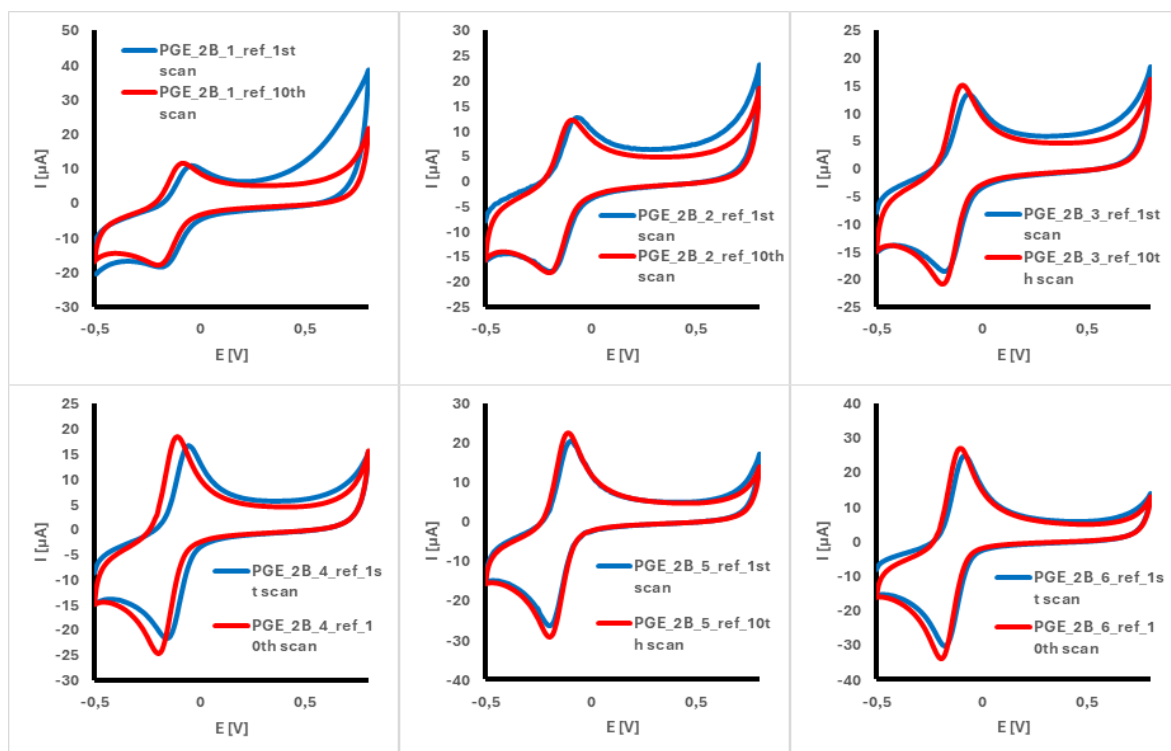
SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: VOLTAMOGRAMY S 2. GENERACÍ PGE 2B, HB A H JAKO REFERENČNÍ

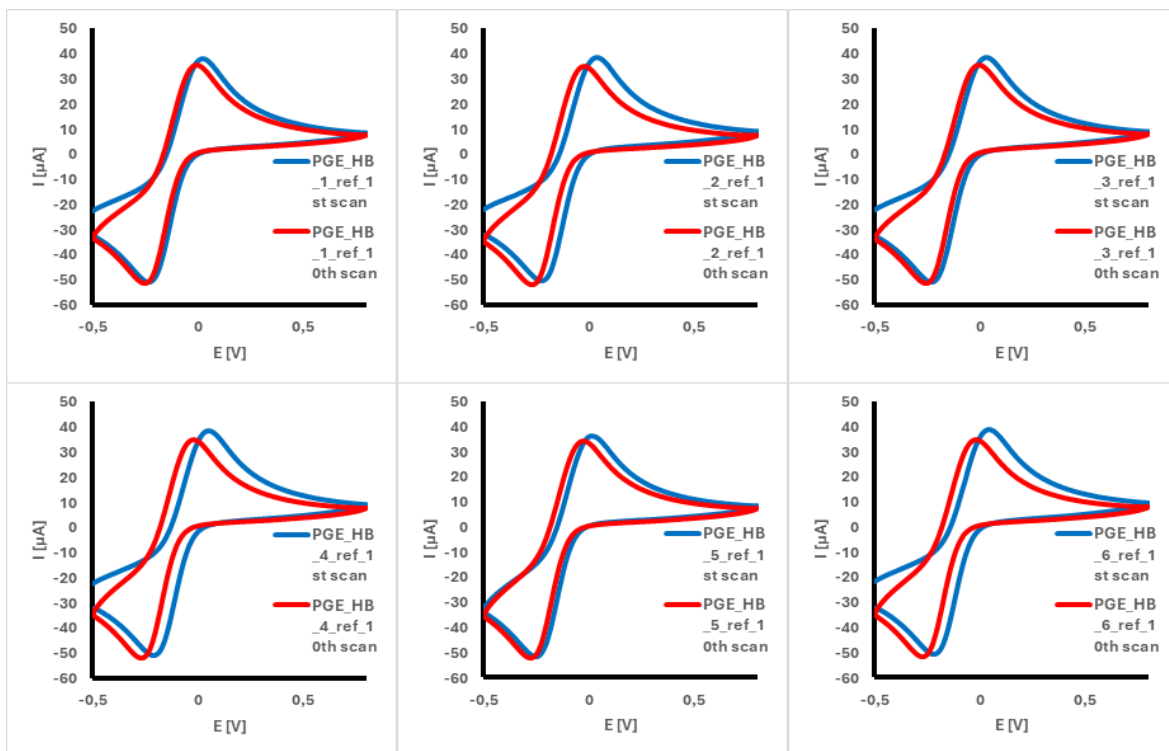
PŘÍLOHA P II: VOLTAMOGRAMY ELEKTROD 2. GENERACE PGE 2B, HB A H PŘI REGENERACI

PŘÍLOHA P III: RELATIVNÍ HODNOTY

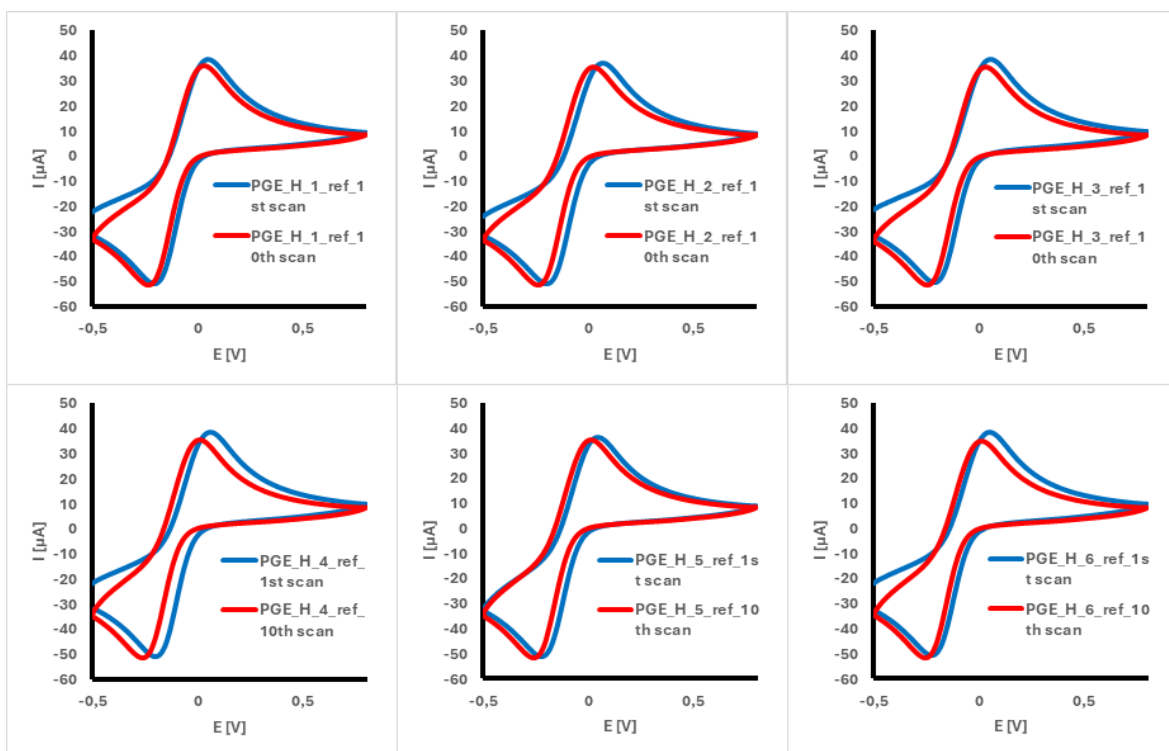
PŘÍLOHA P I: VOLTAMOGRAMY S 2. GENERACÍ PGE 2B, HB A H JAKO REFERENČNÍ



Obrázek 25: Cyklické voltamogramy naměřené na GCE při zapojení grafitových mikrotuh 2B jako referenční elektrody (modrá - 1. cyklus, červená – 10. cyklus). Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyanidu.

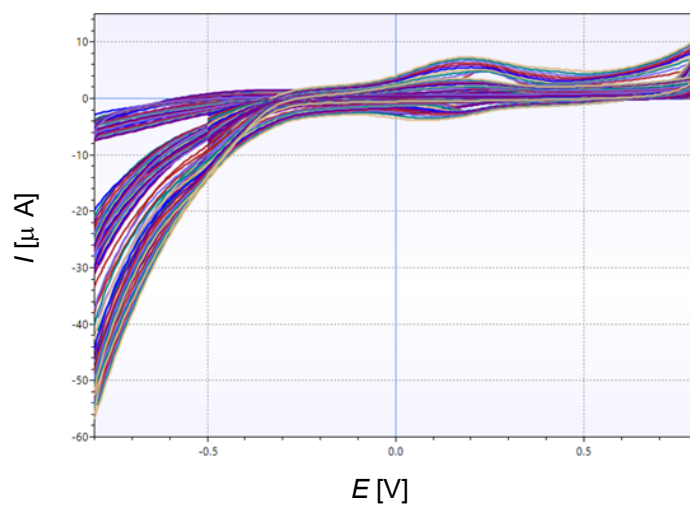


Obrázek 26: Cyklické voltamogramy naměřené na GCE při zapojení grafitových mikrotuh HB jako referenční elektrody (modrá - 1. cyklus, červená – 10. cyklus). Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyjanidu.

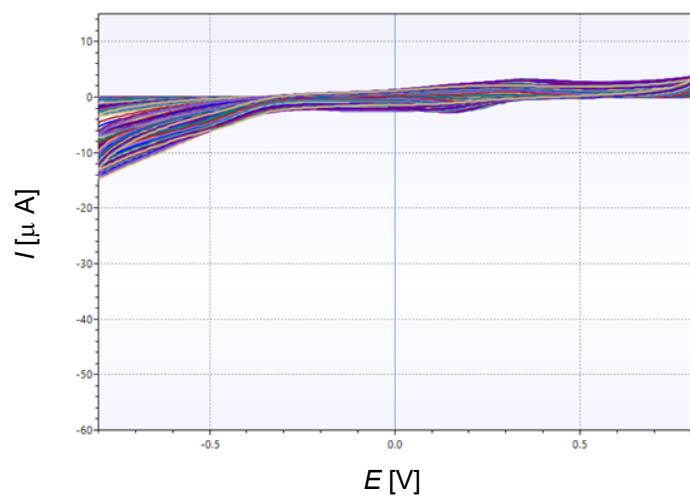


Obrázek 27: Cyklické voltamogramy naměřené na GCE při zapojení grafitových mikrotuh H jako referenční elektrody (modrá - 1. cyklus, červená – 10. cyklus). Elektrolyt 0,1M KCl s 5 mM ferrikyjanidu.

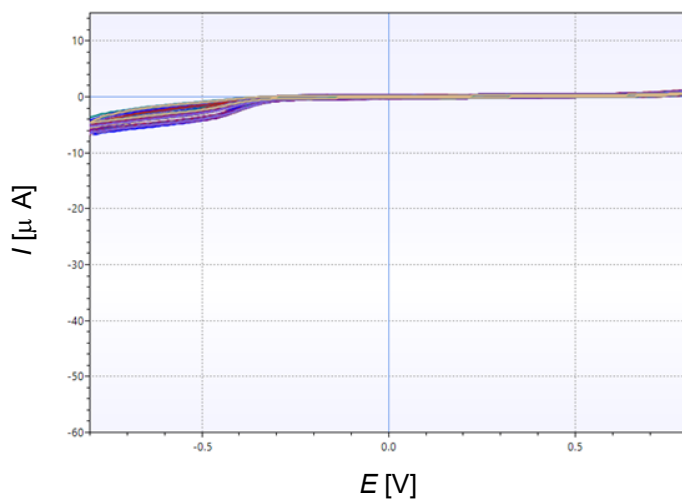
PŘÍLOHA P II: VOLTAMOGRAMY ELEKTROD 2. GENERACE PGE 2B, HB A H PŘI REGENERACI



Obrázek 28: Ilustrativní průběh regenerace elektrody 2B cyklickou voltametrií v 0,1M KCl

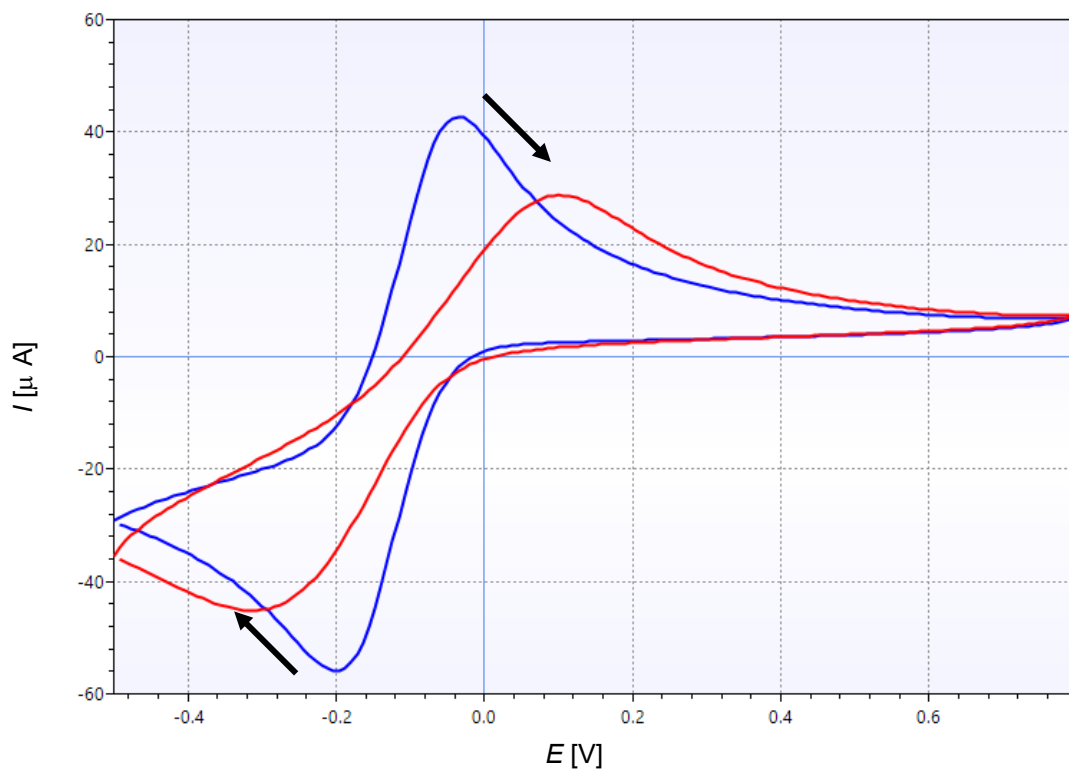


Obrázek 29: Ilustrativní průběh regenerace elektrody HB cyklickou voltametrií v 0,1M KCl

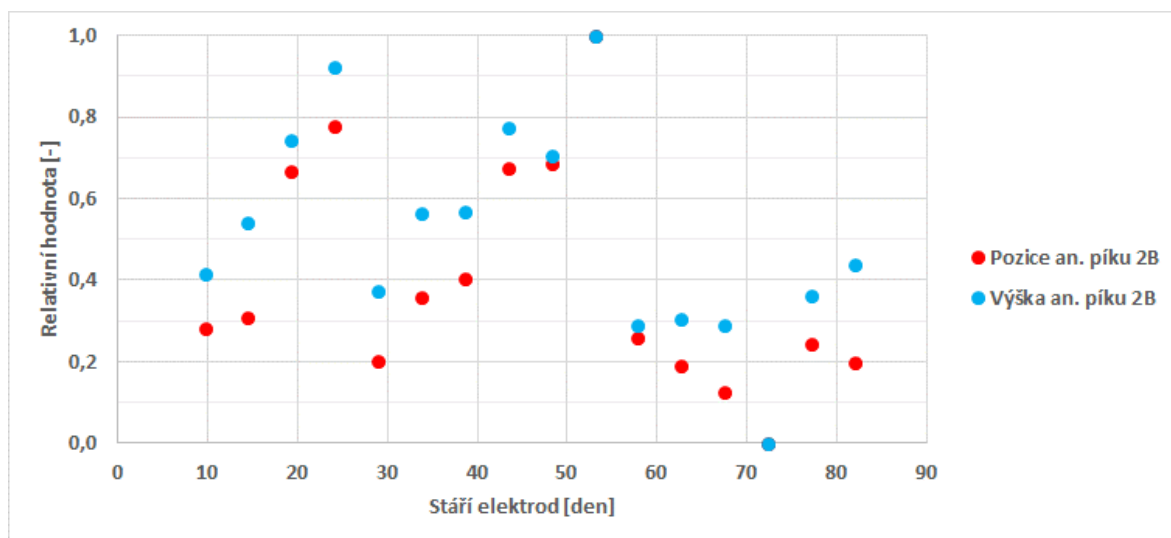


Obrázek 30: Ilustrativní průběh regenerace elektrody H cyklickou voltametrií v 0,1M KCl

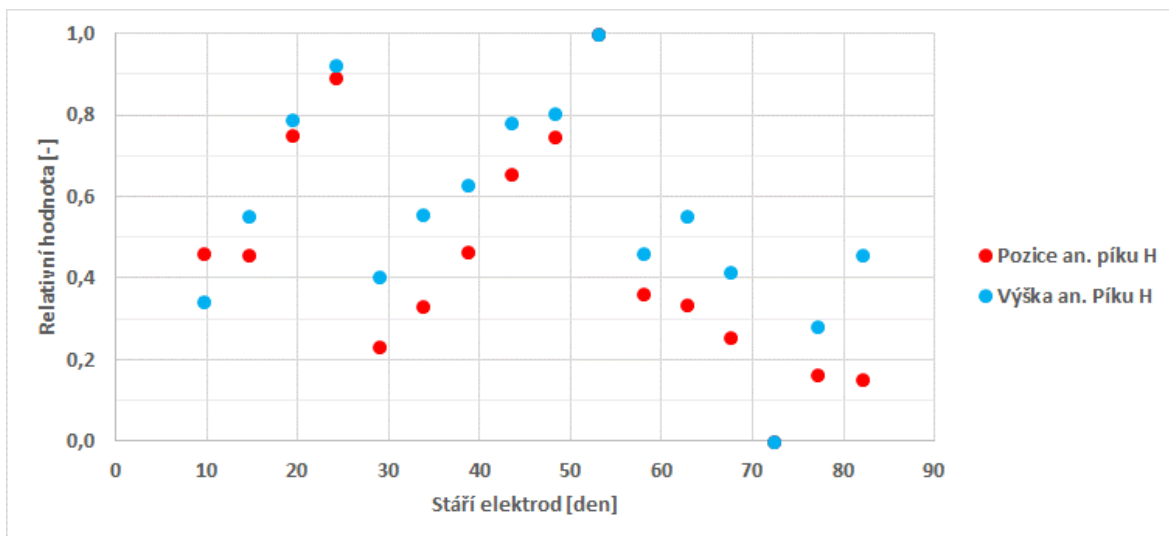
PŘÍLOHA P III: RELATIVNÍ HODNOTY



Obrázek 31: Změna pozice a výšky píku



Obrázek 32: Relativní výšky a pozice anodických píků GC elektrody jako pracovní a PGE_2B jako referenční



Obrázek 33: Relativní hodnoty anodických píků GC elektrody jako pracovní a PGE_H jako referenční